

---

**THE IMPACT OF IONIZED WATER SUPPLEMENTED WITH GLUTATHION AND VITAMIN C DURING ACUTE HYPERTHERMIC EXPOSURE ON THE ACTIVITY OF THE SUPEROXIDE DISMUTASE IN THE BLOOD SERUM AT WHITE LABORATORY RATS**

**Majlinda Ademi**

Faculty of Medical Sciences, State University of Tetovo, Republic of N. Macedonia,  
[majlindaademi@live.com](mailto:majlindaademi@live.com)

**Mije Reci**

Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Institute of Biology, State University of Tetovo, R. of N. Macedonia, [mije.rec@unite.edu.mk](mailto:mije.rec@unite.edu.mk)

**Ilbert Ademi**

General City Hospital Ferid Murad, Department of surgery with urology – Gostivar R. of N. Macedonia,  
[ylberademi@live.com](mailto:ylberademi@live.com)

**Abstract:** Ionized or reduced water (ERW), also known as "alkaline water", means electrochemically activated water with a pH greater than 7. Namely, the ERW besides the alkaline pH also contains many reducing traits, ie. has remarkable redox properties. The aim of our research is to determine the impact of ionized water by adding enzymatic and non-enzymatic antioxidants, glutathione and vitamin C, during hyperthermic stress, on the activity of superoxide dismutase. The experiment performed on a white laboratory Wistar rats, a female sex, weighing 180-220 g, young rats, divided into three groups of 15 individuals. Oxidative stress was caused by acute hyperthermic exposure at 41°C. The first group is the control group (KPM) treated with tap water, the second group is treated with ionized water (TAM), and the third group with ionized water with added glutathione and vitamin C (TAD). The duration of treatment lasted 21 days. Acute hyperthermic exposure on the 21st day in the KPM and TAM group significantly ( $p < 0.001$ ) reduced SOD activity compared to results obtained for the same enzyme activity on the 14th and 7th day of treatment. A deviation from this general conclusion is the group treated with enriched ionized which shows a significant difference in SOD activity between day 7 and day 21 against the statistically significant difference ( $p < 0.01$ ) registered in the same group only in the period of 14th to 21st day of the treatment. The results of the analyzes obtained on the 7th day of the study indicate statistically insignificant differences in SOD activity in the comparison made between the two combinations of groups of a total of three included in the experiment. The case of the comparison of SOD activity between the groups KPM - TAM on the 14th day and KPM - TAM on the 21st day of treatment is similar. An analogue comparison between the remaining pairs of groups performed on 14th as well on 21st day showed a statistically significant difference in SOD activity between the comparison groups. Treatment with ionized water, without added antioxidants or a combination thereof, did not lead to significant changes in serum SOD activity during the absence of high ambient temperature. In conditions of very high concentrations of free radicals, the damage on the molecular machinery required for the induction of these antioxidant enzymes in combination with their influence on the oxidative damage to the protein structure of the antioxidant enzymes themselves would result in a reduction in antioxidant activity, as is the case with SOD in our research.

**Keywords:** Ionized water, hyperthermic stress, glutathione, vitamin C, superoxide dismutase

**ВЛИЈАНИЕТО НА ЈОНИЗИРАНАТА ВОДА ОБОГАТЕНА СО ГЛУТАТИОН И ВИТАМИН Ц ПРИ АКУТНА ХИПЕРТЕРМИЧКА ЕКСПОЗИЦИЈА ВРЗ АКТИВНОСТА НА СУПЕРОКСИД ДИЗМУТАЗА (SOD) ВО КРВНИОТ СЕРУМ КАЈ БЕЛИОТ ЛАБОРАТОРИЈСКИ СТАОРЕЦ**

**Мајлинда Адеми**

Факултет за Медицински науки, Државен Универзитет во Тетово, Р.С.Македонија,  
[majlindaademi@live.com](mailto:majlindaademi@live.com)

**Мије Речи**

Природно-математички факултет, Институт за биологија, Државен Универзитет во Тетово, Р.С.Македонија, [mije.rec@unite.edu.mk](mailto:mije.rec@unite.edu.mk)

**Илберт Адеми**

Општа болница “Ферид Мурад“, Хируршко одделение со урологија, Гостивар, Р.С. Македонија,  
[ylberademi@live.com](mailto:ylberademi@live.com)

**Резиме:** Јонизирана или редуцирана вода (ERW) а се среќава и под името “алкална вода” претставува елетрохемиски активирана вода со рН вредност поголема од 7. Имено, ERW покрај алкалната рН, содржи и многу редуцирачки особини, т.е. има изразени редокс својства. Целта на нашето истражување беше да го утврдиме влијанието на јонизираната вода со додавање на ензимски и неензимски антиоксиданси, глутатион и витамин Ц, при хипертермички стрес, врз активноста на супероксид дизмутаза. Експериментот беше изведен врз бели лабораторијски стаорци од сојот Wistar, женски пол, со тежина 180-220 гр., млади стаорци, поделени во три групи по 15 единки. Оксидативниот стрес беше предизвикан со акутна хипертермичка експозиција на 41°C. Првата група е контролна група (КПМ) третирана со природна вода, втората група е третирана со јонизирана вода (ТАМ), а третата група со јонизирана вода со додаден глутатион и витамин Ц (ТАД). Времетраењето на третманот траеше 21 ден. Акутното хипертермичко експонирање на 21-ви ден кај КПМ и ТАМ групата значајно ( $p < 0.001$ ) ја намали активноста на SOD во однос на резултатите добиени за истата ензимска активност на 14-ти и 7-ми ден од третманот. Отстапка од ваквиот генерален заклучок е групата третирана со обогатена јонизирана вода која покажува незначајна разлика во SOD активноста помеѓу 7-ми и 21-ви ден спротивно на статистичка значајната разлика ( $p < 0.01$ ) која се регистрира кај истата група само во периодот од 14-ти – 21-ви ден од третманот. Резултатите од анализите добиени на 7-от ден од истражувањето укажуваат на статистички незначајни разлики во SOD активноста во споредбата направена меѓу дадени две комбинации на групи од вкупно три вклучени во експериментот. Идентичен е случајот со компарацијата на SOD активноста помеѓу групите КПМ – ТАМ на 14-ти ден и КПМ – ТАМ на 21-ви ден од третманот. Аналогната споредба меѓу преостанатите парови на групи направена како на 14-ти така и на 21-ви ден покажува статистичка значајна разлика во активноста на SOD меѓу споредуваните групи. Третманот со јонизирана вода, без додадени антиоксиданти или пак со нивна комбинација, не доведе до значајни промени во активноста на SOD во серумот за време на периодот на отсуство на висока амбиентална температура. Во услови на многу високи концентрации на слободни радикали, оштетувањата на молекуларната машинерија потребна за индукција на овие антиоксидативни ензими во комбинација со влијанието на истите врз оксидативното оштетување на протеинската структура на самите антиоксидативни ензими, би завршиле во правец на намалување на антиоксидативната активност, како што е случајот со SOD во нашето истражување.

**Клучни зборови:** јонизирана вода, хипертермички стрес, глутатион, супероксид дизмутаза

## 1. ВОВЕД

Оксидативниот стрес резултира со зголемена продукција на слободни радикали и реактивни кислородни радикали, како и намалување на антиоксидативната одбрана, што пак води до оштетување на биолошките макромолекули и нарушување на нормалниот метаболизам и физиологија (Trevisan, M.R., и сор., 2001). Како одговор на овие проблеми, клетките изложени на тоplotен шок ја зголемуваат антиоксидативната одбрана, посебно активноста на антиоксидативните ензими (Hermes-Lima, M., 2004). Меѓу реакциите кои се јавуваат при престој во средини со висока надворешна температура посебно место заземаат: покачувањето на телесната температура, промена на коожната циркулација и загуба на телесната маса, промена на лимфоидните клетки и лимфоидните органи т.е. имуниот систем (Gjorgoski, I., и сор. 2008). Топлотниот стрес се подразбира како фактор на животната средина за стимулирање на производството на реактивниот кислород (ROS) поради сличноста во одговорите забележани по тоplotниот стрес со оние кои се јавуваат во состојбата на оксидативен стрес (Ilievska и сор., 2016). Природниот антиоксидативен систем се состои од серија на антиоксидантни ензими, како и бројни ендогени антиоксидантни состојки кои се способни за и со инактивирање на ROS (Vaziri, N. D., и сор., 2003). Најчесто користени и темелно експериментално проучувани неензимски антиоксиданти се витамините, односно аскорбинската киселина, токоферолот и  $\beta$ -каротин. Освен што служат во директна детоксикација на слободните радикали, тие исто така комуницираат во процесите на рециклирање за да генерираат редуцирани форми на витамини (Reiter, R. J., и сор., 2000). Глутатионот (GSH) е дефиниран како интрацелуларен редоксен пуфер, а неговата главна функција, слободна или поврзана со протеините, е цврсто поврзана со редокс реакциите во главно дејствувајќи како редуктант наспроти кислородот и неговите добиени реактивни видови (Gaucher, C и сор. 2018). Витаминот Ц (Vit. C) е моќен антиоксидант и кофактор за семејство на биосинтетички и генетски регулаторни ензими. Тој придонесува за имунолошката одбрана преку поддршка на различни клеточни функции и на имунолошкиот систем (Carr & Maggini., 2017). Јонизираната или редуцираната вода (ERW), претставува елетрохемиски

активирана вода со рН вредност поголема од 7. Еден од механизмите на генерирање на ERW (Shirahata, и сор., 2018) сугерира потреба од висок приложен напон помеѓу анодата и катодата (во интервалот од 110 до 250 волти), во услови кога во водата не се содржат електролити. Ваквата поставеност овозможува генерирање на силно електрично поле околу електродите кое генерира голем број на позитивно наелектризирани честички во регионот околу катодата, а вишок негативни честички во растворот околу анодата.

ERW може да ја заштити рамнотежата на клеточниот редокс, намалувајќи го ризикот на неколку заболувања со променета клеточната хомеостаза како што е воспалението (Franceschelli, S., и сор., 2016). Високиот негативен електрохемиски потенцијал е во корелација со антиоксидативната способност на активираната вода, а оттука и нејзиниот потенцијал за позитивно влијание врз човечкото здравје (Mircevski, V., 2016). Супероксид димутазите (SOD) претставуваат многу важна антиоксидантна одбрана против оксидативниот стрес во организмот. Ензимот делува како добар терапевтски агенс против ROS посредувани заболувања (Younus, H., 2018).

## 2. ЦЕЛИ

Целите на нашето истражување произлегоа од нашите претпоставки дека преку конзумирање на јонизирана односно електрохемиски редуцирана вода (ERW) ќе се збогати алкалната резерва во организмот. Акцентот на ваквото својство на ERW го ставивме во услови на изложеност на организмот во услови на високата надворешна температура како стресоген фактор. Нашите очекувања беа базирани на податокот дека ERW преку своето делување како антиоксидант ќе ја зголеми ефективността во редуцирање на оксидативниот стрес и ќе ја засили термотолерантноста на самиот организам врз активноста на супероксид димутаза во серум кај бел лабораторијски стаорец.

## 3. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ

### Експериментален модел

Како експериментален модел беа користени бели лабораториски стаорци од сојот Wistar, од женски пол со телесна тежина од 180-220 грами, поделени во три групи (по 15 животни,  $n=45$ ) за аплицирање на соодветен третман. За време на експериментот животните претстојуваша на собна температура  $20 \pm 2$  °C, при светлосен режим 12:12 часа. На сите животни вклучени во експериментот им беше давана стандардна лабораториска храна и вода *ad libitum*.

Експерименталните групи од по 15 животни беа организирани и обележани на следниот начин:

1. Прва група животни (КПМ) – кои во текот на целиот експериментален период беа под горенаведените услови и во понатамошниот текст ќе бидат спомнувани како контролна група која ќе прима само вода.
2. Втора група животни (ТАД) - кои во текот на целиот експериментален период беа под горенаведените услови и беа третирани со јонизирана вода
3. Трета група животни (ТАМ) – одгледувани под истите експериментални услови и беа третирани со јонизирана вода обогатена со додатоци на глутатион и витамин С

### Експериментален протокол

Трите групи на стаорци во експериментален период во времетраење од 21 ден, секојдневно во утринските часови беа третирани со соодветно модифицирана природна вода. Контролната група во наведениот период добиваше само природна вода. Двете останати групи, соодветно, примаа јонизирана вода (ERW, алкална вода) и јонизирана вода со додадени глутатион и витамин С во истата. Водата беше аплицирана интрагастрално во волумени од по 2 ml. Примероците за анализа на одбраните параметри беа земени на 7-ми, 14-ти и 21-ви ден од третманот. Потребната крв за анализа на 7-ми и 14-ти ден беше земена од опашката на стаорците и истата беше колекционирана во соодветно обележани епендорфи. Крвен серум за анализа се доби по 5 минути центрифугирање на 1500 rpm и истиот беше замрзнат на -80 °C за потребните анализи. Пет часа по добивање на соодветниот третман на 21-ви ден, животните од соодветните групи беа изложени на хипертермна средина до постигнување на фаза на секундарна хипертермија (телесна температура од 43 °C). Експозицијата се изведуваше индивидуално во клима комори на  $40 \pm 1$  °C во времетраење од 80 минути. За време на хипертермичката експозиција беше следена и ректалната температура.

### Одредување на активност на супероксид димутаза (SOD)

Ензимот супероксид димутаза е дел од антиоксидативните механизми насочени против дејството на слободни радикали и ја катализира димутацијата на супероксидниот анион  $O_2^{\cdot -}$ , во водороден пероксид и кислород.

### Принцип на методот

Методот за определување на активноста на супероксид дизмутаза е опишан од Marklund S. и Marklund G. (1974). Овој метод се базира на способноста на ензимот да ја инхибира автооксидацијата на пирогалолот. Автооксидацијата на пирогалолот во алкална средина, pH=8.2 е 50% и се мери со линеарното зголемување на апсорбанцата на 420 nm во тек на неколку минути. Принципот на овој метод се базира на компетиција помеѓу пирогалол автооксидацијата предизвикана од  $O_2^-$  и неговата дизмутација од SOD. Додавањето на SOD ја инхибира автооксидацијата на пирогалолот преку претварање на  $O_2^-$  во  $H_2O_2$  и  $O_2$  и со блокирање на зголемувањето на апсорбанцата на 420 nm.

### Тест постапка

Реакционата смеса содржеше 50 mM Tris-HCl, pH=8.2, 1mM диетиленетриамин пентаоцетна киселина и соодветен примерок на крвен серум. Текот на реакцијата започнува со додавање на пирогалол (концентрација од 0.2 mM). Инхибицијата на автооксидацијата на пирогалолот се случува во присуство на SOD, при што апсорпцијата се мери на бранова должина од 420nm, на температура од 25°C, во период од 3 минути. Спектрофотометарот се подесува да чита слепа проба Tris пуфер. Контролата и примероците за тестирање беа пипетирани по следната шема:

| Реагенси   | Тест (µl) | Контрола (µl) |
|------------|-----------|---------------|
| серум      | 50        | -             |
| Tris пуфер | 1000      | 1000          |
| DW         | -         | 50            |
| пирогалол  | 1000      | 1000          |

Активноста на SOD се изразува во единици U/mL. Една единица на SOD активност се дефинира како количина на ензим потребен да предизвика 50% инхибиција на пирогалол автооксидацијата.

### Калкулација на SOD активноста

% инхибиција на пирогалол автооксидација =  $\Delta A_{\text{тест}} / \Delta A_{\text{контрола}} \times 100\%$

SOD активност (U/mL) = % инхибија на пирогалол автооксидација / 50%

### Статистичка анализа

Статистичката обработка на добиени резултати во текот на експериментот беше извршена со статистичката програма InStat. Резултатите се претставени како средни вредности со стандардна грешка (SEM). Ефектот од индивидуалниот третман со алкална вода како и со додатоци на витамин С и GSH во истата во комбинација со хипертермичко изложување на експерименталниот модел беше утврден со примена на One-way analysis of variance (ANOVA). Присуството на статистички значајна разлика беше утврдено во рамките на поединечна група како и при споредба на комбинација од три дадени групи. Сигнификантноста на разликите при споредби во рамките на иста група стаорци, во функција на време, беше утврдена со Repeated measures ANOVA, додека при споредбите на различни групи животни беше искористена Ordinary ANOVA. Како сигнификантни промени беа забележани вредностите на  $p < 0.001$ .

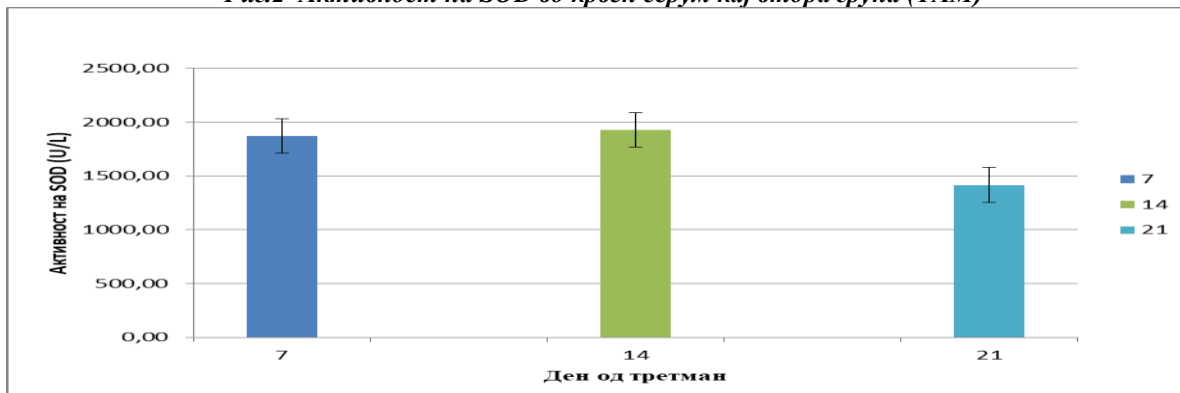
## 4. РЕЗУЛТАТИ

Резултатите од нашето истражувањето за влијанието на третманот со јонизирана вода, без и со додатоци на соодветните антиоксиданти во истата, како и акутната хипертермичка експозиција воведена на 21-от ден од третманот врз активноста на SOD се прикажани на фигурите 1, 2, 3 и 4.

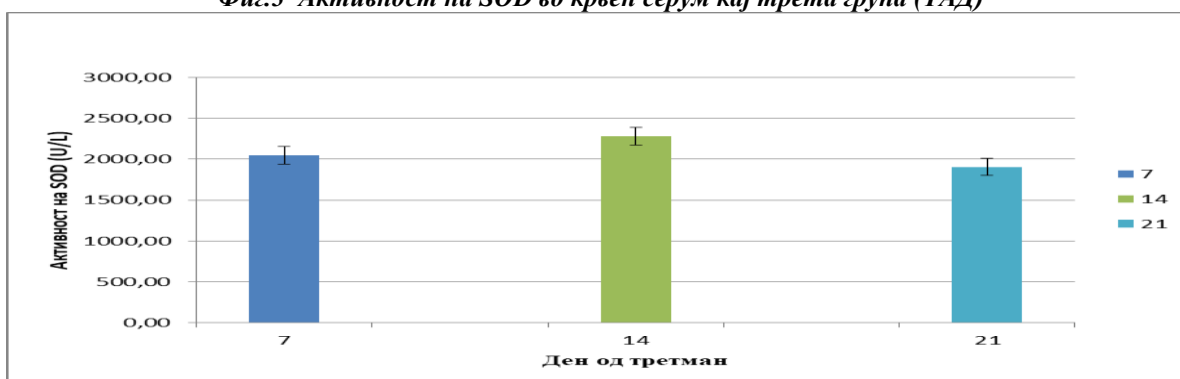
Фиг.1 Активност на SOD во крвен серум кај прва група (КИМ)



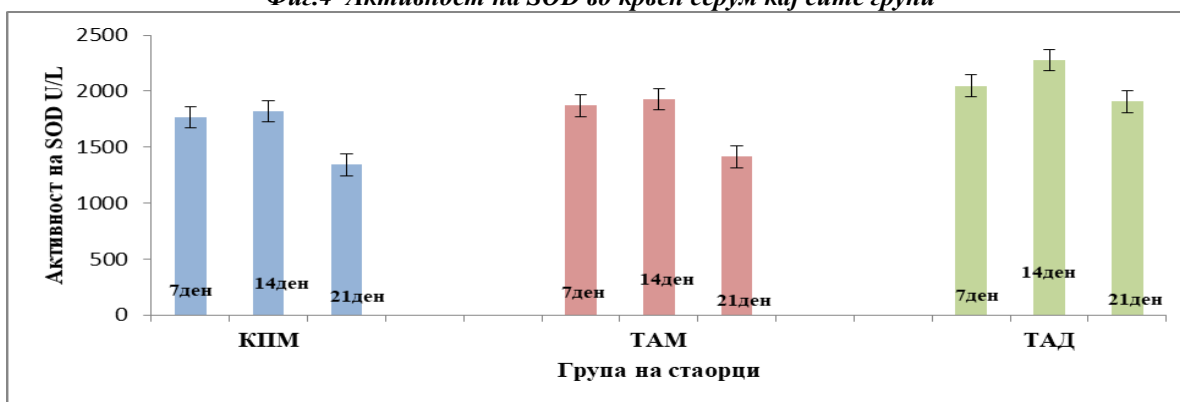
**Фиг.2 Активност на SOD во крвен серум кај втора група (ТАМ)**



**Фиг.3 Активност на SOD во крвен серум кај трета група (ТАД)**



**Фиг.4 Активност на SOD во крвен серум кај сите групи**



Легенда: КПМ – контролна група третирана со природна вода; ТАМ – група третирана со јонизирана вода;  
ТАД – група третирана со јонизирана вода со додатоци на глутатион и витамин Ц

**Табела 1. Резултати од статистичката анализа на податоци за активност на SOD во серум**

| Статистичка анализа – активност на SOD |    |        |             |     |
|----------------------------------------|----|--------|-------------|-----|
| Споредувани групи                      |    |        | Резултат    |     |
| КПМ 7                                  | vs | КПМ 14 | $p > 0.05$  | Ns  |
| КПМ 7                                  | vs | КПМ 21 | $p < 0.001$ | *** |
| КПМ 14                                 | vs | КПМ 21 | $p < 0.001$ | *** |
| ТАМ 7                                  | vs | ТАМ 14 | $p > 0.05$  | Ns  |

|        |    |        |             |     |
|--------|----|--------|-------------|-----|
| TAM 7  | vs | TAM 21 | $p < 0.001$ | *** |
| TAM 14 | vs | TAM 21 | $p < 0.001$ | *** |
| ТАД 7  | vs | ТАД 14 | $p > 0.05$  | Ns  |
| ТАД 7  | vs | ТАД 21 | $p > 0.05$  | Ns  |
| ТАД 14 | vs | ТАД 21 | $p < 0.01$  | **  |
| КПМ 7  | vs | TAM 7  | $p > 0.05$  | Ns  |
| КПМ 7  | vs | ТАД 7  | $p > 0.05$  | Ns  |
| TAM 7  | vs | ТАД 7  | $p > 0.05$  | Ns  |
| КПМ 14 | vs | TAM 14 | $p > 0.05$  | Ns  |
| КПМ 14 | vs | ТАД 14 | $p < 0.001$ | *** |
| TAM 14 | vs | ТАД 14 | $p < 0.01$  | **  |
| КПМ 21 | vs | TAM 21 | $p > 0.05$  | Ns  |
| КПМ 21 | vs | ТАД 21 | $p < 0.001$ | *** |
| TAM 21 | vs | ТАД 21 | $p < 0.001$ | *** |

## 5. ДИСКУСИЈА

Јонизираната вода делува како силен антиоксиданс во организмот манифестирајќи SOD-слична активност. Се смета дека се комплицирани механизмите со кои ERW делувајќи слично како антиоксидативен ензим ги неутрализира ROS. Водородните молекули и активниот водород може да се нови редокс регулаторски фактори кои можат да индуцираат генска експресија на антиоксидативните ензими. H<sub>2</sub> молекулите можат да бидат конвертирани до активен водород со каталитичко дејство на металните наночестички кои претставуваат H-донори и придонесуваат за моќна редуцибилност на ERW (Shirahata и сор., 2012). Истражувањата на Францешели (Franceschelli и сор., 2016) се во согласност со оние на Ширахата и неговите соработници кои евидентирале дека ERW има способност за неутрализирање на ROS во процес сличен на дејството на SOD ензимите. Резултатите од нашите истражувања покажуваат слични вредности. На мислење сме дека, ваквите својства на ERW како антиоксидативен ензим со слична активност на SOD, кај TAM групата, на 7-ми, 14-ти и 21-ви ден, детектираме повисока активност на SOD споредено со контролната група. Третманот аплициран соодветно на секоја група во периодот на отсуство на хипертермичка експозиција не влијаеше значајно во правец на покачување или намалување на SOD ензимската активност. За разлика од оваа состојба, изложеноста на животните на висока амбиентална температура предизвика сигнификантна разлика кај сите три групи во активната на SOD во однос на периодот во отсуство на истата. Акутното хипертермичко експонирање на 21-ви ден кај КПМ и TAM групата значајно ( $p < 0.001$ ) ја намали активната на SOD во однос на резултатите добиени за истата ензимска активност на 14-ти и 7-ми ден од третманот. Отстапка од ваквиот генерален заклучок е групата третирана со обогатена јонизирана која покажува незначајна разлика во SOD активната помеѓу 7-ми и 21-ви ден спротивно на статистичка значајната разлика ( $p < 0.01$ ) која се регистрира кај истата група само во периодот од 14-ти – 21-ви ден од третманот. Резултатите од анализите добиени на 7-от ден од истражувањето укажуваат на статистички незначајни разлики во SOD активната во споредбата направена меѓу дадени две комбинации на групи од вкупно три вклучени во експериментот. Идентичен е случајот со компарацијата на SOD активната помеѓу групите КПМ – TAM на 14-ти ден и КПМ – TAM на 21-ви ден од третманот. Аналогната споредба меѓу преостанатите парови на групи направена како на 14-ти така и на 21-ви ден покажува статистичка значајна разлика во активната на SOD меѓу споредуваните групи.

## 6. ЗАКЛУЧОК

Акутната хипертермичка експозиција доведува до зголемена продукција на индикаторите на оксидативен стрес, како и до намалување на активната на антиоксидативните ензими. Експозицијата на висока температура доведува до засилена продукција на ROS, што резултира со оксидативни повреди. Третманот со јонизирана вода, без додадени антиоксиданти или пак со нивна комбинација, не доведе до значајни промени во активната на SOD во серумот за време на периодот на отсуство на висока амбиентална температура. Во услови на многу високи концентрации на слободни радикали, оштетувањата на молекуларната машинерија потребна за индукција на овие антиоксидативни ензими во комбинација со влијанието на истите врз оксидативното оштетување на протеинската структура на самите антиоксидативни ензими, би завршиле во

правец на намалување на антиоксидативната активност, како што е случајот со SOD во нашето истражување.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Carr, A. C. & Maggini, S. (2017). Vitamin C and Immune Function. *Nutrients*, 9 (11): 1211.
- Franceschelli, S., Gatta, D. M., Pesce, M., Ferrone, A., Patruno, A., de Lutiis, M. A., Grilli, A., Felaco, M., Croce, F., Speranza L. (2016). New Approach in Translational Medicine: Effects of Electrolyzed Reduced Water (ERW) on NF- $\kappa$ B/iNOS Pathway in U937 Cell Line under Altered Redox State. *Int J Mol Sci.*1;17(9)
- Gaucher, C., Boudier, A., Bonetti, J., Clarot, I., Leroy, P. & Parent, M. (2018). Glutathione: Antioxidant Properties Dedicated to Nanotechnologies. *Antioxidants*, 27;7(5)
- Gjorgoski, I., Spasov, M., Mladenov, M., Hadzi-Petrusev, N., Dimovska, J., Ovnarska, V., & Rtovski, D. (2008). Ефектот на високата надворешна температура во интраутериниот и раниот постнатален период врз масата протеините и нуклеинските киселини во тимусот кај белиот лабораториски стаорец. *Biol. Macedonica*, 59/60: 51-66
- Hermes-Lima, M. (2004). Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. In: Storey KB, editor. *Functional metabolism: regulation and adaptation*. John Wiley & Sons; New Jersey; pp. 319-368.
- Ilievska, J., Cicimov, V., Antova, E., Gjorgoski, I., Hadzi-Petrushev, N., Mladenov, M. (2016). Heat-induced oxidative stress and inflammation in rats in relation to age. *Research in Physical Education, Sport & Health*. Vol.5, No 2:pp.123-130.
- Mircevski, V. (2016). Srebrena i alkalna voda - institut za hemija PMF. Retrieved from [https://ih.pmf.ukim.edu.mk/files/Attachment/Srebrena i alkalna voda 2.pdf](https://ih.pmf.ukim.edu.mk/files/Attachment/Srebrena_i_alkalna_voda_2.pdf)
- Reiter, R. J., Tan, D. X., Osuna, C., & Gitto, E. (2000). Actions of Melatonin in the Reduction of Oxidative Stress. *J Biomed Sci*; vol.7:444–458
- Shirahata, S., Hamasaki, T., Teruya, K. (2012). Advanced research on the health benefit of reduced water. *Trends in Food Science & Technology*, 23(2), 124–131
- Shirahata, S., Hamasaki, T., Teruya, K. (2018). Newest Research on the Health Benefit of Electrochemically Reduced Water. *Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Kyushu*.
- Trevisan, M., R. Browne, M. Ram, P. Muti, J. Freudenheim, A. N. Carosella, and D. Armstrong. 2001. Correlates of markers of oxidative status in the general population. *Am. J. Epidemiol.* 154: 348-356.
- Vaziri, N. D., Dicus, M., Ho, N. D., Boroujerdi-Rad, L., & Sindhu, R. K. (2003). Oxidative stress and dysregulation of superoxide dismutase and NADPH oxidase in renal insufficiency. *Kidney Int.* Vol.63(1):179-85.
- Younus, H. (2018). Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *International Journal of Health Sciences*, Vol. 12, Issue 3.