

اثر عصاره الکلی کاکل ذرت (*Zea mays* L.) بر جلوگیری از کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم در *in vitro*

مریم عیدی^{۱*}، مسیح بهار^۲، امید پویان^۳، پونه شاه محمدی^۴

۱. دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین
۲. کارشناس ارشد بیوشیمی، گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳. اورولوژیست، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴. کارشناس ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین

مکان انجام تحقیق: گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین

*مسئول مکاتبات: دکتر مریم عیدی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، تهران، صندوق پستی:

۶۱۷-۱۶۵۳۵، پست الکترونیکی: maryameidi@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۲/۱

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۱/۱۰

چکیده

تشکیل سنگ‌های ادراری یک مشکل جهانی است و به هیچ گروه نژادی، جغرافیایی و فرهنگی منحصر نمی‌شود. سنگ‌های کلیوی از کریستال‌های آلی و غیرآلی ترکیب‌شده با پروتئین‌ها تشکیل شده‌اند. کریستالیزاسیون و پس از آن، تشکیل سنگ می‌تواند توسط مواد حل‌شده در ادرار رخ دهد. انواع متعددی از سنگ‌های ادراری بر اساس ترکیب شیمیایی وجود دارند. سنگ‌های آهکی معمول‌ترین سنگ‌های کلیه هستند که بیش از ۸۰ درصد سنگ‌ها را تشکیل می‌دهند. سنگ‌های اگزالات کلسیم معمول‌ترند. اکثر ایدیوپاتیک هستند، یعنی دلایل کلینیکی قابل تشخیص ندارند. در طب سنتی ایران، از گیاهان دارویی بسیاری برای درمان سنگ‌های کلیوی استفاده می‌شود. در پژوهش حاضر، اثر کاکل ذرت (*Zea mays*) بر جلوگیری از کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم در شرایط *in vitro* مورد بررسی قرار گرفته است. ابتدا عصاره الکلی گیاه در غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم توسط اضافه کردن اگزالات سدیم به نمونه‌های ادرار ۶ مرد القاء شد. کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم در حضور یا غیاب عصاره گیاه، مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج تحقیق حاضر نشان داد عصاره الکلی کاکل ذرت موجب افزایش تعداد کریستال‌ها در مقایسه با نمونه کنترل می‌شود. از طرف دیگر، عصاره الکلی موجب افزایش کریستال‌های کوچک و کاهش کریستال‌های بزرگ می‌گردد. همچنین، تعداد کریستال‌های مونوهیدرات اگزالات کلسیم را در مقایسه با دی‌هیدرات اگزالات کلسیم افزایش می‌دهد. بنابراین، تحقیق حاضر، کاربرد سنتی کاکل ذرت را برای جلوگیری از تشکیل سنگ‌های کلیوی تایید کرده و آن را ماده مناسبی برای درمان این بیماری معرفی می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: کاکل ذرت، کریستالیزاسیون، اگزالات کلسیم، ادرار

مقدمه

(۲۰۱). شیوع سالانه سنگ‌های کلیوی در آمریکای شمالی و اروپا حدود ۰/۵ درصد تخمین زده شده است. احتمال تشکیل سنگ کلیه در کشورهای غربی در

تشکیل سنگ‌های ادراری یک مشکل جهانی است و نژاد، جغرافیا و فرهنگ خاصی را در بر نمی‌گیرد

منتهی به غلاف طویل دارد. از مشخصات آن این است که سنبلک‌های نر آن، رنگ قرمز روشن دارند و به‌صورت گل‌آذین پانیکول در قسمت انتهایی ساقه ظاهر می‌شوند، ولی سنبلک‌های ماده، در محور ساقه و در کناره برگ‌ها پدید می‌آیند و از براکته‌های پهن پوشیده‌اند. این سنبلک‌ها پس از انجام عمل آمیزش، دارای ۸ تا ۱۲ ردیف میوه می‌گردند. میوه آن مدور، سخت، شفاف و بر حسب وارپته‌ها و نژادهای مختلف گیاه به رنگ‌های سفید، زرد، قهوه‌ای تیره یا مایل به قرمز و منتهی به خامه بلند و درازی است که مجموعه آن‌ها (کاکل ذرت)، در قسمت انتهایی گل‌آذین، از درون براکته‌ها به خارج راه می‌یابد. کاکل ذرت را قبل از رسیدن کامل میوه، یعنی قبل از پژمرده‌شدن می‌چینند و به سرعت خشک می‌کنند تا قهوه‌ای رنگ شود. کاکل ذرت دارای اثر مدر قطعی و آرام‌کننده است. مصرف آن، نه تنها مجاری ادرار را تحریک نمی‌نماید، بلکه درد و بعضی از ناراحتی‌های مربوطه را نیز تسکین می‌دهد. مصرف کاکل ذرت برای بیماران مبتلا به سنگ مثانه، التهاب و ورم و درد مثانه، نزله مثانه، نفریت‌ها، آلبومینوری، بیماری‌های قلب و نقرس، مفید تشخیص داده شده است. کاکل ذرت، حجم و دفع ادرار روزانه را به اندازه قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌دهد (۱۶).

استفاده از گیاهان دارویی برای درمان سنگ کلیه، سابقه دیرینه دارد. در طب سنتی ایران، گیاهان دارویی زیادی برای دفع یا حل کردن سنگ‌های کلیوی و یا جلوگیری از تشکیل آن‌ها معرفی شده‌اند. هر چند مکانیسم عمل بسیاری از آن‌ها هنوز به‌درستی روشن نشده است. در پژوهش حاضر، اثر کاکل ذرت که در طب سنتی ایران برای درمان سنگ‌های کلیوی پیشنهاد شده، بر فرآیند کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم مورد مقایسه قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و شناسایی گیاه

حدود ۱۵-۱۰ درصد و در کشورهای شرقی ۲۵-۲۰ درصد است (۳). شیوع تشکیل سنگ‌های کلیوی در کشورهایی مثل عربستان سعودی به بیش از ۲۰ درصد می‌رسد (۴). در صورت عدم درمان، سرعت وقوع مجدد بیماری سنگ کلیوی تقریباً ۱۰ درصد در طی یک سال است که در مدت ۵ سال به ۳۳ درصد و در طی ۱۰ سال به ۱۰ درصد می‌رسد (۵). مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده‌اند که متوسط شیوع سنگ‌های کلیوی در افراد مذکر بین ۷ تا ۱۵ و در افراد مؤنث تنها بین ۳ تا ۶ درصد است (۶،۷،۸). انواع متعدد سنگ‌های ادراری بر اساس ترکیب شیمیایی طبقه‌بندی شده‌اند. سنگ‌های آهکی معمول‌ترین سنگ‌های کلیوی هستند (۹،۱۰) که بیش از ۸۰ درصد سنگ‌ها را تشکیل می‌دهند. سنگ‌های اگزالات کلسیم خالص یا آنانی که دارای فسفات کلسیم هستند، معمول‌ترند. اکثراً ایدیوپاتیک هستند، یعنی دلایل کلینیکی قابل تشخیص ندارند. سنگ‌های اگزالات کلسیم کریستال‌های مونوهیدرات اگزالات کلسیم (COM) و کریستال‌های دی‌هیدرات اگزالات کلسیم (COD) تشکیل شده‌اند. تشکیل سنگ اگزالات کلسیم (urolithiasis) از نظر پاتوژنز، چندعاملی است و می‌توان آن را با فاکتورهای محیطی مثل آب و هوا، شغل، کشور یا محیط زیست، نژادهای مختلف و نیز فاکتورهای فیزیوشیمیایی مهمی که بر تشکیل سنگ‌های کلیوی اثر دارند، مرتبط دانست. تشکیل سنگ اگزالات کلسیم، مراحل مختلف افزایش انباشته‌شدن اگزالات کلسیم و کلسیم فسفات و نوکلئاسیون، رشد و تجمع کریستال‌ها و ابقای کریستال را در بر می‌گیرد (۱۱). نوکلئاسیون، تشکیل کریستال جامد در محلول است. این مرحله برای تشکیل سنگ کلیه ضروری است (۱۲-۱۴). محل نوکلئاسیون در ادرار، سلول‌های اپی تلیالی، سلول‌های قرمز خون و سایر کریستال‌ها و باکتری‌هاست (۱۵).

ذرت (*Zea mays* L.) از خانواده Grass، گیاهی علفی، یک پایه و دارای ساقه‌ای به ارتفاع ۱ تا ۲ متر است. برگ‌هایی پهن، دراز، خشن، نوک‌تیز و

بودند. کریستال‌های COM بر دو نوع کوچک (۱ میکرون) و بزرگ (۵-۳ میکرون) بودند. کریستال‌های COD بر اساس قطر کریستال‌ها بر حسب میکرون در گروه‌های ۵-۲/۵، ۹-۶، ۱۶-۱۰، ۲۱-۱۷، ۳۰-۲۲ و ۴۰-۳۱ طبقه‌بندی شدند.

آنالیز آماری

داده‌های به‌دست آمده با استفاده از روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه بررسی شدند. مرز استنتاج آماری $p < 0.05$ بود.

نتایج

در پژوهش حاضر، کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم در شرایط عدم حضور عصاره گیاهی (کنترل) و در حضور غلظت‌های مختلف (۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) کاکل ذرت مورد مقایسه قرار گرفتند.

عصاره هیدروالکلی کاکل ذرت موجب افزایش درصد کریستال‌های کوچک ۵-۲/۵ و ۹-۶ میکرونی و کاهش کریستال‌های بزرگ ۲۱-۱۷، ۳۰-۲۲ و ۴۰-۳۱ میکرونی می‌شود. از طرف دیگر، عصاره هیدروالکلی کاکل ذرت موجب افزایش کریستال‌های کوچک مونو هیدرات اگزالات کلسیم و کاهش کریستال‌های بزرگ مونو هیدرات اگزالات کلسیم می‌گردد (نمودار ۱). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره هیدروالکلی کاکل ذرت موجب افزایش جذب و یا افزایش تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم می‌گردد (نمودار ۲).

بحث

گیاهان دارویی با عوارض جانبی کمتر، به دلیل طبیعی بودن، جایگزین‌های مناسبی برای داروهای شیمیایی بوده و در نواحی مختلف جهان کاربرد گسترده‌ای دارند. استفاده از گیاهان دارویی برای دفع یا حل‌نمودن سنگ‌های کلیوی از زمان قدیم متداول

کاکل ذرت پس از شناسایی تاکسونومیکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در سایه، خشک و توسط آسیاب مکانیکی به پودر تبدیل گردید. پودر خشک گیاه در کیسه‌های نایلونی تا زمان آزمایش در فریزر نگهداری شد.

آماده‌سازی عصاره الکلی گیاه

۳۰ گرم از پودر کاکل ذرت با اتانل ۸۰ درصد مخلوط شد. سپس، مخلوط حاصل در دستگاه سوکسله قرار داده شد. عصاره به‌دست آمده ابتدا توسط فیلتر میکروپور، صاف و سپس توسط روتاری خشک گردید. در زمان آزمایش، عصاره گیاه با استفاده از آب مقطر در غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آماده شد.

نمونه‌های ادراری

از ۶ مرد بالغ که سابقه بیماری سنگ کلیوی نداشتند، نمونه ادرار شبانه تهیه شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه و ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند.

القای کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم در نمونه‌های ادراری

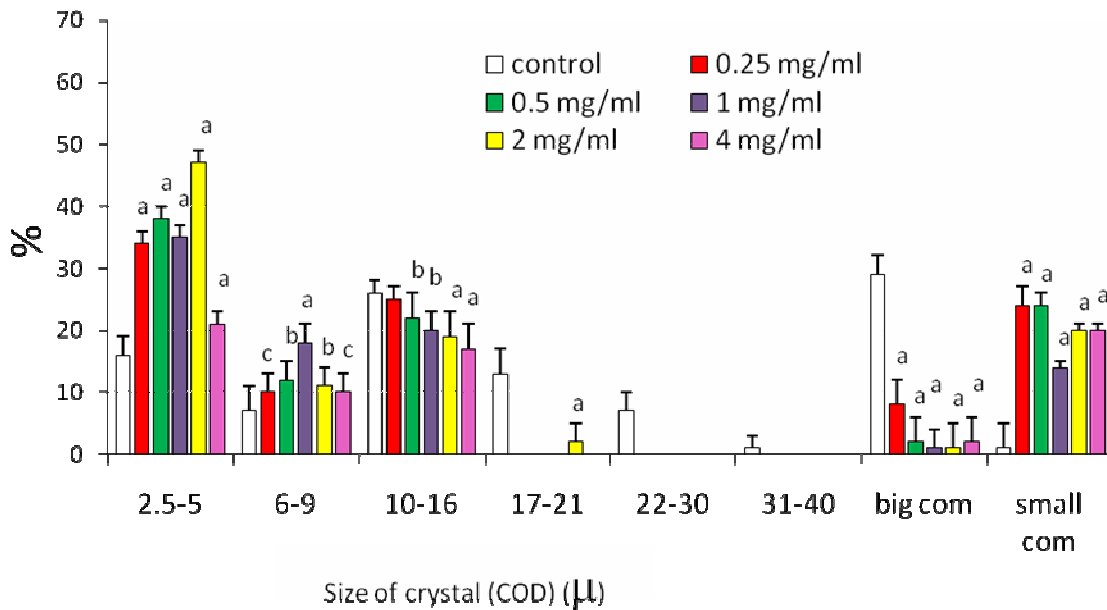
با استفاده از محلول ۰/۱ مولار اگزالات سدیم، تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیم در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد در نمونه‌های ادراری القاء گردید.

مطالعه کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم

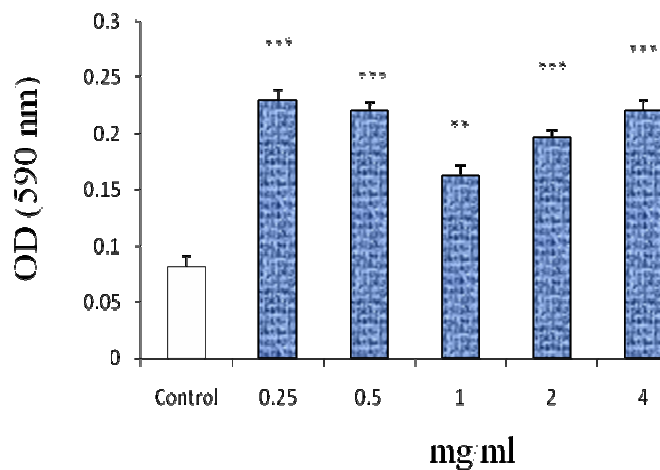
تعداد کریستال‌ها با استفاده از جذب نوری توسط اسپکتروفوتومتر و اندازه کریستال‌ها توسط کالیبره کردن عدسی چشمی میکروسکوپ نوری در نمونه‌های کنترل (بدون عصاره‌های گیاهی) و نمونه‌های تجربی (در حضور غلظت‌های مختلف عصاره گیاه) اندازه‌گیری شد. کریستال‌های مورد مطالعه، بر دو نوع کریستال‌های بیضی‌شکل مونو هیدرات اگزالات کلسیم (COM) و مربعی شکل دی‌هیدرات اگزالات کلسیم (COD)

سنگ‌های کلیوی توصیه می‌شود، بر جلوگیری از کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم در نمونه‌های ادراری در شرایط *in vitro* انجام گرفت.

بوده و استفاده از آن‌ها به دلیل سهل‌الوصول و ارزان بودن، رو به افزایش است. تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر گیاه دارویی کاکل ذرت که در طب سنتی ایران برای درمان



نمودار ۱ - اثر عصاره الکلی کاکل ذرت بر قطر کریستال‌های اگزالات کلسیم. $p < 0.001$ a, $p < 0.01$ b, $p < 0.05$ c اختلاف از گروه کنترل را نشان می‌دهند. COM = مونوهیدرات اگزالات کلسیم، COD = دی‌هیدرات اگزالات کلسیم.



نمودار ۲ - اثر عصاره هیدروالکلی کاکل ذرت بر جذب نوری (OD₅₉₀) نمونه‌های ادراری. $p < 0.01$ **, $p < 0.001$ *** اختلاف از گروه کنترل را نشان می‌دهد.

دیگر، حضور موادی مانند منیزیم، سیترات یا ماکرومولکول‌هایی مانند گلیکوزآمینوگلیکان‌ها، استئوپونتین و نفروکالسین در ادرار، مانع رشد کالکولوس می‌شود (۲۲-۱۹). *Phyllanthus niruri* در دفع ادراری منیزیم، سیترات یا گلیکوزآمینوگلیکان‌ها دخالت ندارد، بلکه جذب موادی را به داخل کالکولوس موجب می‌شود که ایجاد کالکولوس‌های کوچک‌تر و نرم‌تر می‌نماید (۲۳). Khan و Atmani در سال ۲۰۰۰ نشان دادند گیاه *Herniaria hirsuta* موجب کاهش کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم در *in vitro* می‌گردد (۲۴). Gupta و همکارانش در سال ۲۰۰۶ گیاه *Crataeva adansonii* را برای جلوگیری از تشکیل سنگ‌های اگزالات کلسیمی در رت‌ها پیشنهاد کردند (۲۵). Micali و همکارانش در سال ۲۰۰۶ نشان دادند گیاه *Phyllanthus niruri* کارایی دستگاه سنگ‌شکن را برای درمان سنگ‌های کلیوی افزایش می‌دهد (۲۶). Atmani و همکارانش در سال ۲۰۰۴ نیز اثر این گیاه را بر رت‌هایی که به‌طور تجربی دارای سنگ کلیوی شده بودند، مشاهده کردند و نتیجه گرفتند که گیاه *Herniaria hirsuta* اثر مهاری بر تشکیل سنگ‌های کلیوی دارد (۲۷). Arayne و همکاران در سال ۲۰۰۷ گیاه *Berberis vulgaris* را برای دفع سنگ کلیه پیشنهاد کردند (۲۸). Blumberg و McKay در سال ۲۰۰۶ گیاه *Mentha piperita* را برای درمان سنگ‌های کلیوی معرفی کردند (۲۹). Farrog و همکارانش در سال ۲۰۰۵ نشان دادند رژیم غذایی حاوی جلبک *Spirulina* کریستالیزاسیون اگزالات را در رت‌هایی که غذای حاوی اگزالات زیاد را دریافت می‌کردند، کاهش می‌دهند (۳۰). Arteaga و همکارانش در سال ۲۰۰۵ نشان دادند گیاه *Larrea tridentata* در بیابان‌های مکزیک فراوان است و در درمان سنگ کلیه مؤثر است (۳۱). در سیستم‌های طب سنتی Ayurveda و Unani گیاه *Dolichos biflorus* برای دفع

در پژوهش حاضر، سعی بر آن بوده است که آزمایش در شرایطی مشابه با محیط بدن مانند دما انجام گیرد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که گیاه ذرت در جلوگیری از کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم مؤثر است. تاکنون گزارش دقیقی در مورد اثر این گیاهان دارویی بر تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیم ارائه نشده است، لذا، پژوهش حاضر را می‌توان اولین گزارش علمی در مورد اثر این گیاه دارویی بر جلوگیری از کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم دانست. این پژوهش، استفاده سنتی این گیاه در جلوگیری از تشکیل سنگ‌های کلیوی اگزالاتی را مورد تایید قرار می‌دهد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که گیاه ذرت موجب تشکیل کریستال‌های کوچک‌تر اگزالات کلسیم می‌شود که دفع این دسته از کریستال‌ها توسط جریان ادرار آسان‌تر است. از طرف دیگر، این گیاه، مانع به هم چسبیدن کریستال‌های اگزالات کلسیم و تشکیل هسته مرکزی سنگ‌های کلیوی می‌شود و فراوانی کریستال‌های مونوهیدرات اگزالات کلسیم را در مقایسه با کنترل افزایش می‌دهد، در حالی که در نمونه‌های کنترل، فراوانی کریستال‌های دی‌هیدرات اگزالات کلسیم بیشتر است. البته مکانیسم اثر این گیاهان در جلوگیری از تشکیل کریستال‌های بزرگ هنوز مشخص نشده است. این گیاه در طب سنتی ایران برای درمان سنگ کلیه توصیه می‌شود، ولی در طب سنتی سایر کشورها مطرح نیست.

مطالعات مشابهی در شرایط *in vitro* در مورد تشکیل سنگ‌های اگزالات کلسیمی انجام گرفته است. Barros و همکارانش در سال ۲۰۰۳ نشان دادند گیاه *Phyllanthus niruri* که در طب سنتی برزیل برای درمان سنگ کلیه استفاده می‌شود، موجب کاهش کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم در شرایط *in vitro* می‌گردد (۱۷). Schor and Campos در سال ۱۹۹۹ نشان دادند عصاره آبی *Phyllanthus niruri* اندوسیتوز کریستال‌های اگزالات کلسیم را توسط سلول‌های MDCK کاهش می‌دهد (۱۸). از طرف

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از معاونت پژوهشی واحد ورامین - پیشوا به واسطه تأمین بودجه لازم برای انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد. همچنین، از سرکار خانم نرگس میرالهی و جناب آقای غلام فاتح، کارشناسان محترم شرکت بهارافشان که در انجام پژوهش حاضر همکاری صمیمانه ای داشتند، سپاسگزاری می‌شود.

سنگ‌های کلیوی کاربرد دارد (۳۲). Soundarajan و همکارانش در سال ۲۰۰۶ اثر گیاه *Aerva lanata* را بر تشکیل سنگ کلیوی در رت بررسی کردند و نتیجه گرفتند که این گیاه آنزیم‌های سنتز کننده اگزالات را کاهش می‌دهد (۳۳). بنابراین، پژوهش حاضر اولین گزارش مستندی است که در مورد اثر گیاه دارویی ذرت بر جلوگیری از کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم ارائه شده است و به استفاده از این گیاه جهت درمان سنگ‌های کلیوی اعتبار می‌دهد.

منابع مورد استفاده

- Bichler, K. H., Strohmaier, W. L., Korn, S., 1985. Urolithiasis in childhood. *Monatsschr Kinderheild* 133: 256-66.
- Favazza, T., Midha, M., Martin, J., Grob, B. M., 2004. Factors influencing bladder stone formation in patients with spinal cord injury. *J Spinal Cord Med* 27: 252-54.
- Pak, C. Y., 1998. Kidney stones. *Lancet* 351: 1797-801.
- Robertson, W. G., Hughes, H., 1994. Epidemiology of urinary stone disease in Saudi Arabia. *Urolithiasis* 54: 453-5.
- Uribarri, J., Oh, M. S., Carroll, H. J., 1989. The first kidney stone. *Ann Intern Med* 111: 1006-9.
- Ljunghall, S., 1977. Renal stone disease. Studies of epidemiology and calcium metabolism. *Scand J Urol Nephrol* 41: 1-96.
- Robertson, W. G., Peacock, M., Baker, M., 1983. Studies on the prevalence and epidemiology of urinary stone disease in men in Leeds. *Br J Urol* 55: 595-8.
- Parks, J. H., Coe, F. L., 1986. A urinary calcium-citrate index for the evaluation of nephrolithiasis. *Kidney Int* 30: 85-90.
- Daudon, M., Donsimoni, R., Hennequin, C., 2005. Sex- and age-related composition of 10 617 calculi analyzed by infrared spectroscopy. *Urol Res* 23: 319-26.
- Pak, C. Y., Poindexter, J. R., Adams-Huet, B., Pearle, M. S., 2003. Predictive value of kidney stone composition in the detection of metabolic abnormalities. *Am J Med* 115: 26-32.
- Basavaraj, D. R., Biyani, C. S., Browning, A. J., Cartledge, J. J., 2007. The Role of Urinary Kidney Stone Inhibitors and Promoters in the Pathogenesis of Calcium Containing Renal Stones. *eau-ebu update series* 5: 126-136.
- Finlayson, B., 1978. Physicochemical aspects of urolithiasis. *Kidney Int* 13: 344-60.
- Kok, D. J., 1997. Intratubular crystallization events. *World J Urol* 15: 219-28.
- Khan, S. R., Byer, K. J., Thamilselvan, S., 1999. Crystal-cell interaction and apoptosis in oxalate-associated injury of renal epithelial cells. *J Am Soc Nephrol* 10(Suppl 14): S457-63.
- Basavaraj, D. R., Biyani, C. S., Browning, A. J., Cartledge, J. J., 2007. The Role of Urinary Kidney Stone Inhibitors and Promoters in the Pathogenesis of Calcium Containing Renal Stones. *eau-ebu update series* 5: 126-136.
- Zargari, A., 1998. Medicinal plants. Tehran University Press, 4th, pp. 709-715.
- Barros, M. E., Schor, N., Boim, M. A., 2003. Effects of an aqueous extract from *Phyllanthus niruri* on calcium oxalate crystallization in vitro. *Urological Research* 30: 374-379.
- Campos, A. H., Schor, N., 1999. *Phyllanthus niruri* inhibits calcium oxalate endocytosis by renal tubular cells. Its role in urolithiasis. *Nephron* 81: 393.
- Coe, F. L., Parks, J. H., Nakagauwa, Y., 1992. Inhibitors and promoters of calcium oxalate crystallization: their relationship to

- the pathogenesis and treatment of nephrolithiasis. In: Coe FL, Parks JH, Nakagauwa Y (eds) Disorders of bone and mineral metabolism. Raven Press, New York, pp 757.
20. Dussol, B., Berland, Y., 1998. Urinary kidney stone inhibitors. What is new? *Urol Int* 60: 69.
 21. Ryall, R. L., Harnett, R. M., Marshall, V. R., 1981. The effect of urine, pyrophosphate, citrate, magnesium of calcium crystals in vitro. *Clin Chim Acta* 112: 349.
 22. Worcester, E. M., 1996. Inhibitors of stone formation. *Semin Nephrol* 5: 474.
 23. Fretas, A. M., Carvente, C. T., Schor, N., Boim, M. A., 2000. The effect of *Phyllanthus niruri* on urinary excretion of endogenous inhibitors of lithogenesis. In Rodgers AL, Hibbert BE, Hess B, Khan SR, Preminger GM (eds). Proceedings of Ninth International Symposium on Urolithiasis vol 1. Cape Town. pp. 183.
 24. Atmani, F., Khan, S. R., 2000. Effects of an extract from *Herniaria hirsuta* on calcium oxalate crystallization in vitro. *BJU International* 85: 621-625.
 25. Gupta, P., Patel, N., Bhatt, L., Zambare, G. N., 2006. Bodhankar SL, Jain BB, Nandakumar K. Anti-urolithiatic effect of petroleum ether extract stem bark of *Crataeva adansonii* in rats. *Pharmaceutical biology* 44: 160-165.
 26. Micali, S., Sighinolfi, M. C., Celia, A., De Stefani, S., Grande, M., Cicero, A. F., Bianchi, G., 2006. Can *Phyllanthus niruri* affect the efficacy of extracorporeal shock wave lithotripsy for renal stones? A Randomized, Prospective, Long-Term Study. *J Urology* 176: 1020-1022.
 27. Atmani, F., Slimani, Y., Mimouni, M., Aziz, M., Hacht, B., Ziyyat, A., 2004. Effect of aqueous extract from *Herniaria hirsuta* L. on experimentally nephrolithiasic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 95: 87-93.
 28. Arayne, M. S., Sultana, N., Bahadur, S. S., 2007. The berberis story: *Berberis vulgaris* in therapeutics. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 20: 83-92.
 29. McKay, D. L., Blumberg, J. B., 2006. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Research* 20: 619-633.
 30. Farrog, S. M., Ebrahim, A. S., Asokan, D., Sakthivel, R., Savitha, S., Rajesh, N. G., Varalakshmi, P., 2005. Credentials of Spirulina diet on stability and flux related properties on the biomineralization process during oxalate mediated renal calcification in rats. *Clinical Nutrition* 24: 932-942.
 31. Arteaga, S., Andrade-Cetto, A., Cardenas, R., 2005. *Larrea tridentata* (Creosote bush), an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordihydroguaiaretic acid. *Journal of Ethnopharmacology* 98: 231-239.
 32. Gupta, S. K., Sharma, P. K., 2005. Review on phytochemical and pharmacological aspects of *Dolichos biflorus* Linn. *Asian Journal of Chemistry* 17: 37-39.
 33. Soundarajan, P., Mahesh, R., Ramesh, T., Hazeena Begum, V., 2006. Effect of *Aerva lanata* on calcium oxalate urolithiasis in rats. *Indian Journal of Experimental Biology* 44: 981-986.