

## **Effect of cupping on blood factors and oxidative stress in diabetes type II**

Ramazani M(M.D)<sup>1</sup>, Shariatzadeh SMA(Ph.D)<sup>2\*</sup>, Changizi Ashtiyani S(Ph.D)<sup>3</sup>, Maleki Rad AA(Ph.D)<sup>4</sup>, Akbari A(M.D)<sup>1</sup>, Shariatzadeh SM(M.Sc)<sup>5</sup>

1- Department of Internal Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

2- Department of Biology, Arak University, Arak, Iran

3- Department of Physiology, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

4- Department of biology, Payame-noor University, Shahzand, Iran

5- Department of Biochemistry, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 11 Apr 2012, Accepted: 18 Jul 2012

### **Abstract**

**Background:** Diabetes mellitus is one of the most important health problems in the world. B-cells are susceptible to damage by free radicals. Noticing the mechanism of cupping, this study was carried out to evaluate the effect of cupping together with drug therapy on biochemical factors and oxidative stress.

**Materials and Methods:** In this clinical trial, 5ml of intravenous blood was obtained from diabetic patients in beginning and late stages of this disease who referred to a diabetes center. In addition to receiving metformin and glibenclamide, the patients underwent cupping after one month and were analyzed one month later. Blood samples obtained one month before and after the treatment were compared in terms of diabetes and oxidative stress indicators. To evaluate lipid peroxidation, TBA method was used and FRAPS method was employed to measure total serum antioxidants and blood factors by Pars Azmon kit.

**Results:** Hemoglobin A1C, fasting blood sugar, blood sugar 2 hours after fasting, triglycerides, cholesterol, and low-density lipoprotein as well as high-density lipoprotein showed significant increases. Aspartate transferase in diabetic patients significantly decreased after phlebotomy ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** Cupping improves blood factors in diabetic patients and it is recommended to be used as a complementary treatment in patients with diabetes type II.

**Keywords:** Cupping, diabetes, oxidative stress, biochemical factors

\*Corresponding author:

Address: Department of Biology, Arak University, Arak, Iran

Email: S-Sharaitzadeh@araku.ac.ir

## بررسی تاثیر حجامت بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو و برخی فاکتورهای خونی در بیماران دیابت نوع 2

مجید رضانی<sup>1</sup>، سید محمدعلی شریعت زاده<sup>2</sup>، سعید چنگیزی آشتیانی<sup>3</sup>، علی اکبر ملکی راد<sup>4</sup>، احمد اکبری<sup>1</sup>، سید مهدی شریعت زاده<sup>5</sup>

- 1- دانشیار، گروه داخلی، دانشگاه علوم پزشکی اراک
- 2- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه اراک، اراک، ایران
- 3- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
- 4- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور
- 5- دانشجوی دکترای بیوشیمی، گروه بیوشیمی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: 91/1/23 تاریخ پذیرش: 91/4/28

### چکیده

**زمینه و هدف:** دیابت یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی جهان محسوب می‌شود سلول‌های بتا مستعد تخریب توسط رادیکال‌های آزاد هستند. با توجه به مکانیسم‌های حجامت، تاثیر آن بر فاکتورهای بیوشیمیایی و استرس اکسیداتیو هم‌زمان با دارو درمانی مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش:** در این مطالعه کارآزمایی بالینی از 30 نفر از افراد دیابتی در دو طیف ابتدایی و انتهایی بیماری بیماری مراجعه کننده به مرکز دیابت، 5 میلی لیتر نمونه خون وریدی گرفته شد. این افراد علاوه بر دریافت درمان دارویی متفورمین و گلی بن کلامید پس از یک ماه مورد حجامت قرار گرفته و بعد از یک ماه مورد بررسی قرار گرفتند و نمونه‌های خون وریدی قبل و بعد از درمان از نظر شاخص‌های دیابت و استرس اکسیداتیو مقایسه شدند. جهت ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدی از تیوباربیتوریک اسید، برای اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌های تام سرم از روش FRAP و فاکتورهای بیوشیمیایی خونی با کیت‌های پارس آزمون اندازه‌گیری شدند.

**یافته‌ها:** میزان هموگلوبین A1C، قند خون ناشتا، قند خون 2 ساعت پس از ناشتا، تری گلیسیرید، کلسترول، لیپوپروتئین با دانسیته پایین و همچنین لیپوپروتئین با دانسیته بالا نیز افزایش معنی‌داری را نشان داد و اسپاراتات ترانسفراز در افراد دیابتیک پس از حجامت کاهش معنی دار را نشان داد ( $p < 0/05$ ).

**نتیجه گیری:** حجامت باعث بهبود فاکتورهای خونی در افراد دیابتیکی می‌شود و پیشنهاد می‌گردد که به عنوان درمان مکمل در افراد دیابتی نوع 2 مورد استفاده قرار گیرد.

**واژگان کلیدی:** حجامت، دیابت، استرس اکسیداتیو، پارامترهای بیوشیمیایی خون،

## مقدمه

ترشح شده و این سایتوکاین‌ها در گیرنده‌های سطح سلولی تغییر ایجاد کرده که این تغییر می‌تواند به روند درمان کمک کند. از مهم‌ترین سایتوکاین‌های مترشح‌ه در اثر انجام حجامت می‌توان به فاکتور نکروز دهنده تومور- آلفا (Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ -TNF $\alpha$ )، فاکتور نکروز دهنده تومور-بتا، فاکتور رشد تومور (Tumor growth Factor-TGF)، فاکتور رشد فیبروبلاست (Fibroblast growth Factor-FGF) و فاکتور رشد اپیدرم عروقی (Vascular epidermal growth Factor-VEGF)، اشاره کرد (1-4) که به همراه آنها ترکیباتی مثل منوآمین‌ها و ایکوزانوئیدها و سروتونین، هیستامین و پروتئین‌های ضد باکتری و ویروس و ضد قارچ به علاوه پروستاگلاندین‌ها هم آزاد گردیده و باعث فعال شدن برخی کمپلمان‌ها شده و تقویت سیستم ایمنی را تقویت می‌کند.

از آنجائی که تا کنون مطالعه‌ای در خصوص تأثیر حجامت به عنوان درمان مکمل انجام نشده است بر آن شدیم تا تأثیر حجامت بر بیماران دیابتی نوع 2 را به عنوان یک روش درمان مکمل مورد بررسی قرار دهیم.

## مواد و روش‌ها

در این کارآزمایی بالینی افراد مورد مطالعه بر اساس محاسبه حجم نمونه 30 نفر از افراد دیابتی شهر اراک بودند که معیارهای ورود به مطالعه را داشتند. از 30 نفر از افراد دیابتی در دو طیف ابتدایی و انتهایی بیماری مراجعه کننده به مرکز دیابت پس از گرفتن رضایت نامه و تکمیل پرسش‌نامه از نظر داشتن معیارهای ورود بر اساس تشخیص متخصص مربوطه 5 میلی لیتر نمونه خون وریدی گرفته شد. این افراد علاوه بر دریافت درمان دارویی یک بار در ماه (اواخر هفته سوم) در کلینیک امام رضا حجامت درمانی (به مدت 4 دقیقه خون معادل 70 میلی لیتر گرفته شد) شدند. روش انجام حجامت به این صورت بود که از افراد داوطلب پس از ضدعفونی کردن موضع حجامت با بتادین و پاک کردن با الکل سفید از طریق لیوان مخصوص بادکش بر ناحیه بین دو کتف در خط وسط و بر روی مهره‌های پستی

دیابت یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی، درمانی، اجتماعی و اقتصادی جهان محسوب می‌شود. بیش از 194 میلیون نفر در دنیا مبتلا به این بیماری هستند که انتظار می‌رود این میزان تا سال 2010 به دو برابر برسد. دیابت یکی از مهم‌ترین بیماری‌های شایع مزمن بوده و آمار جهانی آن از جمله در ایران رو به افزایش است و چهارمین عامل مرگ و میر در اغلب کشورهای توسعه یافته است (1). بیماری دیابت ملیتوس که در نتیجه افزایش سطح گلوکز خون ایجاد می‌شود به گروهی از اختلالات با اتیولوژی متفاوت اطلاق می‌گردد که باعث اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و چربی‌ها می‌شود که در نتیجه عدم کارآیی مطلق یا نسبی ترشح انسولین و یا نارسایی عملکرد انسولین است (2). سلول‌های بتا به طور معمول در پاسخ به افزایش گلوکز سرم خون انسولین ترشح می‌کنند. اختلال در عملکرد سلول‌های بتا منجر به کمبود و سرانجام از دست دادن ترشح انسولین می‌شود. سلول‌های بتا با توجه به پائین بودن ظرفیت آنزیم آنتی اکسیدانی خود مستعد تخریب توسط رادیکال‌های آزاد هستند (3). علاوه بر این گروهی از سلول‌های ایمنی از قبیل ماکروفاژها و سلول‌های B و T، رادیکال‌های آزاد تولید می‌کنند که باعث آسیب به سلول‌های بتا می‌شوند (4). از طرف دیگر استرس اکسیداتیو می‌تواند در پاتوژنز دیابت نقش داشته باشد (5). برخی از مطالعات انجام شده در خصوص تأثیرات حجامت نشان می‌دهد که حجامت می‌تواند در درمان سردرد میگرن و تشنجی موثر باشد (6) و همچنین دانیالی و همکاران در سال 1388 در مطالعه مقایسه خون وریدی و خون حاصل از حجامت گزارش کردند که ترکیب این دو خون با هم متفاوت می‌باشد (7). با توجه به مکانیسم‌های حجامت از دیدگاه طب جدید، تنظیم سیستم ایمنی و تنظیم ترشح غدد آندوکراین و آگروکراین و تأثیر بر روی سیستم سمپاتیک و پاراسمپاتیک و دفع سموم بدن از مهم‌ترین اثرات حجامت در بدن محسوب می‌شود که همراه با آن و در اثر التهاب نیز سایتوکاین‌های متعدد و متفاوتی از کراتینوسیت‌های پوستی

### اندازه گیری غلظت پراکسیداسیون لیپیدی (TBA)

در این مطالعه از مواد 5 و 5 دی تیویس نیترو بنزونییک اسید (Dithionitrobenzoic acid-DTNB) بازتریس (شرکت سیگما-آمریکا)، 2 تیوباریتوریک اسید (2-thiobarbituric acid-TBA) وان بوتانل (شرکت مرک -آلمان) ۲،۴،۶ تری پیریدیل - اس - تریازین (2,4,6-tripyridyl-s-triazine-TPTZ) (شرکت فلوکا-ایتالیا) 1، 3، 3، 3 تترائتوکسی پروپان (شرکت آیلرش) استفاده شد. همچنین از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV-visible, Jasco ساخت شرکت شیمادزو ژاپن) جهت اندازه گیری جذب طول موجها استفاده گردید.

جهت ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدی از روش TBA (Thio Barbituric Acid) استفاده شد. در اثر حمله رادیکالهای آزاد به لیپیدها، آلدئیدهای گوناگونی از جمله MDA (مالون دی آلدئید) ایجاد می شود که با تیوباریتوریک اسید در pH اسیدی و دمای بالا واکنش می دهد. ماکزیمم جذب کمپلکس صورتی رنگ حاصل در 532 نانومتر است (8).

### اندازه گیری غلظت آنتی اکسیدان های تام سرم (FAAP) و هموگلوبین A1C

برای ارزیابی آنتی اکسیدان های تام سرم از روش FRAP استفاده شد. این روش براساس توانایی پلازما در احیای یون های  $Fe^{+3}$  (فریک) به  $Fe^{+2}$  (فرو) در حضور ماده ای به نام TPTZ استوار است و کمپلکس TPTZ- $Fe^{+2}$  کمپلکس آبی رنگی با ماکزیمم جذب 593 نانومتر است که میزان قدرت احیاکنندگی سرم یا پلازما از طریق افزایش غلظت کمپلکس فوق توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری می شود (9). همچنین اندازه گیری A1C طبق دستور العمل کیت انجام پذیرفت.

در پایان اطلاعات به دست آمده با کمک نرم افزار SPSS و با استفاده از آزمون تی زوج مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در این مطالعه در کل دوره های تحقیق و برخورد با بیماران گروه مطالعه گر، به اصول اخلاق پزشکی

T3 و T4 مرحله اول انجام می شود. میزان بادکش متناسب با فرد و قوام پوست وی انجام شد. حد مناسب برای کشیدن پوست (Cupping) به درون ظرف مکش حدود 1-1/5 سانتی متر از بالاترین حد گنبد پوست مکیده شده تا لبه ظرف مکش انجام گردید و سپس بادکش را برداشته و خراش های موازی با محور طولی بدن و با فاصله 3-5 میلی متر وارد شد. محل وارد آوردن تیغ بر قله پوست مکیده شده و حد خراش ها از نظر طولی 20-25 میلی متر و از جهت تعداد 7 عدد بود و عمق خراش به گونه ای بود که اپیدرم و درم را برش دهد. بعد از این مرحله بادکش را در موضع قبلی گذاشته و این بار با انجام مکش مجدد، خون از خراش ها خارج می گردید. تعداد دفعات انجام بادکش پس از تیغ زدن حداکثر 3 بار صورت گرفت. لازم به ذکر است که از بیماران یک هفته بعد از آخرین حجامت 5 میلی لیتر نمونه خون وریدی گرفته شد.

### بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی خون و شاخص های استرس اکسیداتیو

نمونه های خون وریدی قبل و بعد از درمان از نظر شاخص های دیابت و استرس اکسیداتیو مقایسه شدند. معیارهای ورود به مطالعه شامل کسانی بودند که سابقه مصرف هیچ نوع دارو، الکل، سیگار و آنتی اکسیدان را نداشته و هم چنین مبتلا به بیماری های خاص نظیر سرطان، تیروئید، اختلالات قلبی و عروقی و تنفسی، کم خونی، انعقادی نباشند و زنان در زمان منوپوز نبودند. کراتینین بالای 2/5، هموگلوبین کمتر از 10، مصرف ویتامین ها، مکمل ها و مواد قندی به عنوان معیار خروج در نظر گرفته شد. دوباره پس از درمان 5 میلی لیتر خون سیاهرگی گرفته شد. فاکتورهای خون مانند قند خون، کلسترول HDL، LDL، AST، AIT و فاکتورهای آلبومین، تری گلیسرید و کراتینین قبل و بعد از مطالعه با کیت پارس آزمون ارزیابی شد و سپس پس از جداسازی سرم با سانتریفوژ پارامترهای استرس اکسیداتیو این افراد ارزیابی گردید. همه فاکتورهای خونی با کیت پارس آزمون سنجیده شد.

اطلاعات حاصله وارد نرم افزار آماری SPSS گردید و میانگین و انحراف معیار شاخص های مورد نظر اندازه گیری گردید.

#### یافته ها

براساس نتایج ارائه شده در جداول 1 و 2، شاخص های هموگلوبین، قند خون ناشتا، قند خون 2 ساعت پس از ناشتا، تری گلیسیرید، کلسترول، لیپوپروتئین با دانسیته پایین، لیپوپروتئین با دانسیته بالا و آنزیم آسپاراتات ترانسفراز قبل و بعد از حجامت اختلاف معنی داری داشتند.

اعلام شده از طرف وزارت بهداشت و درمان و اعلامیه هلسینکی و مصوبه کمیته اخلاق پزشکی (با کد 13-114-90) دانشگاه علوم پزشکی اراک پایبند بودند؛ به این صورت که بیماران با رضایت کامل خود و بدون اجبار وارد مطالعه شدند و اطلاعاتی که از بیماران کسب می شد، کاملاً محرمانه بود و سعی در حفظ اطلاعات شخصی افراد شد. در ضمن افراد شرکت کننده در مطالعه می توانستند به اختیار خود از مطالعه خارج شوند. پس از اندازه گیری فاکتورهای شیمیایی و آنزیم های استرس اکسیداتیو قبل و بعد از حجامت،

جدول 1. میانگین و انحراف معیار فاکتورهای بیوشیمیایی قبل و بعد از حجامت

P	بعد از حجامت	قبل از حجامت	پارامترهای بیوشیمیایی
0/0001	8/16±1/27	9/2 ± 1/67	هموگلوبین A1C (%)
0/0001	180/2±60/95	219/ 89±68/82	قند خون ناشتا (میلی گرم بر دسی لیتر)
0/0001	262/6±86/74	301/62±90/03	قند خون 2 ساعت پس از ناشتا (میلی گرم بر دسی لیتر)
0/627	0/98±0/18	/97±/22	کراتینین (میلی گرم بر دسی لیتر)
0/57	14/84±4/43	15/41±4/89	اوره (میلی گرم بر دسی لیتر)
0/011	202/97±122/76	225/9±128/64	تری گلیسیرید (میلی گرم بر دسی لیتر)
0/037	191/37±49/7	202/3±46/96	کلسترول (میلی گرم بر دسی لیتر)
0/002	116/85±67/18	131/9±68/91	لیپوپروتئین با دانسیته پایین (میلی گرم بر دسی لیتر)
0/012	46/77±14/9	43/2±15/55	لیپوپروتئین با دانسیته بالا (میلی گرم بر دسی لیتر)
0/138	204/5±57/88	216/6±71/02	آلکالین فسفاتاز (Iu/l)

جدول 2. میانگین و انحراف معیار آنزیم های استرس اکسیداتیو قبل و بعد از حجامت

P	بعد (میانگین± انحراف معیار)	قبل (میانگین± انحراف معیار)	پارامترهای بیوشیمیایی
0/115	2/31±0/69	1/99±1/06	غلظت آنتی اکسیدان های تام سرم (میکرومول در میلی لیتر)
0/72	31/96±16/99	33/36±18/61	غلظت پراکسیداسیون لیپیدی (نانومول در میلی لیتر)
0/5	29/07±18/4	29/07±18/4	آلانین ترانسفراز (Iu/l)SGPT(ALT)
0/021	27/13±12/16	31/2±13/27	آسپاراتات ترانسفراز (Iu/l) SGOT(AST)

#### بحث

فاضل و همکاران در سال 1388 در مطالعه ای تحت عنوان تاثیر حجامت بر غلظت لیپوپروتئین های سرم مبتلایان به افزایش کلسترول خون گزارش کردند که در گروه مورد و شاهد میزان LDL در انتهای مطالعه کمتر از شروع مطالعه بود (10).

نیاسری و همکاران در سال 2007 در مطالعه ای تحت عنوان تاثیر حجامت بر غلظت لیپیدها گزارش کردند

بر اساس نتایج مطالعه حاضر میزان هموگلوبین A1c، قند خون ناشتا، قند خون 2ساعت پس از ناشتا، تری گلیسیرید، کلسترول، لیپوپروتئین با دانسیته پایین و اسپاراتات ترانسفراز در افراد دیابتیک پس از حجامت کاهش معنی دار و میزان لیپوپروتئین با دانسیته بالا در این افراد افزایش معنی دار یافت.

می تواند تعداد حجامت انجام شده در این مطالعه باشد. در مجموع حجامت باعث بهبود فاکتورهای خونی در افراد دیابتیکی می شود اما با توجه به این که مکانیسم دقیق آن ناشناخته است، پیشنهاد می گردد که حجامت به عنوان درمان مکمل در بیماری های مختلف بررسی گردد.

### نتیجه گیری

به طور کلی می توان نتیجه گیری کرد که حجامت باعث بهبود فاکتورهای خونی در افراد دیابتیک می شود. اما در مورد شاخص های مختلف استرس اکسیداتیو مثل اندازه گیری کاتالاز، گلوکاتیون و اندازه گیری میزان آنتی اکسیدان های تام پلازما و پراکسیداسیون لیپیدی بایستی دفعات انجام حجامت حداقل در سه نوبت صورت گیرد و پیشنهاد می گردد که برای بررسی بیشتر نقش حجامت در بیماری های مختلف به عنوان مکمل بررسی دقیق تری صورت گیرد.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی اراک می باشد. بدین وسیله از معاونت و مدیریت محترم شورای پژوهشی دانشگاه که ما را در انجام این پژوهش یاری نموده اند تشکر و قدردانی می گردد.

### منابع

1. Renders CM, Valk GD, Griffin SJ, Wagner EH, Assendelft WJJ. Interventions to Improve the Management of Diabetes in Primary Care, Outpatient, and Community Settings A systematic review. *Diabetes Care*. 2001;24(10):1821-33.
2. Wacker T, Jahr H, Weinand S, Brandhorst H, Brandhorst D, Lau D, et al. Different toxic effects of hydrogen peroxide, nitric oxide, and superoxide on human, pig, and rat islets of Langerhans. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*. 1995;103:133-5.

که حجامت باعث کاهش غلظت لیپیدها شده و در جلوگیری از آترواسکلروزیس موثر است (11).

بیکا و همکاران در مطالعه ای در خصوص تاثیر حجامت در درمان دیابت، گزارش کردند که حجامت می تواند در درمان بیماری فشار خون موثر باشد (12). از طرف دیگر لی و همکاران در مطالعه ای تحت عنوان تاثیر حجامت بر توانبخشی سکنه های مغزی گزارش کردند که حجامت بر توانبخشی سکنه تاثیر ندارد (13). اما با توجه به همسویی نتایج تحقیقات ما با تحقیقات دیگران به نظر می رسد که حجامت اثر مثبت از نظر درمانی در دیابت دارد و به نظر می رسد که حجامت با مکانیسم های پیچیده احتمالاً از طریق جریان خون و لنف غالب فاکتورهای خونی را بهبود بخشد. با توجه به این که افراد مورد مطالعه دارای هموگلوبین A1C بالای 8 درصد بودند و تنها یک نوبت از حجامت به عنوان روش درمان مکمل استفاده کردند، لذا به نظر می رسد که برای نتایج بهتر بایستی حداقل در سه نوبت توام با درمان دارویی از حجامت استفاده شود تا نتایج مطلوب از نظر بهبود شاخص های استرس اکسیداتیو به دست آید. از آنجایی که در دیابت نوع 2 میزان رادیکال های آزاد افزایش می یابد، میزان آنزیم آنتی اکسیدانی پائین است و امروزه یکی از فاکتورهای مهمی که مورد بحث بسیاری از محققین قرار گرفته نقش رادیکال های آزاد در تضعیف سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در بیماری دیابت ملیتوس است لذا حجامت می تواند در تقویت سیستم آنتی اکسیدانی و جلوگیری از پیشرفت عوارض این بیماری موثر باشد و سلول های ایمنی از قبیل ماکروفاژها و سلول های T و B که تولید رادیکال آزاد می کنند را از این طریق مهار کنند (3، 4، 14، 15).

در مطالعه ای که توسط شریعت زاده و همکاران تحت عنوان اثر حجامت بر استرس اکسیداتیو صورت پذیرفت، مشاهده گردید که حجامت باعث کاهش برخی از شاخص های استرس اکسیداتیو می شود (16). نتایج این مطالعه مغایر مطالعات قبلی می باشد و به نظر می رسد علت این امر

3. Burkart V, Gross-Eick A, Bellmann K, Radons J, Kolb H. Suppression of nitric oxide toxicity in islet cells by alpha-tocopherol. *FEBS Lett.* 1995; 364(3):259-63.
4. Cooke A. An overview on possible mechanisms of destruction of the insulin-producing beta cell. *Current topics in microbiology and immunology.* 1990;164:125.
5. Malekirad A, Shariatzadeh S, Fani A, Ranjbar A. The comparison of total antioxidant capacity of serum and saliva between patients with type-2diabetes mellitus and control. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences.* 2005; 7(3):69-74.
6. Ahmadi A, Schwebel DC, Rezaei M. The efficacy of wet-cupping in the treatment of tension and migraine headache. *The American journal of Chinese medicine.* 2008;36(01):37-44.
7. Danyali F, VaezMahdavi M, Ghazanfari T , Naseri M. Comparison of the biochemical, hematological and immunological factors of "cupping" blood with normal venous blood. *Physiology and Pharmacology.* 2009;13(1):78-87.[Persian]
8. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol.* 1990;186:407-21.
9. Benzie IFF, Strain J. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in enzymology.* 1999;299:15-27.
10. Fazeli A, HossiniVaez Z, Saghebi SA, Esmaeili H. Effect of cupping on concentration of serum lipoprptein in diseases wihl hyper blood cholestrol. *Nersing Journal of mashhad medical science university.* 2010;13(9):9-18.[persian]
11. Niasari M, Kosari F, Ahmadi A. The effect of wet cupping on serum lipid concentrations of clinically healthy young men: a randomized controlled trial. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine.* 2007;13(1):79-82.
12. Bhikha RA. Pilot Research Project Conducted At the University Of Western Cape Therapeutic Cupping As Adjunctive Therapy In the treatment Of Diabetes. *Hypertension and Osteoarthritis.* 2008.
13. Lee MS, Choi TY, Shin BC, Han C, Ernst E. Cupping for stroke rehabilitation: a systematic review. *Journal of the neurological sciences.* 2010;294(1):70-3.
14. Ahmed N. Alloxan diabetes-induced oxidative stress and impairment of oxidative defense system in rat brain: neuroprotective effects of cichorium intybus. *Int J Diabetes & Metabolism.* 2009;17:105-9.
15. Rojrigues B, povcheret p. streptozotocin induced diabetes: induction mechanisms and does de pendency In: MC Neills H *Experimental models of diabetes.* CRC press llc. 1999.p.3-14.
16. Shariatzadeh SMA, Malekirad AA, Syadati SM. Effect of Cupping on Oxidative Stress. *Journal of Medicinal News.* 2005; 4(12): 53-4.