

## تاثیر عصاره هیدروالکلی کاکل ذرت (*Zea mays L.*) بر جلوگیری از تشکیل سنگ‌های کلیوی اگزالات کلسیمی در موش‌های آزمایشگاهی

مریم عیدی<sup>۱\*</sup>، علیرضا صادقی‌پور<sup>۲</sup>، اکرم عیدی<sup>۳</sup>، امید پویان<sup>۴</sup>، پونه شاه‌محمدی<sup>۵</sup>، مسیح بهار<sup>۶</sup>

۱. دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، ورامین، ایران
۲. دانشیار پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، بیمارستان رسول اکرم، تهران، ایران
۳. دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۴. اورولوژیست، بیمارستان لاله، تهران، ایران
۵. کارشناس ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، ایران
۶. دانشجوی دکتری ژنتیک پزشکی، گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

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: [eyidi@iauvaramin.ac.ir](mailto:eyidi@iauvaramin.ac.ir)

تاریخ پذیرش: ۸۹/۶/۴

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۰/۱۲

### چکیده

تشکیل سنگ‌های کلیوی و درمان آن‌ها از مشکلات مهم جامعه پزشکی و بیماران می‌باشند. هدف پژوهش حاضر، بررسی اثر عصاره هیدروالکلی کاکل ذرت (*Zea mays L.*) بر جلوگیری از تشکیل سنگ‌های کلیوی اگزالات کلسیمی در موش‌های آزمایشگاهی بود. ابتدا عصاره هیدروالکلی کاکل ذرت در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تهیه شد. تشکیل سنگ کلیه توسط تیمار کلرید آمونیوم و اتیلن گلیکول در آب آشامیدنی حیوانات القاء شد. حیوانات شاهد هیچ تیماری دریافت نکردند. گروه کنترل بیمار کلرید آمونیوم و اتیلن گلیکول را به ترتیب به مدت ۳ و ۳۲ روز در آب آشامیدنی دریافت کردند. گروه‌های تجربی به مدت ۳۵ روز هر یک از غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم عصاره هیدروالکلی کاکل ذرت را به روش خوراکی به همراه تیمار کلرید آمونیوم و اتیلن گلیکول در آب آشامیدنی دریافت کردند. سپس حیوانات توسط اتر بیهوش شده و کلیه سمت راست آنها خارج شده و در فیکساتیو قرار گرفت. نمونه‌های بافتی کلیه برای مطالعات بافت‌شناسی آماده شدند و به روش هماتوکسیلین-آئوزین رنگ‌آمیزی شدند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار عصاره هیدرو-الکلی کاکل ذرت موجب کاهش معنی‌داری در تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم تشکیل شده در کلیه حیوانات تیمار شده می‌گردد. تحقیق حاضر نشان داد عصاره هیدروالکلی کاکل ذرت با کاهش تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیم موجب ممانعت از تشکیل هسته اولیه سنگ‌های کلیوی می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: کاکل ذرت، اگزالات کلسیم، کریستالیزاسیون، سنگ کلیه، رت

### مقدمه

سنگ‌های کلیوی در آمریکای شمالی و اروپا در حدود ۰/۵ درصد به‌طور سالانه تخمین زده شده است. شانس تشکیل سنگ کلیه در کشورهای غربی در حدود ۱۵-۱۰ درصد می‌باشد که این عدد در

بیماری سنگ کلیه یک مشکل جهانی است. ابتلا به سنگ‌های کلیوی در سال‌های اخیر به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است (۴،۵). شیوع سنگ کلیه در ایالات متحده در حال افزایش است. فراوانی

معرفی شده‌اند. هر چند مکانیسم عمل بسیاری از آن‌ها هنوز بدرستی روشن نشده است.

ذرت ( *Zea mays* L. Poaceae/ Gramineae)، گیاهی علفی، یک‌پایه و دارای ساقه‌ای به ارتفاع ۱ تا ۲ متر است. برگ‌هایی پهن، دراز، خشن، نوک‌تیز و 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 گیاه 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 در قسمت انتهایی گل‌آذین، از درون براکته‌ها به خارج راه می‌یابد. میوه‌های هر سنبلک ممکن است به تفاوت دارای معدودی، به رنگ‌های دیگر باشند. ذرت به حالت وحشی دیده نشده است.

منشاء اصلی این گیاه در آمریکای مرکزی، مکزیک و گواتمالا بوده، از آنجا به سایر نواحی انتقال یافته است. زراعت آن نیز از قدیم‌الایام در پرو و مکزیک معمول بود و بتدریج در بسیاری از نواحی مساعد جهان نیز انجام گرفته، به‌طوری که امروزه، اهمیت بسیاری پیدا نموده است. زمین‌زراعتی آن باید دارای املاح فسفر و کلسیم باشد. بعضی از وارپته‌های ذرت، میوه‌هایی به رنگ‌های بنفش، سیاه و حتی مایل به آبی دارند. قسمت مورد استفاده این گیاه، خامه آن است که مجموعه آن کاکل ذرت نامیده می‌شود.

کاکل ذرت دارای یون‌های معدنی مختلف به‌صورت املاح پتاسیم و کلسیم می‌باشد. بعلاوه دارای گلوکز، مالتوز، آلانتوئین، دو استرول، اسیدهای چرب اشباع‌شده و غیراشباع و اسید سربرونیک است. در کاکل ذرت عناصر مختلف مانند گوگرد به مقدار ۰/۲۸ درصد، کلر ۰/۳۶ درصد، فسفر ۰/۵۲ درصد، سیلیسیم ۰/۴ درصد، آهن ۰/۰۶۴ درصد، کلسیم

کشورهای شرقی به ۲۵-۲۰ درصد نیز می‌رسد (۶). شیوع سنگ کلیه در ایالات متحده در حال افزایش است. در آمریکا، شیوع از ۳/۲ درصد به ۵/۲ درصد از نیمه ۱۹۷۰ تا نیمه ۱۹۹۰ افزایش یافته است (۷). در کشورهای غربی در حال توسعه، شیوع سنگ کلیه در طی ۹۰ سال اخیر افزایش یافته که با افزایش گسترش جامعه در برخی از کشورها (۸) و نیز با ورود مهاجران مرتبط است (۹). شیوع تشکیل سنگ‌های کلیوی در کشورهایی مانند عربستان سعودی بیش از ۲۰ درصد می‌باشد (۱۰). سرعت وقوع مجدد بیماری سنگ کلیوی در طی یک سال بدون درمان یا جلوگیری تقریباً ۱۰ درصد است که در مدت ۵ سال به ۳۳ درصد می‌رسد (۱۱).

تحقیقات نشان داده‌اند که متوسط شیوع سنگ‌های کلیوی در افراد مذکر بین ۷ تا ۱۵ درصد است، که در افراد مؤنث تنها بین ۳ تا ۶ درصد می‌باشد (۱۲-۱۴). برخی مطالعات نشان داده‌اند که فراوانی تشکیل سنگ در مردان در طول زندگی بیشتر از زنان است، ولی شیوع آن در دهه ششم زندگی، در مردان کاهش یافته و در زنان افزایش می‌یابد (۱۵).

سنگ‌های کلیوی از کریستال‌های آلی و غیرآلی تشکیل شده‌اند که با پروتئین‌ها ترکیب شده‌اند. سنگ‌های آهکی فراوان‌ترین سنگ‌های کلیوی هستند و بیش از ۸۰ درصد سنگ‌ها را تشکیل می‌دهند. سنگ‌های اگزالات کلسیمی خالص یا آنهایی که دارای فسفات کلسیم هستند، معمول‌ترند. اکثریت آنها بدون علت خاصی تشکیل شده و فاقد دلایل کلینیکی قابل تشخیص می‌باشند. تشکیل سنگ‌های کلیوی اگزالات کلسیمی، فرآیندی چندعاملی است و می‌توان تشکیل آنها 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 (۱۶، ۱۷).

استفاده از گیاهان دارویی برای درمان سنگ کلیه سابقه دیرینه‌ای دارد. در طب سنتی ایران گیاهان بسیاری برای دفع سنگ‌های کلیوی، حل شدن سنگ‌های کلیوی و یا جلوگیری از تشکیل سنگ

### تهیه عصاره هیدروالکلی گیاه

کاکل ذرت خشک و پودر شده (حدود ۶۰ گرم) با ۳۰۰ میلی‌لیتر اتانل ۸۰ درصد در دستگاه سوکسله به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت. سپس عصاره، صاف شده و توسط دستگاه روتاری، خشک شد. در زمان آزمایش، عصاره گیاهی در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تهیه شد.

### القاء سنگ کلیه در حیوانات

برای ایجاد سنگ کلیه در موش‌های صحرایی از کلرید آمونیوم (۱٪) و اتیلن گلیکول (۰/۷۵٪) در آب آشامیدنی استفاده شد. ابتدا، حیوانات کلرید آمونیوم ۱٪ را به مدت ۳ روز در آب آشامیدنی دریافت کردند. سپس، اتیلن گلیکول ۰/۷۵٪ را به مدت ۳۲ روز دریافت نمودند. به منظور اطمینان از ایجاد کریستال‌های اگزالات کلسیم، حیوانات توسط اتر بیهوش شده، کلیه سمت راست آنها خارج و در فیکساتیو فرمالدئید قرار گرفت. پس از قالب‌گیری، برش‌گیری و رنگ‌آمیزی نمونه‌ها به روش هماتوکسیلین - اتوزین، از وجود کریستال‌های اگزالات کلسیم توسط میکروسکوپ نوری اطمینان حاصل شد.

### گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌های مورد مطالعه عبارتند از:  
گروه ۱ یا کنترل سالم: رت‌هایی که هیچگونه بیماری را دریافت نکردند (n=۶).  
گروه ۲ یا کنترل بیمار: رت‌هایی که کلرید آمونیوم را به مدت ۳ روز و سپس اتیلن گلیکول را به مدت ۳۲ روز دریافت کردند (n=۶).  
گروه ۳، ۴ و ۵ یا تجربی: رت‌هایی که علاوه بر دریافت کلرید آمونیوم به مدت ۳ روز و اتیلن گلیکول به مدت ۳۲ روز در آب آشامیدنی، عصاره الکی کاکل ذرت را در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت خوراکی روزانه دریافت نمودند (n=۶).

۰/۱۷ درصد، منیزیم ۰/۱۴ درصد، سدیم ۰/۰۲ درصد و پتاسیم ۲/۶۶ درصد وجود دارند.

در طب سنتی ایران، 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 دفع ادرار روزانه را به اندازه قابل‌ملاحظه افزایش می‌دهد. کاکل ذرت از جمله مدرهایی است که در رفع رسوبات ادراری نتایج خوبی می‌دهد، اعم از اینکه این رسوبات شامل اورات‌ها و اسید اوریک و یا به رنگ روشن و دارای ترکیبات فسفات باشد، بعلاوه مصرف آن در رفع ورم مثانه نیز مؤثر است (۱).

از آنجائیکه تاکنون تحقیقی در مورد اثر ممانعتی کاکل ذرت بر تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیمی انجام نشده، در این پژوهش، اثر کاکل ذرت بر جلوگیری از تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیم در کلیه موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار انجام گرفته است.

### مواد و روش‌ها

#### حیوانات

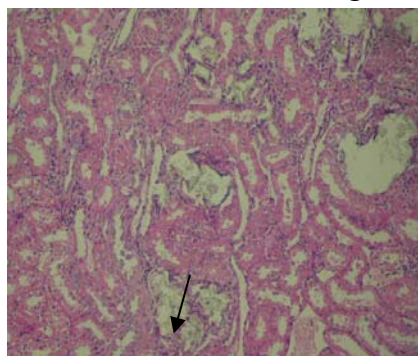
موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور کرج خریداری شده و در قفس‌های تمیز با درجه حرارت ۲۴ - ۲۲ درجه سانتی‌گراد و سیکل ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۶۰ - ۴۰ درصد نگهداری شدند. حیوانات دسترسی کافی به آب و غذا داشتند.

#### ماده گیاهی

کاکل ذرت ( *Zea mays* L. Poaceae/ Gramineae) در بهار ۱۳۸۸ جمع‌آوری شد. پس از تمیز کردن، گیاه در سایه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک و با آسیاب مکانیکی پودر شد. پودر خشک شده در کیسه نایلونی در فریزر تا زمان انجام آزمایش نگهداری گردید.

## مطالعات بافت‌شناسی

پس از ۳۵ روز و خاتمه دوره تیمار، حیوانات توسط اتر بیهوش شده و کلیه سمت راست آنها خارج شده و در بافر فرمالین ۱۰٪ فیکس شدند. پس از انجام مراحل آب‌گیری، قالب‌گیری در پارافین، مقاطعی به ضخامت ۲-۱ میکرونی تهیه شدند. از مقاطع تهیه شده از هر کلیه، ۳ مقطع انتخاب شده و به روش هماتوکسیلین - اتوزین رنگ‌آمیزی شدند (تصویر ۱). تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم در کل هر مقطع شمارش شدند.



تصویر ۱ - تصویر میکروسکوپ توری از کریستال‌های اگزالات کلسیم در مقاطع کلیه موش‌های تیمار شده

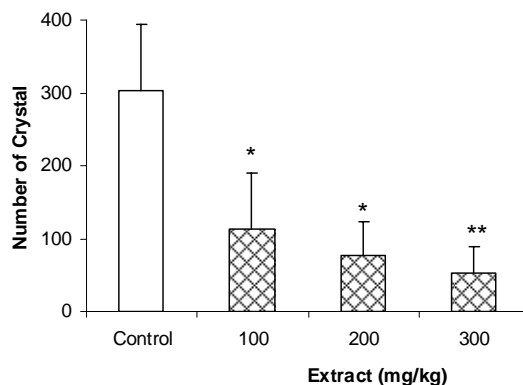
توسط کلرید آمونیوم و اتیلن گلیکول. ← کریستال‌های اگزالات کلسیم را نشان می‌دهد. بزرگنمایی  $\times 250$  (H&E).

## آنالیز آماری

داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و تست Tukey از نظر آماری بررسی گردید. همه داده‌ها به صورت  $\text{mean} \pm \text{S.E.M.}$  ارائه شدند. اختلاف بین گروه‌ها در سطح معنی‌داری  $p < 0.05$  تعیین شد.

## نتایج

نتایج تحقیق نشان داد که تیمار عصاره الکلی کاکل ذرت در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب کاهش معنی‌داری در تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم در کلیه موش‌های صحرایی تیمار شده می‌گردد (نمودار ۱).



نمودار ۱ - تاثیر عصاره هیدروالکلی کاکل ذرت در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم. هر ستون  $\text{Mean} \pm \text{S.E.M.}$  را نشان می‌دهد.  $p < 0.05$  \*،  $p < 0.01$  \*\* اختلاف از گروه کنترل را نشان می‌دهد.

## بحث

حاوی پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، کربوهیدرات‌ها، نمک‌های کلسیم، پتاسیم و منیزیم و روغن‌های فرار و ثابت، استروئیدهایی مانند سیتوسترول و استیگماسترول، آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، تانن‌ها و فلاونوئیدهاست (۲۱، ۲۳، ۲۴). کاکل ذرت یک گیاه درمانی است که اغلب بعنوان یک دیورتیک در ۹۳

کاربرد درمانی گیاهان یک پدیده جهانی و فراوان حتی در میان بیماران برای درمان بیماری‌شان می‌باشد (۱۸). کاکل ذرت در طب سنتی دارای خواص دیورتیک و نیز دفع سنگ، اوریکوزوریک و آنتی‌سپتیک است و در بسیاری از بخش‌های جهان، برای درمان ادم و نیز سیستیت، سنگ کلیه، نفریت و پروستاتیت استفاده می‌شود (۱۹-۲۳). کاکل ذرت

نگهداری شده در قفس‌های متابولیک (با غذای استاندارد غنی از پروتئین و گلوکوسیدیک) انجام شده، نشان داده شده که جریان ادرار ۲۴ ساعته و غلظت‌های منیزیم و فسفات ادراری بدون تغییر در pH ادراری، غلظت‌های کلسیم و سیترات ادراری در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌یابد (۲۰).

از طرف دیگر، در یک مطالعه پلاسبو کنترل‌شده و مدل دو سر کور که روی اثرات دیورتیک ترکیبی و یا انفرادی چهار گیاه طبی در ویتنام از جمله کاکل ذرت انجام شده، نشان داده شد که تغییری در حجم ادرار ۱۲ و ۲۴ ساعته و یا دفع سدیم در مردان مورد مطالعه ایجاد نمی‌شود (۲۸).

در مطالعه دیگر، زمانی که عصاره آبی کاکل ذرت در غلظت ۵ گرم بر کیلوگرم به رت‌های قرار گرفته در قفس‌های متابولیکی به مدت ۲۴ ساعت داده شد، تغییری در حجم ادرار ایجاد نکرد. در صورتی که اگر به‌صورت ترکیبی با عصاره آبی *Tribulus terrestris* در غلظت ۵ گرم بر کیلوگرم داده شود، موجب دیورز می‌گردد (۲۹).

بنابراین، نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که عصاره هیدروالکلی کاکل ذرت مانع تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیم شده و می‌تواند در تایید استفاده سنتی این گیاه تاحدی موثر باشد و نیاز به انجام تحقیقات بیشتری برای شناسایی اثر این گیاه است.

### تقدیر و تشکر

بدین وسیله از معاونت پژوهشی واحد ورامین - پیشوا به واسطه تامین 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 و آقای عسگری کارشناس محترم بخش پاتولوژی بیمارستان رسول-اکرم که در انجام پژوهش حاضر همکاری صمیمانه‌ای داشتند، سپاسگزاری می‌شود.

کتاب طب گیاهی از ۱۳ کشور شناخته شده است (۲۵).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار خوراکی عصاره هیدروالکلی کاکل ذرت در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم موجب کاهش معنی‌دار تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم تشکیل شده در رت‌هایی می‌گردد که تشکیل سنگ کلیه توسط تیمار کلرید آمونیوم و اتیلن گلیکول در آنها القاء شده بود. در توافق با نتایج حاضر، عیدی و همکاران نشان دادند که حضور عصاره هیدروالکلی کاکل ذرت در ادرار مردان و زنان موجب کاهش قطر و تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم تحت تاثیر اضافه نمودن اگزالات سدیم به ادرار در شرایط *in vitro* می‌گردد (۲).

همچنین، عیدی و همکاران نشان دادند که عصاره هیدروالکلی کاکل ذرت قادر به انحلال سنگ‌های اگزالات کلسیمی استخراج شده از کلیه بیماران مبتلا به بیماری سنگ کلیه می‌باشد (۳).

در مطالعه Cáceres و همکارانش، افزایش دیورز در رت‌های نری که عصاره آبی کاکل ذرت را در غلظت ۱ گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت نازوگاستریک دریافت کردند، مشاهده شده است. در این مطالعه رت‌ها در قفس‌های متابولیک به مدت ۶ ساعت نگهداری شدند و به مدت ۲۴ ساعت بدون آب و غذا پیش از تجربه و در طی زمان آزمایش قرار داشتند. این نتایج با نتایج زمان کنترل در روز پیش مقایسه شدند (۲۶).

در تجربه دیگری، با استفاده از رت‌های ماده‌ای که در قفس‌های متابولیک قرار داشتند (بدون غذا ولی دسترسی کافی به آب داشتند که یک ساعت قبل از تجربه آب نیز برداشته شد)، دیورز در اثر تیمار خوراکی عصاره آبی - الکلی (۵۰ درصد) کاکل ذرت در غلظت ۴۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم افزایش یافت (۲۷).

در مطالعه‌ای که روی اثر عصاره آبی کاکل ذرت در غلظت ۲ گرم بر لیتر به مدت ۷ روز بر رت‌های

منابع مورد استفاده

۱. زرگری، ع، گیاهان دارویی، انتشارات دانشگاه تهران، ج ۴، چاپ ۶، ۱۳۷۶، ص: ۷۰۹-۷۱۵.
۲. عیدی، م، پویان، ا، شاه‌محمدی، پ، بهار، م، عیدی، ا. ۱۳۸۷. طرح پژوهشی پایان یافته در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین.
3. Eidi, M., Poyan, A., Shahmohammadi, P., Behar, M., Eidi, A. (2018). A research project completed in Azad Islamic University, Varamin branch.
4. Bichler, K. H., Strohmaier, W. L., Korn, S., 1985. Urolithiasis in childhood. *Monatsschr Kinderheild* 133: 256–66.
5. 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.
6. Pak, C. Y., 1998. Kidney stones. *Lancet* 351: 1797–801.
7. Stamatelou, K. K., Francis, M. E., Jones, C. A., Nyberg, L. M., Curhan, G. C., 2003. Time trends in reported prevalence of kidney stones in the United States: 1976–1994. *Kidney Int* 63: 1817–23.
8. Rao, P. N., Prendiville, V., Buxton, A., 1982. Dietary management of urinary risk factors in renal stone formers. *Br J Urol* 54: 578–83.
9. Robertson, W. G., Peacock, M., Heyburn, P. J., 1981. The risk of calcium stone formation in relation to affluence and dietary animal protein. *Urinary Calculus*. Littleton, Massachusetts, PSG 21: 3 – 12.
10. Robertson, W. G., Hughes, H., 1994. Epidemiology of urinary stone disease in Saudi Arabia. *Urolithiasis* 54: 453–5.
11. Ramello, A., Vitale, C., Marangella, M., 2000. Epidemiology of nephrolithiasis. *J Nephrol* 13: S45–50.
12. Scott, R., Freeland, R., Mowat, W., 1977. The prevalence of calcified upper urinary tract stone disease in random population-Cumberland health survey. *Br J Urol* 49: 589–95.
13. Ljunghall, S., 1977. Renal stone disease. Studies of epidemiology and calcium metabolism. *Scand J Urol Nephrol* 41: 1–96.
14. 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.
15. Parks, J. H., Coe, F. L., 1986. A urinary calcium-citrate index for the evaluation of nephrolithiasis. *Kidney Int* 30: 85 –90.
16. 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.
17. 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.
18. Fetrow, C. W., Avila, J. R., 2000. *Manual de Medicina Alternativa para o Profissional: 3*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
19. Balmé, F., 1982. *Plantas Mediciniais*. Hemus, São Paulo, p. 254.
20. Grases, F., March, J. G., Ramis, M., Costa-Bauzá, A., 1993. The influence of *Zea mays* on urinary risk factors for kidney stones in rats. *Phytother Res* 7: 146–149.
21. Newal, C. A., Anderson, L. A., Phillipson, J. D., 1996. *Herbal Medicine: a Guide for Health-care Professionals: 90*. Pharmaceutical Press, London.
22. Panizza, S., 1997. *Plantas Que Curam: Cheiro do Mato*. Ibrasa, São Paulo, pp. 153–154.
23. Pedretti, M., 1980. *L’Erborista Moderno Manuale teorico-pratico di fitoterapia con spiegazione dell’effetto farmacologico delle piante medicinali*. Studio Editorial, Milan, p. 154–155.
24. Fleming, T. (Ed.), 2000. *PDRs for Herbal Medicines™*, second edition. Medical Economics Company, New Jersey, pp. 224–225.
25. Raghuram, A., Castro-Chaves, C. O., 2000. *Zea mays* L. foi a planta mais citada mundialmente como diuretica na análise retrospectiva de 147 anos em 93 livros de fitoterapia. *Anais do XVI Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil Recife*, p. 272.
26. Cáceres, A., Girón, L. M., Martínez, A. M., 1987. Diuretic activity of plants used for treatment of urinary ailments in Guatemala. *J Ethnopharmacol* 19: 233–243.
27. Ribeiro, R. A., Barros, F., Melo, M. M., Muniz, C., Chieis, S., Wanderley, M. G., Gomes, C., Trolin, G., 1988. Acute diuretic effects in conscious rats produced by some medicinal plants used in the State of São Paulo Brasil. *J Ethnopharmacol* 24: 19–29.
28. Du Nat, D., Ham, N. N., Khac, D. H., Lam, N. T., Son, P. T., van Dau, N., Johansson, R., Lindgren, G., Stjernström, N. E., 1992. Studies on the individual and combined diuretic effects of four Vietnamese traditional herbal remedies (*Zea mays Imperata cylindrical Plantago major* and *Orthosiphon stamineus*). *J Ethnopharmacol* 36: 225–231.
29. Al-Ali, M., Wahbi, S., Twaij, H., Al-Badr, A., 2003. *Tribulus terrestris*: preliminary study of its diuretic and contractile effects and omparison with *Zea mays*. *J Ethnopharmacol* 85: 257–260.

