

富氢水对急性肝损伤小鼠模型的保护作用研究

睢建亮^{1,2,3}, 王 珍¹, 刘会云^{2,3}, 赵飞跃^{2,3}, 贾瑞康^{2,3}, 石玉祥¹

(1.河北工程大学生命科学与食品工程学院, 河北 邯郸 056000;

2.河北省中成胃药创新研究重点实验室, 河北 邯郸 056000;

3.邯郸制药股份有限公司, 河北 邯郸 056000)

摘要:目的 研究富氢水对小鼠急性肝损伤的保护作用。方法 60 只雄性 KM 小鼠随机分为空白组、模型组、阳性对照组、富氢水低剂量组、富氢水中剂量组和富氢水高剂量组。除空白组外, 各组小鼠腹腔注射 0.3% 的 CCl₄ 制备急性肝损伤模型。观察肝脏的形态变化, 计算肝指数, HE 染色观察肝脏病理变化并进行病理评分。检测小鼠血清中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、总胆红素(TBIL-F)、直接胆红素(DBIL-F)的浓度。此外, 分别收集空白组、模型组和富氢水中剂量处理组小鼠的肝脏组织($n=5$)进行转录组测序。结果 与空白组相比, 模型组肝组织颜色变浅, 表面出现纹理, 病理评分增高。与模型组相比, 富氢水组肝组织损伤评分降低, 肝指数降低, 血清中 ALT、AST、TBIL-F、DBIL-F 浓度降低, 富氢水组有 100 个基因上调, 194 个基因下调, 共计 294 个差异基因。结论 富氢水可通降低血清中 ALT、AST、TBIL-F、DBIL-F 的浓度, 使肝脏组织中的基因表达特征向空白组靠近, 降低肝损伤程度, 最终在急性肝损伤小鼠模型中起到保肝作用。

关键词: 富氢水; 急性肝损伤; 保护; 转录组测序

中图分类号: R575; R-332

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2024.19.003

文章编号: 1006-1959(2024)19-0019-08

Study on the Protective Effect of Hydrogen-rich Water on Acute Liver Injury Model in Mice

SUI Jianliang^{1,2,3}, WANG Zhen¹, LIU Huiyun^{2,3}, ZHAO Feiyue^{2,3}, JIA Ruikang^{2,3}, SHI Yuxiang¹

(1.School of Life Sciences and Food Engineering, Hebei University of Engineering, Handan 056000, Hebei, China;

2.Hebei Provincial Key Laboratory of Innovative Research on Chinese Traditional Patent Stomach Medicine,
Handan, 056000, Hebei, China;

3.Handan Pharmaceutical Co., Ltd., Handan 056000, Hebei, China)

Abstract: Objective To study the protective effect of hydrogen-rich water on acute liver injury in mice. Methods Sixty male KM mice were randomly divided into blank group, model group, positive control group, hydrogen-rich water low dose group, hydrogen-rich water dose group and hydrogen-rich water high dose group. Except for the blank group, mice in each group were intraperitoneally injected with 0.3% CCl₄ to prepare acute liver injury model. The morphological changes of the liver were observed, the liver index was calculated, and the pathological changes of the liver were observed and scored by HE staining. The concentrations of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin (TBIL-F) and direct bilirubin (DBIL-F) in serum of mice were detected. In addition, the liver tissues ($n=5$) of mice in the blank control group, model group and hydrogen-rich water dose treatment group were collected for transcriptome sequencing. Results Compared with the blank group, the color of liver tissue in the model group became lighter, the surface appeared texture, and the pathological score increased. Compared with the model group, the liver tissue injury score of the hydrogen-rich water group decreased, the liver index decreased, and the concentrations of ALT, AST, TBIL-F, and DBIL-F in the serum decreased. In the hydrogen-rich water group, 100 genes were up-regulated and 194 genes were down-regulated, a total of 294 differentially expressed genes. Conclusion Hydrogen-rich water can reduce the concentration of ALT, AST, TBIL-F and DBIL-F in serum, make the gene expression characteristics in liver tissue close to the blank control group, reduce the degree of liver injury, and finally play a protective role in the mouse model of acute liver injury.

Key words: Hydrogen-rich water; Acute liver injury; Protection; RNA-seq

氢气(H₂)是非极性、疏水性的, 是最小的分子, 因此它可快速扩散通过细胞膜, 到达线粒体、细胞核、内质网和其他亚细胞室。富氢水(hydrogen-rich

water, HRW)是将一定浓度的氢气溶于水制成的, 为氢气在疾病预防和治疗中的广泛应用奠定了更方便、安全可行的基础^[1]。富氢水中的 H₂ 极易被人体吸

作者简介: 睢建亮(1990.9-), 男, 河北邯郸人, 硕士研究生, 主要从事药理学研究

通讯作者: 石玉祥(1972.10-), 男, 山东聊城人, 博士, 教授, 主要从事畜禽营养免疫调控研究

收利用。 H_2 的潜在治疗作用现已在多种不同的人类和动物疾病模型中得到证实^[2]。研究表明^[3],富氢水可选择性清除过量羟自由基,有效减轻机体氧化损伤,在不同病理状态下减轻组织的炎性损伤。急性肝损伤(acute liver injury, ALI)是一个严重的健康问题,是肝病的最主要原因之一,发病率和死亡率都很高^[4],包括病毒、脂质沉积和药物在内的多种肝毒性因素可导致急性肝损伤,全世界 3.5%的死亡由肝病引起^[5,6]。四氯化碳(CCl_4)是一种典型的肝毒性化合物,广泛用于诱导急性肝损伤模型,用于机制和治疗研究^[7]。本研究旨在分析富氢水对小鼠急性肝损伤的保护作用,为肝病的治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器 富氢水购于北京活力氢源饮品有限公司;溶解氢浓度测定试剂(日本),四氯化碳(CCl_4)、无水乙醇、二甲苯试剂购于生工;注射用橄榄油、中性树胶购于索莱宝;4%多聚甲醛、HE 染色试剂盒购于碧云天。独立通气笼盒系统购于山东新华医疗;正置白光拍照显微镜购于 Nikon(Japan);转轮式石蜡切片机购于泰维科技;高速离心机、移液器购于 Eppendorf;电子天平购于梅特勒多利多;高压灭菌锅购于上海博讯;全自动血生化分析仪购于山东博科。

1.2 实验动物 4 周龄雄性昆明实验小鼠 80 只,体重(25 ± 2)g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司[许可证号:SCXK(京)2019-0010]。本动物实验方案经过河北工程大学附属医院实验动物福利伦理委员会同意,符合动物保护、动物福利和伦理原则(编号:IACUC-Hebeu-2023-0009)。

1.3 实验方法

1.3.1 氢浓度测定 取出溶解氢浓度测定试剂盒中的量杯,加自来水至刻度线。第 1 滴溶解氢浓度测定试剂,摇晃量杯,结果自来水呈蓝色。打开 1 罐富氢

水,加富氢水至量杯刻度线,第 1 滴溶解氢浓度测定试剂,摇晃量杯,富氢水无色透明。继续滴加溶解氢浓度测定试剂并摇晃量杯,一直到第 5 滴,量杯里的富氢水出现浅蓝色。证明量杯里富氢水中的氢已耗尽。根据说明书,富氢水的浓度在 0.4~0.5 ppm 之间。为确保富氢水中氢的浓度一致,每次实验新拆封富氢水 1 罐。使用注射用橄榄油将 CCl_4 配制成 0.3% 的 CCl_4 溶液。

1.3.2 急性肝损伤模型的制备预实验 将 20 只 4 周龄的雄性昆明实验小鼠,随机分成预实验空白组和预实验模型组,每组 10 只,适应性饲养 1 周。预实验空白组实验小鼠腹腔注射橄榄油 10 ml/kg,预实验模型组实验小鼠腹腔注射 0.3% 的 CCl_4 溶液(10 ml/kg),16 h 后取材,观察肝脏组织外观变化,随后将肝组织固定于多聚甲醛固定液中,做 HE 染色并进行病理评分。根据 HE 染色结果,从肝脏变性、炎性细胞浸润、坏死和出血 4 个方面进行病理评分,采用四级定级系统评分标准^[8],见表 1。

1.3.3 实验分组 60 只 4 周龄雄性 KM 小鼠,随机分为空白组、模型组、联苯双酯组、富氢水低剂量组、富氢水中剂量组、富氢水高剂量组,共 6 组,每组 10 只。联苯双酯组连续灌胃联苯双酯 150 mg/(kg·d),共 7 d;富氢水低中高剂量组分别连续灌胃不同剂量富氢水 5、10、20 ml/(kg·d),共 7 d。第 7 天灌胃 1 h 后,空白组腹腔注射橄榄油(10 ml/kg),其余各组腹腔注射 0.3% 的 CCl_4 (10 ml/kg),16 h 后取材。取材后收集血液,离心后将血清置于 -20 ℃ 保存,检测各组实验小鼠的血生化指标,包括谷草转氨酶(ALT)、谷丙转氨酶(AST)、总胆红素(TBIL-F)、直接胆红素(DBIL-F)。肝脏称重后与多聚甲醛固定液中固定,做 HE 染色并进行病理评分。柱状图采用 Graph Prism8.0 软件绘制,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 四级定位系统评分标准表

级别(分数)	种类	说明
0	在正常范围内	在研究状况下,考虑到动物的年龄、性别和品系等因素,认为组织正常。而在其他条件下出现的变化可认为是异常
1	很轻微	出现的变化刚超过正常范围
2	轻微	可以观察到病变,但尚不严重
3	中等	病变明显,而且很可能更加严重
4	严重	病变非常严重(病变已占据整个组织器官)

1.4 转录组测序 为了分析富氢水处理对肝脏组织基因表达变化的影响,取肝脏组织进行高通量测序。分别收集空白组、模型组和富氢水处理组小鼠的肝脏组织($n=5$)进行 RNA-seq。使用 DESeq2^[9]进行组间的基因表达差异分析,计算基因 LFC,并设定 $|LFC|>1$, $padj<0.05$ 阈值作为差异基因筛选标准。使用 pheatmap 进行基因表达热图的绘制。使用 clusterProfiler^[10]进行基因功能富集分析(基于 GO 和 KEGG 数据库)。其中 GO 数据库分为生物过程(biological process, BP)、细胞组成(cellular component, CC)和分子功能(molecular function, MF) 3 个部分。通过设定 $padj<0.05$ 作为显著功能的筛选标准。

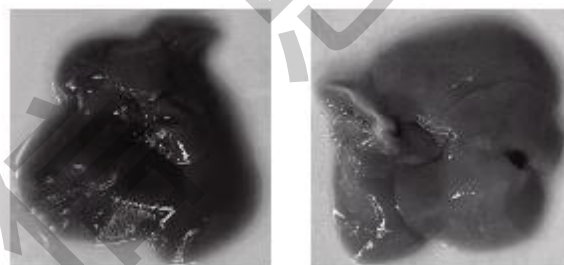
2 结果

2.1 小鼠急性肝损伤模型观察 两组实验小鼠肝脏的形态如图 1 所示,预实验空白组实验小鼠肝脏色泽暗红,外表光滑;预实验模型组肝脏色泽变浅,外表有明显不规则纹路。HE 染色结果如图 2 所示,预实验空白组肝脏组织被膜由厚薄均匀的富含弹性纤维致密结缔组织构成,肝小叶分界明显,排列规则,肝小叶中央为中央静脉,周围是呈放射状排列的肝细胞和肝血窦,肝细胞圆润、饱满;肝板排列规则、整齐,肝窦无明显扩张或挤压;相邻肝小叶之间

的门管区无明显异常。预实验模型组肝脏组织可见大量肝细胞水样变性,胞质疏松淡染(箭头 A),可见少量坏死灶,少量肝细胞坏死,核固缩(箭头 B),伴少量淋巴细胞浸润(箭头 C)。病理评分结果为预实验空白组平均得分 0.3 分,预实验模型组平均得分 6.3 分。

2.2 实验结果

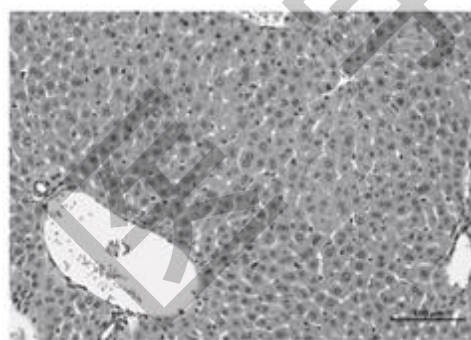
2.2.1 各组实验小鼠肝脏的形态学观察 各组实验小鼠肝脏的形态如图 3 所示,空白组实验小鼠肝脏色泽暗红,外表光滑;模型组肝脏色泽变浅,外表有明显不规则纹路,肿胀明显;联苯双酯组肝脏外观与空白组相似;富氢水低剂量组肝脏外观与模型组接近,肿胀不明显;富氢水中剂量组肝脏颜色变深,表面纹路变浅,肿胀不明显;富氢水高剂量组肝脏外观与空白组接近。



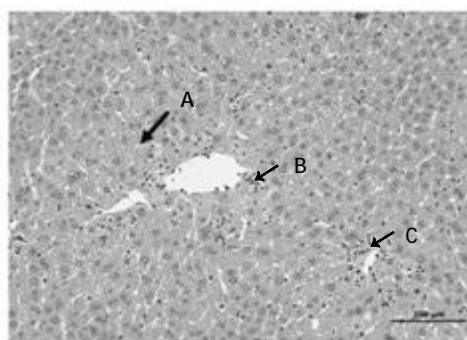
预实验空白组

预实验模型组

图 1 小鼠肝组织的形态学观察

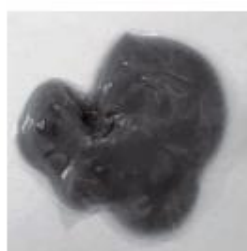


预实验空白组(0.3 分)

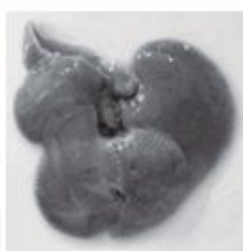


预实验模型组(6.3 分)

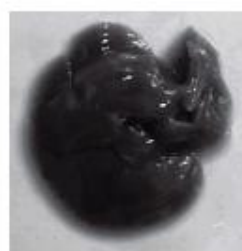
图 2 HE 染色结果白光拍照(200×)



空白组



模型组



联苯双酯组

图 3 小鼠肝组织的形态学观察

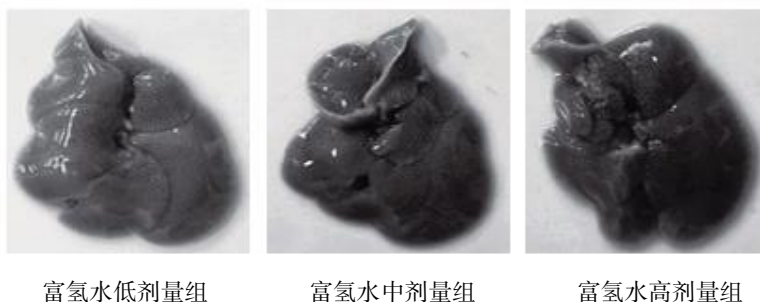


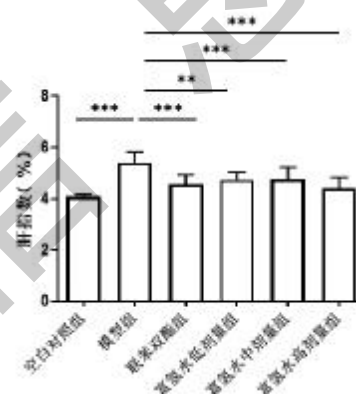
图 3 小鼠肝组织的形态学观察(续)

2.2.2 各组实验小鼠的肝指数变化 取材前对实验小鼠称量体重,并称量肝脏的质量,计算每只实验小鼠肝脏与体重的比值。发现 CCl_4 致急性肝损伤模型组的肝指数(5.40 ± 0.67)%高于空白组(4.08 ± 0.13)%,联苯双酯组和富氫水组均可使肝指数降低,如图 4 所示。

2.2.3 HE 染色结果及病理评分 HE 染色结果显示,与空白组相比,急性肝损伤模型组中可见较大量的肝细胞变性,细胞肿胀,胞质疏松,大量中央静脉周围可见肝细胞坏死,核溶解,伴有中度出血,及散在的淋巴细胞浸润。与急性肝损伤模型组相比,联苯双酯组得到较大改善,仅出现少量中央静脉周围肝细胞脂肪变性,富氫水低剂量组和中剂量组有一定的改善效果,富氫水高剂量组得到显著的改善,见图 5。

如图 6 所示, CCl_4 致急性肝损伤模型组以肝脏坏死、变性和出血为主要特征,炎性细胞浸润并不明

显。病理总分显示,模型组评分最高 8.7 分,即肝脏出现严重的病变;联苯双酯组为 1.7 分,富氫水高剂量组为 1.3 分,评分显著降低,富氫水低剂量组为 4.3 分,富氫水中剂量组为 4.3 分。



注:“ $P < 0.01$ ”,“ $P < 0.001$ ”。

图 4 各组实验小鼠的肝指数

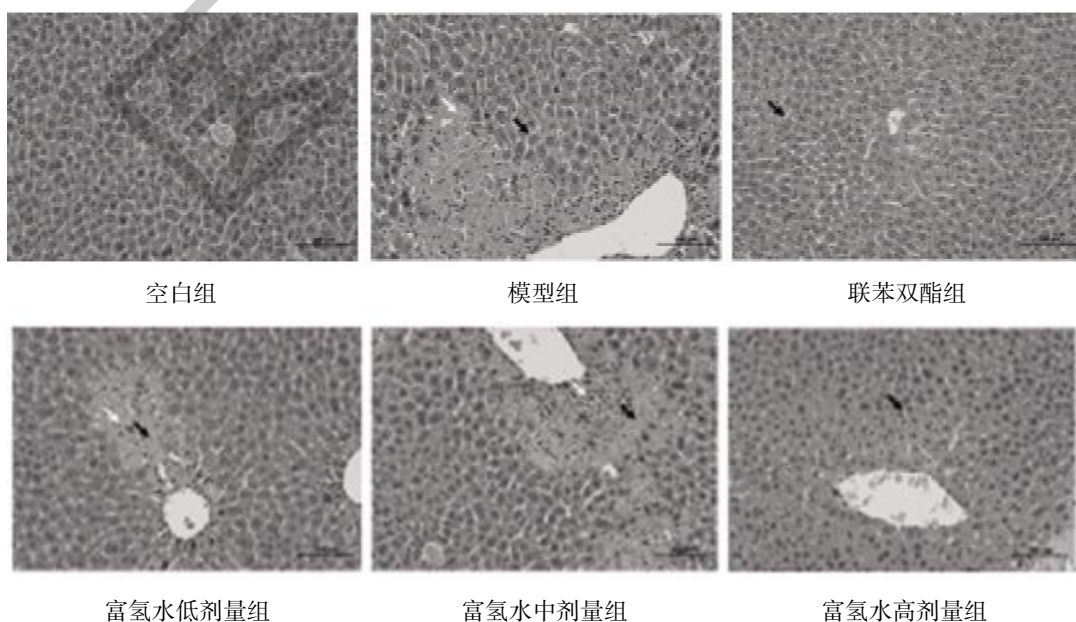
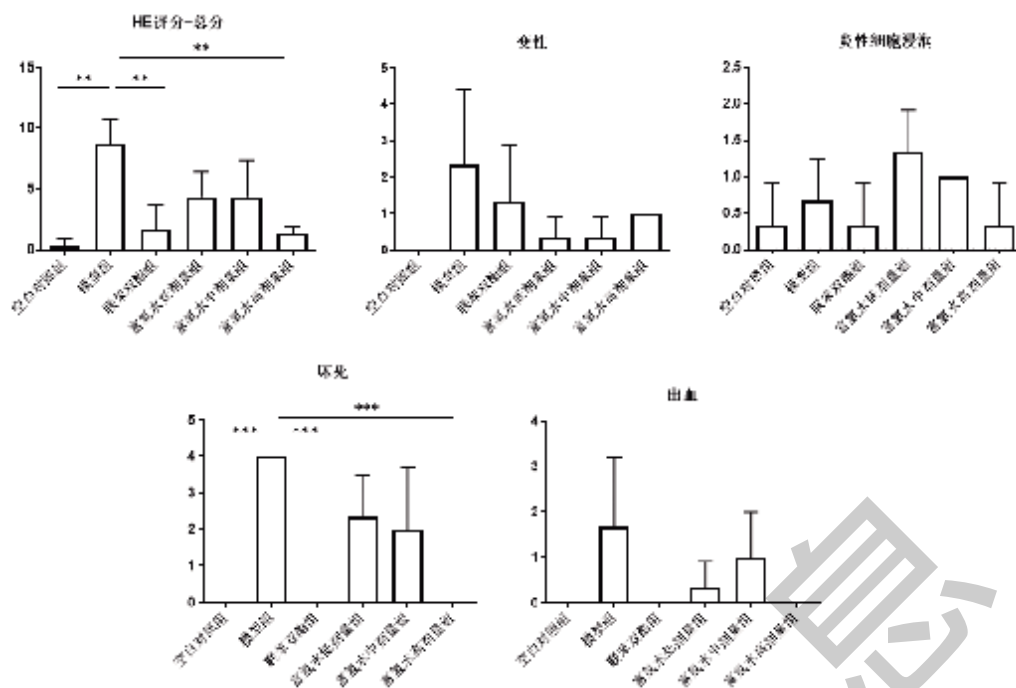


图 5 HE 染色结果白光拍照(200×)

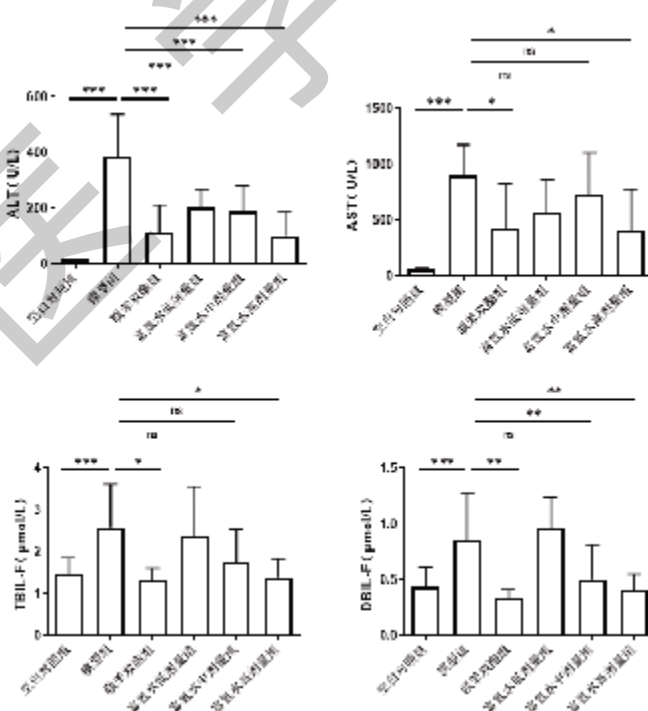


注: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 6 HE 染色病理评分结果

2.2.4 血生化分析 各组实验小鼠的血生化指标检测结果如图 7 所示。急性肝损伤模型组小鼠血液中 ALT、AST、TBIL-F 和 DBIL-F 水平显著升高, 联苯双酯和低、中、高剂量的富氢水均可显著降低 ALT

水平, 联苯双酯和高剂量的富氢水可有效降低 AST 和 TBIL-F 的水平, 联苯双酯组和高剂量组可有效降低 DBIL-F 水平。



注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, ns 表示 $P > 0.05$ 。

图 7 各组小鼠血生化实验结果

2.3 转录组测序结果 三组肝脏组织样本的基因表达差异分析结果如图 8 所示,模型组和空白组之间的基因表达差异分析结果显示,相比于空白组,模型组中有 187 个基因上调,179 个基因下调,共计 366 个差异基因。肝脏组织中这些基因的表达变化

与病理密切相关。相比于模型组,在富氢水处理后有 100 个基因上调,194 个基因下调,共计 294 个差异基因。肝脏组织中这些基因的表达在富氢水的影响下发生了显著的变化,表明其与富氢水的功能密切相关。

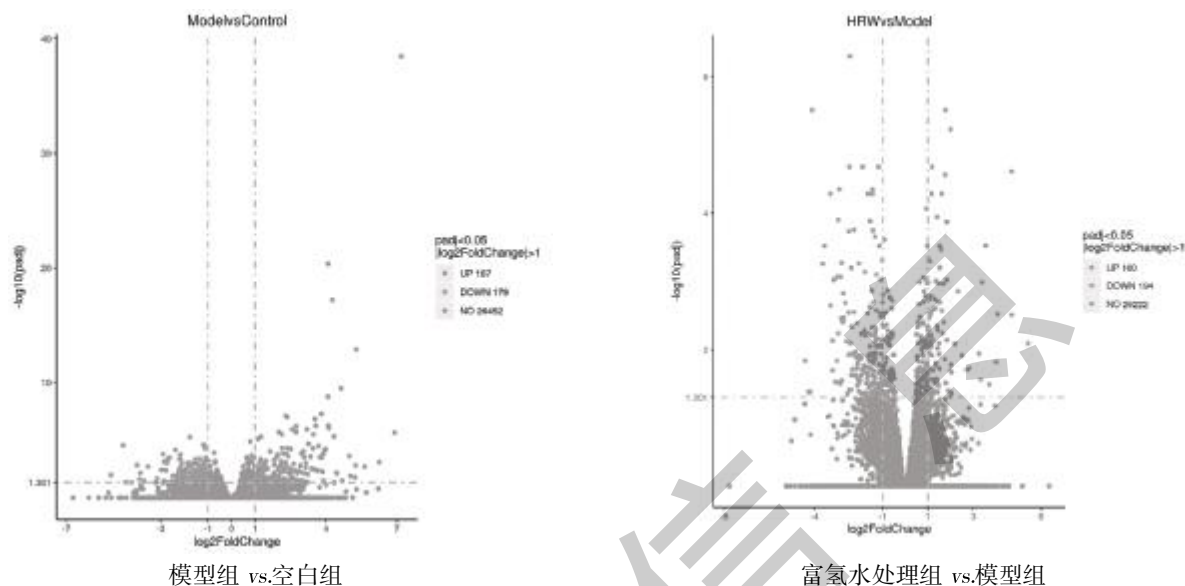


图 8 肝脏组织基因表达差异分析结果

为了评估这些基因在三组样本之间的变化,将两部分差异基因合并,获得了 635 个无重复的差异基因,并通过绘制热图分析其变化,结果如图 9 所示,除富氢水处理组的一个样本外,其它所有样本均与同组样本聚为一类。整体来看相比于模型组,富氢水处理组样本与空白对照组样本更为相似,表明富氢水处理后,肝脏组织中的基因表达特征向空白对照组靠近。

基于 GO 和 KEGG 数据库对这些差异基因涉及的功能进行富集分析。首先针对富氢水处理组相对于模型组的差异基因进行了功能富集分析,基于 GO 功能富集分析的结果如图 10 所示,其中上调基因总计富集到了 17 条 GO 功能,主要涉及昼夜节律调节、甘油三酯生物合成和中性脂质生物合成等生物过程,具有 ATP 酶活性、磷酸酶活性和跨膜转运蛋白活性。下调基因总计富集到了 358 条 GO 功能,主要涉及病毒防御、干扰素 β 反应和脂多糖反应等生物过程,对应活性分子主要定位于炎症小体,具有 GTP 酶活性和细胞因子受体活性。

基于 KEGG 通路富集分析的结果如图 11 所示,总计富集到了 37 条 KEGG 通路。这些差异基因主要涉及细胞因子-受体相互作用、破骨细胞分化、TNF 信号通路、甲型流感等通路。表明富氢水可能通过影响机体的这些功能和通路发挥作用。

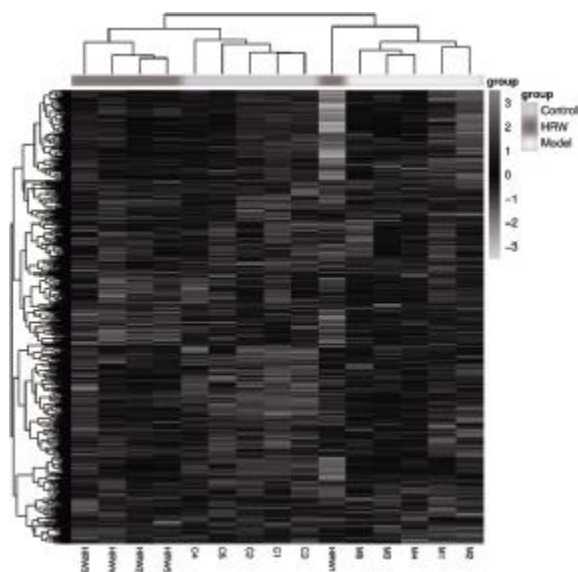
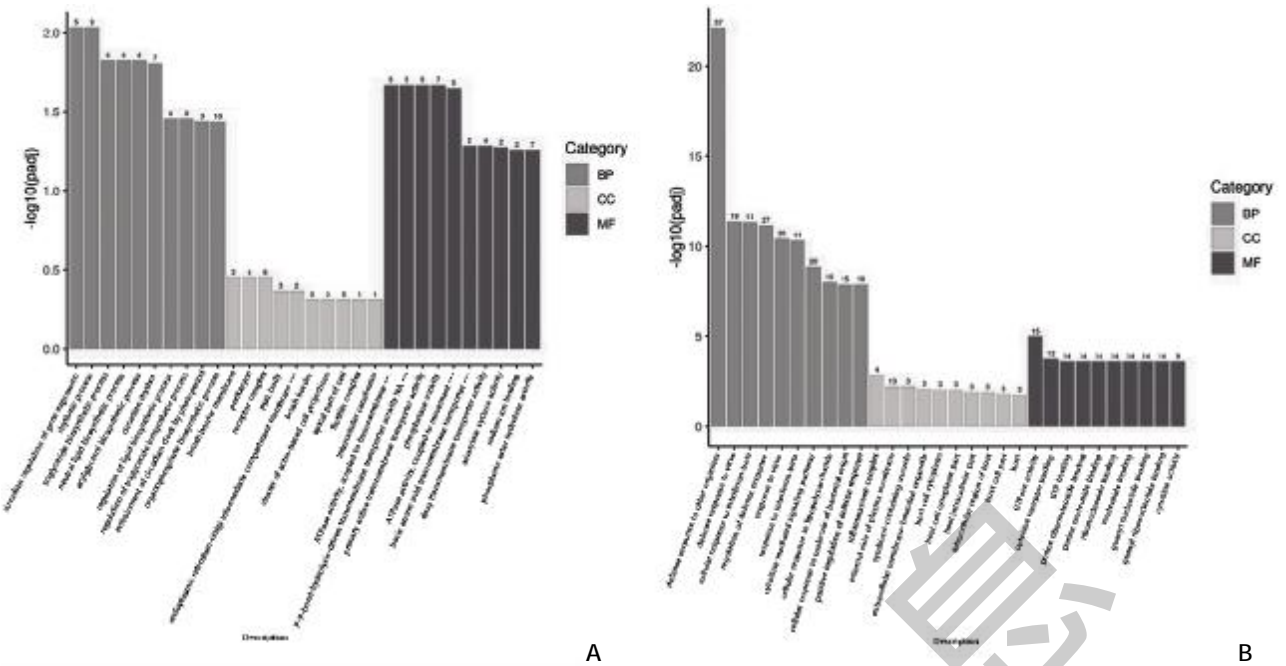


图 9 差异基因表达热图



注:A:上调基因部分;B:下调基因部分。

图 10 差异基因 GO 功能富集分析结果

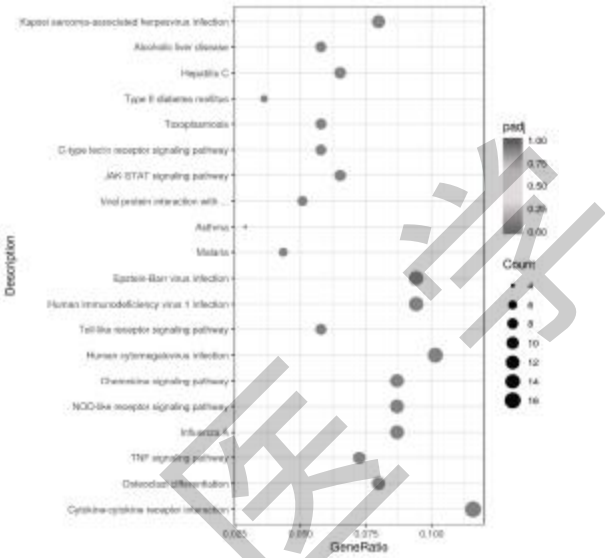


图 11 差异基因 KEGG 通路富集分析结果

3 讨论

急性肝损伤是最常见的临床肝病之一,如果不及治疗,很容易发展为急性肝衰竭、慢性肝损伤或肝细胞癌,严重威胁人类的生活质量和健康。急性肝损伤的机制和特征非常复杂,包括肝细胞死亡、氧化应激、炎症等^[1]。在肝脏炎症发展为肝硬化、肝纤维化和肝细胞癌的过程中,肝细胞焦亡对肝损伤起到重要的作用^[12-15]。目前治疗急性肝损伤的主要方式是抗氧化、消炎和降酶药物等,大量药物代谢本身

就加重了肝脏的负担,延长治疗时间。富氢水抗炎抗氧化作用及对肝脏无代谢负担特点,成为治疗肝损伤的理想产品。

有研究发现^[16],富氢水可以通过 IL-10 和 Sirt-1 信号增强 HO-1 预防非酒精性脂肪性肝炎的肝损伤。本研究中观察肝脏组织的外观形态发现,急性肝损伤组小鼠肝脏组织颜色变浅,出现不规则纹路。富氢水低中高剂量组小鼠肝脏组织颜色逐渐恢复正常,纹路减弱,说明富氢水可改善 CCl₄ 诱导的急性肝损伤,且呈剂量依赖型。模型组中肝指数显著升高,富氢水各组肝指数均降低,说明富氢水可改善急性肝损伤造成的肝脏组织肿大。各组实验小鼠肝组织 HE 染色和病理评分结果可知,CCl₄ 诱导实验小鼠产生严重肝损伤,富氢水低、中、高剂量可不同程度减轻实验小鼠的肝损伤,特别是富氢水高剂量组,明显改善了肝损伤程度。ALT、AST、TBIL -F 和 DBIL-F 是肝脏功能性重要的血生化检测指标^[17],富氢水同阳性药联苯双酯效果相近,可显著降低其含量,即有效减轻肝功能损伤。表明富氢水对小鼠急性肝损伤中有一定的保护作用。

近年来疾病在基因水平也得到广泛关注,有研究指出激活 Nrf2/ARE 信号通路可增强抗氧化防御系统,从而缓解肝毒性和肝细胞凋亡^[18]。转录组测序结果显示,富氢水组调节了急性肝损伤小鼠的一些

基因表达,基于 GO 数据库的功能富集分析,上调基因涉及昼夜节律调节、甘油三酯生物合成和中性脂质生物合成等生物过程,具有 ATP 酶活性、磷酸酶活性和跨膜转运蛋白活性。下调基因涉及病毒防御、干扰素 β 反应和脂多糖反应等生物过程,对应活性分子主要定位于炎症小体,具有 GTP 酶活性和细胞因子受体活性。基于 KEGG 通路富集分析,这些差异基因主要涉及细胞因子-受体相互作用、破骨细胞分化、TNF 信号通路、甲型流感等通路。表明富氢水可能通过影响机体的这些功能和通路发挥保肝作用。

Si Y 等^[19]研究发现,富氢水具有抗氧化、抗炎和抗纤维化作用,能通过抑制 PI3K/AKT、NF- κ B 和 TGF- β 通路,减轻草酸诱导的肾损伤。急性四氯化碳后小鼠肝脏的组织修复取决于损伤诱导的 Wnt/ β -catenin 信号传导^[20]。至于富氢水对于急性肝损伤的保护具体机制,可能是通过抗氧化等信号通路等起到调节肝功生化指标作用,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] LeBaron TW, Sharpe R, Ohno K. Electrolyzed - Reduced Water: Review II : Safety Concerns and Effectiveness as a Source of Hydrogen Water[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(23):14508.
- [2] Ichihara M, Sobue S, Ito M, et al. Beneficial biological effects and the underlying mechanisms of molecular hydrogen - comprehensive review of 321 original articles [J]. *Med Gas Res*, 2015, 5:12.
- [3] 张双双, 张林, 沙继斌, 等. 富氢水干预对耐力训练大鼠氧化-抗氧化能力的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2019, 34(10):1150-1156.
- [4] Woolbright BL, Jaeschke H. Role of the inflammasome in acetaminophen - induced liver injury and acute liver failure [J]. *J Hepatol*, 2017, 66(4):836-848.
- [5] Lee CA, Sinha S, Fitzpatrick E, et al. Hepatocyte transplantation and advancements in alternative cell sources for liver - based regenerative medicine[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2018, 96(6):469-481.
- [6] Asrani SK, Devarbhavi H, Eaton J, et al. Burden of liver diseases in the world[J]. *J Hepatol*, 2019, 70(1):151-171.
- [7] Bhakuni GS, Bedi O, Bariwal J, et al. Animal models of hepatotoxicity[J]. *Inflamm Res*, 2016, 65:13-24.
- [8] 杨利峰, 周向梅, 赵德明, 等. 大鼠和小鼠病理变化术语及诊断标准的国际规范 (INHAND) [M]. 北京: 中国农业出版社, 2019: 132-133.
- [9] Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA - seq data with DESeq2 [J]. *Genome Biology*, 2014, 15(12):550.
- [10] Yu GC, Wang LG, Han YY, et al. clusterProfiler: an R Package for Comparing Biological Themes Among Gene Clusters [J]. *Omics - a Journal of Integrative Biology*, 2012, 16(5):284-287.
- [11] Wang J, Shi K, An N, et al. Direct Inhibition of GSDMD by PEITC Reduces Hepatocyte Pyroptosis and Alleviates Acute Liver Injury in Mice[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:825428.
- [12] Heo MJ, Kim TH, You JS, et al. Alcohol Dysregulates miR - 148a in Hepatocytes Through FoxO1, Facilitating Pyroptosis via TXNIP overexpression[J]. *Gut*, 2019, 68(4):708-720.
- [13] Khanova E, Wu R, Wang W, et al. Pyroptosis by Caspase11/4 - Gasdermin - D Pathway in Alcoholic Hepatitis in Mice and Patients[J]. *Hepatology*, 2018, 67(5):1737-1753.
- [14] Wei Q, Mu K, Li T, et al. Deregulation of the NLRP3 Inflammasome in Hepatic Parenchymal Cells During Liver Cancer Progression[J]. *Lab Invest*, 2014, 94(1):52-62.
- [15] Xu B, Jiang M, Chu Y, et al. Gasdermin D Plays a Key Role as a Pyroptosis Executor of Non - Alcoholic Steatohepatitis in Humans and Mice[J]. *J Hepatol*, 2018, 68(4):773-782.
- [16] Li SW, Takahara T, Que W, et al. Hydrogen - rich water protects against liver injury in nonalcoholic steatohepatitis through HO - 1 enhancement via IL - 10 and Sirt 1 signaling [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2021, 320(4):G450-G463.
- [17] 卢芬萍, 胡世平, 唐颖慧, 等. 丹桃养肝丸对四氯化碳致肝纤维化大鼠的保护作用研究[J]. *现代中西医结合杂志*, 2023, 32(14):1940-1944.
- [18] You T, Zhao Y, Liu S, et al. Lactiplantibacillus plantarum P101 Attenuated Cyclophosphamide - Induced Liver Injury in Mice by Regulating the Nrf2/ARE Signaling Pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(17):13424.
- [19] Si Y, Liu L, Cheng J, et al. Oral Hydrogen - Rich Water Alleviates Oxalate - Induced Kidney Injury by Suppressing Oxidative Stress, Inflammation, and Fibrosis [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2021, 8:713536.
- [20] Zhao L, Jin Y, Donahue K, et al. Tissue Repair in the Mouse Liver Following Acute Carbon Tetrachloride Depends on Injury - Induced Wnt/ β - Catenin Signaling[J]. *Hepatology*, 2019, 69(6):2623-2635.

收稿日期: 2023-09-21; 修回日期: 2023-10-10

编辑/肖婷婷