

УДК 576.3: 546.11

БИОЛОГИЧЕСКИЕ И ХИМИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЭНДО- И ЭКЗОГЕННОГО HYDROGEN PEROXIDE НА КЛЕТОЧНЫЕ СТРУКТУРЫ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА.

¹Рева И.В., ²Ямамото Т., ¹Гульков А.Н., ³Такафуджи Я., ¹Балдаев С.Н., ¹Пикула К.С., ¹Индык М.В., ⁵Лемешко Т.Н., ¹Багрянцев В.Н., ¹Рева Г.В.

¹Дальневосточный Федеральный Университет, Владивосток, e-mail: RevaGal@yandex.ru;

²Международный медицинский научно-образовательный центр, Ниигата, e-mail: avers2@yandex.ru;

³Институт медицинских исследований Ногучи, Токио;

⁴Гавайский международный университет, Гонолулу, e-mail: takafuji0213@fdmip.co.jp;

⁵Тихоокеанский государственный медицинский университет Владивосток, e-mail: tilttil@yandex.ru

Учитывая возрастающую антибиотикорезистентность микроорганизмов, появление новых устойчивых к антибиотикам штаммов смертельно опасных инфекционных патогенов, поиск альтернативных медицинских препаратов приобретает особую актуальность на современном этапе. В работе представлен анализ собственных и данных литературы о роли экзогенного и эндогенного hydrogen peroxide в условиях нормы и патологии, на фоне микробной контаминации и при острой и хронической ишемии тканей. Показано, что наряду с отрицательной ролью внутриклеточного hydrogen peroxide, при парентеральном введении, он оказывает благоприятное лечебное действие при инфекциях, ишемических повреждениях нервной ткани, а также онкологической и эндокринной патологии. Отмечено, что в то время, как наружное применение препаратов hydrogen peroxide не вызывает никаких сомнений в необходимости его использования, применение его в качестве внутреннего лечебного препарата требует глубоких исследований вследствие многочисленных противоречивых данных.

Ключевые слова: гидроген пероксид, ишемия, апоптоз, некроз, гемоглобин, активные формы кислорода (АФК), регенерация, макрофаги, «кислородный взрыв»

BIOLOGICAL AND CHEMICAL EFFECTS BY ENDO- AND EXOGENOUS HYDROGEN PEROXIDE IN HUMAN BODY CELLS STRUCTURES

¹Reva I.V., ²Yamamoto T., ¹Gulkov A.N., ³Takafuji Y., ¹Baldaev C.N., ¹Indik M.V., ¹Pikula K.S., ⁵Lemeschko T.N., ¹Bagryantsev V.N., ¹Reva G.V.

¹Far Eastern Federal University, Vladivostok, e-mail: RevaGal@yandex.ru;

²International Medical Research Center (IMERC), Niigata, e-mail: avers2@yandex.ru;

³Noguchi Medical Research Institute, Tokio;

⁴University of Hawai'i, Honolulu;

⁵Pacific state medical university, Vladivostok, e-mail: tilttil@yandex.ru)

Given the increasing antibiotic resistance of microorganisms, the emergence of new antibiotic-resistant strains of deadly infectious pathogens, the search for alternative medicines is the particular relevance at the present stage. The paper presents an analysis of its own data and literature on the role of exogenous and endogenous hydrogen peroxide under normal and pathological conditions, against microbial contamination and acute and chronic tissue ischemia. It is shown that in addition to the negative role endogenous hydrogen peroxide entered in the blood, or parenteral, it has a beneficial and healing effect in infections, ischemic damage to the nervous tissue, as well as oncology and endocrine pathology. It is noted that while the external application of preparations hydrogen peroxide no doubt the necessity of its use, its application as an internal curative preparation requires numerous deep researches conflicting data.

Keywords: hydrogen peroxide, ischemia, apoptosis, necrosis, hemoglobin, reactive oxygen species (ROS), regeneration, macrophages, oxygen explosion

Актуальность. Отсутствие этиотропно-го лечения инфекционных заболеваний, вызванных опасными антибиотикорезистентными патогенами, частые случаи развития гипериммунных реакций и осложнений на фоне приёма дорогостоящих препаратов с огромным перечнем противопоказаний, отсутствие патогенетически обоснованного консервативного лечения онкобольных, свидетельствуют о том, что поиск альтернативных препаратов в стратегии консер-

вативного лечения многих заболеваний на современном этапе является наиболее актуальным [10, 22].

Изучение противомикробных веществ в настоящее время является одним из самых новых направлений исследований. Известно, что hydrogen peroxide убивает бактерии, предотвращает заболевание десен и образование зубного налета. Исследования показали, что сифилис, кандидоз и различные вирусные инфекции поддаются лечению

перекисью водорода. Эмпирически применяют пероксид и при инсультах/инфарктах, а также эндокринной патологии.

Известно, что перекись водорода необходима для образования гормоноподобных веществ – простагландинов, которые регулируют энергетический обмен в организме. Под воздействием витамина С образуется дополнительное количество перекиси, которая, в свою очередь, активирует синтез простагландинов [5, 19]. Тем не менее, отсутствие принципов применения hydrogen peroxide терапии, а также незнание потенциальных осложнений и известные случаи эмболии с последующим применением интубации, диктуют разработку стратегии в дозировке препарата и выявления механизмов его воздействия на клетки для адекватного патогенетически обоснованного лечения, профилактики, реабилитации.

Токсикокинетика и токсикодинамика hydrogen peroxide практически не изучена [1, 6]. Тем не менее, имеющиеся немногочисленные исследования на мышах и птицах, а также клеточных культурах человека свидетельствуют о несомненных перспективах применения hydrogen peroxide в медицинской практике, что и явилось основанием для выбора нами направления исследований [20].

Цель исследования. Систематизация имеющихся данных о возможных механизмах биологического воздействия hydrogen peroxide на клетки организма человека в условиях различной патологии.

Задачами исследования явилось проведение анализа механизмов воздействия hydrogen peroxide на клетки в условиях ишемии и микробной контаминации.

Материалы и методы исследования

Материал для патоморфологических исследований получен в соответствии с приказом Минздрава РФ от 29.04.94 N 82 «О порядке проведения патологоанатомических вскрытий». Забор материала

производился через сутки после клинической смерти, всего изучено 52 биопсии. В работе использован трупный материал мозга человека в период с сентября 2013 по февраль 2015 г.) с диагнозом – инсульт, инфаркт (25/27), который распределили с учётом возраста и пола. Выбор участков забора биоптатов основывался на том, что одними из регуляторов артериального давления (АД) являются паравентрикулярные нейросекреторные ядра гипоталамуса, участвующие в выработке АДГ (антидиуретического гормона) – вазопрессина. Биопсийный материал гипоталамуса фиксировался по прописи для подготовки к иммуногистохимическим исследованиям сразу после забора. Исключение возможных артефактов основано на данных, полученных при специальном исследовании на собаках, свидетельствующих, что при сохранении трупов при температуре 7°C до 4–6 часов в морфологии гипоталамо-гипофизарной нейросекреторной системы микроскопически видимых изменений не наблюдается, кроме некоторого снижения интенсивности специфических реакций на нейросекрет. Использованы классические гистологические методы исследования с окрашиванием гематоксилином и эозином для получения общей морфологической картины нейронов переднего гипоталамуса человека. Анализ материала проведён с помощью микроскопа Olympus – Vx82 и цифровой камеры CDx82 с фирменным программным обеспечением.

Результаты исследования и их обсуждение

Нами отмечено, что у части нейронов при хронической ишемии мозга, в зоне, удалённой от острой ишемии и развившегося инсульта, имеется светлоокрашенное перинуклеарное пространство, которое может свидетельствовать о вступлении клеток в апоптоз (рис. 1). При этом, в нашем исследовании в апоптоз вступают как нейроглиальные клетки, так и нейроны (рис. 2). Встречаются апоптотические тельца – результат апоптотических процессов в нервной ткани вследствие ишемии. Это свидетельствует о том, что локальные изменения в ткани мозга присутствуют, но сам процесс ишемии мозга следует считать генерализованным по отношению к ткани всего мозга.

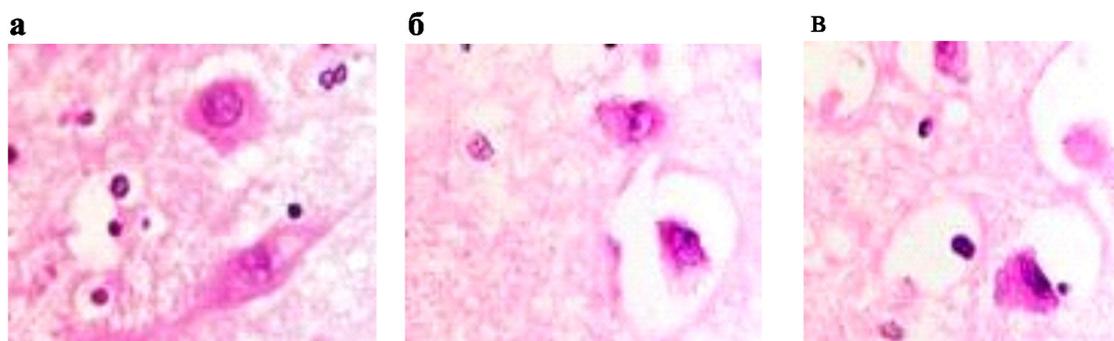


Рис. 1 а-в. Нейроны переднего гипоталамуса. Апоптоз глии и нейронов. Окраска г/э. Микрофото. Ув. x800

Структура ядер в нейронах переднего гипоталамуса свидетельствует о различном уровне дезорганизации хроматина, разрушении ядерной оболочки, апоптозе нейронов. Гранулы приобретают более тёмный коричневатый цвет. В некоторых клетках вся цитоплазма заполнена гранулами, ядра не идентифицируются (рис. 2).

ведены эксперименты с использованием двух способов доступа к окислительному стрессу: лечение клеток с H₂O₂ или Ar-42 пептида в его олигомерной форме. Оба вида лечения вызвали накопление маркеров окислительного стресса, такие как окисленные белки и липиды, а также изменения в ДНК, что также отмечали Millonig G.,

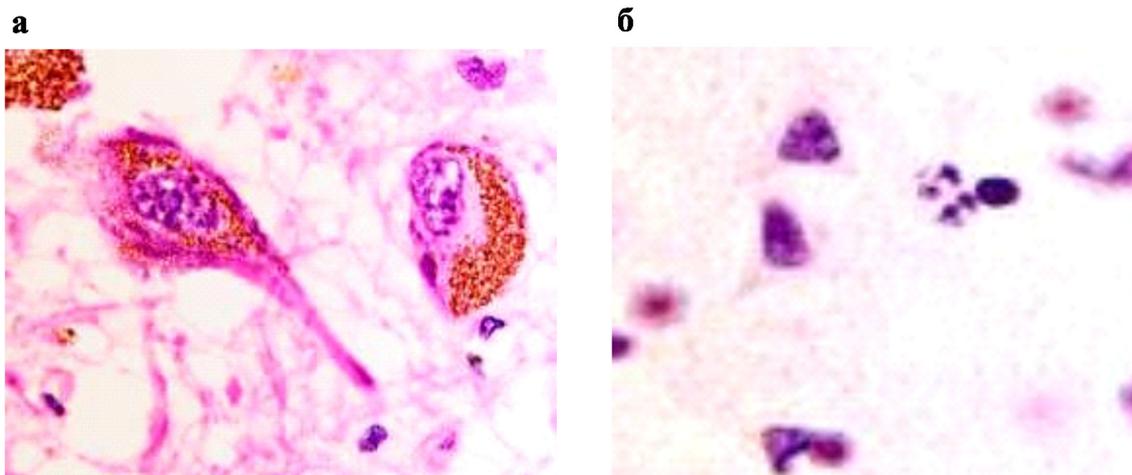


Рис. 2. Нейроны переднего гипоталамуса при ишемическом инсульте в области прецентральной извилины: а – гранулосодержащие нейроны; б – апоптотическое тельце. Окраска г/э. Микрофото. Ув. x1000

Приобретение резкой базофилии окружающей нейроны глией также свидетельствует об апоптозе. Однако следует подчеркнуть, что патоморфологическое изменение нервных клеток наблюдается не только при ишемии мозга, но и при олигемических, аноксических, гипоксических и гипогликемических состояниях. Ишемическое изменение клеток характерно для хронической недостаточности кислорода, что характеризуется специфической морфологической картиной, свидетельствующей о проблеме ишемии ткани, как следствии нарушения в системе передачи кислорода клеткам гемоглобином. Вопрос включений в цитоплазме нервных клеток не закрыт, так как гранулы не изменяют цвет после проводки по спиртам, что может быть связано не с их возможной липофусциновой природой, а с наличием в них Fe³⁺.

Lago L., Nunes E.A., Vigato A.A., Souza V.C., Barbosa F.Jr., Sato J.R., Batista B.L., Cerchiaro G. (2017) отмечали нарушения содержания элементов металлов в головном мозге пациентов с нейродегенеративными заболеваниями [9]. Авторами были про-

Gansleben I., Peccerella T. et al. [11]. Что касается микроэлементов, клетки, обработанные H₂O₂, показали более высокие уровни Zn и более низких уровней Ca в ядрах по сравнению с контрольными клетками, без каких-либо окислительных обработок. С другой стороны, клетки, обработанные с А-42 пептида в олигомерной форме показали более высокие уровни Mg, Ca, Fe и Zn в ядрах по сравнению с контрольными клетками [17]. Эти различия свидетельствуют, что поток металла в клеточных органеллах во время внутреннего и внешнего окислительного состояния (обработка H₂O₂) отличается от результатов современных методов лечения нейродегенеративных заболеваний.

Singh S, Goo JI, Noh H, Lee SJ, Kim MW, Park H, Jalani HB, Lee K, Kim C, Kim WK, Ju C, Choi Y. (2017) основываясь на том, что астроциты играют ключевую роль в гомеостазе мозга, защищая нейроны от нейротоксических стимулов, в том числе окислительного стресса, рассматривают в качестве многообещающей стратегии для снижения повреждения головного мозга нейропротекторные терапевтические средства, которые

повышают функциональность астроцитов путем усиления митохондриальной функции после воздействия H_2O_2 [19].

Zhao J., Zhou H., Sun L., Yang B., Zhang L., Shi H., Zheng Y. (2017), напротив, считают главным виновником индуцированной дисфункции в трабекулярном эндотелии (ТЭ) дренажной системы глаза, ведущим к глаукоме, H_2O_2 , являющейся наиболее широко используемым средством для индукции окисления в клетках ТЭ в пробирке. При этом авторы считают, что геном имеет разную чувствительность к окислительному стрессу, индуцированному экзогенным H_2O_2 [25].

Singh S.K., Thirumalai A., Pathak A., Ngwa D.N., Agrawal A. (2017) исследовали влияние перекиси водорода, прототипичную активной форме кислорода, присутствующую на участках воспаления, на функцию распознавания лиганда С-реактивного белка (СРБ) [19].

В анализах связывания лигандов на основе очищенной пентамерной H_2O_2 обработанные СРБ связаны с иммобилизованными белками, включая IgG, бета-амилоид пептид 1-42, С4b-связывающий белок и фактор $Н Ca2 +$ -независимым образом. Авторы пришли к выводу, что H_2O_2 является биологическим модификатором функции и структуры лиганда распознавания СРБ [15].

De Santana F.R., Dalboni L.C., Nascimento K.F., Konno F.T., Alvares-Saraiva A.M., Correia M.S., Bomfim M.D., Casarin R.C., Perez E.C., Lallo M.A., Peres G.B., Laurenti M.D., Benites N.R., Buchi D.F., Bonamin L.V. (2017), изучая цитотоксическую активность макрофагов, наблюдали снижение миграции моноцитов и их фагоцитарной активности к месту инфекции под воздействием изменения электропотенциалов, которые объясняют клиническое ухудшение в естественных условиях при переходе 2-валентного железа в Fe^{3+} , обладающим меньшей способностью отдавать кислород тканям [16, 21]. Большинство важнейших окислительно-восстановительных процессов протекает с участием иона металла, являющегося переносчиком одного электрона. Из этих реакций наиболее хорошо изучено взаимодействие перекиси водорода с ионом Fe^{2+} . Реакцию открыл Фентон в 1894 г., а в 1932 г. Габер и Вайсс предложили механизм, который лишь с небольшими изменениями принят в настоящее время. Окисление органических соединений реактивом Фентона связано с генерированием гидроксильных радикалов. Однако предполагается, что гидроксильные радикалы участвуют в реакции Фентона, согласно которой перекись водорода в комбинации с солями железа окисляет альдозы до озонов

[7]. В ночное время в качестве основного «поставщика» радикалов гидроксила в жидкой фазе выступает реакция Фентона – разложение H_2O_2 ионами железа (II), которую можно рассматривать как реакцию переноса электрона [3]. Нерц и Вагнер высказали предположение, что кислород передается от перекиси водорода к ортофосфористой кислоте и что ион двухвалентного железа участвует в повторяющейся произвольное число раз цепи реакций, проходя соответствующие промежуточные степени окисления железа, причем ион двухвалентного железа регенерируется. Обрыв цепи вызывается превращением иона двухвалентного железа в ион трехвалентного железа, который не обладает способностью передавать кислород, что усугубляет ишемическое повреждение клеток [17].

Zhou H., Ding L., Wu Z., Cao X., Zhang Q., Lin L., Bian J.S. (2017) считают, как и многие другие авторы, что вырабатываемая клетками H_2O_2 оказывает токсический эффект [25].

Sutariya S., Patel H. (2017), наоборот, пришли к положительным результатам, воздействуя на изолят сывороточного белка (WPI) растворами различных концентраций H_2O_2 в диапазоне концентраций 0–0.144 в деионизированной воде. Образцы анализировали на термостабильность, реологические свойства, уровень денатурации -лактоглобулин (β -LG) и альфа-лактальбумина (α -LA) [22]. Образцы, обработанные концентрации H_2O_2 , превышающей 0,072, показали значительное улучшение в термостабильности, и снижение сывороточного белка к денатурации и агрегации. После обработки H_2O_2 ($> 0,072$ НТТР) раствор оставался в жидком состоянии после термической обработки при $120^\circ C$, в то время как контрольные образцы перешли в гель после термической обработки. Детальный анализ этих образцов позволил предположить, что улучшение тепловой стабильности после обработки раствора H_2O_2 было связано со значительным сокращением сульфгидрильной-дисульфид реакции обмена в процессе денатурации бета-LG и альфа-LA [16].

He Y., Del Valle A., Qian Y., Huang Y.F. (2017) предложили метод нанотерапии рака с помощью реакции Фентона на основе облучения светом тканей, что способствует переносу электронов к Fe (III) из $FeOxH$ и ускоряет их реакцию с O_2 , образуя супероксидные анион-радикалы, которые затем подвергаются реакции диспропорционирования для производства H_2O_2 . H_2O_2 затем реагирует с Fe (II) образуя $FeOxH$, как посредник в реакции Фентона, производя гидроксильные радикалы. Авторы показали, что $GO-FeOxH$

может быть использован в качестве активируемого наноагента, обеспечивающего эффективную терапию рака [4, 7].

Hydrogen peroxide открыт Луи Тенаром в 1818 г. Разлагается с выделением O_2 , поэтому высокие концентрации при наружном применении обеспечивают противомикробный антисептический эффект, при этом удлиняются сроки заживления из-за повреждения прилегающих к ране клеток, но при этом происходит образование рубцов из-за разрушения клеток кожи. При приёме внутрь летальная доза 30% раствора пероксида водорода – 50–100 мл. При соприкосновении с тканями под влиянием содержащихся ферментов каталазы, раствор перекиси разлагается и выделяет молекулярный кислород, который окисляет органические вещества различных клеток [14]. По данным исследований, период полураспада H_2O_2 в крови человека – меньше одной десятой секунды; однако по сведениям, полученным Макнофтоном, полураспад перекиси может длиться до двух секунд и зависит от скорости смешивания с кровью. Чарльз Фарр обнаружил, что повышение содержания кислорода в тканях происходит только через 40–45 минут после инъекции перекиси.

Известно, что для выполнения фагоцитарной функции эффекторными иммунными клетками необходим каскад реакций с выделением hydrogen peroxide [12, 24]. Макрофаги способны поддерживать гомеостаз, очищая организм от стареющих и апоптотических клеток, восстанавливая ткани после инфекции и травмы, выполняя ведущую роль в защите организма. Для реализации этой функции они имеют набор распознающих рецепторов, кислородозависимые и кислородонезависимые механизмы киллинга микроорганизмов. Существенную роль в защите организма от инфекции играют макрофаги альвеолярные и фагоциты слизистой оболочки кишечника. Первые «работают» в относительно бедной опсонинами среде, поэтому они экспрессируют большое количество паттерн-распознающих рецепторов, включая скавенджер-рецепторы, маннозные рецепторы, β -глокан-специфические рецепторы, дектин-1 и др. При микробной инфекции в очаг проникновения микробов дополнительно мигрирует большое число воспалительных моноцитов, способных дифференцироваться в различные клеточные линии в зависимости от цитокинового окружения. Ферментные системы НАДФ-Н-оксидазы, супероксиддисмутазы, NO-синтазы, генерируют активные формы неорганических окислителей, участвующих в деструкции фагоцитированного объекта: пероксид водорода (H_2O_2), супероксид ани-

он (O_2^-), синглетный кислород (1O_2), радикал гидроксила (ОН), гипохлорид (OCl), оксид азота (NO). Активация НАДФ-Н-оксидазы приводит к формированию так называемого «кислородного взрыва». Первичным продуктом «кислородного взрыва» является супероксидный анион O_2^- , который образуется при переносе НАДФ-Н-оксидазой электрона на кислород [13]. Супероксидный анион обладает слабым бактерицидным эффектом и является недолговечным. В результате реакции, катализируемой ферментом супероксиддисмутазой (СОД), из двух молекул супероксидного аниона формируется перекись водорода, обладающая сильным микробицидным эффектом. При окислении хлоридов перекисью водорода в присутствии миелопероксидазы (МПО) образуется мощный цитотоксический агент – гипохлорная кислота HOCl, при её окислении супероксидным радикалом – гидроксильный радикал ОН, при окислении гипохлорит-иона перекисью водорода формируется синглетный кислород 1O_2 , который является источником образования другого бактерицидного вещества – озона O_3 . При взаимодействии гипохлорной кислоты с аминогруппой формируется микробицидное производное монохлорамина – R-NHCl.

Заключение

Анализ собственных данных и данных литературы показал, что при поражении мозга, когда повышается уровень «активной формы» железа, аскорбиновая кислота может стимулировать образование ОН радикала, выступая в роли прооксиданта. Тиолы в восстановленной форме в присутствии «активных форм» металлов переменной валентности могут образовывать реактивные соединения типа RS (тиоловый радикал) и ОН [5]. При этом в качестве вторичных посредников принимают активное участие АФК (O_2 , H_2O_2 , ОН и гидроперекиси липидов), осуществляя регулируемую роль в процессах роста клеток, апоптозе, клеточной адгезии, свертывания крови и т.д. [1, 23].

Имеются прямые доказательства того, что низкие (микромольные) наноконцентрации H_2O_2 могут увеличивать рост или усиливать ответ на стимуляцию роста во многих типах клеток млекопитающих, а антиоксиданты подавляют нормальную клеточную пролиферацию. Так низкие концентрации H_2O_2 (100 мкМ) стимулируют рост фибробластов легких хомяков [2]. Ингибирование СОД или глутатион пероксидазы увеличивает клеточную пролиферацию. Возможно, что ОН, генерируемый в реакции Фентона, может являться фактором, усиливающим клеточную пролиферацию и актив-

ность митоген-активируемой протеинкиназы (МАР-киназа). Это основано на том, что ловушки ОН (маннитол, диметилсульфоксид) и хелаторы железа тормозят стимулируемую H_2O_2 пролиферацию клеток [3].

С АФК связана передача сигнала от тромбоцитарного фактора роста, эпидермального фактора роста, трансформирующего фактора роста Р-1, фактора некроза опухолей (ФНО-а) [1]. Участие интерлейкина-1 и интерферона в сигнальной трансдукции связывают с образованием O_2 , а фактора некроза опухолей (ФНО-а) – с H_2O_2 . В астроцитах интерлейкин-1 β повышает генерацию H_2O_2 , что приводит к снижению фосфатазной активности и активации МАР-киназы. ФНО-а через повышение образования АФК активирует факторы транскрипции NF- κ p и AP-1, процессы апоптоза [11, 23].

Известно, что вазоактивный пептид (ангиотензин II) проявляет свое действие на процессы мышечного сокращения и клеточный рост гладких мышц сосудов через генерацию внутриклеточного O_2 [8]. Мнение об источниках O_2 НАДН и НАДФН-оксидазы, активируемых ангиотензином, опровергается данными, что именно H_2O_2 ответственна за рост клеток гладкой мускулатуры сосудов. Получены данные об участии H_2O_2 в сигнальной трансдукции тромбоцитарного фактора роста (PDGF) и трансформирующего фактора роста TGF- α . Предполагают, что H_2O_2 действует через инактивацию протеинтирозинфосфатаз, как и эпидермальный фактор роста.

Тем не менее, вопрос о значении роли H_2O_2 в процессах внутриклеточной сигнализации далек от разрешения. Полученные данные противоречивы и неоднозначны [18]. Только комплексный подход с учетом специфики и особенности функционирования конкретных клеток, исследования на уровне генома позволят с новых позиций оценить роль H_2O_2 в механизмах регуляции функции клеток.

Учитывая то, что перекись водорода является недорогим веществом, которое не может быть запатентовано и не имеет никакой коммерческой стоимости, можно считать его наиболее перспективным для исследований механизмов его воздействия на гистофизиологию клеток с целью дальнейших стратегических решений в профилактике, лечении и реабилитации нейродегенеративных повреждений мозга.

Работа выполнена при поддержке научного фонда ДВФУ, в рамках государственного задания 2014/36 от 03.02.2014 г.

Список литературы

1. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при со-

стояниях окислительного стресса // Вопросы медицинской химии. – 2001. – Т. 47; №6. – С. 561–581.

2. Dottore G.R., Chiarini R., De Gregorio M., Leo M., Casini G., Cestari L., Sellari-Franceschini S., Nardi M., Vitti P., Marcocci C., Marinò M. Selenium rescues orbital fibroblasts from cell death induced by hydrogen peroxide: another molecular basis for the effects of selenium in graves' orbitopathy // Endocrine. 2017 Jan 17. doi: 10.1007/s12020-016-1226-9.

3. Fenton H.J.H. (1894). Oxidation of tartaric acid in presence of iron // J. Chem. Soc., Trans. 65 (65): 899–911.

4. Galadari S., Rahman A., Pallichankandy S., Thayyullathil F. Reactive oxygen species and cancer paradox: to promote or to suppress? // Free Radic Biol Med. 2017 Jan 11. pii: S0891-5849(17)30003-5. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.01.004.

5. Goldstein Sara, Meyerstein Dan, and Czapski Gidon (1993). «The Fenton reagents». Free Radical Biology and Medicine 15 (4): 435–445. DOI:10.1016/0891-5849(93)90043.

6. Haber F. and Weiss J. (1932). Über die Katalyse des Hydroperoxydes // Naturwissenschaften. DOI:10.1007/BF0150471.

7. He Y., Del Valle A., Qian Y., Huang Y.F. Near infrared light-mediated enhancement of reactive oxygen species generation through electron transfer from graphene oxide to iron hydroxide/oxide // Nanoscale. 2017 Jan 9. doi: 10.1039/c6nr08784a.

8. Hendriksen S.M., Menth N.L., Westgard B.C., Cole J.B., Walter J.W., Masters T.C., Logue C.J. Hyperbaric oxygen therapy for the prevention of arterial gas embolism in food grade hydrogen peroxide ingestion // Am J Emerg Med. 2016 Dec 14. pii: S0735-6757(16)30926-3. doi: 10.1016/j.ajem.2016.12.027.

9. Lago L., Nunes E.A., Vigato A.A., Souza V.C., Barbosa F.Jr., Sato J.R., Batista B.L., Cerchiaro G. Flow of essential elements in subcellular fractions during oxidative stress // Biometals. 2017 Jan 12. doi: 10.1007/s10534-016-9988-3.

10. Lisher J.P., Tsui H.T., Ramos-Montañez S., Hentchel K.L., Martin J.E., Trinidad J.C., Winkler M.E., Giedroc D.P. Biological and Chemical Adaptation to Endogenous Hydrogen Peroxide Production in Streptococcus pneumoniae D39 // mSphere. 2017 Jan 4;2(1). pii: e00291-16. doi: 10.1128/mSphere.00291-16.

11. Millonig G., Ganzleben I., Peccerella T., Casanovas G., Brodziak-Jaros L., BreitkopfHeinlein K., Dick T.P., Seitz H.-K., Muckenthaler M.U., and Mueller, S. Sustained submicromolar H2O2 levels induce hepcidin via signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3). J. Biol. Chem. – 2012.- 287, 37472–37482.

12. Okahashi N., Nakata M., Kuwata H., Kawabata, S. Streptococcus oralis induces lysosomal impairment of macrophages via bacterial hydrogen peroxide // Infect. Immun. – 2017.- 84, 2042– 050.

13. de Oliveira M.R., da Costa Ferreira G., Brasil F.B., Peres A. Pinocembrin Suppresses H2O2-Induced Mitochondrial Dysfunction by a Mechanism Dependent on the Nrf2/HO-1 Axis in SH-SY5Y Cells // ol Neurobiol. 2017 Jan 13. doi: 10.1007/s12035-016-0380-7.

14. Patel R.P., Moellering D., Murphy-Ullrich J., Jo H., Beckman J.S., Darley-Usmar V.M. Cell signaling by reactive nitrogen and oxygen species in atherosclerosis. Free Radic. Biol. Med. – 2000. – 1780–1794.

15. Pospíšil P. Production of Reactive Oxygen Species by Photosystem II as a Response to Light and Temperature Stress // Front Plant Sci. 2016 Dec 26;7:1950. doi: 10.3389/fpls.2016.01950.

16. Rai P., Parrish M., Tay I.J.J., Li N., Ackerman S., He F., Kwang J., Chow V. T., Engelward B.P. Streptococcus pneumoniae secretes hydrogen peroxide leading to DNA damage and apoptosis in lung cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2015. – 112, E3421–E3430.

17. Rajic Z., Tovmasyan A., de Santana O.L., Peixoto I.N., Spasojevic I., do Monte S.A., Ventura E., Rebouças J.S., Batinic-Haberle I. Challenges encountered during development of Mn

- porphyrin-based, potent redox-active drug and superoxide dismutase mimic, MnTnBuOE-2-PyP5+, and its alkoxyalkyl analogues // *J Inorg Biochem.* 2017 Jan 5;169:50–60. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2017.01.003.
18. Sjöberg A.P., Trouw L.A., Clark S.J., Sjölander J., Heinegård D., Sim R.B., Day A.J., Blom A.M. The factor H variant associated with age-related macular degeneration (His-384) and the non-disease-associated form bind differentially to C-reactive protein, fibromodulin, DNA, and necrotic cells. *J. Biol. Chem.* – 2007. – 282, 10894–10900.
19. Singh S.K., Thirumalai A., Pathak A., Ngwa D.N., Agrawal A. Functional transformation of C-reactive protein by hydrogen peroxide // *J Biol Chem.* 2017 Jan 17. pii: jbc.M116.773176. doi: 10.1074/jbc.M116.773176.
20. Su C.K., Tseng P.J., Chiu H.T., Del Vall A., Huang Y.F., Sun Y.C. Sequential enzymatic derivatization coupled with online microdialysis sampling for simultaneous profiling of mouse tumor extracellular hydrogen peroxide, lactate, and glucose // *Anal Chim Acta.* 2017 Mar 1;956:24–31. doi: 10.1016/j.aca.2016.11.060.
21. de Santana J., Florêncio J.R., de Almeida L., Fernandes L.S., da Silva Filho A.A., Salvador M.J., Sousa O.V., Alves M.S. In vitro antibacterial activity of *Vernonia polyanthes* Less. leaf rinse extract (Asteraceae): prospecting new therapeutic options against *Staphylococcus aureus* infections! // *Planta Med.* 2016 Dec; 81(S 01):S1–S381
22. Sutariya S., Patel H. Effect of hydrogen peroxide on improving the heat stability of whey protein isolate solutions // *Food Chem.* 2017 May 15;223:114–120. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.12.013.
23. Tan L., Zhang X., Mei Z., Wang J., Li X., Huang W., Yang S. Fermented Chinese Formula Shuan-Tong-Ling Protects Brain Microvascular Endothelial Cells against Oxidative Stress Injury // *Evid Based Complement Alternat Med.* 2016;2016:5154290. doi: 10.1155/2016/5154290.
24. Watanabe Y, Ishimori K, Uchida T. Dual role of the active-center cysteine in human peroxiredoxin 1: Peroxidase activity and heme binding // *Biochem Biophys Res Commun.* 2017 Jan 10. pii: S0006–291X(17)30043–8. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.01.034.
25. Zhao J., Zhou H., Sun L., Yang B., Zhang L., Shi H., Zheng Y. Selection of suitable reference genes for quantitative real time PCR in trabecular meshwork cells under oxidative stress // *Tru radic res.* – 2017. – jan., 15: 1–20. Doi 10.1080/10715762.20171282612.