

مقاله تحقیقی

اثر آب معدنی چشمه کندوان بر سنگ‌های کلیوی اگزالات کلسیمی در موش‌های صحرایی نر بالغ

فاطمه رسولیان^۱، علیرضا صادقی‌پور^{۲*}

۱. گروه زیست‌شناسی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین - پیشوا، ایران

۲. مرکز تحقیقات انکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: آدرس الکترونیکی: asadeghipour@yahoo.com

محل انجام تحقیق: گروه زیست‌شناسی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین - پیشوا، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۹/۷/۸

تاریخ دریافت: ۹۹/۶/۱

چکیده

بیماری سنگ کلیه یک مشکل جهانی است و وابسته به نژاد، منطقه جغرافیایی و یا فرهنگی نمی‌باشد. در پژوهش حاضر اثر آب معدنی چشمه کندوان بر جلوگیری از تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیم در موش‌های صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفته است. کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم توسط اضافه نمودن کلرید آمونیوم و اتیلن گلیکول در آب آشامیدنی به ترتیب به مدت ۳ و ۳۵ روز القاء شد. گروه کنترل توسط آب آشامیدنی تیمار شد. گروه کنترل بیمار کلرید آمونیوم و اتیلن گلیکول را در آب آشامیدنی به ترتیب ۳ و ۳۵ روز دریافت کردند. گروه تجربی کلرید آمونیوم و اتیلن گلیکول را در آب معدنی چشمه کندوان به ترتیب به مدت ۳ و ۳۵ روز دریافت کردند. بعد از ۳۸ روز، حیوانات توسط اثر بیهوش شده و کلیه سمت چپ آنها خارج شده و در فیکساتیو قرار گرفت. نمونه‌ها برای مطالعات بافت‌شناسی آماده شده و توسط هماتوکسیلین - اتوزین رنگ‌آمیزی شدند. نتایج نشان داد تیمار آب چشمه کندوان موجب کاهش تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم در بافت کلیه حیوانات تجربی در مقایسه با گروه کنترل بیمار می‌گردد. همچنین، تیمار آب معدنی کندوان آسیب توبولو - اینتراستیشیال را در بافت کلیه حیوانات تیمار شده کاهش می‌دهد. بنابراین، آب چشمه کندوان می‌تواند مانع تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیم در کلیه شود.

کلمات کلیدی: آب معدنی چشمه کندوان، اگزالات کلسیم، کریستالیزاسیون، سنگ کلیه، رت

مقدمه

۸۰٪ سنگ‌ها را تشکیل می‌دهند. سنگ‌های اگزالات کلسیم خالص یا آنهایی که دارای فسفات کلسیم هستند، معمول‌ترینند. اکثریت آنها ایدیوپاتیک هستند که دلالت بر آن دارند که فاقد دلایل کلینیکی قابل تشخیص می‌باشند. سنگ‌های اسید اوریک در حدود ۱۰-۵٪ هستند که پس از آن سنگ‌های سیستین، struvite و آمونیوم اسید اورات قرار دارند (۴). شیوع سنگ‌های کلیوی در افراد مذکر بین ۷ تا ۱۵ درصد است، که در افراد مؤنث تنها بین ۳ تا ۶ درصد می‌باشد (۵).

بیماری سنگ کلیه یک مشکل جهانی است و وابسته به نژاد، منطقه جغرافیایی و یا فرهنگی نمی‌باشد (۱). سنگ‌های کلیه از کریستال‌های آلی و غیرآلی ترکیب شده با پروتئین‌ها تشکیل شده‌اند. کریستالیزاسیون و پس از آن، تشکیل سنگ می‌تواند توسط مواد حل شده در ادرار رخ دهد. انواع متعددی از سنگ‌های ادراری بر اساس ترکیب شیمیایی وجود دارند. سنگ‌های آهکی معمول‌ترین سنگ‌های کلیه هستند (۲،۳) که بیش از

کندوان وجود دارد. جریان آب این چشمه دائمی بوده و تقریباً به طور یکنواخت می‌باشد. با این که در فصول پرباران تغییراتی در دبی چشمه به وجود می‌آید، آب‌دهی لحظه‌ای چشمه حدود نیم لیتر در ثانیه است. موقعیت دهانه چشمه به صورت کف دره ای و دو دهانه بوده و انتقال آب از حدود ۱۰ متری به وسیله لوله پلیکا به منبع آب انتقال یافته و دارای مالکیت عمومی می‌باشد. اکنون آب چشمه معدنی کندوان یکی از موثرترین منابع طبیعی جهت از بین بردن سنگ کلیه شهرت پیدا کرده است (۱۴). لذا در پژوهش حاضر اثر آب معدنی چشمه کندوان در جلوگیری از تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیم در موش‌های صحرایی نر مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری آب معدنی

آب معدنی چشمه کندوان در ظروف درب بسته جمع‌آوری و به تهران منتقل شد.

حیوانات آزمایشگاهی

موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۳۰۰ - ۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور کرج خریداری و در بخش حیوانات آزمایشگاهی آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا نگهداری شدند. حیوانات در شرایط مناسب (۱۲ ساعت نور/۱۲ ساعت تاریکی)، درجه حرارت (2 ± 22) درجه سانتی‌گراد، قفس‌های تمیز و آب و غذای کافی نگهداری شدند.

القاء سنگ کلیه در موش‌های صحرایی

برای ایجاد سنگ کلیه در موش‌های صحرایی از کلرید آمونیوم (۱٪) به مدت ۳ روز و سپس اتیلن گلیکول (۷۵٪) به مدت ۳۵ روز در آب آشامیدنی استفاده شد. پس از ۳۸ روز، حیوانات بیهوش شده، کلیه سمت چپ آنها خارج شده و در فیکساتیو ۱۰٪ قرار داده شدند. مراحل آب‌گیری و قالب‌گیری در پارافین انجام شد. برش‌های میکروسکوپی تهیه شده و به روش هماتوکسیلین - ائوزین رنگ‌آمیزی شدند.

تیمار آب معدنی

روش‌های مختلفی برای درمان بیماری سنگ کلیه توصیه شده است. درمان با آب معدنی و به اصطلاح علمی کرونوتراپی، یکی از انواع معالجه به طریقه فیزیکی می‌باشد. توافق کلی در باره اثرات مفید مصرف مقادیر زیاد مایع برای ممانعت از تشکیل سنگ‌های ادراری توسط کاهش غلظت عناصر موجود در ادرار وجود دارد. اگرچه، مطالب متناقضی در مورد جنبه‌های مختلف کیفیت آب - از جمله سختی آب - روی تشکیل سنگ وجود دارد. Coen و همکارانش گزارش کردند افزایش سختی آب نوشیدنی منجر به افزایش شیوع سنگ ادراری می‌گردد (۶). در مطالعه دیگری پیشنهاد شده که نوشیدن آب مقطر فعالیت یونی را افزایش داده و رسوب کریستال را کاهش داده و دلالت بر اثر مهاری آن بر تشکیل سنگ کلیه را دارد (۷). در مقابل، مطالعات بسیاری نشان داده اند آب با سختی بالا مانند آب معدنی توسط مکانیسم‌های مختلف از جمله افزایش سیرتات ادرار مانع تشکیل سنگ ادراری می‌گردد (۸-۱۰). این نتایج متناقض ناشی از فاکتورهای گیج کننده است. تشکیل سنگ‌های ادراری یک فرآیند پیچیده است که بطور کامل فهمیده نشده و فاکتورهایی مانند رژیم غذایی (۱۱)، فعالیت فیزیکی، شرایط محیطی، داروها، مکمل‌ها و بیماری‌ها روی آن اثر دارند (۱۲، ۱۳).

آب معدنی چشمه کندوان نیز برای درمان سنگ کلیه مطرح شده است. کندوان یکی از روستاهای دهستان سهند می‌باشد که در ۱۸ کیلومتری جنوب اسکو در دامنه سرسبز سلطان داغی و در ۵۰ کیلومتری جنوب غربی تبریز واقع شده است. کلمه کندوجان از دو جزء "کند" و "جان" تشکیل شده است که در ترکی "کند" به معنای "ده" و "جان" به معنی "وجود و خود" است. این کلمه رفته‌رفته به صورت کندوان در آمده است. روستای کندوان یکی از زیباترین و منحصر به فردترین روستاهای تاریخی کشور و تنها روستای زنده صخره‌ای جهان محسوب می‌شود. وجود آب معدنی گوارا، خانه‌های صخره‌ای و مخروطی منحصر به فرد، دره سرسبز و خرم، آب و هوای بسیار مطبوع کوهستانی و وجود لبنیات مرغوب و دلپذیر و عسل طبیعی از دیرباز روستای کندوان را مود توجه علاقمندان قرار داده است. یکی از چشمه‌ها که از اهمیت شایان و شهرت خاصی برخوردار است، در نزدیکی روستای کندوان تحت عنوان چشمه آب معدنی

آنالیز آماری

داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه 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.

یافته‌ها

مطالعات بافت‌شناسی نشان داد که برش‌های بافتی از نمونه کلیه موش‌های کنترل سالم فاقد کریستال‌های اگزالات کلسیم است (تصویر ۱).

مطالعات بافت‌شناسی نشان داد که در نمونه کلیه موش‌های صحرایی گروه کنترل که با آب شهر حاوی کلرید آمونیوم و اتیلن گلیکول به مدت ۳۸ روز تیمار شدند، کریستال‌های اگزالات کلسیم ایجاد شده است (تصویر ۲).

تیمار خوراکی آب معدنی چشمه کندوان تاثیر معنی‌داری در کاهش تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم در نمونه کلیه حیوانات تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل دارد (نمودار ۱).

تیمار خوراکی آب معدنی چشمه کندوان تاثیر معنی‌داری بر کاهش آسیب بافتی کلیوی حیوانات تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل دارد (نمودار ۲).

پس از اطمینان از ایجاد کریستال‌های اگزالات کلسیم در بافت کلیه حیوانات، آب معدنی چشمه کندوان تیمار شد. حیوانات شامل گروه‌های زیر بودند:

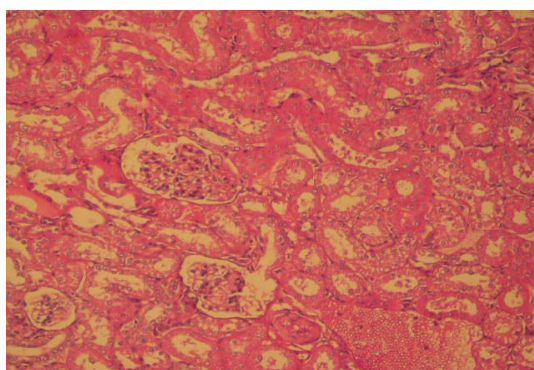
- گروه کنترل سالم، به مدت ۳۸ روز آب شهر را استفاده کردند ($n=9$).
- گروه کنترل بیمار، کلرید آمونیوم (۱٪) به مدت ۳ روز و سپس اتیلن‌گلیکول (۰.۷۵٪) به مدت ۳۵ روز آب آشامیدنی شهر استفاده کردند ($n=9$).
- گروه تجربی، کلرید آمونیوم (۱٪) به مدت ۳ روز و سپس اتیلن‌گلیکول (۰.۷۵٪) به مدت ۳۵ روز آب معدنی چشمه کندوان استفاده کردند ($n=9$).

پس از ۳۸ روز، همه حیوانات بیهوش شده، کلیه سمت چپ آنها خارج شده و در فیکساتیو ۱۰٪ قرار داده شدند. مراحل آب‌گیری و قالب‌گیری در پارافین انجام شد. برش‌های میکروسکوپی کروئال و عرضی از نمونه‌های هر کلیه تهیه شد. ۱ برش کروئال و ۲ برش عرضی از هر کلیه به روش تصادفی انتخاب شده و برش‌های ۳ میکرونی از هر کدام تهیه و به روش هماتوکسیلین - اتوزین رنگ‌آمیزی شدند. سپس، تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم در سرتاسر هر برش به‌طور کامل شمارش شدند. همچنین، آسیب‌های بافتی نیز در هر برش مورد بررسی قرار گرفت و درجه‌های زیر به آنها داده شد:

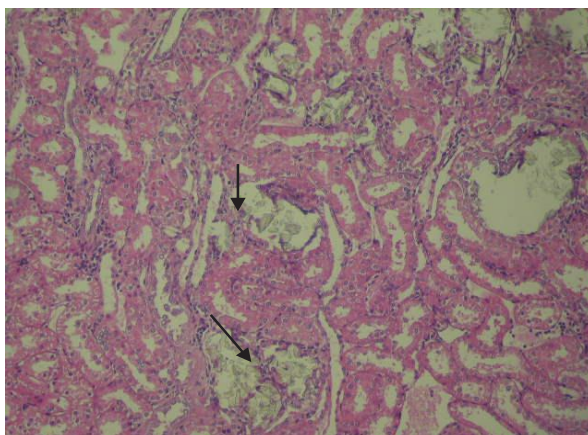
آسیب بافتی کم = درجه ۱

آسیب بافتی متوسط = درجه ۲

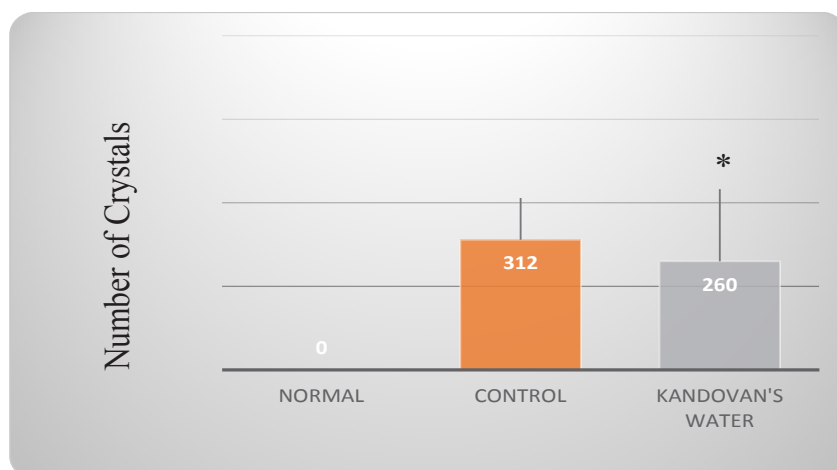
آسیب بافتی زیاد = درجه ۳



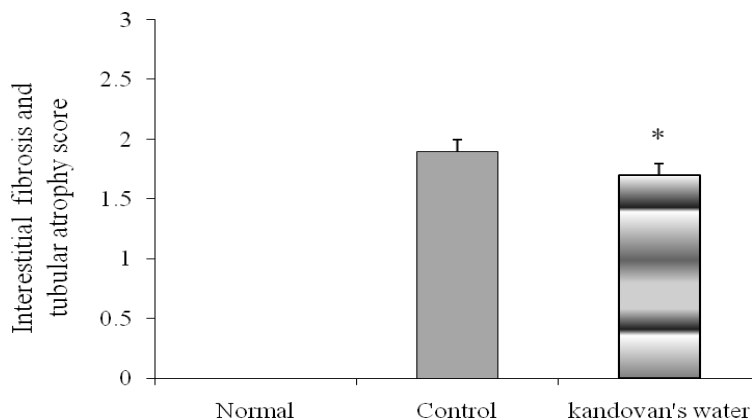
تصویر ۱ - تصویر میکروسکوپی از کلیه حیوانات کنترل سالم (H&E) ($\times 250$).



تصویر ۲ - تصویر میکروسکوپی از کلیه حیوانات کنترل بیمار (H&E) ($\times 250$). ← کریستال‌های اگزالات کلسیم را نشان می‌دهد.



نمودار ۱ - تاثیر تیمار خوراکی آب معدنی چشمه کندوان بر تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار. هر ستون Mean \pm S.E.M. را نشان می‌دهد. * $p < 0.05$ اختلاف از گروه کنترل (Control) را نشان می‌دهد.



نمودار ۲ - تاثیر تیمار خوراکی آب معدنی چشمه کندوان بر آسیب بافت کلیوی در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار. هر ستون نمودار $\text{Mean} \pm \text{S.E.M.}$ را نشان می‌دهد. $*p < 0.01$ اختلاف از گروه کنترل (Control) را نشان می‌دهد.

Ni و همکارانش در سال ۲۰۰۴ اثر درمانی آب چشمه Gornovodnoye که دارای مواد معدنی کمی است، را بر کودکان مطالعه نمودند. نتایج تحقیق آنها نشان داد مصرف آب چشمه موجب دیورز ۲۴ ساعته و افزایش نسبت سدیم و کلر و کاهش نسبت کلسیم و منیزیم شد (۱۷).

Evdokimov و همکارانش در سال ۲۰۰۶ اثر آب معدنی چشمه Penta را بر بیماری سنگ کلیه بررسی کرده و نتیجه گرفتند که مصرف آب موجب کاهش موثر اسید اوریک و افزایش تمایل به دفع اگزالات می‌گردد (۱۸).

Valli و همکارانش در سال ۲۰۰۰ اثر درمانی آب معدنی چشمه Rocchetta (محتوی مواد معدنی کم است) را بررسی نمودند. نتایج نشان دادند که مصرف آب موجب هیپرهیدراسیون شده و در دفع سنگ کلیه موثر است (۱۹).

IuA و همکارانش در سال ۱۹۹۹ اثر مصرف آب معدنی چشمه Volzhanka را بر بیماری سنگ کلیه بررسی نمودند. نتایج نشان دادند که آب معدنی چشمه با دارا بودن مواد معدنی کم موجب هیپرهیدراسیون و افزایش دفع سنگ کلیه می‌گردد (۲۰).

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مصرف آب معدنی چشمه کندوان موجب کاهش تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم و آسیب بافتی در بافت کلیه موش‌های صحرایی در مقایسه با گروه کنترل می‌گردد. در توافق با تحقیق حاضر تحقیق اندکی انجام شده است. تاثیر آب معدنی کندوان بر بیماری سنگ کلیه فقط در یک تحقیق در ایران مورد بررسی قرار گرفته است. اردکانی در سال ۱۳۷۹ اثر آب معدنی کندوان را بر ۵۰ بیمار مبتلا به سنگ کلیه بررسی نمود. نتایج تحقیق آنها نشان داد مصرف آب معدنی کندوان موجب کاهش معنی‌دار اسید اوریک سرم، pH ادرار، فسفر سرم، اگزالات ادرار، کلسیم ادرار، کراتینین سرم و افزایش حجم ادرار ۲۴ ساعته، هورمون پاراتیروئید سرم، الکالان فسفاتاز سرم و مهارکننده‌های سنگ کلیه شامل سیترات و منیزیم در ادرار می‌گردد (۱۵).

سایر تحقیقات انجام شده در سایر کشورها و روی آب‌های معدنی آن مناطق انجام گرفته است. Serio و Fraioli در سال ۱۹۹۹ اثر آب معدنی چشمه Fiuggi را بر ۶۱۴ بیمار بررسی نمودند. نتایج تحقیق آنها نشان داد که مصرف آب معدنی Fiuggi می‌تواند در دفع سنگ کلیه در این بیماران موثر باشد (۱۶).

آلی اسیدی می‌باشد. این اسیدها قادر به کمپلکس‌نمودن یون‌های کلسیم و رابطه متقابل با کریستال‌های مونوهیدرات‌های کلسیم بوده و بصورت سیستم‌های پمپ‌کننده با لینک نمودن یون‌های کلسیم رفتار نموده و یون‌های کلسیم و اگزالات را حل می‌نماید (۲۵). Rodgers در سال ۱۹۹۸ اثر آب معدنی افریقای جنوبی حاوی کلسیم و منیزیم بالا را روی فاکتورهای موثر در تشکیل سنگ کلیه ۵۴ داوطلب بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد مصرف آب معدنی حاوی کلسیم و منیزیم بالا مانع تشکیل سنگ کلیه اگزالات کلسیمی می‌شود (۲۶).

نتیجه‌گیری

بنابراین، تحقیق حاضر استفاده سنتی از آب معدنی چشمه کندوان را برای درمان بیماری سنگ کلیه تایید می‌نماید، ولی از آنجاییکه تاکنون مطالعه دقیقی روی خواص شیمیایی آب معدنی چشمه کندوان (مانند کلسیم، منیزیم، بی‌کربنات و مولکول‌های آلی اسیدی) انجام نشده نمی‌توان مکانیسم اثر آن را بدرستی مشخص نمود.

تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهشی واحد ورامین - پیشوا قدردانی می‌شود.

Di Silverio و همکاران در سال ۱۹۹۴ اثر آب معدنی چشمه Fiuggi را روی پارامترهای کلسیم، فسفات، اسید اوریک، منیزیم، پتاسیم و pH در ۲۰۰ بیمار مبتلا به سنگ کلیه قبل و بعد از درمان بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که در ۵۰ تا ۷۰ درصد از بیماران کاهش معنی داری در پارامترهای فوق ایجاد شده است (۲۱).

Trinchieri و همکاران اثر مصرف آب معدنی چشمه Rocchetta را روی ۴۰ بیمار مبتلا به سنگ کلیه اگزالات کلسیمی بررسی کردند. نتایج تحقیق آنها نشان داد که مصرف آب حاوی مقدار زیاد بی‌کربنات و میزان متوسط کلسیم موجب افزایش حجم ادرار، دفع ادراری کلسیم، منیزیم و سیترات شده، ولی بر روی دفع ادراری اگزالات اثر ندارد (۲۲). Balanovs'kyi در سال ۱۹۹۳ نشان داد که مصرف آب معدنی چشمه naftusia موجب افزایش دفع ادراری اگزالات و دیورز می‌گردد (۲۳).

Nenov و همکارانش در سال ۱۹۹۹ اثر درمانی آب معدنی چشمه Hissarya را بر بیماران مبتلا به سنگ کلیه نشان دادند (۲۴).

Fraioli و همکارانش در سال ۲۰۰۱ اثر آب معدنی چشمه Fiuggi را بر بیماران مبتلا به سنگ کلیه بررسی کردند و نشان دادند که مصرف آب معدنی موجب افزایش دفع کریستال‌های مونوهیدرات‌های اگزالات کلسیم در بیماران می‌گردد. آب معدنی چشمه Fiuggi دارای مولکول‌های

منابع مورد استفاده

- 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.
- Daudon, M., Donsimoni, R., Hennequin, C., 2005. Sex- and age-related composition of 10617 calculi analyzed by infrared spectroscopy. *Urol Res* 23: 319-326.
- 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.
- Moe, O. W., 2006. Kidney stones: pathophysiology and medical management. *Lancet* 367: 333-44.
- 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.
- Coen, G., Sardella, D., Barbera, G., 2001. Urinary composition and lithogenic risk in normal subjects following oligomineral versus bicarbonate-alkaline high calcium mineral water intake. *Urol Int* 67: 49-53.
- Finlayson, B., 1974. Symposium on renal lithiasis. *Renal lithiasis in review. Urol Clin North Am* 1(2): 181-212.
- Gutenbrunner, C., Gilsdorf, K., Hildebrandt, G., 1989. The effect of mineral water containing calcium on supersaturation of urine with calcium oxalate. *Urologe A* 28: 15-19.
- Rodgers, A. L., 1998. The influence of South African mineral water on reduction of risk of calcium oxalate kidney stone formation. *S Afr Med J* 88: 448-451.
- Trinchieri, A., Boccafoschi, C., Chisena, S., 1999. Study of the diuretic efficacy and tolerability of therapy with Rocchetta mineral water in patients with recurrent calcium kidney stones. *Arch Ital Urol Androl* 71: 121-124.

11. Holmes, R. P., Assimos, D. G., 2004. The impact of dietary oxalate on kidney stone formation. *Urol Res* 32 (5): 311-316.
12. Mirzazadeh, M., Ghadimi Nouran, M., Richards, K. A., Zare, M., 2012. Effects of drinking water quality on urinary parameters in men with and without urinary tract stones. *Urology* 79: 501-507.
13. Taylor, E. N., Stampfer, M. J., Curhan, G. C., 2004. Dietary factors and the risk of incident kidney stones in men: new insights after 14 years of follow-up. *J Am Soc Nephrol* 15 (12): 3225-3232.
14. Khodaverdizadeh, M., Hayati, B., Kavooosi Kalashmi, M., 2008. Estimating the outdoor recreation value of Kandovan tourism village of east Azarbayjan with the use of contingent valuation method. *Environmental Sciences* 5 (4): 43-52.
15. Ardakani, H., Ghafarzadeh, B., Rahsaz, N., Kazemivala, H., 2000. Study of effect of Kandovan's spiring on serum and urine parameters in kidney stone patients. Research Project, Tabriz Medical University.
16. Serio, A., Fraioli, A., 1999. An observational and longitudinal study on patients with kidney stones treated with Fiuggi mineral water. *Clin Ter* 150: 215-219.
17. Ni, A. N., Popova, V. V., Luchaninova, V. N., 2004. Bicarbonate calcium mineral water with carbon dioxide in rehabilitation of children with dismetabolic nephropathies complicated by renal inflammation. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult* 4: 32-35.
18. Evdokimov, V. V., Golovanov, S. A., Turovetskiĭ, V. B., 2006. Effect of mineral water on metabolic processes. *Klin Lab Diagn* 7: 13-15.
19. Valli, P. P., Cesaroni, M., Mearini, L., Rociola, W., Cervelli, B., Porena, M., 2000. Hyperhydration with low mineral Rocchetta water after extracorporeal lithotripsy. *Arch Ital Urol Androl* 72: 29-31.
20. Iu, A. P., Iu, G. A., Rapoport, L. M., Rudenko, V. I., 1999. Mineral water Volzhanka from Undorovskĭ spring in combined therapy of patients with nephrolithiasis and chronic pyelonephritis. *Urologiia* 5: 12-14.
21. Di Silverio, F., D'Angelo, A. R., 1994. Prevention of renal calculosis: efficacy of Fiuggi water cure. Research group on renal calculosis. *Arch Ital Urol Androl* 66: 253-258.
22. Trinchieri, A., Boccafoschi, C., Chisena, S., De Angelis, M., Seveso, M., 1999. Study of the diuretic efficacy and tolerability of therapy with Rocchetta mineral water in patients with recurrent calcium kidney stones. *Arch Ital Urol Androl* 71: 121-124.
23. Balanovs'kyĭ, V. P., 1993. The gastroenterorenal interrelationships after a single intake of naftusia mineral water. *Lik Sprava* 7: 111-114.
24. Nenov, D., Nenov, V., Lazarov, G., Tchepilev, A., 1999. Treatment of renal stones in Bulgaria in ancient times ('Hissarya' baths). *Am J Nephrol* 19: 163-164.
25. Fraioli, A., De Angelis Curtis, S., Ricciuti, G., Serio, A., D'Ascenzo, G., 2001. Effect of water of Anticolana Valley on urinary sediment of renal stone formers. *Clin Ter* 152: 347-351.
26. Rodgers, A. L., 1998. The influence of South African mineral water on reduction of risk of calcium oxalate kidney stone formation. *S Afr Med J* 88: 448-451.