

ACTIVIDAD ANTIUROLÍTICA

**Raymundo Alejandro Pérez-Hernández¹,
Catalina Rivas-Morales¹, María Luisa Ramos-Ibarra²**

¹Laboratorio de Química Analítica, Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

²Departamento de Salud Pública, División Ciencias Veterinarias, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara.

alex130688@hotmail.com, catalina.rivasmr@uanl.com.mx,
maluisaramos@hotmail.com

<http://dx.doi.org/10.3926/oms.339>

Pérez-Hernández, R.A., Rivas-Morales, C., & Ramos-Ibarra, M.L. (2016). Actividad antiurolítica. En Rivas-Morales, C., Oranday-Cardenas, M.A., & Verde-Star, M.J. (Eds.). *Investigación en plantas de importancia médica*. Barcelona, España: OmniaScience. 161-176.

Resumen

La urolitiasis es una condición en la que se desarrollan cálculos en el sistema urinario y que se manifiesta habitualmente en forma de crisis reiteradas de cólico renal. La formación de un cálculo renal es consecuencia de complejos procesos fisicoquímicos como la nucleación, crecimiento y agregación. El componente principal de la mayoría de los cálculos renales son los cristales de oxalato de calcio. Este padecimiento afecta principalmente a la población de países desarrollados. La franja etaria más afectada es de 20 a 40 años con un predominio mayor en hombres que en mujeres con una alta tasa recidiva. Para el tratamiento de la urolitiasis se dispone de técnicas para la extracción de cálculos renales considerados eficaces. Sin embargo, son procedimientos quirúrgicos costosos; así mismo pueden tener diversos efectos secundarios adversos. Actualmente no se dispone de ningún fármaco eficaz para su tratamiento. Los agentes terapéuticos utilizados son profilácticos y se dirigen principalmente a corregir los trastornos metabólicos subyacentes, pero la evidencia de su eficacia todavía no es convincente, además de que pueden presentar efectos secundarios adversos.

A lo largo de la historia las plantas han sido utilizadas para el tratamiento de patologías diversas, ya que contienen constituyentes químicos que poseen actividad biológica. Algunas de ellas han demostrado ser eficaces para el tratamiento de la urolitiasis, por lo que son consideradas una alternativa terapéutica para dicho padecimiento.

Los métodos que se disponen para la investigación de la urolitiasis son modelos *in vitro* que simulan los acontecimientos iniciales en la formación de cálculos renales, siendo empleados principalmente los métodos espectrofotométricos. Sin embargo, estos modelos no comprenden los procesos biológicos que están realmente involucrados en la formación de los cálculos renales. Así mismo, se emplean modelos *in vivo* con ratas que son lo más ampliamente utilizados debido a que existen similitudes considerables con los humanos con respecto a estructura y fisiología del sistema urinario. Estos modelos incluyen la inducción química o la inserción quirúrgica de un cuerpo extraño en vejiga urinaria para la formación de los litos en animales de experimentación y evaluar la dosis efecto del principio bioactivo o fármaco.

Palabras clave

Urolitiasis, antiurolítica, plantas medicinales, modelos *in vitro* e *in vivo*.

6.1. Introducción

La urolitiasis es una condición en la que se desarrollan cálculos en el sistema urinario. La formación inicial de un cristal litiásico y finalmente de un cálculo renal es consecuencia de complejos procesos fisicoquímicos como la nucleación, crecimiento y agregación (Atmani & Khan, 2000). El cálculo se forma cuando la orina se encuentra sobresaturada con respecto a sus constituyentes cristalinos lo cual se puede presentar por diversos mecanismos diversos mecanismos como: la sobre excreción, alteración de la fuerza iónica, formación de complejos solubles y pH urinario (B. Patel, Patel & Patel, 2011).

La orina es una solución en la que existen sales de calcio, oxalato, ácido úrico, fosfato y cistina. Dependiendo de su concentración, cada sustancia puede alcanzar diversas situaciones en cuanto a su saturación. Cuando éstas están en bajas concentraciones, la orina está infrasaturada; si se incrementa progresivamente la concentración, se alcanza un punto denominado sobresaturación urinaria (González Enguita, 2009). Ésta última, da lugar a la formación de cristales a través de la combinación de los iones en solución para formar una fase sólida, proceso denominado nucleación, que puede ser de dos tipos: homogénea cuando los componentes del cristal se unen entre sí o heterogénea, que consiste en la fijación y orientación de los componentes cristalinos sobre la superficie de otro cristal. Posterior a la nucleación, ocurre el crecimiento del cristal, agregación de otros y finalmente la formación del cálculo (Grases, García-Ferragut & Costa-Bauzá, 1998).

El componente principal de la mayoría de los cálculos renales son los cristales de oxalato de calcio, sin embargo, también pueden estar compuestos de fosfato de calcio, estruvita, ácido úrico, cistina y mixtos (Riella, Meneses da Silva & Correia, 2003).

La urolitiasis es el tercer padecimiento más común del tracto urinario, cuya etiología implica aspectos epidemiológicos, raciales, culturales, geográficos y hereditarios, que está asociado con una alta tasa de recurrencia (Khan, Khan & Gilani, 2012). El factor de riesgo a padecerlo es de 2-5% en Asia, 8- 15% en Europa y América y alrededor del 20% en Medio oriente. Se manifiesta habitualmente en forma de crisis reiteradas de cólico renal provocando dolor en abdomen o ingles así como hematuria en la orina (Rajeshwari, Rajeswari, Jabbirulla & Vardhan, 2013). Es un padecimiento que genera un elevado número de consultas médicas

y de ingresos hospitalarios, de gran repercusión económica y social. El riesgo medio de formación de cálculos a lo largo de la vida oscila entre 10-23% al año, 50% en 5-10 años y 75% en 20 años. Con el riesgo de desarrollar complicaciones importantes y frecuentes, como infección urinaria, sepsis, obstrucción urinaria, anuria o insuficiencia renal aguda y crónica (Khan, Bashir, Khan & Gilani, 2011; Martínez Pérez, 2012).

Actualmente, el tratamiento para la urolitiasis dispone de técnicas consideradas eficaces para la extracción de cálculos renales tales como la litotricia extracorpórea por ondas de choque, ureteroscopía para cálculo y nefrolitotomía percutánea, sin embargo, son procedimientos quirúrgicos costosos, convirtiéndose en una opción para un limitado número de personas. Así mismo, estas técnicas pueden tener diversos efectos secundarios adversos como: hipertensión, insuficiencia renal, hematuria, pancreatitis y fragmentos residuales persistentes que pueden dar lugar a la formación de nuevos cálculos (Hussain et al., 2009; Patel et al., 2011). A pesar del progreso en el estudio de la manifestación biológica y física de la urolitiasis, su mecanismo aún no está claramente comprendido (Coe, Evan, Worcester & Lingeman, 2010) y no se dispone de ningún fármaco eficaz para el tratamiento de dicho padecimiento, especialmente para prevenir su recurrencia (Hess, 2003). Los agentes terapéuticos utilizados actualmente son profilácticos y se dirigen principalmente a corregir los trastornos metabólicos subyacentes, pero la evidencia de su eficacia todavía no es convincente, además de que presentan efectos secundarios adversos (Mattle & Hess, 2005; Moe, Pearle & Sakhaee, 2011).

6.2. Urolitiasis

Este padecimiento ha afectado al ser humano a lo largo de la historia (Gürocak & Küpeli, 2006). Se tiene registro de diversos hallazgos arqueológicos, como el papiro de Ebers, en los que se hace referencia al tratamiento de enfermedades del tracto urinario, incluyendo cólico renal y extracción de cálculos (Eknoyan, 2004).

Hipócrates en el siglo IV a.C fue el primer médico en describir la dificultad para orinar que solía presentarse en varones de edad avanzada a causa de cálculos y abscesos renales, a lo que denominó mal de piedra (Gürocak & Küpeli, 2006). En 1901, el arqueólogo Inglés E. Smith encontró una momia egipcia que data del año 4800 a.C con litiasis en vejiga urinaria (López & Hoppe, 2010).

La prevalencia de litiasis en el mundo contemporáneo varía de acuerdo con la población estudiada. Estudios epidemiológicos revelan que afecta principalmente a la población de países desarrollados observándose un aumento significativo en la incidencia y prevalencia en los últimos años (Patel, Patel & Patel, 2011). La franja etaria más afectada es de 20 a 40 años con un predominio mayor en hombres que en mujeres con 12 y 6% respectivamente (Deoda et al., 2012; Gürocak & Küpeli, 2006). Su tasa recidiva es alta. A los 5 años de un primer episodio litiásico, un 50% de los pacientes ha recaído; la mitad de los individuos sufrirán nueva crisis litiásica en un plazo inferior a 5 años, el 60% a los 8 y a los 25 años la cifra puede ser del 90%.

En México se han efectuado pocos estudios epidemiológicos sobre la urolitiasis. Este padecimiento comprende 13% de todas las hospitalizaciones por enfermedad renal en el ámbito nacional en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Otra encuesta nacional efectuada en este mismo instituto reportó una prevalencia de 2.4 casos de urolitiasis/10 000 habitantes derechohabientes y refiere a los estados de Yucatán, Puebla y Quintana Roo como áreas endémicas (Zaidi, Medina-Escobedo, Real-de León & Orozco-Rivadeneira, 2002).

6.3. Plantas con actividad antiurolítica

Las plantas medicinales son una alternativa terapéutica, ya que contienen constituyentes químicos que poseen actividades biológicas diversas (Patel et al., 2011). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), entre el 65-80% de la población mundial de países en desarrollo depende esencialmente de medicina tradicional para la atención primaria de su salud, debido a la pobreza y la falta de acceso a la medicina moderna. Las plantas medicinales son su recurso más abundante, accesible y conocido.

A lo largo de la historia de la humanidad las plantas han sido utilizadas para el tratamiento de patologías diversas, algunas de ellas han demostrado ser eficaces para el tratamiento de la urolitiasis (Gürocak & Küpeli, 2006).

En la Tabla 1 se muestra una lista de plantas estudiadas para evaluar la actividad antiurolítica en modelos *in vitro* e *in vivo* así como los resultados obtenidos.

Nombre de la Planta	Método utilizado	Resultado	Referencia
<i>Costus spiralis</i>	<i>In vivo</i>	Posee actividad antiurolítica	(Araújo, Miranda, De Fernandes, Soares & Silva, 2009)
<i>Raphanus sativus</i>	<i>In vivo</i>	Efecto diurético e inhibe la formación de cálculos	(Vargas, Perez, Perez, Zavala, & Perez, 1999)
<i>Herniaria birsuta</i>	<i>In vitro</i>	Favorece la nucleación de cristales	(Atmani & Khan, 2000)
<i>Phyllanthus niruri</i>	<i>In vitro</i>	Posee actividad antiurolítica	(Barros, Schor & Boim, 2003)
<i>Tribulus terrestris</i> y <i>Bergenia ligulata</i>	<i>In vitro</i>	Presentó actividad antiurolítica relevante	(Joshi, Parekh, Joshi & Vaidya, 2005)
<i>Tamarix gallica</i>	<i>In vitro</i>	Posee actividad antiurolítica	(Bensatal & Ouahrani, 2008)
<i>Bergenia ligulata</i>	<i>In vitro</i> e <i>in vivo</i>	Posee actividad antiurolítica	(Bashir & Gilani, 2009)
<i>Trachyspermum ammi</i>	<i>In vivo</i>	Disminuye la formación de cristales	(Kaur, Bijarnia, Singla & Tandon, 2009)
<i>Pinus eldarica</i>	<i>In vivo</i>	Previene la formación de cálculos renales	(Hosseinzadeh, Khooei, Khashayarmanesh & Motamed-Shariaty, 2010)
<i>Rivea hypocraterformis</i> , <i>Cynodon dactylone</i> y <i>Balanite aegypticae</i>	<i>In vitro</i>	<i>Rivea hypocraterformis</i> presentó mayor actividad	(Patel, Patel, Makwana, Patel & Brahmhatt, 2010)
<i>Origanum vulgare</i>	<i>In vitro</i> e <i>in vivo</i>	Posee actividad antiurolítica	(Khan et al., 2011)
<i>Celosia argentea</i>	<i>In vitro</i>	Inhibe formación de precipitados de calcio y fosfato.	(Patel et al., 2011)
<i>Tectona grandis</i>	<i>In vitro</i>	Inhibe formación de precipitados de calcio y fosfato.	(Patel et al., 2011)

Nombre de la Planta	Método utilizado	Resultado	Referencia
<i>Boerhaavia diffusa</i>	<i>In vivo</i>	Inhibe la nucleación	(Pareta, Patra, Mazumder & Sasmal, 2011)
<i>Nymphaea odorata</i> y <i>Dolichos lablab</i>	<i>In vitro</i>	Ambos extractos presentan actividad antiurolítica	(Deoda et al., 2012)
<i>Holarrhena antidyenterica</i>	<i>In vitro e in vivo</i>	Posee actividad antiurolítica	(Khan et al., 2012)
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	<i>In vivo</i>	Posee actividad antiurolítica.	(Laikangbam & Damayanti Devi, 2012)
<i>Solanum xanthocarpum</i>	<i>In vivo</i>	Inhibe la formación de cristales	(Patel, Patel, Vyas, Shah & Gandhi, 2012)
<i>Convolvulus arvensis</i>	<i>In vitro</i>	Posee actividad antiurolítica	(Rajeshwari et al., 2013)
<i>Zea mays</i>	<i>In vitro</i>	Posee actividad antiurolítica	(Rathod, Fitwe, Sarnaik & Kshirsagar, 2013)
<i>Bergenia ciliata</i>	<i>In vitro</i>	Posee actividad antiurolítica	(Saha & Verma, 2013)
<i>Rotula aquatica</i>	<i>In vitro</i>	Inhibe la nucleación y agregación de cristales	(Sasikala, Radha & Vijayakumari, 2013)
<i>Centratherrum anthelminticum</i>	<i>In vitro</i>	Posee actividad antiurolítica	(Galani & Panchal, 2014)
<i>Kalanchoe pinnata</i>	<i>In vitro</i>	Posee actividad antiurolítica	(Phatak & Hendre, 2015)
<i>Parmentiera aculeata</i>	<i>In vivo</i>	Posee actividad antiurolítica.	(Morales-Sánchez, Osuna-Fernández, Brechú-Franco, Laguna-Hernández & Vargas-Solís, 2015)
<i>Berberis trifoliata</i>	<i>In vitro</i>	Posee actividad antiurolítica	(Pérez Hernández et al., 2015)

Tabla 1. Estudio de plantas con Actividad antiurolítica en modelos *in vivo* e *in vitro*.

6.4. Modelos *in vitro* para la evaluación de la actividad antiurolítica

Los métodos que se disponen para la investigación de la urolitiasis son técnicas realizadas en modelos *in vitro* e *in vivo*.

Los modelos *in vitro* utilizados para este propósito simulan los acontecimientos iniciales en la formación de cálculos renales tales como la nucleación, agregación y crecimiento del cristal (Singh, Patil, Harlalka & Gaud, 2010). Sin embargo, éstos modelos no comprenden las actividades de los inductores e inhibidores endógenos de los cálculos renales y de los procesos biológicos que están realmente involucrados en la formación de éstos.

La cristalización de oxalato de calcio (CaOx) *in vitro* es de importancia fundamental para la investigación en el ámbito de la urolitiasis. Se disponen de diversos métodos experimentales los cuales difieren cualitativa y cuantitativamente en la manera de reproducir los aspectos del sistema renal o del proceso de cristalización (Kavanagh, 2006).

Éstos pueden ir desde experimentos sencillos en soluciones inorgánicas a experimentos con orina que replican algunas características del sistema urinario y pueden ser categorizados por el tipo de procedimiento, por la técnica analítica o por el perfil de supersaturación, que es un factor crucial que rige los aspectos de la cristalización tales como: nucleación, crecimiento y agregación (Hess, 2003).

De los diversos métodos existentes para evaluar la actividad antiurolítica *in vitro* se emplean principalmente los espectrofotométricos que son técnicas basadas en la medición de los cambios en la turbidez debido a la nucleación y agregación de cristales de oxalato de calcio.

6.5. Modelos *in vivo* para la evaluación de la actividad antiurolítica

La evaluación preclínica de la actividad antiurolítica se lleva a cabo en modelos experimentales que representan el proceso de formación de cálculos renales.

En la evaluación de la actividad antiurolítica, los modelos *in vivo* con ratas son lo más ampliamente utilizados (Basavaraj, Biyani, Browning & Cartledge, 2007; Singh et al., 2010), debido a que existen similitudes considerables con los humanos con respecto a estructura y fisiología del sistema urinario (Basavaraj et al., 2007).

Los modelos para la formación de cálculos incluyen la inducción química o la inserción quirúrgica de un cuerpo extraño en vejiga urinaria de animales de experimentación. La formación de cálculos renales puede ser inducida químicamente en los animales de experimentación mediante la administración oral de etilenglicol, cloruro de amonio, vitamina D3, gluconato de calcio, oxalato de amonio, sulfato de gentamicina o L-hidroxiprolina (Liu, Cao, Zhang, Zhou & Ye, 2007). Éstos productos químicos pueden alterar los procesos bioquímicos conduciendo a la excesiva formación de oxalato en la orina, produciendo la precipitación de sustancias que dan lugar a la formación de los cálculos. Sin embargo inducen un daño renal grave y por lo tanto no representan la enfermedad tal como evoluciona clínicamente (Basavaraj et al., 2007).

Por tal motivo, se consideran los modelos en los cuales se induce la formación de cálculos mediante la inserción de un cuerpo extraño en vejiga urinaria, ya que representan en mejor medida la etiología de la formación de cálculos en los seres humanos (Liu et al., 2007). Este modelo se emplea para estudiar el efecto de sustancias que puedan inhibir el crecimiento de los urolitos preformados y aquellas que aceleran su disolución. Los materiales utilizados son discos de zinc, cristales de oxalato de calcio, discos de plástico y piezas de material quirúrgico no absorbible que pueden implantarse en vejiga urinaria para inducir la litiasis (Singh et al., 2010). El modelo de inserción de discos de zinc es el más utilizado y reportado científicamente (Liu et al., 2007). En este modelo se utilizan discos de zinc de tamaño y peso conocidos que se implantan quirúrgicamente en la vejiga del animal de experimentación. Los animales se recuperan de la cirugía durante un periodo de tres días, posteriormente se inicia el tratamiento con la sustancia en estudio. Al final del periodo del tratamiento establecido, los animales son sacrificados, se extrae el disco de la vejiga y se pesa para determinar la actividad antiurolítica de la sustancia en estudio (Singh et al., 2010).

6.6. Conclusión

A lo largo de la historia de la humanidad, las plantas han sido utilizadas para el tratamiento de patologías diversas, entre ellas la urolitiasis, ya que estas poseen

constituyentes biológicamente activos que han demostrado capacidad de inhibir los procesos involucrados en la litiasis renal.

La evaluación de la actividad antiurolítica de constituyentes fitoquímicos dispone actualmente de diversos modelos tanto *in vitro* como *in vivo*. Los modelos *in vitro* utilizados para este propósito simulan los eventos involucrados en la formación de cálculos tales como la nucleación, agregación y crecimiento del cristal. Por otra parte, los modelos *in vivo* disponen de la inducción química de la litiasis y de la inserción de cuerpo extraño. Éstos últimos, presentan varias ventajas fisiológicas que solamente se pueden observar en un organismo íntegro a través de sus tejidos, órganos y sistemas; aunado a factores como temperatura, pH de la orina, agregación de bacterias y de otras sales o desechos metabólicos propios del organismo. Todos estos aspectos indudablemente acercan al investigador mucho más a la realidad del problema de salud que se esté evaluando; así como también la respuesta del tratamiento.

En este trabajo se realizó una revisión en distintas bases de datos sobre reportes que datan del año 1999 hasta 2015 de plantas con actividad antiurolítica. Los estudios que se revisaron fueron llevados a cabo mediante técnicas tanto *in vitro* como *in vivo*, utilizando una extensa diversidad de plantas con uso en la medicina tradicional, tales como *Raphanus sativus*, *Herniaria hirsuta*, *Tamarix gallica*, *Pinus elliottii*, *Rotula aquatica* por mencionar algunas. Los resultados demuestran que existen plantas pertenecientes a familias diversas con compuestos capaces de inhibir los procesos involucrados en la formación de litiasis, lo que les confiere actividad antiurolítica.

Referencias

- Araújo, C.R., Miranda, K.C., De Fernandes, O.F.L., Soares, A.J., & Silva, M.D.R.R. (2009). *In vitro* susceptibility testing of dermatophytes isolated in Goiania, Brazil, against five antifungal agents by broth microdilution method. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 51(1), 9-12. <http://doi.org/10.1590/S0036-46652009000100002>
- Atmani, F., & Khan, S.R. (2000). Effects of an extract from *Herniaria hirsuta* on calcium oxalate crystallization *in vitro*. *BJU International*, 85(6), 621-625. <http://doi.org/10.1046/j.1464-410X.2000.00485.x>

- 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(6), 374-379. <http://doi.org/10.1007/s00240-002-0285-y>
- 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 {A figure is presented}. *EAU-EBU Update Series*, 5(3), 126-136. <http://doi.org/10.1016/j.euus.2007.03.002>
- Bashir, S., & Gilani, A.H. (2009). Antiurolithic effect of *Bergenia ligulata* rhizome: An explanation of the underlying mechanisms. *Journal of Ethnopharmacology*, 122(1), 106-116. <http://doi.org/10.1016/j.jep.2008.12.004>
- Bensatal, A., & Ouahrani, M.R. (2008). Inhibition of crystallization of calcium oxalate by the extraction of *Tamarix gallica* L. *Urological Research*, 36(6), 283-287. <http://doi.org/10.1007/s00240-008-0157-1>
- Coe, F.L., Evan, A.P., Worcester, E.M., & Lingeman, J.E. (2010). Three pathways for human kidney stone formation. *Urological Research*. <http://doi.org/10.1007/s00240-010-0271-8>
- Deoda, R.S., Pandya, H., Patel, M., Yadav, K.N., Kadam, P.V., & Patil, M.J. (2012). Antilithiatic activity of leaves, bulb and stem of *Nymphaea odorata* and *Dolichos Lablab* beans. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 3(1), 814-819.
- Eknoyan, G. (2004). History of Urolithiasis An Approach to the History, 2(3), 177-185. <http://doi.org/10.1385/BMM:2:3:177>
- Galani, V.J., & Panchal, R.R. (2014). Invitro Evaluation of *Centratherum anthelminticum* Seeds for Antinephrolithiatic Activity. *Homeopathy & Ayurvedic Medicine*, 3(1), 3-6. <http://doi.org/10.4172/2167-1206.100014>
- González-Enguita, C. (2009). Litiasis renal. En *Nefrología clínica* (pp. 567-579). Madrid, España: Ed. Panamericana.
- Grases, F., García-Ferragut, L., & Costa-Bauzá, A. (1998). Development of Calcium Oxalate Crystals on Urothelium: Effect of Free Radicals. *Nephron*, 78(3), 296-301. Recuperado de <http://www.karger.com/DOI/10.1159/000044939>

- Gürocak, S., & Küpeli, B. (2006). Consumption of Historical and Current Phytotherapeutic Agents for Urolithiasis: A Critical Review. *The Journal of Urology*, 176(2), 450-455. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2006.03.034>
- Hess, B. (2003). Pathophysiology, diagnosis and conservative therapy in calcium kidney calculi. *Therapeutische Umschau. Revue therapeutique*, 60(2), 79-87. Recuperado de <http://europepmc.org/abstract/MED/12649986>. <http://dx.doi.org/10.1024/0040-5930.60.2.79>
- Hosseinzadeh, H., Khooei, A.R., Khashayarmanesh, Z., & Motamed-Shariaty, V. (2010). Antiurolithiatic activity of *Pinus eldarica* medw. Fruits aqueous extract in rats. *Urology Journal*, 7(4), 232-237.
- Hussain, M., Rizvi, S.A.H., Askari, H., Sultan, G., Lal, M., Ali, B. et al. (2009). Management of stone disease: 17 years experience of a stone clinic in a developing country. *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association*, 59(12), 843-846.
- Joshi, V.S., Parekh, B.B., Joshi, M.J., & Vaidya, A.B. (2005). Herbal extracts of *Tribulus terrestris* and *Bergenia ligulata* inhibit growth of calcium oxalate monohydrate crystals *in vitro*. *Journal of Crystal Growth*, 275(1-2), 1403-1408. <http://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2004.11.240>
- Kaur, T., Bijarnia, R.K., Singla, S.K., & Tandon, C. (2009). *In vivo* efficacy of *Trachyspermum ammi* anticalcifying protein in urolithiatic rat model. *Journal of Ethnopharmacology*, 126(3), 459-462. <http://doi.org/10.1016/j.jep.2009.09.015>
- Kavanagh, J.P. (2006). *In vitro* calcium oxalate crystallisation methods. *Urological Research*, 34(2), 139-145. <http://doi.org/10.1007/s00240-005-0027-z>
- Khan, A., Bashir, S., Khan, S. R., & Gilani, A.H. (2011). Antiurolithic activity of *Origanum vulgare* is mediated through multiple pathways. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11(1), 96. <http://doi.org/10.1186/1472-6882-11-96>
- Khan, A., Khan, S.R., & Gilani, A.H. (2012). Studies on the *in vitro* and *in vivo* antiurolithic activity of *Holarrhena antidysenterica*. *Urological Research*, 40(6), 671-681. <http://doi.org/10.1007/s00240-012-0483-1>

- Laikangbam, R., & Damayanti-Devi, M. (2012). Inhibition of calcium oxalate crystal deposition on kidneys of urolithiatic rats by Hibiscus sabdariffa L. extract. *Urological Research*, 40(3), 211-218. <http://doi.org/10.1007/s00240-011-0433-3>
- Liu, J., Cao, Z., Zhang, Z., Zhou, S., & Ye, Z. (2007). A Comparative Study on Several Models of Experimental Renal Calcium Oxalate Stones Formation in Rats. *Journal of Huazhong University of Science and Technology*, 27(1), 83-87. <http://doi.org/10.1007/s>
- López, M., & Hoppe, B. (2010). History, epidemiology and regional diversities of urolithiasis. *Pediatric Nephrology*, 25(1), 49-59. <http://doi.org/10.1007/s00467-008-0960-5>
- Martínez-Pérez, R. (2012). Revisión del tratamiento farmacológico de la urolitiasis. *Farmacéuticos de Atención Primaria*, 10(1), 18-24. [http://doi.org/10.1016/S2172-3761\(12\)70052-3](http://doi.org/10.1016/S2172-3761(12)70052-3)
- Mattle, D., & Hess, B. (2005). Preventive treatment of nephrolithiasis with alkali citrate—a critical review. *Urological Research*, 33(2), 73-79. <http://doi.org/10.1007/s00240-005-0464-8>
- Moe, O.W., Pearle, M.S., & Sakhaee, K. (2011). Pharmacotherapy of urolithiasis: evidence from clinical trials. *Kidney International*, 79(4), 385-392. <http://doi.org/10.1038/ki.2010.389>
- Morales-Sánchez, V., Osuna-Fernández, H.R., Brechú-Franco, A., Laguna-Hernández, G., & Vargas-Solís, R. (2015). Evaluación del efecto antiurolítico del fruto de Parmentiera aculeata en rata Wistar. *Botanical Sciences*, 93(2), 1-6. <http://doi.org/10.17129/botsci.99>
- Pareta, S.K., Patra, K.C., Mazumder, P.M., & Sasmal, D. (2011). Prophylactic Role of Boerhaavia diffusa in Ethylene Glycol Induced Calcium Oxalate Urolithiasis, 17(2).
- Patel, B.A., Patel, P.U., & Patel, R.K. (2011). *In vitro* evaluation of antilithiatic activity on Tectona grandis Linn seeds. *Journal of Pharmacy Research*, 4(6), 1699–1700.

- Patel, B., Patel, P., & Patel, R. (2011). Effect of different extracts from *Celosia argentea* on calcium and phosphate inhibition *in vitro*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(4), 337-339.
- Patel, P.K., Patel, M.A., Vyas, B.A., Shah, D.R., & Gandhi, T.R. (2012). Anti-urolithiatic activity of saponin rich fraction from the fruits of *Solanum xanthocarpum* Schrad. & Wendl. (Solanaceae) against ethylene glycol induced urolithiasis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 144(1), 160-170. <http://doi.org/10.1016/j.jep.2012.08.043>
- Patel, V.B., Patel, D.G., Makwana, A.G., Patel, J.M., & Brahmbhatt, M.R. (2010). Comparative study of *Rivea hypocrateriformis*, *Cynodon dactylone* and *Balanite aegypticae* using antilithiatic activity *in vitro*. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 1(12), 85-87.
- Pérez-Hernández, R.A., Leos-Rivas, C., Oranday-Cárdenas, A., Hernández-Luna, C.E., Sánchez-García, E., & Rivas-Morales, C. (2015). Efecto *in vitro* en la inhibición del proceso de nucleación en litiasis renal, capacidad de captura de radicales libres, actividad antimicrobiana y tóxica del extracto metanólico de *Berberis trifoliata*. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 46(1), 70-76.
- Phatak, R.S., & Hendre, A.S. (2015). In-vitro Antiurolithiatic Activity of *Kalanchoe pinnata* Extract, 7(2), 275-279.
- Rajeshwari, P., Rajeshwari, G., Jabbarulla, S.K., & Vardhan, I.V. (2013). Evaluation of invitro anti-urolithiasis activity of *Convolvus arvensis*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(3), 599-601.
- Rathod, V.D., Fitwe, P., Sarnaik, D., & Kshirsagar, S.N. (2013). Research Article. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 21(2), 16-19.
- Riella, M.C., Meneses da Silva, J.A., & Correia, M.I.T.D. (2003). Nutrición y litiasis renal. In *Nutrición y riñón* (3a Reimpre, p. 225). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Saha, S., & Verma, R.J. (2013). Inhibition of calcium oxalate crystallisation *in vitro* by an extract of *Bergenia ciliata*. *Arab Journal of Urology*, 11(2), 187-192. <http://doi.org/10.1016/j.aju.2013.04.001>

- Sasikala, V., Radha, S.R., & Vijayakumari, B. (2013). *In vitro* evaluation of rotula aquatica lour. For antiurolithiatic activity. *Journal of Pharmacy Research*, 6(3), 378-382. <http://doi.org/10.1016/j.jopr.2013.02.026>
- Singh, P.K., Patil, C.R., Harlalka, G.V, & Gaud, N.P. (2010). Zinc disc implantation model of urinary bladder calculi and humane endpoints. *Laboratory Animals*, 44(3), 226-30. <http://doi.org/10.1258/la.2010.009084>
- Vargas, R.S., Perez, R.M. G., Perez, S.G., Zavala, M.A.S., & Perez, C.G. (1999). Antiurolithiatic activity of Raphanus sati 6 us aqueous extract on rats, 68, 335-338.
- Zaidi, M., Medina-Escobedo, M., Real de León, E., & Orozco-Rivadeneira, S. (2002). Prevalencia y factores de riesgo en Yucatán, México, para litiasis urinaria. *Salud Pública de México*, 44(6), 541-545. <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-36342002000600006>