ORIGINAL ARTICLE

In vitro effect of juniper fruit extract on dissolution of urinary stones

Ayub Barzgarnejad[1],
Mohammad Azadbakht[2],
Omid Emadian[3],
Mahdieh Fattahi[4]

[1] Department of Surgery, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Science, Sari, Iran
[2] Traditional and Complementary Medicine Research Center, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Science, Sari, Iran
[3] Department of Pathology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Science, Sari, Iran
[4] Medical student, Mazandaran University of Medical Science, Sari, Iran

(Received 22 February, 2010 ; Accepted 21 April, 2010)

Abstract

Background and purpose: Urolithiasis is one of the most common diseases of urinary tract. Abdominal colicky pain, nausia, vomiting and hematuria are the major clinical findings. Treatments including oral drugs, lithitripsy, using ureteroscope and open surgery are expensive and may result in significant complications. The aim of this research was to find medications for dissolution of urinary stones with less complication.

Materials and methods: Variable concentrations of juniper fruit extract including 200, 500 and 1000 µg / ml solutions were used in vitro on urinary stones. Neutral (normal saline), positive (sodium bicarbonate) and negative (acetic acid) control groups were also prepared.

Results: Significant findings were obtained on urinary stones composed of calcium oxalate (60%), calcium phosphate (30%) and ammonium phosphate (10%). The weight of dry powder of stones in normal saline of 1400 mg decreased to 1310 , 1240 and 1120 mg after exposure to increasing concentrations of juniper fruit extract. Also the ratio of calcium oxalate in normal saline aqueous solution plus stone increased from 65% to 85% after using juniper fruit extract.

Conclusion: Juniper fruit extract can dissolve urinary stones in vitro.

Key words: *Juniperus communis*, urinary stone, calcium oxalate

J Mazand Univ Med Sci 2010; 20(75): 31-36 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیستم شماره ۷۵ فروردین و اردیبهشت سال ۱۳۸۹ (۳۶-۳۱)

بررسی اثر عصاره هیدرو الکلی میوه گیاه سرو کوهی (*Juniperus communis*) بر انحلال سنگ های ادراری به صورت In vitro

ایوب برزگر نژاد [۱]
محمد آزادبخت [۲]
امید عمادیان [۳]
مهدیه فتاحی [۴]

چکیده

سابقه و هدف : سنگ ادراری از شایعترین بیماری‌های دستگاه ادراری می‌باشد که شیوع حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد دارد. باتوجه به عوارض جدی و درمان‌های پیچیده و همراه با عوارض و هزینه‌های سنگین روش‌های معمول درمان سنگ‌های ادراری، این مطالعه با هدف تعیین تاثیر عصاره هیدورالکلی میوه گیاه سروکوهی بر انحلال سنگ‌های ادراری در شرایط in vitro انجام شد.

مواد و روش ها : در این مطالعه عصاره میوه گیاه سرو کوهی (Juniperus communis) با غلظت‌های ۲۰۰،۵۰۰،۱۰۰۰ µg/ml به صورت In vitro با سنگ‌های ادراری خارج شده از بدن بیماران که بیشترین مقدار ترکیب آنها به ترتیب کلسیم اگزالات و منیزیوم آمونیوم فسفات بود، مواجه شد و اثر آن بر انحلال سنگ‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله به روش ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها : در سنگ نوعA (به ترتیب حاوی کلسیم اگزالات ۶۰ درصد، کلسیم فسفات ۳۰ درصد، منیزیوم آمونیوم فسفات ۱۰ درصد) وزن خشک پودر سنگ در گروه ۱ (در مواجهه با نرمال سالین) mg ۱۴۰۰و در گروه‌های ۴و۵و۶ (در مواجهه با غلظت‌های مختلف عصاره) به ترتیب ۱۳۱۰و۱۲۴۰و۱۱۲۰ میلی‌گرم شده بود. که این کاهش وزن از لحاظ آماری معنی‌دار بود. از طرفی نسبت کلسیم اگزالات در مواجهه با نرمال سالین در محیط آبی ۶۵ درصد بود در حالیکه پس از مواجهه با عصاره µg/ml ۱۰۰۰ میزان آن به ۸۵ درصد رسیده بود. عصاره مذکور توانسته بود ۲۰ درصد بیشتر کلسیم اگزالات سنگ را حل نماید.

استنتاج : نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره هیدروالکلی میوه گیاه سرو کوهی باعث حل شدن سنگ کلیه در محیط آزمایشگاهی می‌شود.

واژه‌های کلیدی : سرو کوهی، سنگ ادراری، کلسیم اگزالات

مقدمه

سنگ‌های ادراری، تجمعات کریستالی شامل کریستالوئید و ماتریکس آلی هستند. ادرار فوق اشباع زمینه‌ساز تشکیل سنگ است. این حالت به PH ادراری، قدرت یونی، غلظت محلول‌ها و ترکیب‌شدن مواد بستگی دارد.

این تحقیق طی شماره ۵۰- ۸۸ در شورای پژوهشی دانشگاه ثبت شده و با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شده است.

مولف مسئول: ایوب برزگرنژاد– ساری: بلوار امیر مازندرانی، مرکز آموزشی درمانی امام خمینی (ره) E-mail: ayubbarzgarnejad@gmail.com

۱. گروه جراحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۲. مرکز تحقیقات طب سنتی و مکمل، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۳. گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۴. دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

تاریخ دریافت : ۸۸/۱۲/۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۹/۱/۱۰ تاریخ تصویب : ۸۹/۲/۱

۸۰ تا ۸۵ درصد سنگ‌های ادراری، کلسیمی هستند که به علت افزایش کلسیم، اسید اوریک، اگزالات ادرار یا کاهش سیترات ایجاد می‌شوند. کلسیم در PH پائین رسوب می‌کند. سنگ اسید اوریکی در PH خیلی پائین و منیزیم آمونیوم فسفات در PH قلیائی تشکیل می‌شوند. ایجاد دیورز و تغییر PH ادرار در انحلال و درمان سنگ‌های ادراری مؤثر است(۱،۲).

سنگ‌های ادراری سومین بیماری شایع دستگاه ادراری بعد از عفونت ادراری و حالات پاتولوژیک پروستات هستند(۱). شیوع سنگ کلیه در ایالات متحده آمریکا ۱۰ تا ۱۵ درصد گزارش شده است(۳). شیوع آن بسته به جنس،سن، نژاد و جغرافیا متفاوت است(۴). ۸۰ تا ۸۵ درصد سنگ‌ها، کلسیمی (مرکب از کلسیم اگزالات و کلسیم فسفات) هستند. سنگ‌های غیرکلسیمی (اسیداوریکی، استروات، سیستین، گزانتین، ایندیناویر) بقیه انواع را تشکیل می‌دهند(۱). درPH اسیدی یا خنثی، اگزالات کلسیم رسوب می‌کند و فسفات کلسیم در PH طبیعی ادرار یعنی ۵/۵ تا ۶ تشکیل سنگ می‌دهد. اسید اوریک که حلالیت بالایی ندارد در PH کم (۳/۵) حالت کریستالی پیدا می‌کند و تشکیل سنگ می‌دهد. منیزیم آمونیوم فسفات، در PH قلیایی، تشکیل سنگ می‌دهد(۵،۲). تشکیل کریستال‌ها به وسیله مواد مختلفی در ادرار تغییر می‌کنند که شامل منیزیم، سیترات پیرو فسفات و فلزات مختلف با مقادیر کم می باشند(۸-۵).

تظاهر سنگ‌های ادراری با دردهای کولیکی، تهوع، استفراغ و هماچوری است. سنگ‌ها ممکن است باعث انسداد شدید در مجاری ادراری و عوارضی مثل هیدرونفروز شدید، آسیب بافت کلیه و تخریب آن شوند(۱). بعد از تشکیل اولین سنگ، احتمال عود سنگ بسیار زیاد است طوریکه خطر آن در ۵ تا ۱۰ سال بعد از سنگ اول، بیش از ۵۰ درصد می‌باشد(۹،۴).

درمان سنگ‌های ادراری شامل درمان‌های حمایتی(۱۰)، داروهای خوراکی، استفاده از روش‌های خارج از بدن به کمک امواج، خارج کردن سنگ به وسیله یورتروسکوپ، خارج کردن سنگ از راه پوست، لاپاراسکوپی و جراحی باز است(۱۱،۱).

با توجه به خطر عود سنگ‌های ادراری و عوارض جانبی و هزینه‌های سنگین درمان آن باید توجه ویژه‌ای به استفاده از داروهای گیاهی به منظور پیشگیری از تشکیل سنگ و یا تجزیه آن شود. داروهای گیاهی ارزان و در دسترس هستند وعوارض جانبی کمی دارند(۱۳،۱۲). اثرات درمانی نمونه‌های گیاهی متعددی از جمله Bergenia ligulata (۱۴)، Phyllanthus niruri (۱۵)، Hirsuta[1] (۱۶)، Green tea (۱۷) در درمان مشکلات کلیه و مجاری ادراری گزارش شده است.

در منطقه‌ای از بخش هزارجریب نکا، براساس اعتقاد سنتی، از جوشانده گیاه سرو کوهی با نام محلی لمبیر در درمان سنگ ادراری استفاده می‌شد و حتی در مراجعات بیماران به مراکز درمانی از اعتقاد راسخ به اثر بخشی گیاه فوق، مشاهده می‌شد.

میوه گیاه سرو کوهی محتوی رزین، لیگنان و اسانس است که مواد اصلی اسانس آن پینن و برنئول می‌باشد، همچنین در میوه، یک گلوکوزید فلاون و یک عنصر تلخ به نام ژونی پرین وجود دارد(۱۹،۱۸). این گیاه اثر ضد عفونی‌کننده سیستم ادراری تناسلی و نیز دیورتیکی دارد(۲۰).

میوه آن در جوشانده‌های اورولوژیک استفاده می‌شود و شدیدا مدر است. تنظیم دفع ادرار و کنترل سوزش ادرار و خواب آوربودن ازفوائد این گیاه است(۱۳).

با توجه به موارد گفته شده، در این مطالعه اثر عصاره هیدرو الکلی میوه گیاه سرو کوهی با نام محلی لمبیر(Juniperus communis) بر انحلال انواع سنگ‌های ادراری به صورت آزمایشگاهی و خارج از بدن موجود زنده مورد بررسی قرار گرفت.

1. Hrniaria

مواد و روش ها

انواع مختلف سنگ‌های ادراری طی عمل جراحی خارج شد و سپس نوع سنگ شناسایی شده و مورد آزمایش قرار گرفت.

گیاه سرو کوهی درختچه‌ای از خانواده Cupressaceac با نام علمی Juniperus commonis است که در ارتفاعات ۱۲۰۰ متری مناطق کوهستانی مازندران می‌روید. میوه این گیاه بعد از رسیدن تهیه و مورد استفاده قرار گرفت(۱۸).

انواع مختلف سنگ‌های ادراری طی عمل جراحی خارج شده پس از شناسایی نوع سنگ، به طور جداگانه پودر گردید.وزن کاملا معینی از پودر هر سنگ ادراری (۱۵۰۰میلی‌گرم) در گروه‌های مختلف در لوله آزمایش ریخته شده و سپس طبق گروه‌های آزمایش ذیل و با غلظت‌های متفاوت عصاره میوه فوق طبق مصرف سنتی گیاه مواجه شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۵ روز در دمای ۳۷ درجه نگهداری شده و پس از اندازه‌گیری PH و وزن خشک پودر سنگ، با استفاده از کیت‌های مخصوص آنالیزسنگ‌های ادراری (Manual colorimtric method)، نسبت عناصر مایع رویی آن اندازه‌گیری شد. گروه‌های آزمایش عبارت بودند از :

۱. کنترل خنثی : نرمال سالین + سنگ ادراری
۲. کنترل مثبت : نرمال سالین + سنگ ادراری + جوش شیرین (بی‌کربنات سدیم) PH=۹/۵
۳. کنترل منفی: نرمال سالین + سنگ ادراری + اسید استیک (PH=۴/۵)
۴. نرمال سالین+ سنگ+ عصاره گیاه به غلظت ۲۰۰µg/ml
۵. نرمال سالین+ سنگ+ عصاره گیاه با غلظت ۵۰۰ µg/ml
۶. نرمال سالین+ سنگ+ عصاره گیاه با غلظت ۱۰۰۰µg/ml

برای عصاره‌گیری، عصاره میوه گیاه سرو کوهی به روش خیساندن در محلول هیدروالکلی ۵۰ درجه (اتانول-آب) تهیه شد. ۱۰۰گرم میوه لمبیر به اندازه ذره‌ای با قطر ۵/۲ میلی‌متر پودر شده و با ۲۰۰ سی‌سی محلول هیدرو الکلی ۵۰ درجه (اتانول-آب به نسبت۱:۱) به مدت ۵ روز روی دستگاه shaker خیسانده و سپس صاف شد. حاصل صافی توسط دستگاه تقطیر و سپس آون، خشک گردید. درصد وزن عصاره خشک حاصل محاسبه و در گروه‌های مختلف با غلظت‌های متفاوت نرمال سالین حل شد(۲۰).

برای تجزیه و تحلیل آماری از سیستم نرم‌افزاری SPSS و آزمون آماری ANOVA و برای مقایسه دو به دو یافته‌ها از Tukey test استفاده شد. مقدار p کمتر از ۵ درصد معنی‌دار تلقی شد. از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در مقایسه‌ی گروه‌ها مشاهده گردیده است. (سنگ A :[2,15] F=260.8 و سنگ B : [2,15]F=420.0 و p<۰/۰۰۱).

یافته ها

ترکیب سنگ A ، ۶۰ درصد کلسیم اگزالات، ۳۰ درصد کلسیم فسفات و ۱۰ درصد کلسیم آمونیوم فسفات و ترکیب سنگ B به ترتیب، ۴۰ درصد، ۱۰ درصد و ۵۰ درصد بود. نتایج حاصل از مجاورت ۱۵۰۰ میلی‌گرم از ۲ نوع سنگ با عصاره میوه گیاه سروکوهی با غلظت‌های ۲۰۰ (گروه ۴) ، ۵۰۰ (گروه ۵) و ۱۰۰۰ (گروه ۶) میکروگرم در میلی لیتر نشان داد که غلظت یون کلسیم اگزالات در سنگ **A** به ترتیب در گروه‌ها ۴ و ۵ و ۶ ، عبارت از ۷۰ درصد، ۷۵ درصد و ۸۵ درصد و در سنگ B به ترتیب ۷۵ درصد، ۷۰ درصد و ۷۰ درصد بوده است. از نظر وزن باقیمانده سنگ در محلول‌های فوق، در سنگ **A** بترتیب در گروه‌های ۴ و ۵ و ۶ ، به میزان ۱۳۱۰ ، ۱۲۴۰ و ۱۱۲۰ میلی‌گرم و در سنگ B به ترتیب فوق ۱۲۶۰ ، ۱۲۴۰ و ۱۱۸۰ میلی‌گرم بوده است. نتایج کامل مربوط به اثرعصاره میوه‌گیاه سروکوهی برانحلال سنگ‌های ادراری در جدول شماره ۱ آورده شده است.

جدول شماره ۱: نتایج مربوط به اثر عصاره میوه گیاه سرو کوهی برانحلال سنگA و B

مقادیر اولیه و گروه آزمایشی	کلسیم اگزالات		کلسیم فسفات		منیزیم آمونیوم فسفات		PH		وزن سنگ	
	سنگ A (درصد)	سنگ B (درصد)	سنگ A (درصد)	سنگ B (درصد)	سنگ A (درصد)	سنگ B (درصد)	سنگ A	سنگ B	سنگ A (میلی گرم)	سنگ B (میلی گرم)
مقادیر اولیه	۶۰	۴۰	۳۰	۱۰	۱۰	۵۰	-	-	۱۵۰۰	۱۵۰۰
گروه ۱	۶۵	۸۰	۲۵	۱۰	۱۰	۱۰	۶/۰۹	۸/۰۱	۱۴۰۰	۱۳۰۰
گروه ۲	۷۰	۷۵	۲۰	۲۰	۱۰	۵	۹/۷۲	۹/۵۴	۱۴۶۰	۱۳۶۰
گروه ۳	۷۵	۷۰	۲۰	۲۰	۱۰	۱۰	۵/۱۴	۵/۹۲	۱۲۳۰	۱۱۳۰
گروه ۴	۷۰	۷۵	۲۰	۲۰	۱۰	۵	۶/۵۸	۸/۲۱	۱۳۱۰	۱۲۶۰
گروه ۵	۸۰	۷۰	۱۵	۲۵	۵	۵	۶/۲۶	۸/۰۸	۱۲۴۰	۱۱۸۰
گروه ۶	۸۵	۷۰	۱۰	۲۵	۵	۵	۶/۵۷	۸/۵۶	۱۱۲۰	۱۱۸۰

۱. کنترل خنثی : نرمال سالین + سنگ ادراری
۲. کنترل مثبت : نرمال سالین + سنگ ادراری + جوش شیرین (بی کربنات سدیم) PH=۹/۵
۳. کنترل منفی: نرمال سالین + سنگ ادراری + اسید استیک(PH=۴/۵)
۴. نرمال سالین + سنگ + عصاره گیاه به غلظت ۲۰۰µg/ml
۵. نرمال سالین + سنگ + عصاره گیاه با غلظت ۵۰۰ µg/ml
۶. نرمال سالین + سنگ + عصاره گیاه با غلظت ۱۰۰۰µg/ml

در جدول میزان درصد هر یک از مواد (کلسیم اگزالات، فسفات و منیزیم آمونیوم فسفات) و PH در قسمت محلول لوله آزمایش و نیز وزن پودر سنگ بعد از خشک کردن آمده است.

بحث

باتوجه به اثرگذاری یون‌ها در تشکیل و یا ممانعت از تشکیل سنگ در سیستم ادراری و با این انتظار که عصاره هیدروالکلی میوه‌گیاه سروکوهی با ایجاد محیطی مناسب، باعث حل شدن سنگ ادراری گردد، مطالعه‌ی حاضر انجام شد. در مطالعه‌ای انحلال هیدرات‌های کلسیم اگزالات را در محلول کلرید سدیم و نیز محلول شبه ادراری شامل سیترات، منیزیم، کراتینین و اوره مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه نشان داد که سیترات و منیزیم قابلیت انحلال را افزایش می‌دهند اوره و کراتیین اثر کمی دارند. همچنین ثابت شد قدرت انحلال کلسیم اگزالات مونو هیدرات در PH پائین، کاهش و در PH بالاتر، افزایش می‌یابد(۲۱). در مطالعه‌ای دیگر که تأثیر آب لیمو بر تشکیل سنگ ادراری به صورت in vivo و in vitro بررسی شد، با مصرف لیمو PH ادرار و نیز دفع نیترات و کلسیم اگزالات افزایش یافت. در بررسی in vitro مشاهده شد که PH ادراری افزایش یافت و تشکیل کریستال کلسیم اگزالات بعد از اضافه کردن لیمو به ادرار مصنوعی مهار شد(۵).

تا ثیر PH بر انحلال ترکیبات در مطالعات بسیاری، بررسی شده است(۷،۲). در این مطالعه با بررسی نتایج مشاهده می‌شود که با افزودن قلیا به محیط (گروه ۲) وزن خشک پودر سنگ در هر دو نوع سنگ نسبت به کنترل خنثی (سنگ در مواجهه با نرمال سالین) افزایش می‌یابد، بالعکس با افزودن اسید به محیط (گروه ۳) وزن خشک کاهش یافته است. می‌توان گفت که تا ثیرPH بر انحلال ترکیبات، در سنگ‌های خارج شده از بدن انسان‌ها که مجموعه‌ای از نسبت‌های مختلف ترکیبات با آنیون‌ها وکاتیون‌های متفاوت، متغیر است. باید در نظر داشت که در واقع سنگ‌های کلیوی به طور خالص از یک نوع ترکیب مثل کلسیم اگزالات تشکیل نشده‌اند و به همین ترتیب تاثیر PH نیز بر سنگ‌های کلیه که در بدن انسان تشکیل می‌شوند، متفاوت است.

در سنگ نوع A (که کلسیم اگزالات نسبت به سایر ترکیبات غالب بوده است) در گروه ۱ وزن خشک mg ۱۴۰۰ و در گروه ۴ و۵ و۶ به ترتیب mg ۱۳۱۰ و ۱۲۴۰ و ۱۱۲۰ بوده است که به طور معنی داری وزن پودر در

سنگ مواجهه با عصاره و نیز با افزایش غلظت عصاره در گروه‌های آزمایش، کاهش یافته است.در قسمت محلول لوله میزان کلسیم اگزالات در مواجهه سنگ با نرمال سالین ۶۵ درصد بوده که بعد ازمواجهه با عصاره با غلظت‌های µg/ml ۲۰۰ و ۵۰۰ و ۱۰۰۰ به ترتیب به ۷۰ درصد و ۸۰ درصد و ۸۵ درصد رسیده است. کلسیم فسفات در مواجهه سنگ با نرمال سالین ۲۵ درصد و بعد از مواجهه با عصاره به ۲۰ و ۱۵ و ۱۰ درصد رسیده است.و نیز میزان منیزیوم آمونیوم فسفات بعد ازمواجهه با عصاره, کاهش یافته است. با مقایسه نتایج می‌توان گفت که عصاره گیاه باعث انحلال سنگ و کاهش وزن قسمت نامحلول لوله شده و از طرف دیگر در قسمت محلول موجب افزایش میزان کلسیم اگزالات نسبت به سایر ترکیبات شده است. پس در این نوع سنگ عصاره بیشتر باعث انحلال کلسیم اگزالات شده است.

در گروه‌های حاوی سنگ B (که نسبت منیزیوم آمونیوم فسفات به سایر ترکیبات غالب بوده است) وزن خشک در لوله‌های حاوی عصاره(mg ۱۲۶۰و ۱۱۸۰و ۱۱۸۰) نسبت به لوله مواجهه با نرمال سالین (۱۳۰۰) کاهش یافته است. میزان کلسیم اگزالات در گروه ۱، ۸۰ درصد و در گروه‌های ۴و۵و۶ به ترتیب ۷۵ درصد و ۷۰ درصد و ۷۰ درصد می‌باشد. اما میزان کلسیم فسفات از ۱۰ درصد در گروه ۱ به ۲۰ درصد و ۲۵ درصد و ۲۵ درصد در گروه‌های ۴ و۵ و۶ افزایش یافته است. کاهش نسبت کلسیم اگزالات و نیز افزایش نسبت کلسیم فسفات نشان می‌دهد که در این نوع سنگ عصاره بیشتر بر انحلال کلسیم فسفات مؤثر بوده است. در هر دو نوع سنگ کاهش وزن همزمان با تغییر غلظت در قسمت محلول بوده که تغییر آنها از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد.

تغییر PH ، قبل و بعد از اضافه نمودن عصاره در هر دو نوع سنگ معنی‌دار و قابل توجه نبوده است. در نتیجه تغییر PH محیط (مواجهه با عصاره) در حل کردن سنگ و کاهش وزن قسمت نامحلول نقشی نداشته است.

می‌توان گفت که انحلال سنگ به دلیل ترکیبات گیاه و اثر آن بر نسبت‌های مختلف آنیون‌ها و کاتیون‌های سنگ‌ها بوده است. نوع این ترکیبات مؤثر بر انحلال سنگ ونحوه تاثیر آنها مشخص نیست. علاوه بر آن چگونگی تاثیر گیاه بر انحلال سنگ در بدن موجود زنده شناخته شده نمی‌باشد

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران جهت تصویب طرح تحقیقاتی حاضر و اختصاص بودجه و سرکار خانم مهدیه فتاحی دانشجوی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران که تلاش فراوانی در اجرای طرح به عنوان پایان‌نامه دانشجوئی داشته اند، صمیمانه تقدیر و تشکر می‌نمایم.

References

1. Stoller M.L. Smith's General Urology. Chapter 16, Emil A. 6th edition, Tanagho: Lange Medical Books/McGraw-Hill 2004. P 256.
2. Wein AL, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA. Textbook urology campbell-walsh(II). 9th edition, SAUNDERS; 2002. P 1363.
3. Brenner BM, Rectors. Textbook, the kidney (III). 6th edition, 2000. P 1774-1775.
4. Oussama A, Touhami M, Barkim M. In vitro and in vivo study of lemon juice on urinary lithogenesis. Arch Urol 2005; 58: 1087-1092.
5. Hogard I, Fornander AM, Nilsson MA, Tiselius HG. The effect of PH changes on the crystallization of calcium salts in solutions with an ion composition corresponding to that in the distal tubule. Urol Res 1999; 27: 409.

6. Kulaksizoglu S, Sofikerim M, Cevik C. In vitro effect of lemon and orange juices on calcium oxalate cristalization. Urol Nephrol 2008; 40: 589-594.
7. Guerra A, Meschi T, Allergi F, Prati B, Nouvenne A, Fiaccadori E, et al. Concentrated urine and diluted urine: the effect of citrate and megnesium on the crystalization of calsium oxalate induced in vitro by an oxalate load. Urol Res 2006; 34: 359-334.
8. Kulaksizoglu S, Sofikerim M, Cevik C. Impact of various modifiers on calsium oxalate crystallization. International Journal of Urology 2007; 14: 214-218.
9. Wassertein AG. Nephrolithisis, acute management and prevention. Dis Mon 1998; 44: 196.
10. Quan V, Kalin A. Sensitivity to meat protein intake and hyperoxaluria in idiopathic calcium stone formers. Kidney International 2001; 59: 2273-2281.
11. Healy KA, Ogank A. Nonsurgical management of urolithiasis: An overview of explusive therapy. J of Enourology 2005; 19: 759-767.
12. Danny M, Gohel I, Wong SP. Chinese herbal medicines and their efficacy in treating renal stones. Urol Res 2006; 34: 365-372.
13. Ballabh B, Chaurasia OP, Ahmed Z, Singh SB. Trditional medicinal plants of cold desert ladakh_used against kidney and urinary disorders. J Ethnopharmacol 2008; 118: 331-339.
14. Garimella TS, Jully CF, Narayanan S. In vitro studies on antilithiatic activity of seeds of Dolichos biflorus Linn and rhizomes of Bergenia ligulata well. Phtotherapy Res 2001; 15: 351-355.
15. Barros E, Schor N, Boi MA. Effect of an aqueuous extract from phyllanthus niruri on calcium oxalate crystallization in vitro. Urol Res 2003; 30: 374-379.
16. Atmani F, khan S.R. Effects of extract from Hrniaria hirsuta on calcium oxalate crystallization in vitro. BJU Int 2000; 5: 621-625.
17. Jeong BC, Kim BS, Kim HH. Effects of green tea on urinary stone formation: an in vivo and in vitro study. mary Ann libert. J Enoourol 2006; 20: 356-361.
18. Volak DJ, Stodola J. Persian translation of "plantes medicinalis". 3rd edition. 1376. P 214.
19. Robbers JE, Varro E, Tyler`s T. Herbs of choice: The therapeutic use of phytomedicinals. New York: Haworth press; 1999. P 93.
20. Evans WC. Pharmacognosy Trease and Evans. 15th edition, London: Elsevier Science; 2002. P 46.
21. Cifuentes DL. Alkalinizing Treatment as preventive of recurrent calsium oxalate lithiasis. Arch Urol 1991; 44: 903.