

研究文章

碱性矿泉水对草酸钙所致小鼠肾损伤的保护作用

Lei Liu , [1] Chen Lin , [2] Xiu Li , [3] Yulan Cheng , [4] Rui Wang , [4] Chao Luo , [4] Xinyuan Zhao  and Zhitao Jiang  [5]

[1]南通大学附属医院病理科, 南通, 中国

[2]媒介和寄生虫病控制和预防科,

上海市浦东新区疾病预防控制中心, 上海, 中国 [3]江南大学食品科学与技术学院, 无锡, 中国

[4]南通大学公共卫生学院职业医学与环境毒理学系, 南通市环境毒理学重点实验室, 南通, 中国

[5]中国计量大学机电工程学院, 中国杭州

Correspondence should be addressed to Xinyuan Zhao; zhaoxinyuan@ntu.edu.cn and Zhitao Jiang; 19a0104175@cjlu.edu.cn

2023 年 2 月 7 日收到; 2023 年 7 月 17 日修订; 2023 年 9 月 29 日接受; 发表于 2023 年 10 月 25 日

学术编辑: Claudia Di Giacomo

版权所有 © 2023 刘雷等人。 这是一篇根据知识共享署名许可证分发的开放获取文章, 允许在任何媒体上不受限制地使用、分发和复制, 前提是正确引用了原始作品。

背景。 肾结石病通过晶体诱导的肾小管上皮细胞损伤而诱发慢性肾功能不全。据报道, 肾结石患病率不断增加, 且复发率较高。据报道, 碱性矿泉水具有减轻炎症的有益作用。在这里, 我们探讨了碱性矿泉水对草酸钙引起的肾损伤的潜在保护作用和潜在机制。方法。我们通过每天一次给予 100 mg/kg 乙醛酸盐, 持续 7 天来建立小鼠肾结石模型。为了评估碱性矿泉水对草酸盐引起的肾损伤的影响, 小鼠分别饮用不同的水 (蒸馏水、pH 8.0 的天然矿泉水以及 pH 9.3 的天然矿泉水) 7 天, 然后暴露乙醛酸盐。收集后, 测量晶体形成、肾损伤和细胞凋亡、纤维化、氧化应激以及炎症。结果。我们的结果表明, 乙醛酸盐治疗导致肾脏晶体形成和纤维化, 可以通过饮用碱性矿泉水来减轻。此外, 碱性矿泉水还可以减少肾损伤和细胞凋亡、氧化应激和炎症。结论。碱性矿泉水补充剂可通过减轻氧化应激和炎症来预防乙醛酸盐诱发的肾结石的进展。

一、简介

肾结石 (肾结石) 是全球最常见的泌尿系统疾病之一, 根据最新数据, 在美国, 终生发病率超过 10% [1], 在中国, 终生发病率为 6.4% [2]。研究发现, 肾结石的形成是由于结晶抑制剂和促进剂失衡所致 [3]。肾结石的典型症状是痉挛、间歇性腹部疼痛和腰部疼痛, 以及血尿、恶心或呕吐和不适, 这些都会造成长期的疾病负担。越来越多的数据表明,

肾结石的发病率和复发率在所有年龄、性别、种族和/或民族亚群体中都有发生, 对人类健康构成严重威胁。

了解肾结石的病理生理学对于制定有效的预防和治疗策略非常重要。全球范围内, 大约 80–90% 的肾结石由草酸钙 (CaOx) 与磷酸钙或尿酸混合组成 [4, 5]。CaOx 形成、生长、聚集, 并最终由于尿液过饱和而保留在肾脏内 [6]。CaOx 晶体诱导肾内炎症和肾小管细胞损伤, 这与氧化应激损伤和反应性密切相关

氧 (ROS) [7, 8]。抑制肾脏炎症和 ROS 产生已被证实可以减轻氧化应激损伤并减少肾内晶体沉积 [9]。

导致肾结石的危险因素多种多样，包括肾脏解剖异常、家族史、老年、代谢综合征、气候变化、生活方式、微生物组等[10-14]。在实践中，所有可用的治疗方案都表明生活方式干预是有效且经济的。人们一直在试图寻找普遍支持的非处方药或饮食建议来预防结石形成[15]。最近，大量且适当的液体摄入量与减少结石复发之间开始出现令人信服的联系[16]。饮用水的质量，包括氢键网络[17]、高 pH 值[18]、钙镁比例失调[19]、高盐[20]、摄入量增加[21]，甚至特定的饮料类型，都受到影响据信有利于肾结石的形成，提供饮酒行为以及旨在恢复正常肾脏生化的饮食调整。

尽管取得了这些进展，但房间里不可避免的大象仍然是肾结石的治疗和预防。在这里，我们重点关注饮用水的 pH 值，探讨碱性饮用水 (pH 9.3) 对肾结石形成的预防和保护作用。我们发现高 pH 值饮用水减少了肾小管上皮细胞中钙结石的沉积，这进一步揭示了肾结石形成的潜在机制。

2. 材料和方法

2.1. 试剂和抗体。Te 乙醛酸盐由 Sigma (G4502) 提供。GSH (A006-1-1) 和 MDA (A003-1-2) 来自南京建成生物工程研究所。Te SOD (E-BC-K020-M) 购自 Elabscience。针对 OPN (22925)、CD44 (15675)、Nrf2 (16396)、HO-1 (10701) 和 SOD-1 (10269) 的一抗购自 Proteintech Company。Cell Signaling Technology 提供针对 c-c3 (cleaved-caspase-3) (96611) 和 SIRT1 (8469) 的一抗。 α -SMA 一抗 (CY5295) 购自 Abways, MCP-1 (DF7577) 购自 Afnity。高 pH 碱性天然矿泉水 (pH 9.3, 石林天外天) 和低 pH 碱性天然矿泉水 (pH 8.3, 石林天外天) 购自京东网上商城。

2.2. 肾结石和治疗的小鼠模型。C57BL 小鼠 (6~8 周龄) 由江南大学实验动物研究中心提供，在江南大学动物设施内无病原体条件下饲养。所有实验程序均遵循美国国立卫生研究院实验动物护理和使用指南的规则。将小鼠分为以下 4 组：(1) 对照组 (饮用未经乙醛酸处理的蒸馏水)，(2) 模型组 (饮用蒸馏水乙醛酸诱发肾结石组)，(3) 模型+低 pH 组

(乙醛酸盐诱发肾结石组, pH 8.3 天然矿泉水)，(4) 模型+高 pH 组 (乙醛酸盐诱发肾结石组, pH 9.3 天然矿泉水)。乙醛酸暴露前，小鼠饮用相应的水 1 周 (1-7 天)。为了创建乙醛酸盐诱导的肾结石模型，每只小鼠在第 8-14 天每天接受一次腹膜内载体 (盐水) 或乙醛酸盐 (乙醛酸, GA) (100 mg/kg, 100 μ l)。在上述期间，我们记录体重和饮水量 (表 S1 和表 S2)。最后，将左肾冷冻在 -80 $^{\circ}$ C 备用，右肾固定在 4% 多聚甲醛中用于组织学检查。

2.3. 组织学分析。将肾组织固定在 4% 福尔马林中并石蜡包埋，然后切成 4 μ m 切片。制备的切片经脱石蜡和复水后，按照既定的标准程序进行病理染色。

对于苏木精和伊红 (HE) 染色，将切片浸入苏木精 10 分钟和伊红 2 分钟。

用于测定胶原蛋白沉积水平的马森三色染色按照制造商的说明进行。切片用 Weigert 铁苏木精溶液染色，蒸馏水洗涤 3 次后，依次用 0.7% 马松丽春酸品红染色液染色 10 分钟，磷钼酸分化 4 分钟，然后用 2% 苯胺蓝染料溶液染色。最后，在光学显微镜下观察胶原沉积。

如下进行高碘酸希夫 (PAS) 染色。先在肾脏切片上加入高碘酸盐氧化溶液 5 分钟，直至组织颜色变为红紫色，停止使用 Schiff 试剂。苏木精染色后观察结果。

天狼星红染色是根据制造商的说明使用商业试剂盒进行的。肾脏切片用天狼星红染料染色 1 小时后显示阳性染色。

采用 Von Kossa 染色商业试剂盒检测肾脏中的钙盐。简而言之，将组织依次用硝酸银、苏木精、伊红浸泡，染色即完成。

2.4. 隧道测定。采用原位细胞死亡检测试剂盒进行 Tunel 法测定肾组织中的凋亡细胞。简而言之，将切片置于加湿/暗室中，并在 37 $^{\circ}$ C 下与 Tunel 反应混合物一起孵育 1 小时，然后用 0.1 M 柠檬酸钠 (pH 6.0) 在 65 $^{\circ}$ C 下脱石蜡并透化 30 分钟。之后，我们在荧光显微镜下观察到阳性核染色。

2.5. 逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR)。详细的程序按照我们之前的描述进行[22]。用 Trizol 试剂从小鼠肾脏样本中提取总 RNA。十、我们

使用分光光度计 (One Drop, OD-1000+) 测量 RNA 浓度。接下来，使用 Omniscript RT-PCR 试剂盒 (Qiagen, 德国) 对提取的 RNA 进行反转录，并按照制造商的方案对特定引物 (Sangon, 上海) 的扩增产物进行定量。表 1 中提供了引物序列。使用 2% 琼脂糖凝胶通过电泳分析 Te PCR 产物，并使用带密度来定量 mRNA，使用甘油醛 3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) mRNA 作为内部对照。

2.6. 统计分析。所有数据均以平均值 \pm SD 表示。通过使用 GraphPad Prism 5.0 进行的 Students t 检验或单向方差分析 (ANOVA) 确定对照组和治疗组之间的统计学显着差异。为了分析基因之间的相关性，应用皮尔逊相关性检验。P 值 <0.05 被认为具有统计学意义。

3. 结果

3.1. 碱性矿泉水可减轻乙醛酸盐诱导的肾晶体形成和纤维化。将小鼠分为 4 组，以确定补充碱性矿泉水对肾结石进展的影响，如材料部分所述。HE 和 Von Kossa 染色分析显示模型组存在高度肾损伤，肾小管扩张和破裂，表明存在深刻的晶体沉积染色 (图 1(a) 和 1(b))。Von Kossa 染色显示，CaOx 晶体形成并沉积在模型小鼠皮质和髓质之间的肾小管中。高 pH 值矿泉水比低 pH 值矿泉水显着减少了晶体的数量。接下来，我们评估了骨桥蛋白 (OPN) 和 CD44 的蛋白表达水平，因为它们分别是晶体相关基因和晶体粘附相关基因 [23]。IHC 结果显示，与对照组相比，模型组 OPN 和 CD44 表达急剧增加 (图 1(c))。同样，高 pH 值矿泉水在 CaOx 刺激下显着下调其表达 (图 1(c))，而低 pH 值矿泉水补充剂未能改变其表达水平 (图 1(c))。此外，我们还发现，与模型组相比，高 pH 值矿泉水有效降低了尿酸水平，尽管尿素氮和肌酐未能降低 (图 S1)。

据报道，肾小管间质纤维化是草酸盐肾病肾衰竭的关键病理生理过程 [24]。为了评估四组乙醛酸损伤肾组织纤维化水平的变化，我们进行了马森染色和天狼星红染色。肾组织 Masson 染色显示，与对照组相比，模型组有明显的纤维化，补充高 pH 矿泉水后纤维化明显逆转 (图 2(a))。天狼星红和 α -SMA 染色也显示纤维化减少，这两者都是细胞外基质 (ECM) 沉积的标志物 (图 2(b) 和 2(c))。在低 pH 值矿泉水补充组中也发现了类似的无效效果。

(图 2(a) -2(c))。总而言之，这些结果表明，摄入高 pH 值矿泉水可以防止乙醛酸盐诱导的肾晶体形成和纤维化。

3.2. 碱性矿泉水可减轻乙醛酸盐诱导的肾损伤和细胞凋亡。据报道，细胞凋亡参与 CaOx 晶体形成和肾损伤 [25]。PAS 染色显示模型组中肾小管损伤显着增加，如 PAS 阳性染色细胞比对照组减少所示 (图 3(a))。补充高 pH 值矿泉水可显着减轻模型小鼠的肾小管损伤 (图 3(a))。此外，Tunel 染色结果显示，与对照组相比，模型组中 Tunel 阳性细胞显着增加，而高 pH 组中检测到的凋亡细胞明显少于低 pH 组 (图 3(b))。裂解的 caspase 3 的 IHC 结果进一步阐明了上述结果 (图 3(c))。总的来说，这些结果表明，高 pH 值矿泉水的预处理比低 pH 值矿泉水具有更强的减少肾细胞凋亡的能力，因此对 CaOx 诱导的肾脏损伤具有抗损伤作用。

3.3. 碱性矿泉水可减轻乙醛酸盐引起的肾脏氧化应激。大量研究表明，氧化应激有助于 CaOx 诱导的晶体形成 [26, 27]。因此，我们研究了氧化应激是否参与碱性矿泉水诱导的治疗效果。Nrf2/HO-1 是参与 CaOx 诱导晶体沉积处理的主要抗氧化途径 [23, 28]。我们发现，CaOx 处理后，Nrf2 和 HO-1 均上调，并且在补充高 pH 矿泉水后，上调进一步放大 (图 4(a))。此外，SOD 下调会导致 CaOx 诱导的氧化损伤，尽管它不受高 pH 矿泉水补充的影响 (图 4(a))。最近，据报道 SIRT1 还原参与 CaOx 诱导的晶体形成 [29]。有趣的是，高 pH 值矿泉水补充剂比模型组显着刺激了 SIRT1 表达水平 (图 4(a))。此外，还测量了 GSH、MDA 和 SOD 水平。尽管与模型组相比，用碱性矿泉水处理时 SOD 水平没有明显变化，但模型+高 pH 组中的 GSH 水平较高 (图 4(b) 和 4(c))。同时，MDA 水平呈下降趋势 (图 4(d))。基于上述发现，表明碱性矿泉水的处理可以改善乙醛酸盐引起的肾损伤中的氧化损伤。

3.4. 碱性矿泉水可减轻乙醛酸盐引起的肾脏炎症。许多研究表明，草酸钙结石的形成依赖于炎症过程，并分泌多种炎症因子，如单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) [30]。因此，我们通过以下方法评估了碱性矿泉水对乙醛酸盐引起的肾脏炎症的影响：

表 1：聚合酶链式反应引物的 DNA 序列。

Gene name	Primer name	Sequence (5'-3')
	GAPDH-F	TGAACGGGAAGCTCACTGG
Mouse-GAPDH	GAPDH-R	"
	IL-1 β -F	AGCAGCTATGGCAACTGTTC
Mouse- IL-1 β	IL-1 β -R	AATGAGTGATACTGCCTGCC
	TNF- α -F	ATGTCTCAGCCTCTTCTCATTC
Mouse-TNF- α	TNF- α -R	GCTTGTCACTCGAATTGAGA

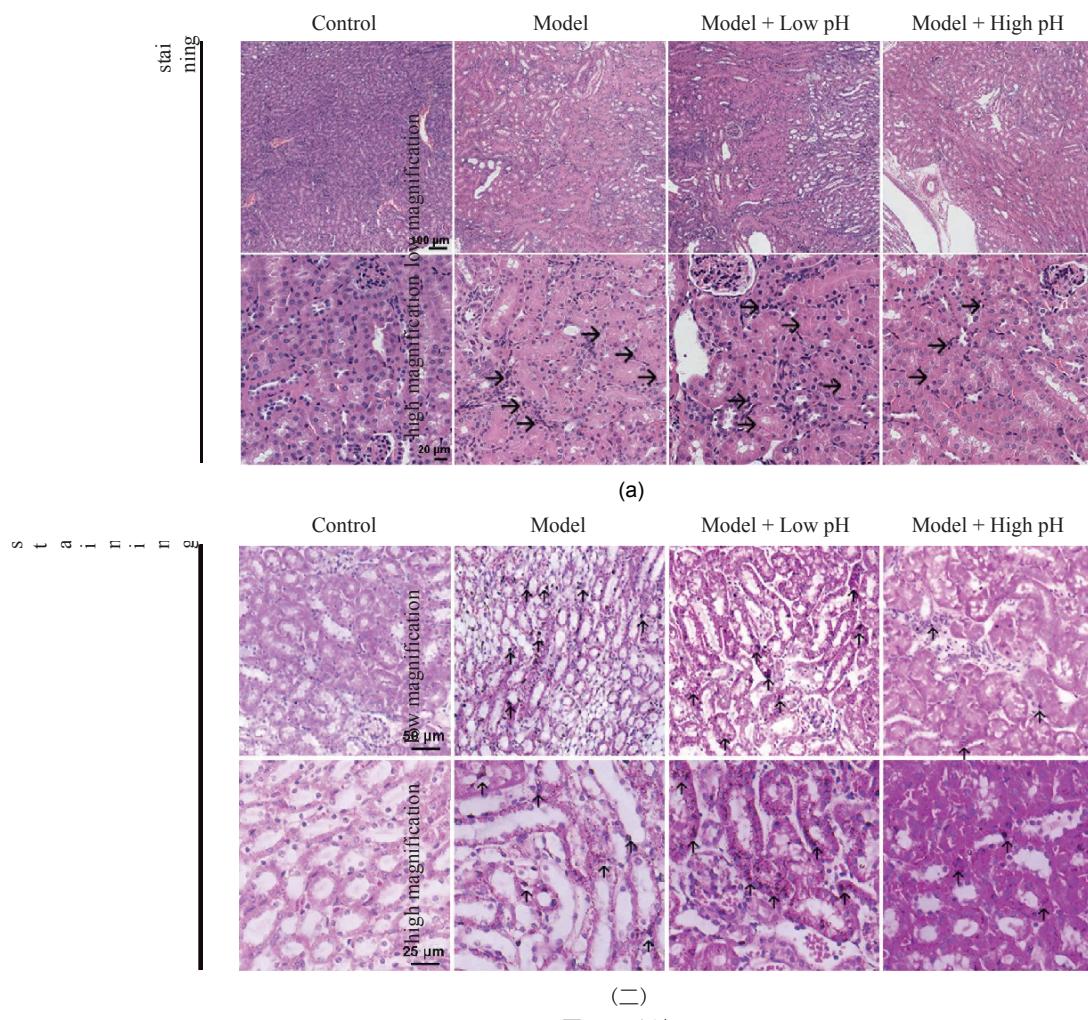


图 1：继续。

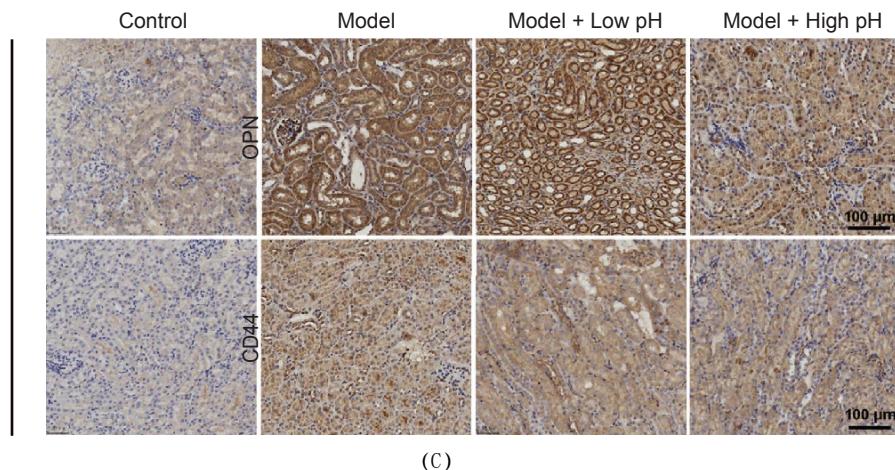


图 1：碱性矿泉水对小鼠肾脏 CaO_x 晶体沉积和肾小管损伤的影响。 (a, b) 小鼠肾脏钙沉积的 HE 染色和 Von Kossa 染色的代表性图像。 (c) 石蜡包埋肾切片的 OPN 和 CD44 免疫组织化学染色 (比例尺 100 μm)。

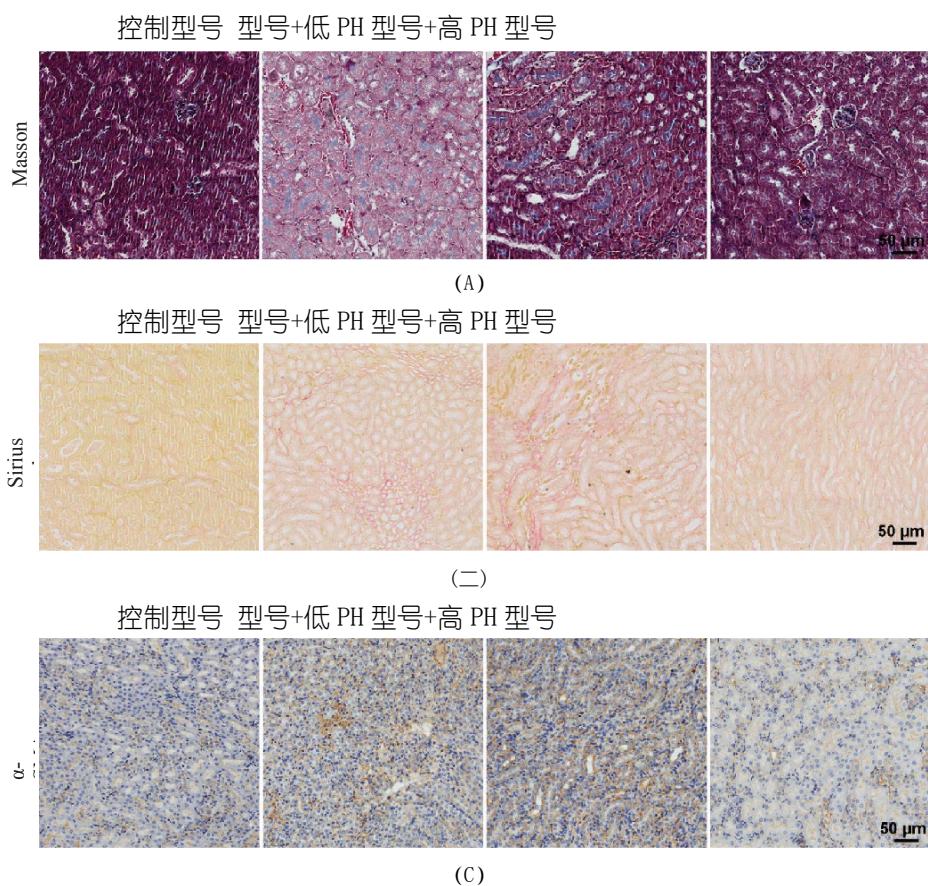


图 2：碱性矿泉水抑制乙醛酸盐诱导的小鼠肾纤维化。 通过免疫组织化学显示马森三色 (a)、天狼星红 (b) 和 α -SMA 染色 (c) 的代表性图像 (比例尺 50 μm)。

测量 MCP-1 表达。 我们发现模型组肾脏 MCP-1 显着高于对照组，但补充高 pH 矿泉水后效果逆转 (图 5 (a))。 此外，IL-1 β 和 TNF- α mRNA 表达水平显着增加

模型组的肾组织，在补充高 pH 矿泉水后其表达进一步减少 (图 5 (b) 和 5 (c))。 基于上述结果，表明碱性矿泉水可以缓解乙醛酸盐引起的肾脏炎症。

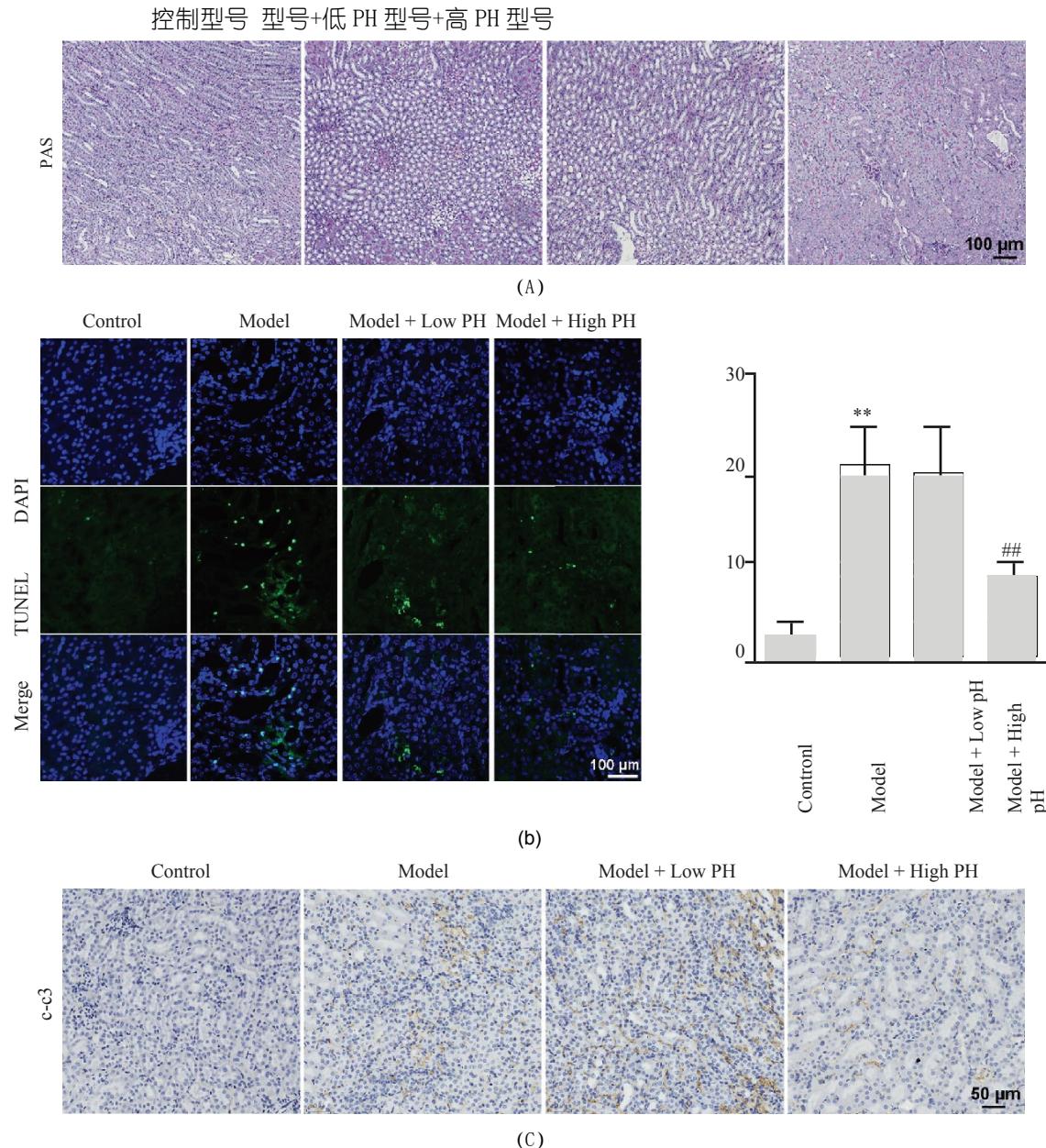


图 3：碱性矿泉水对乙酰酸盐诱导的小鼠细胞凋亡的影响。 (a) 不同组小鼠肾脏的 PAS 染色。 (b) Tunel 染色用于评估肾细胞凋亡 (比例尺 $100 \mu\text{m}$)。 计算了 tunel 阳性细胞的百分比并显示正确。 数据以平均值 \pm SD 表示。 与正常对照组相比 $P < 0.01$, [##] 与模型组相比 $P < 0.01$ 。 (c) 通过免疫组织化学评估凋亡相关蛋白 c-c3 (cleaved-caspase-3) 的表达 (比例尺 $50 \mu\text{m}$)。

4. 讨论

CaOx 诱发的肾结石是慢性肾脏疾病的主要原因之一，导致沉重的支出负担和较差的生活质量[31]。目前医学治疗的发展主要集中在限制草酸盐的摄入和草酸的产生[32]。然而，饮食和饮酒习惯被认为是经济、有用的，并且具有良好的治疗依从性，副作用的可能性最小。在本研究中，我们重点研究碱性矿泉水补充剂的保护作用及其在乙酰酸盐诱导的肾损伤中的潜在机制。我们的结果表明

碱性矿泉水抑制草酸盐诱导的体内晶体形成和沉积。具体来说，我们发现高 pH 值的碱性矿泉水通过减少肾纤维化、细胞凋亡、氧化和炎症对草酸肾病具有保护作用。所有数据都表明碱性矿泉水可能是草酸盐引起的肾毒性的有效预防性治疗方法。

肾晶体形成是一个复杂的过程，涉及氧化应激、线粒体膜电位、细胞凋亡、炎症反应等[33, 34]。过度的氧化应激可诱发炎症和细胞损伤，表明氧化应激是导致炎症和细胞损伤的原因之一。

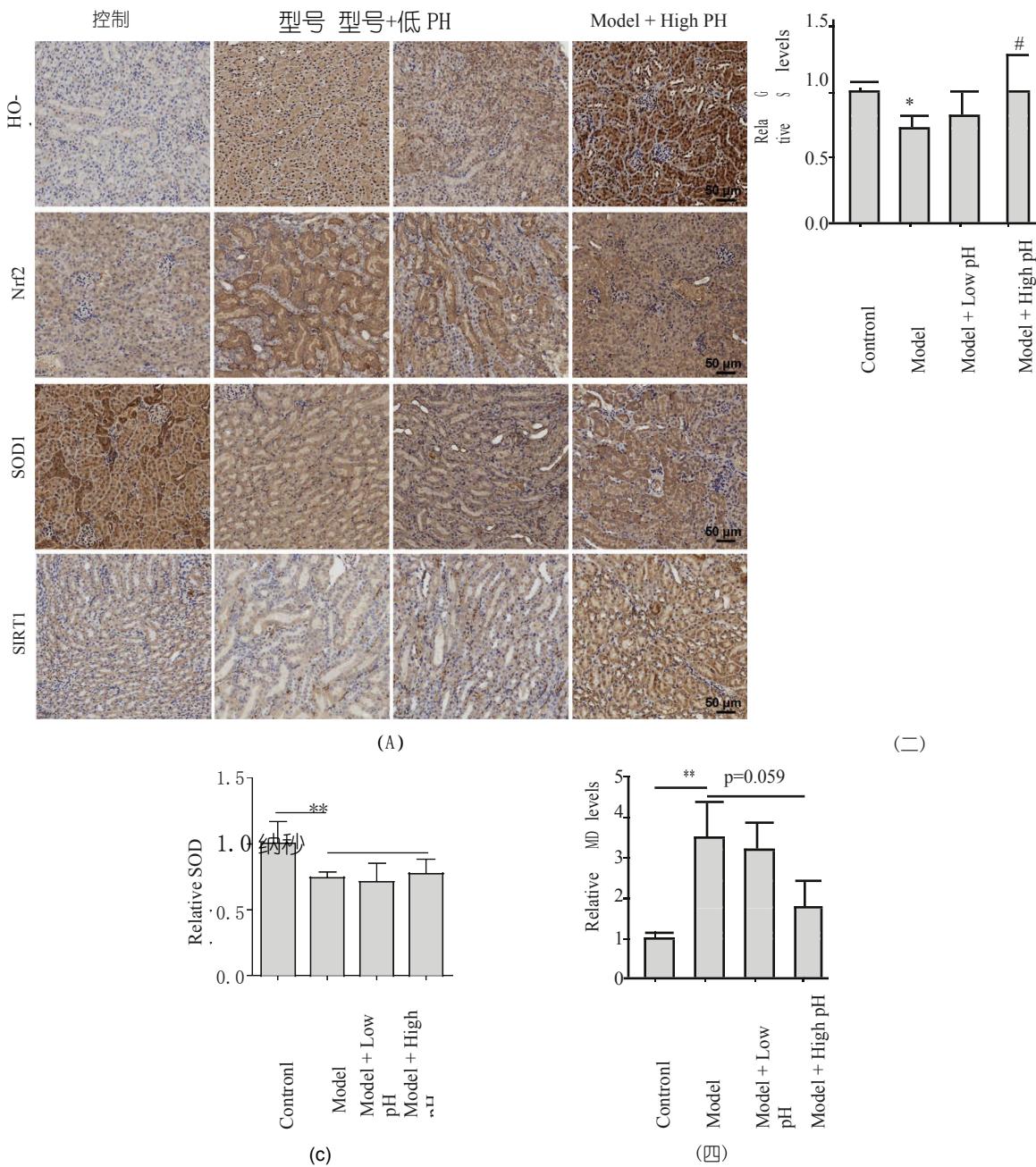


图 4：碱性矿泉水抑制乙醛酸盐诱导的小鼠氧化。(a) 使用石蜡包埋肾切片的免疫组织化学染色进行 HO-1、Nrf2、SOD-1 和 SIRT1 表达测定 (比例尺 $50 \mu\text{m}$)。(b-d) 按图示处理小鼠，然后通过相应的试剂盒检测肾组织的相对 GSH (b)、SOD (c)、MDA 和 (d) 含量。所有定量数据均以平均值 \pm SD 表示，与正常对照组相比 $P < 0.05$ ，与正常对照组相比 $P < 0.01$ ，[#] $P < 0.05$ 与模型组相比。

结石形成中最重要的环节。先前的研究表明氧化应激有助于肾结石的发病机制。虽然抗氧化剂的应用发挥了治疗作用，但长期临床试验受到限制，因为一些与抗氧化剂相关的干预措施是无效或有害的[35]。这些失败可能来自于同时引起炎症的外源性抗氧化剂[36, 37]。我们在这里表明，碱性水可以减轻氧化应激而不诱发炎症，从而克服了这一限制。

水煤气的质量对于肾结石的形成备受关注。最近有报道称，水硬度 [38, 39]、钙含量 [40] 和饮料类型 [41, 42] 会影响肾结石的发病率。然而，关于饮用水的 pH 值是否影响结石形成的问题仍然存在争议 [43]。尿液 pH 值和相关评估提供了有关结石形成可能性的重要信息，可以指导预防。此外，一些抗肾结石药物已被证实可以增加尿液 pH 值，从而提供结石溶解的可能性 [44]。到目前为止，还没有

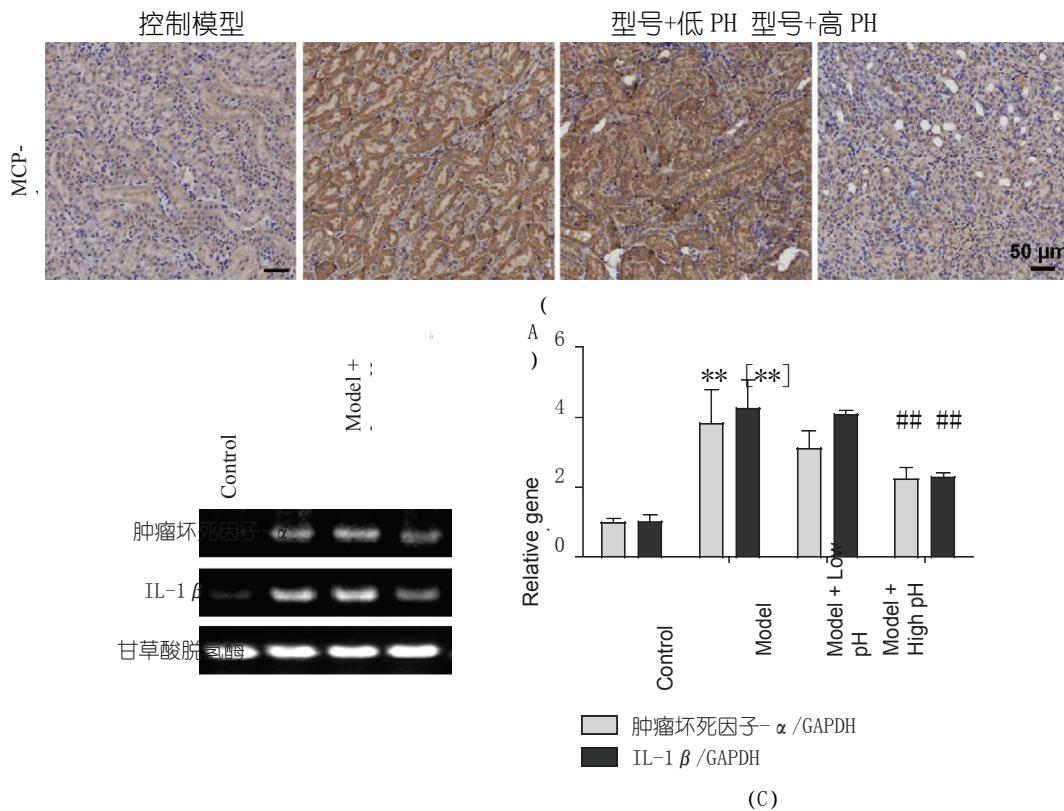


图 5：碱性矿泉水可减轻乙醛酸盐引起的小鼠炎症。 (a) 使用石蜡包埋肾切片的免疫组织化学染色进行 MCP-1 表达测定 (比例尺 $50 \mu\text{m}$)。 (b) 如图所示处理小鼠，然后通过 RT-PCR 检测相对 IL-1 β 和 TNF- α mRNA 表达水平。 (c) (b) 的定量结果。 所有定量数据均以平均值 \pm SD 表示，与正常对照组相比 $P<0.01$ ，与模型组相比 [##] $P<0.01$ 。

饮用水 pH 值与尿液 pH 值相关的显着证据。由于肾结石的形成是由 CaOx 结晶、晶体生长、聚集、粘附和滞留组成的多个过程[45]，因此碱性矿泉水在每个步骤中都具有防止结石形成的潜力。

5. 结论

总之，我们通过重复施用乙醛酸盐开发了乙醛酸盐诱发肾结石的模型。通过使用这个模型，我们已经证明，喂食碱性矿泉水的小鼠可以在一定程度上免受进行性肾损伤的影响。因此，我们相信碱性水对于治疗氧化钙肾结石可能具有潜在和有前景的价值。

HE: 苏木精和曙红
 IHC: 免疫组化
 MCP-1: 单核细胞趋化蛋白 1
 MDA: 丙二醛
 肾结石: 肾结石
 OPN: 骨桥蛋白
 PAS: 高碘酸-希夫
 ROS: 活性氧
 RT-PCR: 逆转录聚合酶链
 反应
 SOD: 超氧化物歧化酶
 Tunel: 末端脱氧核苷酸转移酶
 介导的缺口末端标记。

缩写

方差分析: 方差分析
 CaOx: 草酸钙
 c-c3: 切割的 caspase-3
 ECM: 细胞外基质
 GA: 乙醛酸
 GAPDH: 3-磷酸甘油醛
 脱氢酶
 谷胱甘肽: 谷胱甘肽

数据可用性

在当前研究中使用和/或分析的数据集可应合理要求从相应的作者处获得。

道德认可

在动物上进行的所有实验和程序均已得到江南大学伦理委员会的批准。

利益冲突

作者声明不存在利益冲突。

作者的贡献

LC、ZJ 和 XZ 构思了这项研究。XZ 和 ZJ 设计了这项研究。LL、XL、YC、RW 和 CL 进行了实验。LL 和 XZ 为本文的撰写做出了贡献。ZJ 进行了审阅和编辑。作者刘雷和陈琳对这项工作做出了同等贡献。

致谢

该研究得到国家自然科学基金项目 (82200819) 的资助；江苏省自然科学基金 (BK20220605)；江苏省创新创业人才计划 (JSSCBS20211600)。

补充材料

图 S1：血清 BUN (A)、肌酐 (B) 和尿酸 (C) 模型组和高 pH 组的水平。表 S1：草酸钙暴露后小鼠的体重。表 S2：草酸钙暴露后小鼠的饮水量。（补充材料）

References

- [1] M. Abufaraj, T. Xu, C. Cao et al., “Prevalence and trends in kidney stone among adults in the USA: analyses of national health and nutrition examination survey 2007–2018 data,” *Eur Urol Focus*, vol. 7, no. 6, pp. 1468–1475, 2021.
- [2] G. Zeng, Z. Mai, S. Xia et al., “Prevalence of kidney stones in China: an ultrasonography based cross-sectional study,” *BJU International*, vol. 120, no. 1, pp. 109–116, 2017.
- [3] P. Singh, P. C. Harris, D. J. Sas, and J. C. Lieske, “The genetics of kidney stone disease and nephrocalcinosis,” *Nature Reviews Nephrology*, vol. 18, no. 4, pp. 224–240, 2022.
- [4] F. L. Coe, E. M. Worcester, and A. P. Evan, “Idiopathic hypercalciuria and formation of calcium renal stones,” *Nature Reviews Nephrology*, vol. 12, no. 9, pp. 519–533, 2016.
- [5] P. Singh, F. T. Enders, L. E. Vaughan et al., “Stone composition among first-time symptomatic kidney stone formers in the community,” *Mayo Clinic Proceedings*, vol. 90, no. 10, pp. 1356–1365, 2015.
- [6] A. P. Evan, “Physiopathology and etiology of stone formation in the kidney and the urinary tract,” *Pediatric Nephrology*, vol. 25, no. 5, pp. 831–841, 2010.
- [7] S. R. Khan, B. K. Canales, and P. R. Dominguez-Gutierrez, “Randall’s plaque and calcium oxalate stone formation: role for immunity and inflammation,” *Nature Reviews Nephrology*, vol. 17, no. 6, pp. 417–433, 2021.
- [8] K. Niimi, T. Yasui, M. Hirose et al., “Mitochondrial permeability transition pore opening induces the initial process of renal calcium crystallization,” *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 52, no. 7, pp. 1207–1217, 2012.
- [9] J. Kang, Y. Sun, Y. Deng et al., “Autophagy-endoplasmic reticulum stress inhibition mechanism of superoxide dismutase in the formation of calcium oxalate kidney stones,” *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 121, 2020.

- [10] A. W. Miller, K. L. Penniston, K. Fitzpatrick, J. Agudelo, G. Tasian, and D. Lange, "Mechanisms of the intestinal and urinary microbiome in kidney stone disease," *Nature Reviews Urology*, vol. 2, 2022.
- [11] A. D. Rule, E. J. Bergstrahl, L. J. Melton, X. Li, A. L. Weaver, and J. C. Lieske, "Kidney stones and the risk for chronic kidney disease," *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 4, no. 4, pp. 804 -811, 2009.
- [12] I. G. Jeong, T. Kang, J. K. Bang et al., "Association between metabolic syndrome and the presence of kidney stones in a screened population," *American Journal of Kidney Diseases*, vol. 58, no. 3, pp. 383 -388, 2011.
- [13] I. Sorokin, C. Mamoulakis, K. Miyazawa, A. Rodgers, J. Talati, and Y. Lotan, "Epidemiology of stone disease across the world," *World Journal of Urology*, vol. 35, no. 9, pp. 1301 - 1320, 2017.
- [14] R. J. Fakheri and D. S. Goldfarb, "Ambient temperature as a contributor to kidney stone formation: implications of global warming," *Kidney International*, vol. 79, no. 11, pp. 1178 - 1185, 2011.
- [15] A. Garbens and M. S. Pearl, "Causes and prevention of kidney stones: separating myth from fact," *BJU International*, vol. 128, no. 6, pp. 661 -666, 2021.
- [16] D. S. Goldfarb, "Empiric therapy for kidney stones," *Uro-lithiasis*, vol. 47, no. 1, pp. 107 -113, 2019.
- [17] Y. Li, J. Pan, Y. Zhang et al., "Effects of small molecules water that may retard kidney stone formation," *International Urology and Nephrology*, vol. 50, no. 2, pp. 225 -230, 2018.
- [18] S. Willis, D. S. Goldfarb, K. Tomas, and M. Bultitude, "Water to prevent kidney stones: tap vs bottled; soft vs hard - does it matter?" *BJU International*, vol. 124, no. 6, pp. 905-906, 2019.
- [19] A. H. Panhwar, T. G. Kazi, H. I. Afridi et al., "Evaluation of calcium and magnesium in scalp hair samples of population consuming different drinking water: risk of kidney stone," *Biological Trace Element Research*, vol. 156, no. 1-3, pp. 67 -73, 2013.
- [20] V. K. Garg, S. Suthar, S. Singh, A. Sheoran, M. Garima, and S. Jain, "Drinking water quality in villages of southwestern Haryana, India: assessing human health risks associated with hydrochemistry," *Environmental Geology*, vol. 58, no. 6, pp. 1329 - 1340, 2008.
- [21] E. Tasian Gregory, M. Ross, L. Song et al., "Ecological momentary assessment of factors associated with water intake among adolescents with kidney stone disease," *The Journal of Urology*, vol. 201, no. 3, pp. 606 -614, 2019.
- [22] W. Ding, Z. Zhao, Y. Zheng et al., "Exposure to short-chain chlorinated parafns induces astrocyte activation via JAK2/ STAT3 signaling pathway," *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 248, 2022.
- [23] H. Lu, X. Sun, M. Jia et al., "Rosiglitazone suppresses renal crystal deposition by ameliorating tubular injury resulted from oxidative stress and inflammatory response via promoting the Nrf2/HO-1 pathway and shifting macrophage polarization," *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2021, Article ID 5527137, 18 pages, 2021.
- [24] C. Lefaucheur, D. Nochy, C. Amrein et al., "Renal histo-pathological lesions after lung transplantation in patients with cystic fibrosis," *American Journal of Transplantation*, vol. 8, no. 9, pp. 1901 -1910, 2008.
- [25] T. Yasui, A. Okada, S. Hamamoto et al., "Pathophysiology-based treatment of urolithiasis," *International Journal of Urology*, vol. 24, no. 1, pp. 32 -38, 2017.
- [26] M. Hirose, T. Yasui, A. Okada et al., "Renal tubular epithelial cell injury and oxidative stress induce calcium oxalate crystal

- formation in mouse kidney,” *International Journal of Urology: Official Journal of the Japanese Urological Association*, vol. 17, no. 1, pp. 83–92, 2010.
- [27] Z. Yifan, S. Luming, C. Wei, X. Luwei, X. Zheng, and J. Ruipeng, “Cystine crystal-induced reactive oxygen species associated with NLRP3 inflammasome activation: implications for the pathogenesis of cystine calculi,” *International Urology and Nephrology*, vol. 54, no. 12, pp. 3097–3106, 2022.
- [28] D. Zhou, Y. Wu, H. Yan et al., “Gallic acid ameliorates calcium oxalate crystal-induced renal injury via upregulation of Nrf2/HO-1 in the mouse model of stone formation,” *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, vol. 106, 2022.
- [29] G. H. Jing, Y. D. Liu, J. N. Liu, Y. S. Jin, S. L. Yu, and R. H. An, “Puerarin prevents calcium oxalate crystal-induced renal epithelial cell autophagy by activating the SIRT1-mediated signaling pathway,” *Urolithiasis*, vol. 50, no. 5, pp. 545–556, 2022.
- [30] Y. Li, G. Yan, J. Zhang et al., “LncRNA HOXA11-AS regulates calcium oxalate crystal-induced renal inflammation via miR-124-3p/MCP-1,” *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, vol. 24, no. 1, pp. 238–249, 2020.
- [31] J. B. Ziembra and B. R. Matlaga, “Epidemiology and economics of nephrolithiasis,” *Investig Clin Urol*, vol. 58, no. 5, pp. 299–306, 2017.
- [32] C. M. Wyatt and T. B. Drueke, “Stiripentol for the treatment of primary hyperoxaluria and calcium oxalate nephropathy,” *Kidney International*, vol. 97, no. 1, pp. 17–19, 2020.
- [33] A. P. Evan, E. M. Worcester, F. L. Coe, J. Williams, and J. E. Lingeman, “Mechanisms of human kidney stone formation,” *Urolithiasis*, vol. 43, no. 1, pp. 19–32, 2015.
- [34] Y. Sun, Y. Liu, X. Guan et al., “Atorvastatin inhibits renal inflammatory response induced by calcium oxalate crystals via inhibiting the activation of TLR4/NF-κB and NLRP3 inflammasome,” *IUBMB Life*, vol. 72, no. 5, pp. 1065–1074, 2020.
- [35] H. H. Schmidt, R. Stocker, C. Vollbracht et al., “Antioxidants in translational medicine,” *Antioxidants and Redox Signaling*, vol. 23, no. 14, pp. 1130–1143, 2015.
- [36] S. Altenhofer, K. A. Radermacher, P. W. Kleikers, K. Wingler, and H. H. Schmidt, “Evolution of NADPH oxidase inhibitors: selectivity and mechanisms for target engagement,” *Antioxidants and Redox Signaling*, vol. 23, no. 5, pp. 406–427, 2015.
- [37] N. Kaludercic, S. Deshwal, and F. Di Lisa, “Reactive oxygen species and redox compartmentalization,” *Frontiers in Physiology*, vol. 5, p. 285, 2014.
- [38] V. Bellizzi, L. De Nicola, R. Minutolo et al., “Effects of water hardness on urinary risk factors for kidney stones in patients with idiopathic nephrolithiasis,” *Nephron*, vol. 26, pp. 66–70, 1999.
- [39] G. Coen, D. Sardella, G. Barbera et al., “Urinary composition and lithogenic risk in normal subjects following oligomineral versus bicarbonate-alkaline high calcium mineral water intake,” *Urologia Internationalis*, vol. 67, no. 1, pp. 49–53, 2001.
- [40] K. Kohri, M. Kodama, Y. Ishikawa et al., “Magnesium-to-calcium ratio in tap water, and its relationship to geological features and the incidence of calcium-containing urinary stones,” *The Journal of Urology*, vol. 142, no. 5, pp. 1272–1275, 1989.
- [41] Y. Itoh, T. Yasui, A. Okada, K. Tozawa, Y. Hayashi, and K. Kohri, “Preventive effects of green tea on renal stone formation and the role of oxidative stress in nephrolithiasis,” *The Journal of Urology*, vol. 173, no. 1, pp. 271–275, 2005.

- [42] P. M. Ferraro, E. N. Taylor, G. Gambaro, and G. C. Curhan, “Caffeine intake and the risk of kidney stones,” *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 100, no. 6, pp. 1596 –1603, 2014.
- [43] P. Mitra, D. K. Pal, and M. Das, “Does quality of drinking water matter in kidney stone disease: a study in West Bengal, India,” *Investig Clin Urol*, vol. 59, no. 3, pp. 158 –165, 2018.
- [44] S. Farmanesh, S. Ramamoorthy, J. Chung, J. R. Asplin, P. Karande, and J. D. Rimer, “Specificity of growth inhibitors and their cooperative effects in calcium oxalate monohydrate crystallization,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 136, no. 1, pp. 367 –376, 2014.
- [45] S. R. Mulay, A. Evan, and H. J. Anders, “Molecular mechanisms of crystal-related kidney inflammation and injury. Implications for cholesterol embolism, crystalline nephropathies and kidney stone disease,” *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 29, no. 3, pp. 507 –514, 2014.