

مقاله تحقیقی

اثرات لیتولیتیک بخش هوایی گیاه دم اسب در موش‌های صحرایی نر

مریم عیدی^{۱*}، علیرضا صادقی پور^۲، علی مازوجی^۳، رضا قهرمانی شله بران^۱

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین-پیشوا، ایران
۲. بخش پاتولوژی، بیمارستان رسول اکرم، تهران، ایران
۳. گروه زیست‌شناسی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران

*مسئول مکاتبات: آدرس الکترونیکی: maryameidi@gmail.com

محل انجام تحقیق: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین - پیشوا

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۲۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۲۵

چکیده

هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر تیمار عصاره هیدروالکلی بخش هوایی دم اسب بر تعداد کریستال‌های تشکیل شده در بافت کلیه و نیز آسیب بافتی در مقایسه با حیوانات کنترل می‌باشد. در ابتدا، عصاره هیدروالکلی گیاه در غلظت‌های مختلف تهیه شد. کریستالیزاسیون اگزالات کلسیم در کلیه حیوانات توسط اضافه‌نمودن کلرید آمونیوم و اتیلن‌گلیکول در آب آشامیدنی به ترتیب به مدت ۳ و ۳۸ روز القاء شد. گروه کنترل توسط آب آشامیدنی تیمار شدند. گروه‌های تجربی علاوه بر آب آشامیدنی حاوی کلرید آمونیوم و اتیلن‌گلیکول توسط غلظت‌های مختلف عصاره گیاه به روش درون‌صفاقی به مدت ۴۱ روز تیمار شدند. بعد از ۴۱ 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-ئوزین رنگ‌آمیزی شدند. نتایج نشان دادند که تیمار عصاره هیدروالکلی بخش هوایی گیاه دم اسب موجب کاهش تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم در بافت کلیه حیوانات تجربی در مقایسه با گروه کنترل بیمار می‌گردد. همچنین، تیمار عصاره گیاه موجب کاهش آسیب توبولو-اینتراستیشیال در حیوانات تیمار شده می‌گردد. بنابراین کاربرد سنتی این گیاه برای درمان سنگ کلیه مورد تایید قرار گرفت.

واژه‌های کلیدی: دم اسب، اگزالات کلسیم، کریستالیزاسیون، سنگ کلیه، رت

مقدمه

مصری کشف شد که قدمت آن ۴۸۰۰ سال قبل از میلاد تخمین زده شد (۱). سنگ کلیه به صورت کالکولوس کلیوی شناخته شده که در حقیقت تجمع کریستال‌ها یا جسم سختی است که در کلیه‌ها از مواد معدنی موجود در رژیم غذایی تشکیل می‌شود (۲). سنگ‌های ادراری به طور

وجود سنگ‌های کلیوی اولین بار در هزاران سال پیش گزارش شده است و لیتوتومی برای حذف سنگ‌های کلیوی یکی از قدیمی‌ترین روش‌های جراحی شناخته شده است. در سال ۱۹۰۱، یک سنگ در لگنچه یک مومیایی

را در ایالت متحده در برمی‌گیرند. آنها بطور معمول حاوی اگزالات کلسیم به تنهایی یا در ترکیب با فسفات کلسیم به شکل آپاتیت یا بروشیت هستند (۶،۷).

استفاده از گیاهان دارویی برای درمان سنگ کلیه سابقه دیرینه‌ای دارد. برای دفع سنگ‌های کلیوی و یا حل شدن این دسته سنگ‌ها معرفی شده‌اند. هر چند مکانیسم عمل بسیاری از آنها هنوز بدرستی روشن نشده و اینکه بر کدام دسته از سنگ‌ها اثر می‌گذارند، نیز هنوز بدرستی شناخته نشده است (۸). اکثریت گیاهان با افزایش میزان حجم ادرار موجب دفع سنگ‌های کلیوی می‌شوند و اینکه می‌توانند مانع تشکیل کریستال‌های سنگ‌های کلیوی شوند، مورد تحقیق قرار نگرفته است.

دم اسب گیاهی با ریزوم افقی یا زاویه‌دار، دارای ساقه بندبند، به ارتفاع ۵۰ تا ۶۰ سانتی‌متر و بر دو نوع زایا و نازا است. در اغلب نواحی مرطوب می‌روید. ساقه‌های بارور آن که در آغاز بهار، قبل از پیدایش ساقه‌های نازا ظاهر می‌شوند، کوتاهتر از آن، ولی دارای قطر بیشتر هستند. ساقه‌های بارور به رنگ مایل به قرمز و فاقد دانه‌های کلروفیل به نظر می‌رسند (شکل ۱) (۹).

ساقه‌های نازا در اردیبهشت و خرداد ظاهر می‌شوند که رنگ سبز دارند و منشعب هستند. در هر بند ساقه نازا، برگ‌های باریک و کوچک به وضع فراهم پدید می‌آیند که از به هم پیوستن قاعده آنها نوعی غلاف در دور هر بند به وجود می‌آید (شکل ۲) (۹).

تیپیک توسط موقعیت‌شان در کلیه (nephrolithiasis)، پیشابراه (ureterolithiasis) یا مثانه (cystolithiasis) یا توسط ترکیب شیمیایی آنها (حاوی کلسیم، sturvite، اسید اوریک یا سایر ترکیبات) طبقه‌بندی می‌شوند. ۸۰ درصد از بیماران مبتلا به سنگ کلیه، مرد هستند. مردان اغلب اولین اپی‌زود بیماری را بین ۳۰ تا ۴۰ سالگی تجربه می‌کنند، در حالی که سن شروع در مورد زنان، کمی دیرتر است. سنگ‌های کلیوی به طور معمول از بدن توسط جریان ادرار خارج می‌شوند. بسیاری از سنگ‌های کلیوی تشکیل شده در سیستم ادراری، بدون ایجاد علائم از بدن خارج می‌شوند. اگر سنگ‌های کلیوی رشد کرده و به اندازه موثر برسند (معمولاً حداقل ۳ میلی‌متر)، قادر به انسداد پیشابراه می‌شوند (۳). بیماری سنگ کلیه تحت تاثیر گروه‌های نژادی، فرهنگی و جغرافیایی می‌باشد. خطر آن در دوره زندگی افراد در حدود ۱۵-۱۰ درصد در کشورهای توسعه یافته بوده، ولی تا ۲۵-۲۰ درصد در کشورهای خاور میانه افزایش می‌یابد. افزایش خطر دهیدراسیون در آب و هوای گرم همراه با رژیم غذایی که ۵۰ درصد کلسیم کمتر و ۲۵۰ درصد اگزالات بیشتر دارد، در مقایسه با رژیم غذایی غربی، شانس ابتلا را در خاور میانه بالاتر می‌برد (۴،۵). معمول‌ترین سنگ کلیه در سراسر دنیا، آن دسته از سنگ‌ها هستند که دارای کلسیم می‌باشند. بعنوان مثال، سنگ‌های حاوی کلسیم در حدود ۸۰ درصد از همه موارد



شکل ۱ - تصویری از گیاه دم اسب (۹).



شکل ۲ - تصویری از ساقه‌های نازایای دم اسب (۹).

گیاه دارای مواد متعددی است که از نظر پزشکی کاربرد دارند. گیاه دم اسب از نظر مواد معدنی مانند سیلیکون (۱۰ درصد)، پتاسیم و کلسیم غنی است. جوانه‌ها بعنوان سبزی در ژاپن و کره در فصل بهار خورده می‌شوند. همه گونه‌های دیگر دم اسب سمی هستند (۱۰). در پژوهش حاضر اثر بخش هوایی دم‌اسب در جلوگیری از تشکیل کریستال‌های اگزالات کلسیم در بافت کلیه موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و شناسایی گیاهان

بخش هوایی گیاه دم اسب 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 شدند.

آماده‌سازی عصاره هیدروالکلی گیاه

۳۰ گرم از پودر گیاه با اتانل ۸۰ درصد مخلوط شد و در دستگاه سوکسله قرار داده شد. عصاره بدست آمده ابتدا توسط کاغذ صافی صاف و سپس توسط روتاری خشک گردید. عصاره خشک‌شده تا زمان انجام آزمایش در فریزر نگهداری شد.

آزمایشگاهی

حیوانات

قسمت‌های مختلف گیاه دارای اسید سیلیسیلیک، اکسالیک، مالیک، آکونیتیک، ساپونین به نام اکونیتین است. از دیگر مواد ترکیبات فنلی، آلکالوئیدی، ترکیب گوگردی به نام دی متیل سولفور می‌باشد. پتاسیم، سلنیوم و کلسیم از املاح معدنی مهم این گیاه هستند. گیاه دم اسب اثر مدر قوی، بند آورنده خون، ترمیم‌کننده بافت‌ها و تامین کننده عناصر معدنی بدن را دارد. این گیاه را می‌توان در درمان بیماری سل از داروهای مفید به حساب آورد. در استعمال خارجی، دارای اثر ضد عفونی‌کننده و التیام‌دهنده زخم‌هاست. دم اسب استحکام‌دهنده مفاصل، تاندون و استخوان‌ها، برطرف‌کننده مشکلات کلیه و مثانه، رفع مشکلات آب آوردن انساج و کاهش تورم پروستات است. سیلیس دارای خاصیت تحریک موضعی است و احتمالاً روی متابولیسم پوست و مفاصل، تاندون‌ها و استخوان‌ها عمل می‌کند. به همین دلیل در شکستگی‌ها، بیماری‌های روماتیسمی، اختلالات موضعی، عروق محیطی، سرمازدگی و تورم بعد از ترومبوز مفید است. پژوهش‌ها نشان می‌دهند سیلیس کلوئیدی موجود در عصاره دم اسب تاثیر قابل توجهی در افزایش خاصیت ارتجاعی و کششی پوست و مو دارد و موجب التهاب و خارش پوست سر می‌شود. به نظر می‌رسد املاح فراوان و ویتامین‌های دیگر عصاره دم اسب مواد ضروری فولیکول‌ها را تامین و موجب تقویت مو می‌گردد. مهم‌ترین اثرات شناخته شده شامل اثرات ضدباکتری، ضد ادم، ضدالتهاب، ضداسپاسم، قایض، ضدنفخ، ادرارآور، معرق، قاعده‌آور، بندآورنده خون‌ریزی، محرک سیستم ایمنی بدن و بهبود دهنده زخم هستند (۱۰).

پس از ۴۱ 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 کرونال و عرضی از نمونه‌های هر کلیه تهیه شد. ۱ برش کرونال و ۲ برش عرضی از هر کلیه به‌روش تصادفی انتخاب شده و برش‌های ۳ میکرونی از هر کدام تهیه و به‌روش هماتوکسیلین - ائوزین 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

آنالیز آماری

داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست Tukey از نظر آماری بررسی گردید. همه داده‌ها به‌صورت $Mean \pm S.E.M$ ارائه شدند. اختلاف بین گروه‌ها در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ تعیین شد.

نتایج

مطالعات بافت‌شناسی نشان داد که برش‌های بافتی از نمونه کلیه موش‌های کنترل سالم فاقد کریستال‌های اگزالات کلسیم است (شکل ۳).

مطالعات بافت‌شناسی نشان داد که در نمونه کلیه موش‌های صحرایی که با کلرید آمونیوم و اتیلن گلیکول به‌مدت ۴۱ روز تیمار شدند، کریستال‌های اگزالات کلسیم ایجاد شده است (شکل ۴).

تیمار عصاره هیدروالکلی بخش‌های هوایی دم اسب در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب کاهش معنی‌دار تعداد کریستال‌های اگزالات کلسیم در نمونه کلیه حیوانات تیمار شده در مقایسه با گروه سالیین می‌گردد (شکل ۵).

موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۵۰ - ۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور کرج تهیه شده و در بخش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین - پیشوا نگهداری شدند. این حیوانات در شرایط مناسب (۱۲ ساعت نور/۱۲ ساعت تاریکی)، درجه حرارت (22 ± 2) درجه سانتی‌گراد، قفس‌های تمیز و آب و غذای کافی نگهداری شدند.

القاء سنگ کلیه در حیوانات آزمایشگاهی

برای ایجاد سنگ کلیه در موش‌های آزمایشگاهی از کلرید آمونیوم (۱٪) به‌مدت ۳ روز و سپس اتیلن گلیکول (۰/۷۵٪) به‌مدت ۳۸ روز در آب آشامیدنی استفاده شد. دوره تیمار حیوانات ۴۱ روز بود. پس از ۴۱ 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 به‌روش هماتوکسیلین - ائوزین رنگ‌آمیزی شدند.

گروه‌های مورد مطالعه

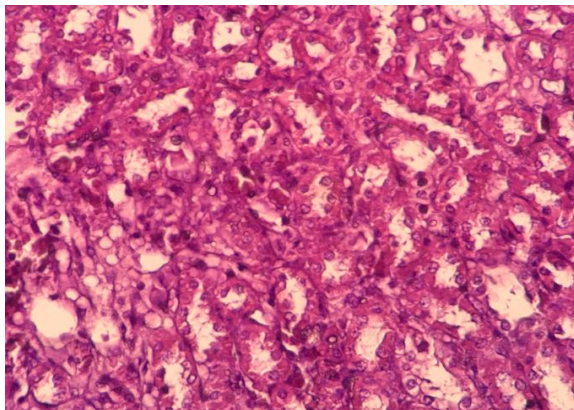
پس از اطمینان از ایجاد سنگ کلیه در حیوانات، عصاره هیدرواتانلی گیاه تیمار شد. حیوانات شامل گروه‌های زیر بودند: گروه کنترل سالم، به مدت ۴۱ روز آب شهر را استفاده کردند ($n=9$).

گروه کنترل بیمار، کلرید آمونیوم (۱٪) به‌مدت ۳ روز و سپس اتیلن گلیکول (۰/۷۵٪) به‌مدت ۳۸ روز در آب آشامیدنی استفاده کردند. همچنین، روزانه ۰/۵ میلی‌لیتر سالیین به‌طور درون‌صفافی دریافت نمودند ($n=9$).

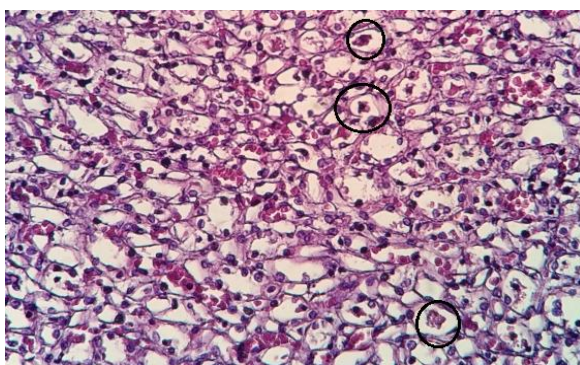
گروه‌های تجربی علاوه بر تیمار کلرید آمونیوم و اتیلن گلیکول به‌مدت ۴۱ روز، عصاره هیدروالکلی بخش هوایی گیاه دم اسب را در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌روش درون‌صفافی دریافت کردند ($n=9$).

نمونه‌گیری

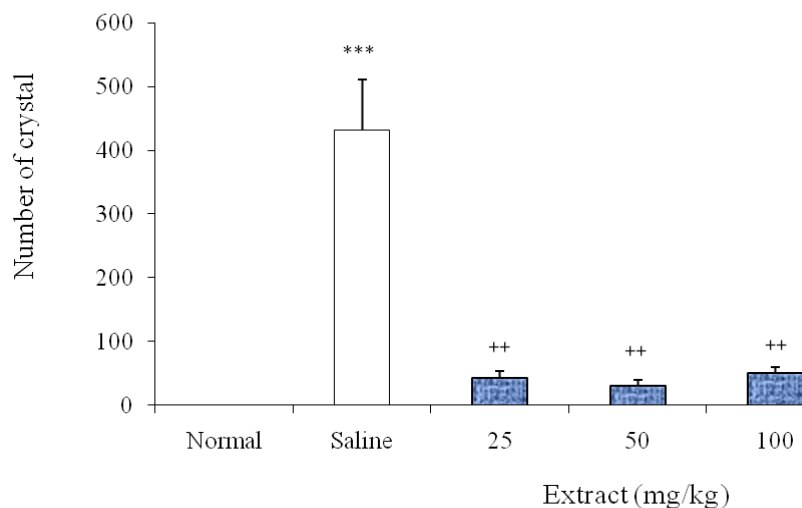
تیمار عصاره هیدروالکلی بخش‌های هوایی گیاه دم اسب موجب کاهش معنی دار آسیب بافتی کلیه‌ها در حیوانات تیمار شده با عصاره گیاهی می‌گردد (شکل ۶).



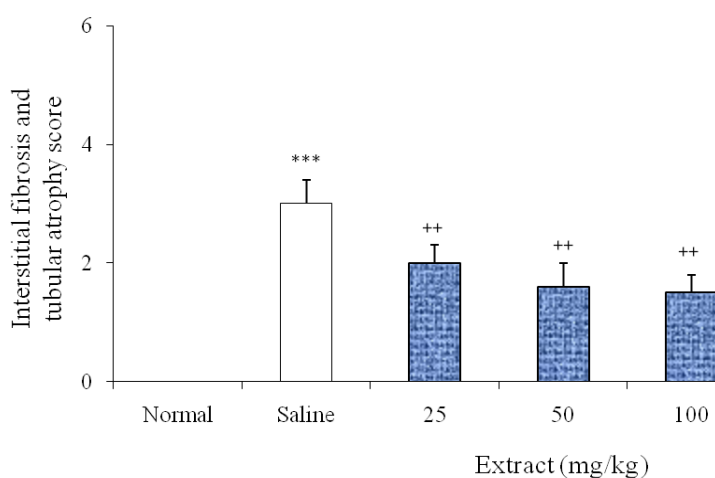
شکل ۳ - تصویر میکروسکوپی از کلیه حیوانات کنترل سالم (H&E) ($\times 400$).



شکل ۴ - تصویر میکروسکوپی از کلیه حیوانات کنترل بیمار (H&E) ($\times 400$). دایره‌ها کریستال‌های اغزالات کلسیم را نشان می‌دهند.



شکل ۵ - نمودار اثر عصاره هیدروالکلی بخش‌های هوایی گیاه دم اسب در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر تعداد کریستال‌های اغزالات کلسیم در موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار. هر ستون Mean ± S.E.M. را نشان می‌دهد. $***p < 0.001$ اختلاف از گروه سالم (Normal) را نشان می‌دهد. $++p < 0.01$ اختلاف از گروه سالین را نشان می‌دهد.



شکل ۶ - نمودار اثر عصاره هیدروالکلی بخش‌های هوایی گیاه دم اسب در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر آسیب بافتی کلیه‌ها در موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار. هر ستون Mean ± S.E.M. را نشان می‌دهد. $***p < 0.001$ اختلاف از گروه سالم (Normal) را نشان می‌دهد. $++p < 0.01$ اختلاف از گروه سالین را نشان می‌دهد.

عصاره هیدروالکلی بخش هوایی گیاه دم‌اسب در غلظت-های مختلف موجب کاهش معنی‌دار تعداد کریستال‌های اغزالات کلسیم در بافت کلیه موش‌های صحرائی نر در

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد کلرید آمونیوم و اتیلن گلیکول موجب تشکیل کریستال‌های اغزالات کلسیم در بافت کلیه موش‌های صحرائی تیمار شده می‌گردد. تیمار

شدن محصولات تجزیه شده است که هسته‌گذاری کریستال‌ها را برآه می‌اندازد. کاهش آسیب کلیوی جایگاه-های چسبیدن اغزالات کلسیم را کاهش می‌دهد. تیمار پروتئین ضدکلسیفیه کننده جدا شده از گیاهان دارویی به رت‌هایی که در معرض اتیلن‌گلیکول و آمونیوم کلرید بوده اند، مانع فوق اشباع شدن اغزالات کلسیم شده و بنابراین چسبیدن آنها را در تبول‌های کلیوی کاهش می‌دهد. رت-هایی که توسط اتیلن‌گلیکول و آمونیوم کلرید تیمار شده-اند، آنزیم‌های مارکر آسیب ادراری (آلکالین فسفاتاز و لاکتات دهیدروژناز) بالایی دارند. افزایش دفع ادراری این آنزیم‌ها در رت‌های بیمار پیشنهاد کننده آسیب به حاشیه مساکی غشاء تبول‌های کلیوی است که در ارتباط با حفظ و چسبیدن کریستال‌ها در کلیه است. این آنزیم‌ها در رت‌های تیمار شده با گیاه کاهش می‌یابد. پس مکانیسم گیاه که موجب کاهش آسیب کلیه می‌شود، احتمالاً به سبب قدرت آن برای مهار کریستال‌های اغزالات کلسیم می‌باشد (۱۷).

فرضیه مورد بررسی در تحقیق حاضر، بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه دم اسب بر جلوگیری از تشکیل سنگ‌های کلیوی اغزالات کلسیمی در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تیمار گیاه دم اسب در مقایسه با گروه کنترل موجب کاهش معنی‌دار تعداد کریستال‌های اغزالات در بافت کلیه می‌گردد. لذا پژوهش حاضر کاربرد سنتی این گیاه را برای درمان سنگ کلیه پیشنهاد می‌کند.

تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهشی واحد ورامین تشکر و قدردانی می‌گردد.

مقایسه با حیوانات کنترل که سالیان را بعنوان حلال عصاره گیاه دریافت کردند، می‌گردد.

در تایید نتایج تحقیق حاضر در شیلی و مکزیک نیز گیاه *Equisetum* کاربرد سنتی بعنوان یک دیورتیک داشته و برای درمان سنگ کلیه استفاده می‌شود (۱۱،۱۲). تحقیقات Wright و همکارانش نشان داد که گونه‌های دیگر جنس *Equisetum* مانند *Equisetum bogotense*، *Equisetum giganteum*، *Equisetum fluviatile*، *Equisetum*، *Equisetum hiemale var. affine* موجب دیورز و افزایش دفع ادراری سدیم می‌گردند (۱۳).

Carneiro و همکارانش (۲۰۱۴) در تحقیقی روی ۳۶ مرد داوطلب اثر دیورتیک *Equisetum arvense* را در مقایسه با داروی دیورتیک hydrochlorothiazide مورد بررسی قرار داده و نتیجه گرفتند، اثر گیاه دم اسب قوی تر از دارو می‌باشد (۱۴).

هرچند گزارشی در مورد اثر گیاه دم اسب بر ممانعت از تشکیل کریستال‌های اغزالات کلسیم وجود ندارد و این مطالعه برای اولین بار اثر گیاه را نشان می‌دهد.

کریستال‌های مونوهیدرات اغزالات کلسیم به شکل آزاد یا چسبیده به هم در ادرار بیماران مبتلا به بیماری سنگ کلیه یافت می‌شوند (۱۵). کریستال‌های مونوهیدرات اغزالات کلسیم دارای میل ترکیبی بیشتری نسبت به کریستال‌های دی‌هیدرات اغزالات کلسیم داشته و مسئول تشکیل سنگ در کلیه‌ها می‌باشند (۱۶). پروتئین ضدکلسیفیه‌کننده مشتق از گیاهان موجب کاهش فوق‌اشباع شدن کریستال‌های مونوهیدرات اغزالات کلسیم در ادرار در مقایسه با رت‌های بیمار می‌گردد. بعلاوه این ترکیب موجب کاهش موثر اندازه کریستال‌های دی‌هیدرات کلسیم در ادرار می‌گردد. تشکیل کریستال‌ها نتیجه آسیب سلول و جدا شدن سلول از غشاء پایه و آزاد

منابع مورد استفاده

1. Alelign, T., Petros, B., 2018. Kidney stone disease: An update on current concepts. *Adv Urol* 2018: 3068365.
2. Siener, R., 2021. Nutrition and kidney stone disease. *Nutrients* 13(6): 1917.
3. Nadeeshani-Gamage, K., Jamnadas, E., Karim-Sulaiman, S., Pietropaolo, A., Aboumarzouk, O., Somani, B.K., 2020. The role of fluid intake in the prevention of kidney stone disease: A systematic review over the last

- two decades. Turk J Urol 46(Suppl 1): S92-S103.
4. Eknoyan, G., 2004. History of urolithiasis. Clinical reviews in bone and mineral metabolism 2: 177-85.
 5. Lieske, J.C., Segura, J.W., 2004. Chapter 7: Evaluation and medical management of kidney stones". In Potts, J. M., Essential Urology: A guide to clinical practice (1st ed.). Totowa, New Jersey: Humana Press. pp. 117-52.
 6. Coe, F.L., Evan, A., Worcester, E., 2008. "Chapter 114: Kidney stone disease". In Marks, AR; Neill, US. Science in medicine: the JCI textbook of molecular medicine. Part II: Kidney and urinary tract (1st ed.). Sudbury, Massachusetts: Jones and Bartlett Publishers. pp. 898-908.
 7. Reilly Jr., R.F., 2005. Chapter 13: Nephrolithiasis, pp. 192-207 in Reilly Jr. and Perazella.
 8. Safaei, M., 2004. A comprehensive anthology of books on Iranian medicinal and aromatic plants. CHaharbagh press, 1st edition, pp. 104-117.
 9. Zargari A., 2004. Medicinal plants, Tehran University Press, Vol. 5, pp. 122-134.
 10. Salehi-sormaghi, MH, 2010. Medicinal plants and herbal medicine. Nutrition world Press, Vol. 3, pp. 195-199.
 11. Perez Gutierrez, R.M., Laguna, G.Y., Walkowski, A., 1985. Diuretic activity of Mexican *Equisetum*. Journal of Ethnopharmacology 14: 269-272.
 12. Lemus, I., Garcia, R., Erazo, S., Pena, R., Parada, M., Fuenzalida, M., 1996. Diuretic activity of an *Equisetum bogotense* tea (Platero herb): evaluation in healthy volunteers. Journal of Ethnopharmacology 54: 55-58.
 13. Wright C.I., Van-Buren, L., Kroner, C.I., Koning, M.M.G., 2007. Herbal medicines as diuretics: A review of the scientific evidence. Journal of Ethnopharmacology 114: 1-31.
 14. Carneiro, D.M., Freire, R.C., Honório, T.C., Zoghaib, I., Cardoso, F.F., Tresvenzol, L.M., de Paula, J.R., Sousa, A.L., Jardim, P.C., 2014. Randomized, double-blind clinical trial to assess the acute diuretic effect of *Equisetum arvense* (field horsetail) in healthy volunteers. Evid Based Complement Alternat Med 2014: ID 760683.
 15. Mandel, N.S., Mandel, G.S., 1989. Urinary tract stone disease in United States veteran population. II. Geographical analysis of variation in composition. Journal of Urology 142: 1516-1521.
 16. Schroder, F.H., 1995. Association of calcium oxalate monohydrate crystals with MDCK cells. Kidney International 48: 129-138.
 17. Verkoelen, C.F., van der Boom, B.G., Houtsmuller, A.B., Schroder, F.H., Romijn, J.C., 1998. Increased calcium oxalate monohydrate crystal binding to injured renal tubular epithelial cells in culture. American Journal of Physiology 274: 958-965.