

© 2023 Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 26: 1-14, 2023.

<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2023.597>

Acciones del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) como señalizador redox y como agente de estrés oxidante en la diabetes mellitus

Miriam Ulloa¹, Fernando Macías¹,

Gonzalo Martínez de la Escalera¹ y Edith Arnold^{1,2*}

¹Departamento de Neurobiología Celular y Molecular, ²CONAHCYT, Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Campus UNAM-Juriquilla, Blvd. Juriquilla #3001, 76230, Querétaro, Querétaro, México. E-mail: *earnoldh@gmail.com

RESUMEN

En las reacciones bioquímicas del metabolismo donde participa el oxígeno molecular se presenta una constante formación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Entre las diferentes ROS, destaca el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) por su papel en la fisiología celular, ya que participa como segundo mensajero en múltiples procesos celulares como la proliferación celular, la síntesis y la secreción de hormonas, la regulación y la activación de células inmunes, la angiogénesis y los procesos apoptóticos. Sin embargo, un aumento exacerbado en la formación y la acumulación de H_2O_2 , producido por el incremento en la actividad de la cadena transportadora de electrones en la mitocondria, la autooxidación de la glucosa y/o la activación de la vía del sorbitol, genera un desequilibrio en el estado de óxido-reducción de las células. Esta acumulación de H_2O_2 puede causar un daño celular a través de la oxidación de las proteínas, los lípidos, los carbohidratos y los ácidos nucleicos; al contribuir en el desarrollo y la progresión de enfermedades degenerativas y metabólicas como la diabetes mellitus. Al subir la concentración de la glucosa en la sangre, se presenta un incremento en la concentración del H_2O_2 , que intensifica los procesos oxidantes que están ligados a la patogénesis, la progresión y las complicaciones de la diabetes mellitus.

Palabras clave: peróxido de hidrógeno, especies reactivas del oxígeno, señalización redox, diabetes, estrés oxidante.

Role of hydrogen peroxide (H_2O_2) as a redox signaling molecule and in the diabetes mellitus-related oxidative stress

ABSTRACT

Cellular metabolism is a constant source of reactive oxygen species (ROS). The production of hydrogen peroxide (H_2O_2) is particularly relevant, due to its role in cellular physiology. H_2O_2 can act as a classical intracellular signaling molecule in several processes like cell proliferation, hormone synthesis and secretion, immune cell regulation, angiogenesis, and apoptosis. However, H_2O_2 overproduction and accumulation, derived from increased mitochondrial electron transport chain activity, glucose autoxidation, and increased polyol flux, contribute to an imbalance in the redox state of the cells. High concentration of H_2O_2 induces cellular dysfunction through oxidation of macromolecules like proteins, lipids, carbohydrates and nucleic acids. H_2O_2 -induced oxidative damage can contribute to the development and progression of degenerative diseases such as diabetes mellitus. Indeed, chronic hyperglycemia has been shown to cause an increased H_2O_2 concentration and oxidative damage that contribute to the pathogenesis and progression of diabetes complications.

Keywords: hydrogen peroxide, reactive oxygen species, redox signaling, Diabetes, oxidative stress.

INTRODUCCIÓN

Los organismos han desarrollado evolutivamente un metabolismo celular que involucra muchas reacciones de óxido-reducción, y algunas de estas reacciones pueden formar agentes oxidantes como las especies reactivas de oxígeno (ROS). Estas especies reactivas, desempeñan funciones fisiológicas esenciales para el desarrollo normal de las células, siendo el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) una de las principales ROS que tiene importancia en diversos procesos celulares incluyendo el crecimiento, la diferenciación, la proliferación y la muerte celular (Sies, 2014). Aunque se reconoce la importancia del H_2O_2 en la fisiología celular, se le ubica más por sus efectos citotóxicos cuando existe un distrés oxidante. La concentración del H_2O_2 puede aumentar a consecuencia de lesiones, reacciones inflamatorias, enfermedades crónicas y por el envejecimiento, al generar un estado pro-oxidante este conduce a la progresión del daño celular, a través de la oxidación de las macromoléculas como las proteínas, los lípidos, los carbohidratos y los ácidos nucleicos, modificando su estructura y su función (Rani, Deep, Singh, Palle & Yadav, 2016). De esta manera el H_2O_2 contribuye al desarrollo y la progresión de enfermedades degenerativas y metabólicas como la diabetes mellitus. En esta revisión se presenta un panorama general de las propiedades químicas de este compuesto, así como sus principales fuentes de producción endógena y su función dentro de la fisiología celular; además de un análisis sobre su participación en el desarrollo del estrés oxidante y su contribución a la fisiopatología de la diabetes.

PRODUCCIÓN DE H_2O_2 EN LAS CÉLULAS

El H_2O_2 es el más simple de los peróxidos de la familia de los compuestos químicos cuya principal característica es la formación de un enlace covalente único entre los dos átomos de oxígeno. En condiciones fisiológicas el anión superóxido (O_2^-), junto con el H_2O_2 constituyen la mayoría de las ROS producidas de manera endógena, donde este último se genera por la dismutación del primero, tanto espontánea como a través de reacciones enzimáticas (McCord & Fridovich, 1969; Okado-Matsumoto & Fridovich, 2001) y también como un subproducto de la química redox del metabolismo celular.

Las principales fuentes generadoras del H_2O_2 en las células se describen a continuación:

a) *Mitocondria*: En la cadena transportadora de electrones acoplada a la fosforilación oxidativa se puede formar O_2^- , producto de la reducción de un electrón de O_2 , y dismutar a H_2O_2 . Para la síntesis de ATP, se requiere de un flujo de electrones que pasan a lo largo de una serie de complejos proteicos (I-IV) ubicados en la membrana mitocondrial interna, conocidos como la cadena transportadora de electrones. Si bien es cierto que en el paso final de la cadena transportadora de electrones en el complejo IV la citocromo *c* oxidasa garantiza

la reducción completa del O_2 en H_2O sin la producción de las ROS, también sucede que durante el transporte de electrones entre los complejos se presente la fuga de estos al pasar a través de ella con una reducción parcial del O_2 , y se produzca O_2^- principalmente en los complejos I y III. En el complejo I, el O_2^- es liberado hacia la matriz mitocondrial y se dismuta en H_2O_2 por acción de la enzima Mn-superóxido dismutasa (SOD2) (Gregory, Yost & Fridovich, 1973; Okado-Matsumoto & Fridovich, 2001; Palma *et al.*, 2020). Mientras que el O_2^- generado en el complejo III se puede liberar tanto en la matriz mitocondrial como en el espacio intermembranal, donde es dismutado en H_2O_2 por la Cu/Zn-superóxido dismutasa (SOD1) (Gregory *et al.*, 1973; Juarez *et al.*, 2008; Okado-Matsumoto & Fridovich, 2001). Aunado a este proceso, existen otras fuentes de H_2O_2 dentro de la mitocondria, como la enzima redox p66^{Sch} (Giorgio *et al.*, 2005), la NADPH oxidasa 4 (NOX4) (Martyn, Frederick, von Loehneysen, Dinauer & Knaus, 2006) y durante el proceso de la β -oxidación (Rosca *et al.*, 2012) (Figura 1).

b) *Retículo endoplasmático (RE)*: El RE es el principal orgánulo responsable del plegamiento de las proteínas recién formadas. Dentro de este proceso se requiere de la maquinaria de plegamiento de las proteínas, siendo la proteína disulfuro isomerasa (PDI) una de las principales encargadas de efectuarlo. La PDI actúa a través de motivos redox-activos del tipo tiorredoxina (CXXC) para formar enlaces disulfuros nativos (S-S), que por una transferencia de electrones se reduce el motivo y se oxida el sustrato (Lyles & Gilbert, 1994). La PDI debe ser oxidada nuevamente para continuar con su función, acción que lleva a cabo la RE oxidorreductina 1 (ERO1) (Fränd & Kaiser, 1999), una proteína que une un FAD⁺ (flavín adenín dinucleótido oxidado) en su sitio activo, lo que reduce el O_2 a H_2O_2 (Gross *et al.*, 2006). Debido a esto, se ha sugerido que la actividad de la ERO1 puede desencadenar la sobreproducción de H_2O_2 si ocurre un exceso en el plegamiento de proteínas dentro del RE. Otro mecanismo generador de H_2O_2 dentro del RE es el sistema de la monooxigenasa que contiene al complejo citocromo P450, el principal responsable de realizar la oxidación metabólica de los xenobióticos (Xbs) (Manikandan & Nagini, 2018). En esta oxidación de los sustratos, se puede presentar una fuga de electrones, que se unen al O_2 , para dar lugar a la formación del O_2^- y de H_2O_2 (Bondy & Naderi, 1994; Mishin, Heck, Laskin & Laskin, 2014) (Figura 1).

c) *Peroxisomas*: Los peroxisomas son orgánulos en los que se llevan a cabo diferentes reacciones de oxidación como la degradación de los ácidos grasos (β -oxidación), la biosíntesis del colesterol y el metabolismo de los aminoácidos y de las purinas (Okumoto, Tamura, Honsho & Fujiki, 2020). Durante la β -oxidación de los ácidos grasos en los peroxisomas los electrones liberados de varios metabolitos conducen a la reducción parcial del O_2 a H_2O_2 que posteriormente se reduce a H_2O (Elsner, Gehrmann & Lenzen, 2011). Dentro del peroxisoma la producción del H_2O_2 se debe a las enzimas D-amino oxidasa,

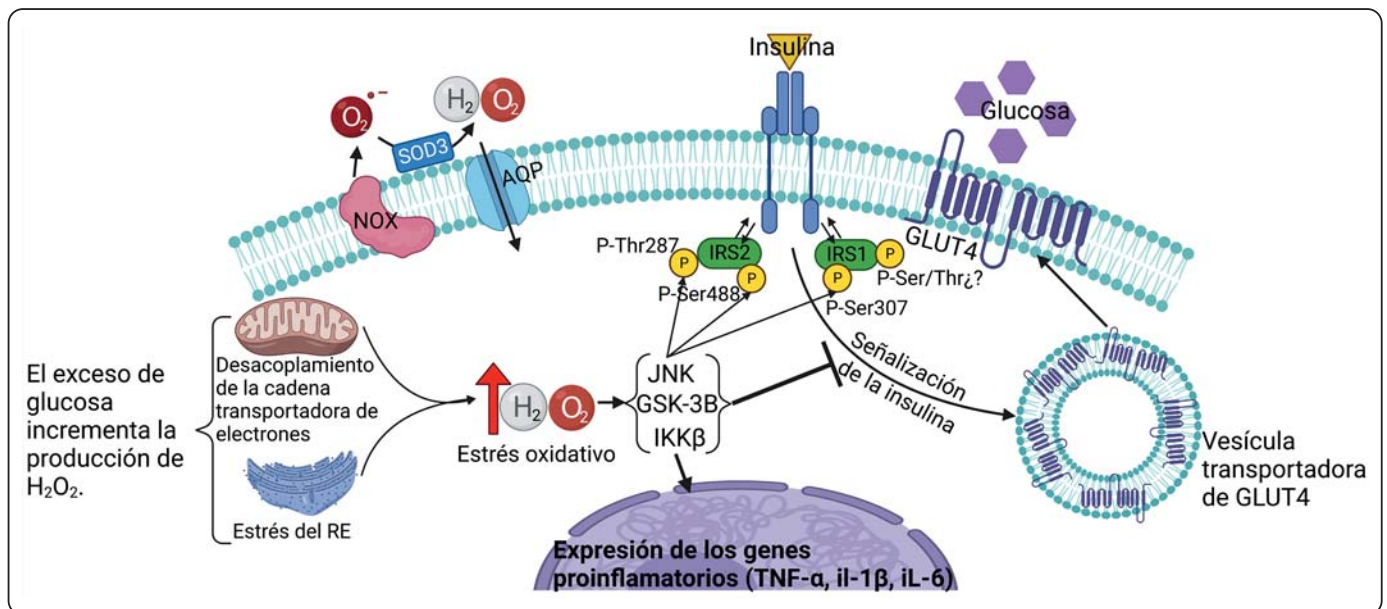


Figura 1. Principales fuentes celulares productoras de H₂O₂ y mecanismo propuesto de la resistencia a la insulina mediada por el H₂O₂ en la diabetes. La hiperglicemia incrementa la producción de H₂O₂ por la mitocondria, el retículo endoplasmático y las NOX, e induce estrés oxidante. El H₂O₂ recluta y facilita la activación de serina/treonina cinasas como la JNK, IKKβ, y la GSK-3β; que interfieren directamente con la señalización de la insulina, mediante la fosforilación de los residuos de serina/treonina específicos de la IRS-1 y 2 se inhibe su vía de señalización e interrumpe el transporte de las vesículas portadoras de GLUT4 a las membranas celulares. Además, estas cinasas también inducen a la expresión de las citocinas proinflamatorias que a su vez incrementan la producción de H₂O₂, formando un bucle de retroalimentación que mantiene esta resistencia a la insulina en las células (Solinas & Karin, 2010; Henriksen, Diamond-Stanic & Marchionne, 2011). Figura creada con biorender.com.

Acil-CoA oxidasa y L-α-hidroxiácido oxidasa (Asayama, Yokota & Kato, 1991).

d) *Membranas celulares (NADPH oxidasas)*: Las proteínas NADPH-oxidasas (NOX) son una familia de enzimas transmembranales constituida por NOX 1-5, DUOX1 y DUOX2, cuya principal función es ser generadoras de ROS útiles en la defensa del huésped y en la señalización redox (Panday, Sahoo, Osorio & Batra, 2015). En particular, la enzima NOX4, que está principalmente en las membranas plasmática y del RE (Zhang *et al.*, 2011). En general, las NOX producen O₂⁻ mediante el uso de NADPH como donadores de electrones para la reducción parcial del O₂; sin embargo, a diferencia del resto, la NOX4 produce H₂O₂ en lugar de O₂⁻, a través de un residuo de arginina muy conservado en su bucle extracitosólico que sirve como fuente de protones para acelerar la dismutación espontánea del O₂⁻ a H₂O₂ (Nisimoto, Diebold, Constantino-Gomes & Lambeth, 2014; von Löhneysen, Noack, Hayes, Friedmann & Knaus, 2012) (Figura 1).

FUNCIONES FISIOLÓGICAS REGULADAS POR LA SEÑALIZACIÓN REDOX DEL H₂O₂

El H₂O₂ es una ROS que participa en varios procesos fisiológicos celulares y esto lo convierte en la principal ROS señalizadora en la fisiología de la célula. Su estructura le confiere cierta

estabilidad en comparación con otras ROS como el O₂⁻, cuyo tiempo de vida medio es de aproximadamente de 1 ns (Zang & Misra, 1992), mientras que la vida media del H₂O₂ es de 1 μs a 1 ms (Lim, Huang, Deen & Sikes, 2015). Por otro lado, al ser las membranas celulares permeables al H₂O₂ se difunde fácilmente a través de éstas (Laporte, Lortz, Schaal, Lenzen & Elsner, 2020) y es transportado mediante acuaporinas especializadas conocidas como peroxiporinas (Bienert *et al.*, 2007). Cabe aclarar que las respuestas celulares desencadenadas por el H₂O₂ dependen de los niveles de concentración en los que éste se encuentre (Figura 2), de su síntesis, además de la localización o compartimento celular donde se esté generando para dar así una respuesta específica en un determinado proceso celular (Tabla I), así como del tipo celular (Tabla II).

A continuación, se presentan algunos ejemplos de la importancia fisiológica que tiene el H₂O₂ como molécula señalizadora y su participación en algunos procesos celulares:

a) *Modificaciones postraduccionales de proteínas relacionadas con el H₂O₂*. El H₂O₂ modifica el plegamiento de las proteínas en el RE, lo que provoca cambios reversibles en los residuos tiol de algunas cisteínas, formando uniones disulfuro intra o inter moleculares (Zito *et al.*, 2010). El H₂O₂ también induce otras modificaciones postraduccionales como las sulfenilaciones

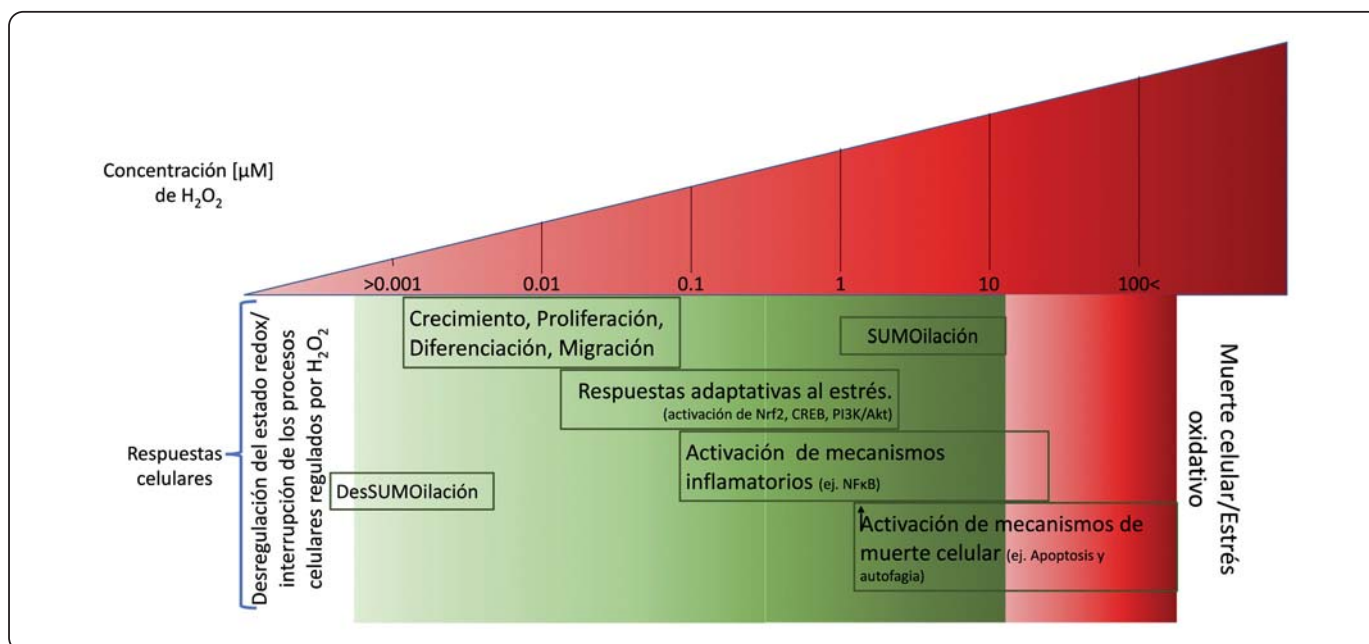


Figura 2. Respuestas celulares dependientes de la concentración de H₂O₂. Se muestran en el triángulo rojo los intervalos de concentraciones crecientes del H₂O₂ y debajo de este, las respuestas celulares obtenidas dependiendo de la concentración intracelular del H₂O₂. La coloración verde y roja denota respuestas beneficiosas o perjudiciales, respectivamente. La Figura es de creatividad personal.

y sulfonaciones de las cisteínas que son particularmente reactivas en algunas proteínas como las peroxirredoxinas (Lo Conte & Carroll, 2013; Peskin *et al.*, 2013) y el sulfóxido de metionina (Levine, Berlett, Moskovitz, Mosoni & Stadtman, 1999) Además, el H₂O₂ desempeña un papel importante en la regulación del proceso de SUMOilación en una gran variedad de células. Una concentración superior a 100 mM de H₂O₂ se relacionan con un aumento en la SUMOilación de las proteínas, lo que propicia la degradación de estas; mientras que concentraciones menores (1 mM), inducen la desSUMOilación de proteínas, lo que disminuye su degradación (Bossis & Melchior, 2006).

b) *Participación del H₂O₂ en las vías de señalización del crecimiento, proliferación y diferenciación celular.* Actualmente se tiene evidencia de que varios factores de crecimiento y citocinas, como el PDGF, el EGF, la insulina, el FGF, el TGF-β, la angiotensina II y el TNF-α aumentan la concentración intracelular del H₂O₂ en sus células blanco (Bae *et al.*, 1997; Juarez *et al.*, 2008; Kamata *et al.*, 2005; Storozhevkyh, Senilova, Persiyantseva, Pinelis & Pomytkin, 2007; Thannickal, Hassoun, White & Fanburg, 1993; Tyurin-Kuzmin *et al.*, 2016; Zafari *et al.*, 1998). En estas células blanco, el H₂O₂ inhibe a las principales fosfatasa que participan en la prolongación de la señalización de los receptores estimulados por los respectivos factores de crecimiento (Bae *et al.*, 2000; Juarez *et al.*, 2008). Por ejemplo, en la mitocondria se ha observado que la enzima p66^{S^{ch}} produce H₂O₂ lo cual favorece la respuesta de las células

al efecto mitogénico de los factores de crecimiento, al facilitar la activación de la Ras (Trinei *et al.*, 2002). Otro ejemplo de la participación del H₂O₂ en los procesos de proliferación celular es en la angiogénesis. La administración de concentraciones superiores a 0.5 mM del H₂O₂ aumentan la expresión del factor de transcripción inducible por hipoxia 1 α (HIF-1α) (Jung *et al.*, 2008). Además el H₂O₂ incrementa la expresión del VEGF y promueve la migración y la proliferación de las células HUVECs (Kim *et al.*, 2017)

c) *Participación del H₂O₂ en la activación de las vías de supervivencia celular.* Se ha observado que el H₂O₂ participa en la modulación de la acción de algunos factores de transcripción tales como AP-1, Nrf-2, CREB, HSF1, HIF-1, NF-κB, y NOTCH. Éstos a su vez regulan la expresión de las moléculas que participan en los procesos celulares de respuesta a diferentes tipos de estrés y de supervivencia celular, aunque aún no están del todo claros los mecanismos exactos de cómo el H₂O₂ provoca la actividad de estos factores de transcripción (Marinho, Real, Cyrne, Soares & Antunes, 2014). Por otro lado, el H₂O₂ producido por la NOX4 localizada en la membrana del RE activa la vía de señalización de Ras a través del flujo de salida del Ca²⁺ en el RE debido a la oxidación de la ATPasa de Ca²⁺ (Wu *et al.*, 2017). Lo que podría estar relacionado con las vías de señalización de Ras y de Raf, MAPK, Keap1-Nrf-2 y PI3K/Akt, que participan en la proliferación, diferenciación y supervivencia celular (Basuroy, Tcheranova, Bhattacharya, Leffler, & Parfenova, 2011; Nlandu-Khodo *et al.*, 2016).

Tabla I. Funciones del H₂O₂ en diferentes orgánulos celulares.

Orgánulo	Función	Referencias
Mitocondria	Regulación de la apoptosis, autofagia, defensas antioxidantes e hipoxia.	(Shadel & Horvath, 2015; Stein, Moon, Nguyen & Sikes, 2020)
Retículo Endoplásmico	Plegamiento oxidante de las proteínas, Activación de las vías de proliferación.	(Boveris, Oshino & Chance, 1972; Konno <i>et al.</i> , 2021)
Peroxisoma	Regulación y activación de la autofagia.	(Boveris <i>et al.</i> , 1972; Konno <i>et al.</i> , 2021)
Citosol	Regulación de la SUMOilación. Activación de las vías de supervivencia, diferenciación y proliferación.	(Lyublinskaya & Antunes, 2019)

Tabla II. Funciones del H₂O₂ en diferentes tipos celulares y tejidos.

Célula o tejido	Especie	Función	Referencias
Macrófagos	Rata	Actividad de NOX, inflamación.	(Torres & Forman, 1999)
Hepatocito H4IIEC		Estimula la fosforilación de Akt mediada por la insulina.	(Iwakami <i>et al.</i> , 2011)
Plasma sanguíneo	Humano	Actúa como sensor y señalizador.	(van der Vliet, Hu, O'Neill, Cross & Halliwell, 1994)
Adiposo marrón	Rata	Facilita la señalización de la insulina.	(de Piña <i>et al.</i> , 2008; Mahadev, Zilbering, Zhu & Goldstein, 2001)
Hígado	Rata	Inducción de la producción de hepcidina.	(Dee Harrison-Findik & Lu, 2015)
Músculo liso	Rata	Facilita la activación de MAPK por Angiotensina II.	(Zafari <i>et al.</i> , 1998)

d) *Participación del H₂O₂ en la modulación de la respuesta inmune e inflamación.* De manera específica en las células inmunes la NOX2 es indispensables para la formación tanto del O₂⁻ como del H₂O₂, que participan en la defensa del huésped mediante una acción prooxidante, y en el caso del H₂O₂, al ser un mensajero, facilita el reclutamiento de las células inmunes como los macrófagos y los neutrófilos (Niethammer, Grabher, Look & Mitchison, 2009). Aunado a esto, el H₂O₂ induce una respuesta inflamatoria al inducir la degradación de IκBα, que resulta en la activación de la vía inflamatoria regulada por NF-κB (Schoonbroodt *et al.*, 2000). Además, el H₂O₂ lleva a cabo la liberación de la proteína del grupo 1 de alta movilidad en los macrófagos, y amplifica los estímulos proinflamatorios y/o la modulación de la expresión de las moléculas de adhesión de los leucocitos, así como la activación de las metaloproteasas de matriz (MMP), que degradan a la matriz y a los receptores de la superficie de las células endoteliales de sus uniones celulares y facilitan la migración transendotelial de los leucocitos (Cook-Mills, 2006).

e) *Participación del H₂O₂ en la señalización de las vías de la autofagia y la apoptosis.* Las ROS producidas en los peroxisomas dan lugar a la autofagia selectiva de los propios peroxisomas

como un mecanismo dirigido para el control de la calidad de la función del orgánulo (Lee *et al.*, 2018). Además, el H₂O₂ peroxisomal contribuye a la transformación de las células en células senescentes y provoca su muerte por apoptosis (Caldini, Chevanne, Mocali, Tombaccini, & Paoletti, 1998; Duan, Duan, Zhang & Tong, 2005). En la mitocondria, se ha observado que el H₂O₂ generado por la enzima p66^{Sch} desencadena mecanismos asociados a la inflamación y a la apoptosis cuyo resultado es el recambio mitocondrial (Trinei *et al.*, 2002). Se ha observado que los niveles elevados de H₂O₂ en la célula activan a p53 (Sablina *et al.*, 2005), reducen la actividad de la catalasa por desfosforilación (Cao, Leng & Kufe, 2003a) o ubiquitinación (Cao *et al.*, 2003b) y activan a la caspasa 9 e inducen la apoptosis (Yamakawa *et al.*, 2000).

EL H₂O₂ Y EL ESTRÉS OXIDANTE

El aumento exacerbado en la formación y acumulación de las ROS, ya sea por un exceso en la producción de éstas o por una anomalía en los mecanismos encargados de su eliminación, genera un desequilibrio en el estado de óxido-reducción de las células. Durante este desequilibrio conocido como “distrés oxidante” la tasa de producción de ROS es mayor a la de su eliminación, por consiguiente el grado de estrés de una célula

es directamente proporcional a la tasa que está produciendo principalmente el O_2^{\bullet} y el H_2O_2 (Rani *et al.*, 2016). Este incremento inusual en la concentración de H_2O_2 , puede ocurrir cuando hay cambios fisiológicos como el envejecimiento, con una disminución paulatina en la eficiencia de los mecanismos antioxidantes (Angoa-Pérez & Rivas-Arancibia, 2007). También los factores externos como la exposición a contaminantes, los rayos ultravioleta y otros agentes tóxicos (Al-Gubory, 2014), así como el consumo de tabaco y una dieta alta en grasas (Block *et al.*, 2002; Vincent & Taylor, 2006), influyen de manera directa en una formación anómala de las ROS, lo que supera fácilmente la capacidad antioxidante celular. En condiciones patológicas se puede presentar un estado de estrés oxidante agudo o crónico. El estado de estrés oxidante crónico ha sido descrito en patologías degenerativas de tipo infeccioso e inmune, así como en el cáncer (Meira *et al.*, 2008), en enfermedades neurodegenerativas (ej. enfermedad de Alzheimer) (Manczak *et al.*, 2010) y las enfermedades metabólicas (ej. diabetes) (Gillani *et al.*, 2016). Entre las causas del estado de estrés oxidante crónico se encuentran el estado nutricional del organismo, los procesos inflamatorios, la inhibición de los factores genéticos que codifican sistemas antioxidantes, y las fallas en los sensores intracelulares del H_2O_2 (Sharifi-Rad *et al.*, 2020).

Una de las principales consecuencias del incremento del H_2O_2 es la producción de uno de los oxidantes más potentes de la naturaleza: el radical hidroxilo ($\bullet OH$) que afecta al ADN nuclear y principalmente al mitocondrial (Giulivi, Boveris & Cadenas, 1995; Halliwell, Adhikary, Dingfelder & Dizdaroglu, 2021). En conjunto, el H_2O_2 , el radical hidroxilo ($\bullet OH$) y otras ROS causan daño oxidante a las macromoléculas, con relevancia en la oxidación de las proteínas cuyas modificaciones son irreversibles al presentar puentes disulfuro en los residuos de cisteína, la carbonilación en los residuos de prolina, arginina y lisina, la ruptura de enlaces peptídicos, la formación de enlaces proteína-proteína y la S-nitrosilación (Berlett & Stadtman, 1997). Las modificaciones se encuentran asociadas con la pérdida de la estructura y la función de las proteínas, que en consecuencia incentivan su eliminación o propician su acumulación dentro de la célula (Berlett & Stadtman, 1997). El aumento en la producción de H_2O_2 daña al ADN, lo que conduce a la activación de la enzima reparadora PARP, que consume NAD^+ y reduce el NADH disponible para el funcionamiento del complejo I e inhibe al transportador de glucosa limitando la disponibilidad de los sustratos para las mitocondrias (Pirinen *et al.*, 2014).

EL H_2O_2 Y EL ESTRÉS OXIDANTE EN LA DIABETES

La diabetes mellitus (DM) se define como un grupo de enfermedades metabólicas crónico degenerativas, caracterizadas por una hiperglucemia causada por alteraciones en la secreción y/o acción de la insulina. En general, la diabetes puede llevar a afecciones crónicas que diezman la calidad de vida de los pacientes. Dentro de estas complicaciones crónicas se encuentran las alteraciones en el sistema nervioso como

la retinopatía (Teo *et al.*, 2021), las neuropatías periféricas y autonómicas (Feldman *et al.*, 2019), las enfermedades vasculares (Sarwar *et al.*, 2010), y el deterioro cognitivo (Lacy *et al.*, 2022). La diabetes supone un factor de riesgo de 1.25 a 1.91 veces mayor a padecer algún tipo de demencia (Xue *et al.*, 2019) y se ha visto asociada a la progresión de enfermedades neurodegenerativas como la de Alzheimer (Norton, Matthews, Barnes, Yaffe & Brayne, 2014). Entre los mecanismos asociados al desarrollo de estas complicaciones se encuentra un aumento del estrés oxidante producto de la hiperglicemia en los pacientes diabéticos (Figura 3). Algunos de los marcadores del estrés oxidante más comunes como la peroxidación lipídica, la glicosilación y la nitrosilación de las proteínas que han sido ampliamente reportados en muestras de plasma, suero y orina de pacientes diabéticos (Adeshara, Bangar, Diwan & Tupe, 2022; Yoshino *et al.*, 2009) (Tabla III).

La hiperglicemia que acompaña a la diabetes, puede dañar a los vasos sanguíneos, los nervios y los órganos que éstos irrigan. El aumento en los niveles de glucosa en la circulación incrementa la formación de H_2O_2 producto del desacoplamiento de la cadena transportadora de electrones (Silva-Rodrigues *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2021). Además, la acumulación de glucosa en las células puede activar la vía de los polioles, en la que actúa la enzima aldosa reductasa que cataliza la reducción de la glucosa en sorbitol al usar NADPH, y el resultado es un aumento en el $NADP^+$ y en la producción de O_2^{\bullet} y H_2O_2 , eventos conocidos como pseudohipoxia inducida por hiperglicemia (Ellis, Guberski, Somogy-Mann & Grant, 2000). La consecuente baja disponibilidad del NADPH disminuye su uso en el sistema glutatión peroxidasa-glutatión reductasa y suprime uno de los mecanismos antioxidantes más importantes de las células. Además el exceso de sorbitol producido por la hiperglicemia aumenta la generación de DAG y estimula la vía de la PKC (Ramana *et al.*, 2005; Xia *et al.*, 1994). La activación de la PKC acrecienta la formación ROS tras la activación de las enzimas NOX (Inoguchi *et al.*, 2000). Por otro lado, la glucosa se auto-oxida, lo que genera compuestos reactivos como el glicoxal, el metilglicoxal y la deoxyglucosona, que reaccionan con los grupos amino de las proteínas formando productos finales de glicosilación avanzada (AGEs) (Thornalley, Langborg & Minhas, 1999). Los AGEs señalizan a través de su receptor (RAGE) (Yao & Brownlee, 2009) y activan las vías de la PKC (Cai *et al.*, 2010), la JNK (Chen *et al.*, 2016) y las metaloproteasas de la matriz extracelular (MMP) (Jeong, Park, Kim & Lee, 2020), lo que en consecuencia produce más ROS y daña a las células.

El H_2O_2 puede actuar tanto positiva como negativamente en la señalización de la insulina. En hepatocitos, un rango de entre 5 a 10 μM del H_2O_2 promueve la señalización de la insulina a través de la vía de Akt (Iwakami *et al.*, 2011). En células del músculo esquelético la generación del H_2O_2 en un rango de entre 60 a 90 μM incrementan la fosforilación

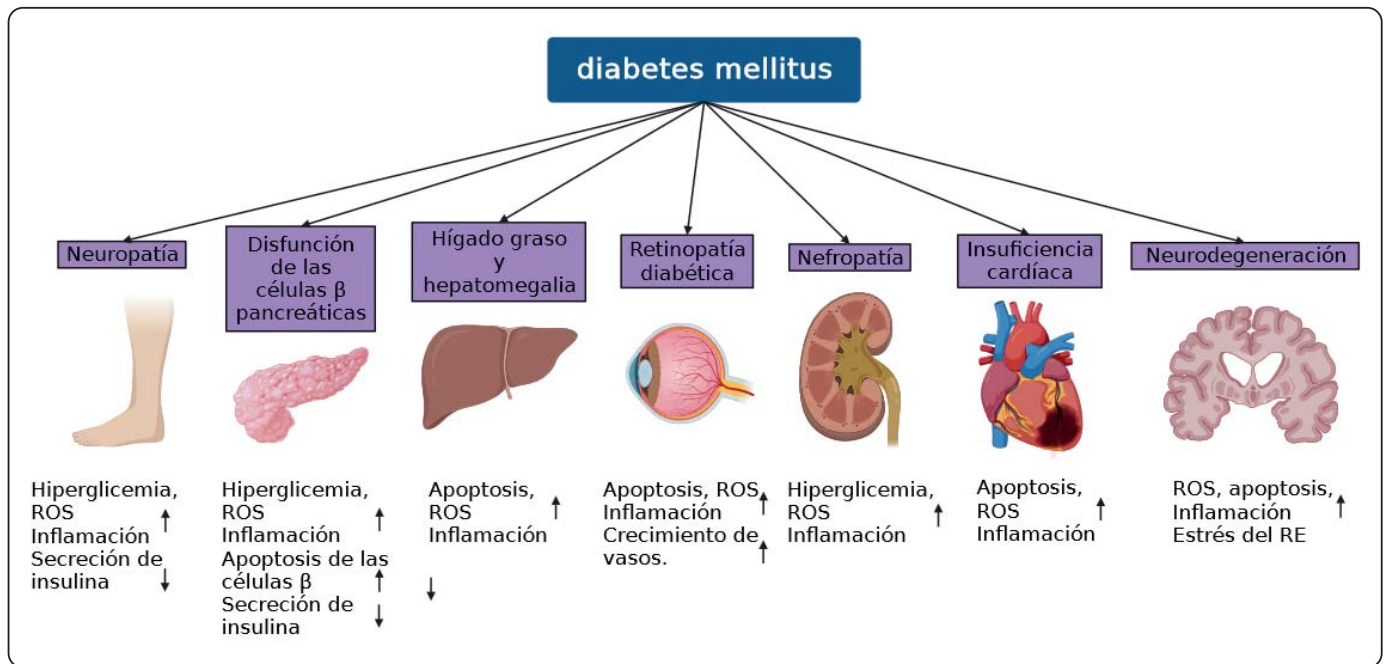


Figura 3. Complicaciones de la diabetes inducidas por un estrés oxidante. Modificado de (Qayyum, Haseeb, Kim & Choi, 2021). Figura creada con biorender.com.

del receptor de la insulina a través de las vías de PI3K/Akt y p38 MAPK, lo que conduce a un aumento del transporte de la glucosa (Kim, Saengsirisuwan, Sloniger, Teachey & Henriksen, 2006). Por otro lado, una acumulación mayor del H₂O₂ disminuye la fosforilación de Akt estimulada por la insulina y propicia el desarrollo de la resistencia a la misma tanto en hepatocitos (Iwakami *et al.*, 2011) como en células del músculo esquelético (Diamond-Stanic *et al.*, 2011). Aunque los mecanismos moleculares que controlan estas acciones duales del H₂O₂ aún no se entienden del todo, se piensa que antagoniza la señalización de la insulina por medio del reclutamiento de varias serina/treonina cinasas como la JNK, IKKβ, y la GSK-3β (glucógeno sintasa cinasa 3β), que llevan a la fosforilación de IRS-1 y 2, conduciendo a un desacoplamiento de la activación del receptor de insulina y de su señalización descendente, ocurriendo así la resistencia a la misma, además de fomentar la expresión de las citocinas proinflamatorias (Dokken, Saengsirisuwan, Kim, Teachey & Henriksen, 2008; Iwakami *et al.*, 2011; Santos, Diamond-Stanic, Prasannarong & Henriksen, 2012). (Figura 1)

Por otra parte, la sobreproducción de H₂O₂ que ocurre en la diabetes, también aumenta la vulnerabilidad de las células β pancreáticas a la lipotoxicidad mediada por el H₂O₂ y agrava esta enfermedad. La lipotoxicidad es causada por la formación de ácidos grasos no esterificados (NEFA), a partir de la oxidación causada por el H₂O₂ de los ácidos grasos de cadena larga como el ácido palmítico y el ácido esteárico en los peroxisomas y las mitocondrias, que contribuyen a la disfunción y la muerte

celular. La expresión de la catalasa se encuentra ausente en los peroxisomas de las células β pancreáticas, e impiden la eliminación del exceso de H₂O₂, favoreciendo la formación de los NEFA en estas células (Elsner *et al.*, 2011).

En los últimos años, derivado de los hallazgos anteriormente descritos, ha tomado relevancia la inhibición de la formación de las ROS intracelulares como una estrategia terapéutica para prevenir y tratar las complicaciones relacionadas con la diabetes (Figura 3). Se han utilizado antioxidantes como suplementos para prevenir dichas complicaciones a largo plazo en ensayos clínicos con pacientes diabéticos, siendo algunos ejemplos la vitamina E (Milman *et al.*, 2008; Park & Choi, 2002), la vitamina C (Neri *et al.*, 2005), la coenzima Q10 (Palacka *et al.*, 2010), el ácido alfa lipoico (Gianturco *et al.*, 2009) y la L-carnitina (Malaguarnera *et al.*, 2009). Sin embargo, la evidencia es contradictoria, ya que en algunos estudios en pacientes con diabetes tipo II, se reportan beneficios en algunos parámetros y en marcadores de estrés oxidante, pero en otros, no hay mejoría en el control glucémico o reducción en la progresión de las complicaciones diabéticas, además de que se puede presentar un daño mayor (Golbidi, Ebadi & Laher, 2011).

CONCLUSIONES

Es claro que el H₂O₂ desempeña un papel importante tanto en los procesos fisiológicos como patológicos, debido a la capacidad que posee para activar y/o desactivar una gran variedad de receptores, proteínas y las cascadas de señalización. Aunque hay avances importantes acerca de los mecanismos a

Tabla III. Estudios clínicos sobre marcadores circulantes de estrés oxidante y sistemas de defensa antioxidante en pacientes con diabetes tipo 2 (DM2).

Grupos	Muestra	Marcadores	Observaciones
DM2 Control	Plasma y eritrocitos	Proteínas carboniladas TBARS FRAP GSH, CAT	↑Proteínas carboniladas en DM2 y ↑ TBARS mayor en DM2 en comparación con el grupo control. ↓ FRAP, GSH y CAT en DM2 en comparación con el grupo control.
DM2 con pobre control glucémico DM2 con buen control glucémico	Plasma	MDA Proteína carbonilada FRAP SOD	↑MDA y residuos de carbonilo en DM2 con pobre control glucémico en comparación con el grupo DM2 controlado. ↓ FRAP en DM2 con pobre control glucémico en comparación con el DM2 bien controlado. ↑ SOD en el grupo DM2 no controlado en comparación con el grupo bien controlado.
DM2 con nefropatía DM2 sin nefropatía Control	Orina	8-OHdG	↑ 8-OHdG en DM2 con y sin nefropatía en comparación con el grupo control. No hubo diferencias entre DM2 con o sin nefropatía.
DM2 con buen control glucémico DM2 con pobre control glucémico Control	Suero	MDA	↑ MDA en el grupo DM2 con pobre control glucémico en comparación con el grupo con buen control glucémico y el grupo control de voluntarios sanos.
DM2 con complicaciones microvasculares DM2 con complicaciones macrovasculares DM2 sin complicaciones	Suero	AGEs Proteínas carboniladas MDA AOPP	↑MDA, proteínas carboniladas, AOPP y AGEs en DM2 con complicaciones micro y macrovasculares en comparación con el grupo DM2 sin complicaciones.

TBARS: Sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico, FRAP: Capacidad reductora férrica del plasma, GSH: Glutacion reducido, MDA: Malondialdehído, AOPP: productos de proteína de oxidación avanzada, 8-OHdG: 8-hydroxi-2'-desoxiguanosina. Tabla modificada de (Bigagli & Lodovici, 2019).

través de los que el H₂O₂ influye en las vías de señalización y la interacción establecida con ellas, aún queda mucho por conocer sobre estas vías, concretamente en las condiciones de estrés oxidante crónico como ocurre en la diabetes. El papel dual del H₂O₂ representa un gran desafío en el desarrollo de terapias antioxidantes, que en el futuro cercano se deberá de buscar que estén enfocadas en la supresión selectiva de la fuente de las ROS excesivas; por ejemplo, controlar la producción orgánulo-específicas del H₂O₂, encontrar factores endógenos que sean capaces de estimular a los mecanismos antioxidantes fisiológicos o intervenir e interrumpir las vías de señalización asociadas con la progresión del daño oxidante.

AGRADECIMIENTOS

Miriam Ulloa es estudiante del Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y esta becada por el CONAHCYT (773695).

Financiamiento: Este trabajo ha sido financiado por el PAPIIT-IN201621.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

REFERENCIAS

Adehara, K. A., Bangar, N., Diwan, A. G. & Tupe, R. S. (2022). Plasma glycation adducts and various RAGE isoforms are intricately associated with oxidative stress and inflammatory markers in type 2 diabetes patients with vascular complications. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, **16**(3), 102441. DOI: 10.1016/j.dsx.2022.102441

Al-Gubory, K. H. (2014). Environmental pollutants and lifestyle factors induce oxidative stress and poor prenatal development. *Reproductive BioMedicine Online*, **29**(1), 17–31. DOI: 10.1016/j.rbmo.2014.03.002

Angoa-Pérez, M. & Rivas-Arancibia, S. (2007). Estrés oxidativo y neurodegeneración: ¿causa o consecuencia? *Archivos de Neurociencia*, **12**(1), 45–54.

Asayama, K., Yokota, S. & Kato, K. (1991). Peroxisomal oxidases in various tissues of diabetic rats. *Diabetes*

- Research and Clinical Practice*, **11(2)**, 89–94. DOI: 10.1016/0168-8227(91)90096-v.
- Bae, Y. S., Kang, S. W., Seo, M. S., Baines, I. C., Tekle, E., Chock, P. B. & Rhee, S. G. (1997). Epidermal growth factor (EGF)-induced generation of hydrogen peroxide. Role in EGF receptor-mediated tyrosine phosphorylation. *The Journal of Biological Chemistry*, **272(1)**, 217–221. DOI: 10.1074/jbc.272.1.217.
- Bae, Y. S., Sung, J. Y., Kim, O. S., Kim, Y. J., Hur, K. C., Kazlauskas, A. & Rhee, S. G. (2000). Platelet-derived growth factor-induced H₂O₂ production requires the activation of phosphatidylinositol 3-kinase. *The Journal of Biological Chemistry*, **275(14)**, 10527–10531. DOI: 10.1074/jbc.275.14.10527.
- Basuroy, S., Tcheranova, D., Bhattacharya, S., Leffler, C. W. & Parfenova, H. (2011). Nox4 NADPH oxidase-derived reactive oxygen species, via endogenous carbon monoxide, promote survival of brain endothelial cells during TNF- α -induced apoptosis. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, **300(2)**, C256-265. DOI: 10.1152/ajpcell.00272.2010.
- Berlett, B. S. & Stadtman, E. R. (1997). Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *The Journal of Biological Chemistry*, **272(33)**, 20313–20316. DOI: 10.1074/jbc.272.33.20313.
- Bienert, G. P., Møller, A. L. B., Kristiansen, K. A., Schulz, A., Møller, I. M., Schjoerring, J. K. & Jahn, T. P. (2007). Specific aquaporins facilitate the diffusion of hydrogen peroxide across membranes. *The Journal of Biological Chemistry*, **282(2)**, 1183–1192. DOI: 10.1074/jbc.M603761200.
- Bigagli, E. & Lodovici, M. (2019). Circulating Oxidative Stress Biomarkers in Clinical Studies on Type 2 Diabetes and Its Complications. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2019**, 1–17. DOI: 10.1155/2019/5953685.
- Block, G., Dietrich, M., Norkus, E. P., Morrow, J. D., Hudes, M., Caan, B. & Packer, L. (2002). Factors Associated with Oxidative Stress in Human Populations. *American Journal of Epidemiology*, **156(3)**, 274–285. DOI: 10.1093/aje/kwf029.
- Bondy, S. C. & Naderi, S. (1994). Contribution of hepatic cytochrome P450 systems to the generation of reactive oxygen species. *Biochemical Pharmacology*, **48(1)**, 155–159. DOI: 10.1016/0006-2952(94)90235-6.
- Bossis, G. & Melchior, F. (2006). Regulation of SUMOylation by reversible oxidation of SUMO conjugating enzymes. *Molecular Cell*, **21(3)**, 349–357. DOI: 10.1016/j.molcel.2005.12.019.
- Boveris, A., Oshino, N. & Chance, B. (1972). The cellular production of hydrogen peroxide. *Biochem. J.*, **128**, 617–630. DOI: 10.1042/bj1280617.
- Cai, W., Torreggiani, M., Zhu, L., Chen, X., He, J. C., Striker, G. E. & Vlassara, H. (2010). AGER1 regulates endothelial cell NADPH oxidase-dependent oxidant stress via PKC-delta: implications for vascular disease. *American Journal of Physiology Cell Physiology*, **298(3)**, C624-634. DOI: 10.1152/ajpcell.00463.2009.
- Caldini, R., Chevanne, M., Mocali, A., Tombaccini, D. & Paoletti, F. (1998). Premature induction of aging in sublethally H₂O₂-treated young MRC5 fibroblasts correlates with increased glutathione peroxidase levels and resistance to DNA breakage. *Mechanisms of Ageing and Development*, **105(1–2)**, 137–150. DOI: 10.1016/s0047-6374(98)00085-2.
- Cao, C., Leng, Y. & Kufe, D. (2003a). Catalase activity is regulated by c-Abl and Arg in the oxidative stress response. *The Journal of Biological Chemistry*, **278(32)**, 29667–29675. DOI: 10.1074/jbc.M301292200.
- Cao, C., Leng, Y., Liu, X., Yi, Y., Li, P. & Kufe, D. (2003b). Catalase is regulated by ubiquitination and proteosomal degradation. Role of the c-Abl and Arg tyrosine kinases. *Biochemistry*, **42(35)**, 10348–10353. DOI: 10.1021/bi035023f.
- Chen, J., Jing, J., Yu, S., Song, M., Tan, H., Cui, B. & Huang, L. (2016). Advanced glycation endproducts induce apoptosis of endothelial progenitor cells by activating receptor RAGE and NADPH oxidase/JNK signaling axis. *American Journal of Translational Research*, **8(5)**, 2169–2178.
- Cook-Mills, J. M. (2006). Hydrogen peroxide activation of endothelial cell-associated MMPs during VCAM-1-dependent leukocyte migration. *Cellular and Molecular Biology (Noisy-Le-Grand, France)*, **52(4)**, 8–16.
- de Piña, M. Z., Vázquez-Meza, H., Pardo, J. P., Rendón, J. L., Villalobos-Molina, R., Riveros-Rosas, H. & Piña, E. (2008). Signaling the signal, cyclic AMP-dependent protein kinase inhibition by insulin-formed H₂O₂ and reactivation by thioredoxin. *The Journal of Biological Chemistry*, **283(18)**, 12373–12386. DOI: 10.1074/jbc.M706832200.
- Dee Harrison-Findik, D. & Lu, S. (2015). The Effect of Alcohol and Hydrogen Peroxide on Liver Hcpidin Gene Expression in Mice Lacking Antioxidant Enzymes, Glutathione Peroxidase-1 or Catalase. *Biomolecules*, **5**, 793–807. DOI: 10.3390/biom5020793.
- Desaint, S., Luriau, S., Aude, J.-C., Rousselet, G. & Toledano, M. B. (2004). Mammalian antioxidant defenses are not inducible by H₂O₂. *The Journal of Biological Chemistry*, **279(30)**, 31157–31163. DOI: 10.1074/jbc.M401888200.
- Diamond-Stanic, M. K., Marchionne, E. M., Teachey, M. K., Durazo, D. E., Kim, J. S. & Henriksen, E. J. (2011). Critical role of the transient activation of p38 MAPK in the etiology of skeletal muscle insulin resistance induced by low-level in vitro oxidant stress. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **405(3)**, 439–444. DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.01.049.
- Dokken, B. B., Saengsirisuwan, V., Kim, J. S., Teachey, M. K. & Henriksen, E. J. (2008). Oxidative stress-induced insulin resistance in rat skeletal muscle: role of glycogen synthase kinase-3. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, **294(3)**, E615–E621. DOI: 10.1152/ajpendo.00578.2007.

- Duan, J., Duan, J., Zhang, Z. & Tong, T. (2005). Irreversible cellular senescence induced by prolonged exposure to H₂O₂ involves DNA-damage-and-repair genes and telomere shortening. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **37**(7), 1407–1420. DOI: 10.1016/j.biocel.2005.01.010.
- Ellis, E. A., Guberski, D. L., Somogyi-Mann, M. & Grant, M. B. (2000). Increased H₂O₂, vascular endothelial growth factor and receptors in the retina of the BBZ/WOR diabetic rat. *Free Radical Biology and Medicine*, **28**(1), 91–101. DOI: 10.1016/S0891-5849(99)00216-6.
- Elsner, M., Gehrman, W. & Lenzen, S. (2011). Peroxisome-generated hydrogen peroxide as important mediator of lipotoxicity in insulin-producing cells. *Diabetes*, **60**(1), 200–208. DOI: 10.2337/db09-1401.M.E.
- Feldman, E. L., Callaghan, B. C., Pop-Busui, R., Zochodne, D. W., Wright, D. E., Bennett, D. L., Bril, V., Russell, J. W. & Viswanathan, V. (2019). Diabetic neuropathy. *Nature Reviews. Disease Primers*, **5**(1), 42. DOI: 10.1038/s41572-019-0097-9.
- Frand, A. R. & Kaiser, C. A. (1999). Ero1p oxidizes protein disulfide isomerase in a pathway for disulfide bond formation in the endoplasmic reticulum. *Molecular Cell*, **4**(4), 469–477. DOI: 10.1016/s1097-2765(00)80198-7.
- Gianturco, V., Bellomo, A., D’Ottavio, E., Formosa, V., Iori, A., Mancinella, M., Troisi, G. & Marigliano, V. (2009). Impact of therapy with α -lipoic acid (ALA) on the oxidative stress in the controlled niddm: a possible preventive way against the organ dysfunction? *Archives of Gerontology and Geriatrics*, **49**, 129–133. DOI: 10.1016/j.archger.2009.09.022.
- Gillani, S. W., Azeem, E., Siddiqui, A., Mian, R. I., Poh, V., Sulaiman, S. A. S. & Baig, M. R. (2016). Oxidative Stress Correlates (OSC) in Diabetes Mellitus Patients. *Current Diabetes Reviews*, **12**(3), 279–284. DOI: 10.2174/1573399811666150520094631.
- Giorgio, M., Migliaccio, E., Orsini, F., Paolucci, D., Moroni, M., Contursi, C., Pelliccia, G., Luzi, L., Minucci, S., Marcaccio, M., Pinton, P., Rizzuto, R., Bernardi, P., Paolucci, F. & Pelicci, P. G. (2005). Electron transfer between cytochrome c and p66Shc generates reactive oxygen species that trigger mitochondrial apoptosis. *Cell*, **122**(2), 221–233. DOI: 10.1016/j.cell.2005.05.011.
- Giulivi, C., Boveris, A. & Cadenas, E. (1995). Hydroxyl radical generation during mitochondrial electron transfer and the formation of 8-hydroxydesoxyguanosine in mitochondrial DNA. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **316**(2), 909–916. DOI: 10.1006/abbi.1995.1122
- Golbidi, S. S., Ebadi, A. & Laher, I. (2011). Antioxidants in the treatment of diabetes. *Current Diabetes Reviews*, **7**(2), 106–125. DOI: 10.2174/157339911794940729.
- Gregory, E. M., Yost, F. J. J. & Fridovich, I. (1973). Superoxide dismutases of *Escherichia coli*: intracellular localization and functions. *Journal of Bacteriology*, **115**(3), 987–991. DOI: 10.1128/jb.115.3.987-991.1973.
- Gross, E., Sevier, C. S., Heldman, N., Vitu, E., Bentzur, M., Kaiser, C. A., Thorpe, C. & Fass, D. (2006). Generating disulfides enzymatically: reaction products and electron acceptors of the endoplasmic reticulum thiol oxidase Ero1p. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103**(2), 299–304. DOI: 10.1073/pnas.0506448103.
- Halliwell, B., Adhikary, A., Dingfelder, M. & Dizdaroglu, M. (2021). Hydroxyl radical is a significant player in oxidative DNA damage *in vivo*. *Chemical Society Reviews*, **50**(15), 8355–8360. DOI: 10.1039/d1cs00044f.
- Henriksen, E. J., Diamond-Stanic, M. K. & Marchionne, E. M. (2011). Oxidative stress and the etiology of insulin resistance and type 2 diabetes. *Free Radical Biology & Medicine*, **51**(5), 993–999. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.005.
- Inoguchi, T., Li, P., Umeda, F., Yu, H. Y., Kakimoto, M., Imamura, M., Aoki, T., Etoh, T., Hashimoto, T., Naruse, M., Sano, H., Utsumi, H. & Nawata, H. (2000). High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C-dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes*, **49**(11), 1939–1945. DOI: 10.2337/diabetes.49.11.1939.
- Iwakami, S., Misu, H., Takeda, T., Sugimori, M., Matsugo, S., Kaneko, S. & Takamura, T. (2011). Concentration-Dependent Dual Effects of Hydrogen Peroxide on Insulin Signal Transduction in H4IIEC Hepatocytes. *PLoS ONE*, **6**(11), 2–11. DOI: 10.1371/journal.pone.0027401.
- Jeong, S.-R., Park, H.-Y., Kim, Y. & Lee, K.-W. (2020). Methylglyoxal-derived advanced glycation end products induce matrix metalloproteinases through activation of ERK/JNK/NF- κ B pathway in kidney proximal epithelial cells. *Food Science and Biotechnology*, **29**(5), 675–682. DOI: 10.1007/s10068-019-00704-7.
- Juarez, J. C., Manuia, M., Burnett, M. E., Betancourt, O., Boivin, B., Shaw, D. E., Tonks, N. K., Mazar, A. P. & Doñate, F. (2008). Superoxide dismutase 1 (SOD1) is essential for H₂O₂-mediated oxidation and inactivation of phosphatases in growth factor signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **105**(20), 7147–7152. DOI: 10.1073/pnas.0709451105.
- Jung, S.-N., Yang, W. K., Kim, J., Kim, H. S., Kim, E. J., Yun, H., Park, H., Soo, K., Choe, W., Kang, I. & Ha, J. (2008). Reactive oxygen species stabilize hypoxia-inducible factor-1 alpha protein and stimulate transcriptional activity via AMP-activated protein kinase in DU145 human prostate cancer cells. *Carcinogenesis*, **29**(4), 713–721. DOI: 10.1093/carcin/bgn032.
- Kamata, H., Honda, S.-I., Maeda, S., Chang, L., Hirata, H. & Karin, M. (2005). Reactive oxygen species promote TNF α -induced death and sustained JNK activation by inhibiting MAPkinase phosphatases. *Cell*, **120**(5), 649–661. DOI: 10.1016/j.cell.2004.12.041.
- Kim, J. S., Saengsirisuwan, V., Sloniger, J. A., Teachey, M.

- K. & Henriksen, E. J. (2006). Oxidant stress and skeletal muscle glucose transport: Roles of insulin signaling and p38 MAPK. *Free Radical Biology and Medicine*, **41**(5), 818–824. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2006.05.031
- Kim, Y. M., Kim, S.-J., Tatsunami, R., Yamamura, H., Fukai, T. & Ushio-Fukai, M. (2017). ROS-induced ROS release orchestrated by Nox4, Nox2, and mitochondria in VEGF signaling and angiogenesis. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, **312**(6), C749–C764. DOI: 10.1152/ajpcell.00346.2016.
- Konno, T., Melo, E. P., Chambers, J. E. & Avezov, E. (2021). Intracellular Sources of ROS/H₂O₂ in Health and Neurodegeneration: Spotlight on Endoplasmic Reticulum. *Cells*, **10**(2), 233–258. DOI: 10.3390/cells10020233.
- Lacy, M. E., Moran, C., Gilsanz, P., Beeri, M. S., Karter, A. J. & Whitmer, R. A. (2022). Comparison of cognitive function in older adults with type 1 diabetes, type 2 diabetes, and no diabetes: results from the Study of Longevity in Diabetes (SOLID). *BMJ Open Diabetes Research and Care*, **10**(2), e002557. DOI: 10.1136/bmjdr-2021-002557.
- Laporte, A., Lortz, S., Schaal, C., Lenzen, S. & Elsner, M. (2020). Hydrogen peroxide permeability of cellular membranes in insulin-producing cells. *Biochimica et Biophysica Acta. Biomembranes*, **1862**(2), 183096. DOI: 10.1016/j.bbmem.2019.183096.
- Lee, J. N., Dutta, R. K., Maharjan, Y., Liu, Z.-Q., Lim, J.-Y., Kim, S.-J., Cho, D. H., So, H. S., Choe, S. K. & Park, R. (2018). Catalase inhibition induces pexophagy through ROS accumulation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **501**(3), 696–702. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.05.050.
- Levine, R. L., Berlett, B. S., Moskowitz, J., Mosoni, L. & Stadtman, E. R. (1999). Methionine residues may protect proteins from critical oxidative damage. *Mechanisms of Ageing and Development*, **107**(3), 323–332. DOI: 10.1016/S0047-6374(98)00152-3.
- Lim, J. B., Huang, B. K., Deen, W. M. & Sikes, H. D. (2015). Analysis of the lifetime and spatial localization of hydrogen peroxide generated in the cytosol using a reduced kinetic model. *Free Radical Biology & Medicine*, **89**, 47–53. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.07.009.
- Lo Conte, M. & Carroll, K. S. (2013). The redox biochemistry of protein sulfenylation and sulfinylation. *The Journal of Biological Chemistry*, **288**(37), 26480–26488. DOI: 10.1074/jbc.R113.467738.
- Lyles, M. M. & Gilbert, H. F. (1994). Mutations in the thioredoxin sites of protein disulfide isomerase reveal functional nonequivalence of the N- and C-terminal domains. *The Journal of Biological Chemistry*, **269**(49), 30946–30952. DOI: 10.1016/S0021-9258(18)47373-5.
- Lyublinskaya, O. & Antunes, F. (2019). Measuring intracellular concentration of hydrogen peroxide with the use of genetically encoded H₂O₂ biosensor HyPer. *Redox Biology*, **24**(6), 2213–2317. DOI: 10.1016/J.REDOX.2019.101200.
- Mahadev, K., Zilbering, A., Zhu, L. & Goldstein, B. J. (2001). Insulin-stimulated hydrogen peroxide reversibly inhibits protein-tyrosine phosphatase 1b in vivo and enhances the early insulin action cascade. *The Journal of Biological Chemistry*, **276**(24), 21938–21942. DOI: 10.1074/jbc.C100109200.
- Malaguarnera, M., Vacante, M., Avitabile, T., Malaguarnera, M., Cammalleri, L. & Motta, M. (2009). L-Carnitine supplementation reduces oxidized LDL cholesterol in patients with diabetes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **89**(1), 71–76. DOI: 10.3945/ajcn.2008.26251.
- Manczak, M., Mao, P., Calkins, M. J., Cornea, A., Reddy, A. P., Murphy, M. P., Szeto, H. H., Park, B. & Reddy, P. H. (2010). Mitochondria-targeted antioxidants protect against amyloid-beta toxicity in Alzheimer's disease neurons. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, **20** Suppl 2(Suppl 2), S609-3. DOI: 10.3233/JAD-2010-100564.
- Manikandan, P. & Nagini, S. (2018). Cytochrome P450 Structure, Function and Clinical Significance: A Review. *Current Drug Targets*, **19**(1), 38–54. DOI: 10.2174/1389450118666170125144557.
- Marinho, H. S., Real, C., Cyrne, L., Soares, H. & Antunes, F. (2014). Hydrogen peroxide sensing, signaling and regulation of transcription factors. *Redox Biology*, **2**(1), 535–562. DOI: 10.1016/j.redox.2014.02.006.
- Martyn, K. D., Frederick, L. M., von Loehneysen, K., Dinauer, M. C. & Knaus, U. G. (2006). Functional analysis of Nox4 reveals unique characteristics compared to other NADPH oxidases. *Cellular Signalling*, **18**(1), 69–82. DOI: 10.1016/j.cellsig.2005.03.023.
- McCord, J. M. & Fridovich, I. (1969). Superoxide Dismutase. *Journal of Biological Chemistry*, **244**(22), 6049–6055. DOI:10.1016/S0021-9258(18)63504-5.
- Meira, L. B., Bugni, J. M., Green, S. L., Lee, C.W., Pang, B., Borenshtein, D., Rickman, B. H., Rogers, A. B., Moroski-Erkul, C. A., McFaline, J. L., Schauer, D. B., Dedon, P. C., Fox, J. G. & Samson, L. D. (2008). DNA damage induced by chronic inflammation contributes to colon carcinogenesis in mice. *The Journal of Clinical Investigation*, **118**(7), 2516–2525. DOI:10.1172/JCI35073.
- Milman, U., Blum, S., Shapira, C., Aronson, D., Miller-Lotan, R., Anbinder, Y., Alshiek, J., Bennett, L., Kostenko, M., Landau, M., Keidar, S., Levy, Y., Khemlin, A., Radan, A. & Levy, A. P. (2008). Vitamin E supplementation reduces cardiovascular events in a subgroup of middle-aged individuals with both type 2 diabetes mellitus and the haptoglobin 2-2 genotype: a prospective double-blinded clinical trial. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **28**(2), 341–347. DOI: 10.1161/ATVBAHA.107.153965.
- Mishin, V., Heck, D. E., Laskin, D. L. & Laskin, J. D. (2014). Human recombinant cytochrome P450 enzymes display distinct hydrogen peroxide generating activities during substrate independent NADPH oxidase reactions. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of*

- Toxicology*, **141**(2), 344–352. DOI: 10.1093/toxsci/kfu133.
- Neri, S., Signorelli, S. S., Torrisi, B., Pulvirenti, D., Mauceri, B., Abate, G., Ignaccolo, L., Bordonaro, F., Cilio, D., Calvagno, S. & Leotta, C. (2005). Effects of antioxidant supplementation on postprandial oxidative stress and endothelial dysfunction: a single-blind, 15-day clinical trial in patients with untreated type 2 diabetes, subjects with impaired glucose tolerance, and healthy controls. *Clinical Therapeutics*, **27**(11), 1764–1773. DOI: 10.1016/j.clinthera.2005.11.006.
- Niethammer, P., Grabher, C., Look, A. T. & Mitchison, T. J. (2009). A tissue-scale gradient of hydrogen peroxide mediates rapid wound detection in zebrafish. *Nature*, **459**(7249), 996–999. DOI: 10.1038/nature08119.
- Nisimoto, Y., Diebold, B. A., Cosentino-Gomes, D. & Lambeth, J. D. (2014). Nox4: a hydrogen peroxide-generating oxygen sensor. *Biochemistry*, **53**(31), 5111–5120. DOI: 10.1021/bi500331y.
- Nlandu-Khodo, S., Dissard, R., Hasler, U., Schäfer, M., Pircher, H., Jansen-Durr, P., Krause, K. H., Martin, P. Y. & de Seigneux, S. (2016). NADPH oxidase 4 deficiency increases tubular cell death during acute ischemic reperfusion injury. *Scientific Reports*, **6**, 38598. DOI: 10.1038/srep38598.
- Norton, S., Matthews, F. E., Barnes, D. E., Yaffe, K. & Brayne, C. (2014). Potential for primary prevention of Alzheimer’s disease: an analysis of population-based data. *The Lancet. Neurology*, **13**(8), 788–794. DOI: 10.1016/S1474-4422(14)70136-X.
- Okado-Matsumoto, A. & Fridovich, I. (2001). Subcellular Distribution of Superoxide Dismutases (SOD) in Rat Liver. *Journal of Biological Chemistry*, **276**(42), 38388–38393. DOI: 10.1074/jbc.M105395200.
- Okumoto, K., Tamura, S., Honsho, M. & Fujiki, Y. (2020). Peroxisome: Metabolic Functions and Biogenesis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **1299**, 3–17. DOI: 10.1007/978-3-030-60204-8_1.
- Palacka, P., Kucharska, J., Murin, J., Dostalova, K., Okkelova, A., Cizova, M., Waczulikova, I., Moricova, S. & Gvozdjakova, A. (2010). Complementary therapy in diabetic patients with chronic complications: a pilot study. *Bratislavske Lekarske Listy*, **111**(4), 205–211.
- Palma, F. R., He, C., Danes, J. M., Paviani, V., Coelho, D. R., Gantner, B. N. & Bonini, M. G. (2020). Mitochondrial Superoxide Dismutase: What the Established, the Intriguing, and the Novel Reveal About a Key Cellular Redox Switch. *Antioxidants & Redox Signaling*, **32**(10), 701–714. DOI: 10.1089/ars.2019.7962.
- Panday, A., Sahoo, M. K., Osorio, D. & Batra, S. (2015). NADPH oxidases: an overview from structure to innate immunity-associated pathologies. *Cellular & Molecular Immunology*, **12**(1), 5–23. DOI: 10.1038/cmi.2014.89.
- Park, S. & Choi, S. B. (2002). Effects of alpha-tocopherol supplementation and continuous subcutaneous insulin infusion on oxidative stress in Korean patients with type 2 diabetes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **75**(4), 728–733. DOI: 10.1093/ajcn/75.4.728.
- Peskin, A. V., Dickerhof, N., Poynton, R. A., Paton, L. N., Pace, P. E., Hampton, M. B. & Winterbourn, C. C. (2013). Hyperoxidation of peroxiredoxins 2 and 3: rate constants for the reactions of the sulfenic acid of the peroxidatic cysteine. *The Journal of Biological Chemistry*, **288**(20), 14170–14177. DOI: 10.1074/jbc.M113.460881
- Pirinen, E., Cantó, C., Jo, Y. S., Morato, L., Zhang, H., Menzies, K. J., Williams, E. G., Mouchiroud, L., Moullan, N., Hagberg, C., Li, W., Timmers, S., Imhor, R., Verbeek, J., Pujol, A., van Loon, B., Viscomi, C., Zeviani, M., Schrauwen, P., Sauve, A., Schoonjans, K. & Auwerx, J. (2014). Pharmacological Inhibition of poly (ADP-ribose) polymerases improves fitness and mitochondrial function in skeletal muscle. *Cell Metabolism*, **19**(6), 1034–1041. DOI: 10.1016/j.cmet.2014.04.002.
- Qayyum, N., Haseeb, M., Kim, M. S. & Choi, S. (2021). Role of Thioredoxin-Interacting Protein in Diseases and Its Therapeutic Outlook. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**(5), 1–21. DOI: 10.3390/ijms22052754.
- Ramana, K. V., Friedrich, B., Tammali, R., West, M. B., Bhatnagar, A. & Srivastava, S. K. (2005). Requirement of aldose reductase for the hyperglycemic activation of protein kinase C and formation of diacylglycerol in vascular smooth muscle cells. *Diabetes*, **54**(3), 818–829. DOI: 10.2337/diabetes.54.3.818.
- Rani, V., Deep, G., Singh, R. K., Palle, K. & Yadav, U. C. S. (2016). Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies. *Life Sciences*, **148**, 183–193. DOI: 10.1016/j.lfs.2016.02.002.
- Rosca, M. G., Vázquez, E. J., Chen, Q., Kerner, J., Kern, T. S. & Hoppel, C. L. (2012). Oxidation of fatty acids is the source of increased mitochondrial reactive oxygen species production in kidney cortical tubules in early diabetes. *Diabetes*, **61**(8), 2074–2083. DOI: 10.2337/db11-1437.
- Sablina, A. A., Budanov, A. V., Ilyinskaya, G. V., Agapova, L. S., Kravchenko, J. E. & Chumakov, P. M. (2005). The antioxidant function of the p53 tumor suppressor. *Nature Medicine*, **11**(12), 1306–1313. DOI: 10.1038/nm1320.
- Santos, F. R., Diamond-Stanic, M. K., Prasannarong, M. & Henriksen, E. J. (2012). Contribution of the serine kinase c-Jun N-terminal kinase (JNK) to oxidant-induced insulin resistance in isolated rat skeletal muscle. *Archives of Physiology and Biochemistry*, **118**(5), 231–236. DOI: 10.3109/13813455.2012.713366.
- Sarwar, N., Gao, P., Seshasai, S. R. K., Gobin, R., Kaptoge, S., Di Angelantonio, E., Ingelsson, E., Lawlor, D. A., Selvin, E., Stampfer, M., Stehouwer, C. D., Lewington, S., Pennells, L., Thompson, A., Sattar, N., White, I. R., Ray, K. K. & Danesh, J. (2010). Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet (London, England)*, **375**(9733), 2215–2222. DOI:

- 10.1016/S0140-6736(10)60484-9.
- Schoonbroodt, S., Ferreira, V., Best-Belpomme, M., Boelaert, J. R., Legrand-Poels, S., Korner, M. & Piette, J. (2000). Crucial role of the amino-terminal tyrosine residue 42 and the carboxyl-terminal PEST domain of I kappa B alpha in NF-kappa B activation by an oxidative stress. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, **164**(8), 4292–4300. DOI: 10.4049/jimmunol.164.8.4292.
- Shadel, G. S. & Horvath, T. L. (2015). Mitochondrial ROS signaling in organismal homeostasis. *Cell*, **163**(3), 560–569. DOI: 10.1016/j.cell.2015.10.001.
- Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., Tsouh Fokou, P. V., Azzini, E., Peluso, I., Mishra, A. P., Nigam, M., El Rayess, Y., El Beyrouthy, M., Polito, L., Iriti, M., Martins, N., Martonell, M., Docea, A. O., Setzer, W. N., Calina, D., Cho, W. C. & Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Frontiers in Physiology*, **11**, 694. DOI: 10.3389/fphys.2020.00694.
- Sies, H. (2014). Role of metabolic H₂O₂ generation: redox signaling and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, **289**(13), 8735–8741. DOI: 10.1074/jbc.R113.544635.
- Silva-Rodrigues, T., de-Souza-Ferreira, E., Machado, C. M., Cabral-Braga, B., Rodrigues-Ferreira, C. & Galina, A. (2020). Hyperglycemia in a type 1 Diabetes Mellitus model causes a shift in mitochondria coupled-glucose phosphorylation and redox metabolism in rat brain. *Free Radical Biology and Medicine*, **160**, 796–806. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.09.017.
- Solinas, G. & Karin, M. (2010). JNK1 and IKKβ: molecular links between obesity and metabolic dysfunction. *The FASEB Journal*, **24**(8), 2596–2611. DOI: 10.1096/FJ.09-151340.
- Stein, K. T., Moon, S. J., Nguyen, A. N. & Sikes, H. D. (2020). Kinetic modeling of H₂O₂ dynamics in the mitochondria of HeLa cells. *PLoS Computational Biology*, **16**(9), e1008202. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1008202.
- Storozhevskiy, T. P., Senilova, Y. E., Persiyantseva, N. A., Pinelis, V. G. & Pomytkin, I. A. (2007). Mitochondrial respiratory chain is involved in insulin-stimulated hydrogen peroxide production and plays an integral role in insulin receptor autophosphorylation in neurons. *BMC Neuroscience*, **8**, 84. DOI: 10.1186/1471-2202-8-84.
- Teo, Z. L., Tham, Y.-C., Yu, M., Chee, M. L., Rim, T. H., Cheung, N., Bikbov, M. M., Wang, Y. X., Tang, Y., Lu, Y., Wong, I. Y., Ting, D.S.W., Tan, G. S.W., Jonas, J. B., Sabanayagam, C., Wong, T. Y. & Cheng, C.-Y. (2021). Global Prevalence of Diabetic Retinopathy and Projection of Burden through 2045: Systematic Review and Meta-analysis. *Ophthalmology*, **128**(11), 1580–1591. DOI: 10.1016/j.ophtha.2021.04.027.
- Thannickal, V. J., Hassoun, P. M., White, A. C. & Fanburg, B. L. (1993). Enhanced rate of H₂O₂ release from bovine pulmonary artery endothelial cells induced by TGF-beta 1. *The American Journal of Physiology*, **265**(6 Pt 1), L622–6. DOI: 10.1152/ajplung.1993.265.6.L622.
- Thornalley, P. J., Langborg, A. & Minhas, H. S. (1999). Formation of glyoxal, methylglyoxal and 3-deoxyglucosone in the glycation of proteins by glucose. *The Biochemical Journal*, **344**Pt 1(Pt 1), 109–116. DOI:10.1042/BJ3440109.
- Torres, M. & Forman, H. J. (1999). Activation of several MAP kinases upon stimulation of rat alveolar macrophages: role of the NADPH oxidase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **366**(2), 231–239. DOI: 10.1006/abbi.1999.1225.
- Trinei, M., Giorgio, M., Cicalese, A., Barozzi, S., Ventura, A., Migliaccio, E., Milia, E., Padura, I. M., Raker, V. A., Maccarana, M., Petronilli, V., Minucci, S., Bernardi, P., Lanfrancone, L. & Pelicci, P. G. (2002). A p53-p66Shc signalling pathway controls intracellular redox status, levels of oxidation-damaged DNA and oxidative stress-induced apoptosis. *Oncogene*, **21**(24), 3872–3878. DOI: 10.1038/sj.onc.1205513.
- Tyurin-Kuzmin, P. A., Zhdanovskaya, N. D., Sukhova, A. A., Sagaradze, G. D., Albert, E. A., Ageeva, L. V., Sharonov, G. V., Vorotnikov, A.V. & Tkachuk, V. A. (2016). Nox4 and Duox1/2 Mediate Redox Activation of Mesenchymal Cell Migration by PDGF. *PLoS One*, **11**(4), e0154157. DOI: 10.1371/journal.pone.0154157.
- van der Vliet, A., Hu, M. L., O'Neill, C. A., Cross, C. E. & Halliwell, B. (1994). Interactions of human blood plasma with hydrogen peroxide and hypochlorous acid. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **124**(5), 701–707. DOI: 10.5555/uri:pii:0022214394901163.
- Vincent, H. K. & Taylor, A. G. (2006). Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *International Journal of Obesity*, **30**(3), 400–418. DOI: 10.1038/sj.ijo.0803177.
- von Löhneysen, K., Noack, D., Hayes, P., Friedman, J. S. & Knaus, U. G. (2012). Constitutive NADPH oxidase 4 activity resides in the composition of the B-loop and the penultimate C terminus. *The Journal of Biological Chemistry*, **287**(12), 8737–8745. DOI: 10.1074/jbc.M111.332494.
- Wang, W.-X., Jiang, W.-L., Mao, G.-J., Tan, M., Fei, J., Li, Y. & Li, C.-Y. (2021). Monitoring the Fluctuation of Hydrogen Peroxide in Diabetes and Its Complications with a Novel Near-Infrared Fluorescent Probe. *Analytical Chemistry*, **93**(6), 3301–3307. DOI: 10.1021/acs.analchem.0c05364.
- Wu, R. F., Liao, C., Hatoum, H., Fu, G., Ochoa, C. D. & Terada, L. S. (2017). RasGRF Couples Nox4-Dependent Endoplasmic Reticulum Signaling to Ras. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **37**(1), 98–107. DOI: 10.1161/ATVBAHA.116.307922.
- Xia, P., Inoguchi, T., Kern, T. S., Engerman, R. L., Oates, P. J. & King, G. L. (1994). Characterization of the mechanism for the chronic activation of diacylglycerol-protein kinase C pathway in diabetes and hypergalactosemia. *Diabetes*,

- 43(9)**, 1122–1129. DOI: 10.2337/diab.43.9.1122.
- Xue, M., Xu, W., Ou, Y.-N., Cao, X.-P., Tan, M.-S., Tan, L. & Yu, J.-T. (2019). Diabetes mellitus and risks of cognitive impairment and dementia: A systematic review and meta-analysis of 144 prospective studies. *Ageing Research Reviews*, **55**, 100944. DOI: 10.1016/j.arr.2019.100944.
- Yamakawa, H., Ito, Y., Naganawa, T., Banno, Y., Nakashima, S., Yoshimura, S., Sawada, M., Nishimura, Y., Nozawa, Y. & Sakai, N. (2000). Activation of caspase-9 and -3 during H₂O₂-induced apoptosis of PC12 cells independent of ceramide formation. *Neurological Research*, **22(6)**, 556–564. DOI: 10.1080/01616412.2000.11740718.
- Yao, D. & Brownlee, M. (2009). Hyperglycemia-Induced Reactive Oxygen Species Increase Expression of the Receptor for Advanced Glycation End Products (RAGE) and RAGE Ligands. *Diabetes*, **59(1)**, 249–255. DOI: 10.2337/db09-0801.
- Yoshino, G., Tanaka, M., Nakano, S., Matsumoto, T., Kojima, M., Murakami, E. & Morita, T. (2009). Effect of rosuvastatin on concentrations of plasma lipids, urine and plasma oxidative stress markers, and plasma high-sensitivity C-reactive protein in hypercholesterolemic patients with and without type 2 diabetes mellitus: A 12-week, open-label, pilot study. *Current Therapeutic Research, Clinical and Experimental*, **70(6)**, 439–448. DOI: 10.1016/j.curtheres.2009.12.003.
- Zafari, A. M., Ushio-Fukai, M., Akers, M., Yin, Q., Shah, A., Harrison, D. G., Taylor, W. R. & Griendling, K. K. (1998). Role of NADH/NADPH oxidase-derived H₂O₂ in angiotensin II-induced vascular hypertrophy. *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, **32(3)**, 488–495. DOI: 10.1161/01.hyp.32.3.488.
- Zang, L. Y. & Misra, H. P. (1992). EPR kinetic studies of superoxide radicals generated during the autoxidation of 1-methyl-4-phenyl-2,3-dihydropyridinium, an bioactivated intermediate of parkinsonian-inducing neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *The Journal of Biological Chemistry*, **267(33)**, 23601–23608. DOI: 10.1016/S0021-9258(18)35881-2.
- Zhang, L., Nguyen, M. V. C., Lardy, B., Jesaitis, A. J., Grichine, A., Rousset, F., Talbot, M., Paclet, M.-H., Qian, G. & Morel, F. (2011). New insight into the Nox4 subcellular localization in HEK293 cells: first monoclonal antibodies against Nox4. *Biochimie*, **93(3)**, 457–468. DOI: 10.1016/j.biochi.2010.11.001.
- Zito, E., Melo, E. P., Yang, Y., Wahlander, Å., Neubert, T. A. & Ron, D. (2010). Oxidative protein folding by an endoplasmic reticulum-localized peroxiredoxin. *Molecular Cell*, **40(5)**, 787–797. DOI: 10.1016/j.molcel.2010.11.010.