

بررسی اثرات تجویز عصاره هیدروالکلی ریشه گزنه بر ساختار هیستومورفومتریک عصب سیاتیک موش صحرایی متعاقب دیابت تجربی

نعیم عرفانی مجد^۱، ناهید موتمن^۲، حسن مروتی^۳ و حسین نجف‌زاده^۲

تاریخ پذیرش: ۹۱/۴/۸

تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۷

خلاصه

دیابت ملیتوس اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، لیپید و پروتئین است، که به اختلال در ساختار سیستم عصبی مرکزی و محیطی منجر می‌شود. گیاه گزنه دارای خواص متفاوت بوده و تاثیر مثبت آن بر کاهش عوارض ناشی از دیابت گزارش شده است. لذا در این مطالعه اثرات عصاره هیدروالکلی ریشه گزنه دو پایه بر ساختار هیستومورفومتریک عصب سیاتیک موش صحرایی نر سالم و دیابتی نژاد ویستار مورد مطالعه قرار گرفت. به این منظور ۱۵ سر موش صحرایی نر با وزن ۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم به طور تصادفی به گروه‌های کنترل سالم، کنترل دیابتی و دیابتی دریافت کننده عصاره ریشه گزنه (۵۰ mg/kg)، تقسیم شدند. دیابت با تزریق داخل صفاقی ۶۰ mg/kg استرپتوزوتوسین ایجاد گردید. بعد از ۶ هفته، از موش‌ها، نمونه‌گیری و برش‌های بافتی به قطر ۵ الی ۶ میکرومتر از عصب سیاتیک صورت گرفت. القای دیابت باعث کاهش قطر عصب، کاهش قطر آکسون، کاهش میزان میلین آکسون‌ها، در عصب سیاتیک گردید. استفاده از عصاره ریشه گزنه در موش‌های دیابتی تقریباً تمامی پارامترهای مورد مطالعه را بهبود بخشید ($P < 0.05$).

کلمات کلیدی: هیستومورفومتري، دیابت، عصب سیاتیک، گزنه

مقدمه

به سزایی در کاهش عواقب ناشی از بیماری دیابت خواهد داشت و در این بین استفاده از ترکیباتی با منشاء گیاهی که معمولاً با عوارض جانبی کمتری همراه هستند، اهمیت خاص خود را دارد. به نظر می‌رسد که عصاره هیدروالکلی ریشه گزنه دو پایه^۱ به علت داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی و کاهش رادیکال‌های آزاد در درمان بیماری دیابت حائز اهمیت باشد، چرا که نقش آن در کاهش استرس اکسیداتیو حاصل از روند التهاب، به اثبات رسیده است (۴ و ۵). یکی از ترکیبات بسیار مهم و آنتی‌اکسیدانی ریشه گزنه فلاونوئیدها هستند. ترکیبات این خانواده با تعدیل برخی از آنزیم‌های مشخص و فعالیت

بیماری دیابت یکی از هزینه سازترین بیماری‌های مزمن در سراسر جهان به شمار می‌رود که میزان شیوع آن به علت تغییرات شیوه زندگی و نیز بهبود وضعیت بهداشتی - درمانی جوامع که منجر به افزایش میزان بقا شده است، رو به افزایش می‌باشد (۶). نوروپاتی یکی از شایع‌ترین اختلالات عروق کوچک در بیماران دیابتی است. شایع‌ترین نوع نوروپاتی، نوروپاتی محیطی است که با کاهش پیش رونده رشته‌های عصبی مشخص می‌شود و بیماران را مستعد ایجاد درد، حساسیت اندام‌های تحتانی، زخم‌های نوروپاتی و در نهایت قطع عضو می‌کند (۱ و ۲). استفاده از مواد آنتی‌اکسیدان نقش

E-mail: naeemalbo@yahoo.com (نویسنده مسئول)

^۱ استاد گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

^۲ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

^۳ دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

گروه کنترل: تحت شرایط طبیعی قرار داشتند و هیچ گونه تجویز دارویی در این گروه انجام نگرفت.

گروه دیابتی: محلول STZ (Streptozotocin) در سرم فیزیولوژی با دوز ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان به طور داخل صفاقی تزریق گردید و یک هفته بعد از تزریق STZ، با تهیه نمونه خون وریدی از انتهای دم حیوانات، غلظت گلوکز خون با استفاده از دستگاه دیجیتالی اندازه گیری گلوکز خون (گلوکومتر) و نوار تست قند اندازه گیری گردید. موش های با سطح قند خون ۳۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر یا بالاتر به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند.

گروه دیابتی تحت درمان عصاره ریشه گزنه: در این گروه موش های دیابتی، عصاره ریشه گزنه را با دوز ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت روزانه و خوراکی (گاواژ) برای مدت ۶ هفته دریافت کردند.

۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق گزنه، ابتدا موش ها با استفاده از داروی بیهوشی (کلوروفرم) آسان کشی شدند و آنگاه نمونه های عصب سیاتیک، از زانو تا کنار ستون مهره ها خارج کرده و به وسیله فرمالین بافر ۱۰٪ ثابت گردید. سپس به روش معمول تهیه مقاطع پارافینی، برش هایی به ضخامت ۶-۵ میکرومتر تهیه و با رنگ های هماتوکسیلین-ئوزین (H&E) و لوکسال فست بلو (Luxol fast blue) رنگ آمیزی شدند. سپس برش ها مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند.

اندازه گیری قطر رشته های عصبی، قطر آکسون ها و ضخامت غلاف میلین در گروه های مختلف با استفاده از لنز دیجیتال Dino-lite و نرم افزار Dino-capture1 انجام گرفت. اندازه گیری هر یک از مشخصه های فوق در حداقل ۵ میدان میکروسکوپی از ۵ برش بافتی هر یک از ۵ نمونه عصب سیاتیک قدامی موش های هر گروه صورت گرفت.

آنتی آکسیدانی قادر هستند به طور قوی عوامل فعالی مثل نیتريت پراکسید و رادیکال هیدروکسید را غیر فعال کنند (۸ و ۱۳). خلیلی و همکاران (۱۳۸۶) گزارش نمودند که عصاره ریشه گزنه باعث افزایش اکسید نیتريك می شود و این امر باعث افزایش اتساع عروق و افزایش خون رسانی به سلول های عصبی می گردد (۳). در مطالعه ای که توسط Testai و همکاران (۲۰۰۲) انجام گرفت، نشان داده شد که ریشه گزنه باعث افزایش انتشار اکسید نیتريك سلول های اندوتلیال و باز کردن کانال های پتاسیم می گردد، و این امر باعث اتساع عروق و افزایش خون رسانی به عصب می گردد (۲۵). با توجه به اینکه در نوروپاتی دیابتی آسیب های ساختاری جدی به ساختارهای عصبی محیطی وارد می شود، لذا هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات عصاره هیدروالکلی ریشه گزنه بر ساختار هیستومتریکی عصب سیاتیک موش صحرائی متعاقب دیابت تجربی بوده است، تا تغییرات بافت عصب سیاتیک در موش های دیابتی تعیین گردد و اثر عصاره ریشه گزنه بر ضایعات احتمالی عصب سیاتیک به دنبال دیابت تجربی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش کار

در این مطالعه ۱۵ سر موش صحرائی بالغ نر از نژاد ویستار با میانگین وزنی (۲۲۰ الی ۲۵۰ گرم) مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز خریداری شدند و در قفس های فلزی مخصوص (۵ سر در هر قفس) در دما (۲۳±۲OC) و رطوبت مناسب (۵۰-۴۰٪) و شرایط روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته در خانه حیوانات دانشکده دامپزشکی نگهداری شدند. به تمام حیوانات اجازه داده شد تا از آب و غذای استاندارد آزادانه استفاده کنند. حیوانات به طور تصادفی به سه گروه ۵ تایی به شرح ذیل تقسیم شدند:

آنالیز آماری

داده‌های کمی به دست آمده در کلیه گروه‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 و با آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) تجزیه و تحلیل شدند. در صورت معنی‌دار بودن اختلاف ما بین آنها، از آزمون تکمیلی دانکن برای مقایسه بین هر دو گروه تجربی استفاده شد. تمام داده‌ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ ارائه شده و $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار بودن در نظر گرفته شده است.

نتایج

ماکروسکوپی

با بررسی نتایج وزن حیوانات در گروه‌های مورد مطالعه و مقایسه آنها با گروه کنترل، کاهش مشخص و معنی‌داری در وزن تمام حیوانات دیابتی مورد مطالعه مشاهده گردید ($P < 0.05$). اما در پایان مطالعه نشان داده شد، مصرف عصاره ریشه گزنه در پیشگیری از کاهش وزن موثر بوده است.

جدول ۱: میانگین (\pm خطای استاندارد) وزن موش‌های

مورد مطالعه در انتهای آزمایش به گرم

گروه	کنترل (a)	دیابتی (b)	دیابت+گزنه (c)
میانگین وزن در انتهای آزمایش	۲۸۸/۵±۱۳/۲۱ b,c	۱۷۷/۵±۶/۴۴ a,c	۲۳۲±۸/۷۴ a,b

حروف a,b,c نشان دهنده هر گروه و حروف در کنار میانگین هر گروه نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با آن گروه است ($P < 0.05$).

هیستومورفومتري

در این مطالعه نشان داده شد که قطر رشته‌های عصبی، قطر آکسون‌ها و ضخامت غلاف میلین گروه دیابتی در مقایسه با دو گروه دیگر به طور معنی‌داری کاهش یافته است ($P < 0.05$). همچنین تعداد رشته‌های عصبی میلین‌دار ضخیم، کاهش ولی تعداد رشته‌های عصبی کم قطر، افزایش یافته است. درمان با عصاره ریشه گزنه باعث پیشگیری از کاهش قطر آکسون و رشته عصبی و ضخامت میلین در اثر دیابت شده است (تصویر ۱).

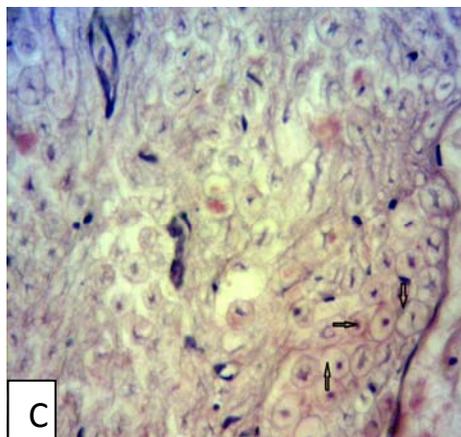
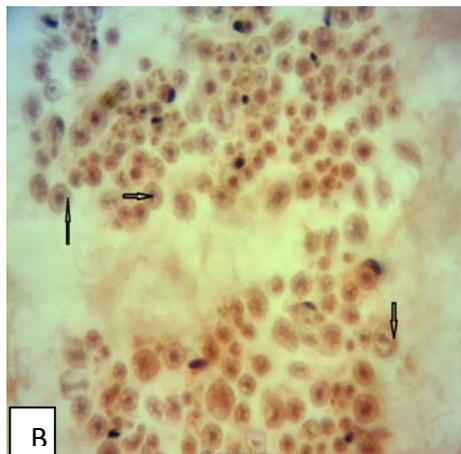
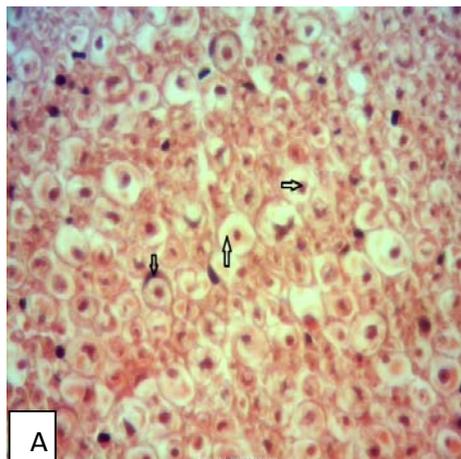
جدول ۲: میانگین و انحراف معیار تغییرات مشخصه‌های ساختار عصب سیاتیک فوقانی در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	میانگین قطر رشته عصبی سیاتیک (میکرومتر)	میانگین قطر آکسون سیاتیک (میکرومتر)	میانگین ضخامت میلین سیاتیک (میکرومتر)
کنترل (a)	۸/۵۶±۰/۳۰ b	۲/۸۳±۰/۰۷ b,c,	۵/۹۵±۰/۴۳ b
دیابتی (b)	۵/۷۷±۰/۱۱ a,c	۱/۷۵±۰/۰۲ a,c,	۳/۴۴±۰/۱۸ a,c,
دیابت+گزنه (c)	۷/۷۲±۰/۱۴ b	۲/۲۸±۰/۰۴ a,b	۵/۶۵±۰/۲۳ b

حروف a,b,c نشان دهنده هر یک از گروه‌ها است و حروف کنار میانگین هر گروه نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با آن گروه است ($P < 0.05$).

بحث

هیپرگلیسمی، از طریق انواع فرآیندهای آنزیمی و غیر آنزیمی باعث اکسیداسیون خود بخودی گلوکز، فعالیت مسیر آلدوز رودکتاز، افزایش فعالیت مسیر محصولات نهایی قنددار نوین (AGE)، فعالیت مسیر پروتئین کیناز - C، فعالیت مسیر پلی DNA - ریپوز پلی مرز (PARP)، افزایش جریان هگزوز آمین و کاهش فاکتورهای رشد می شود که نهایتاً با تحریک تولید عوامل اکسیژنی و نیتروژنی فعال منجر به استرس اکسیداتیو سلول عصبی می گردند (۹ و ۲۴). استرس اکسیداتیو با ایجاد بسیاری از مسیرهای دژنراتیو مثل آسیب های عروقی، افزایش تولید رادیکال های آزاد در میتوکندری ها، کاهش اکسید نیتریک، کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان داخل سلولی، تحریک فرآیند مرگ برنامه ریزی شده، باعث القاء بسیاری از ضایعات و آسیب ها در بافت عصبی از جمله کاهش جریان خون عصب، تخریب آکسونی، کاهش چگالی آکسون ها، کاهش میزان میلین آنها، کاهش قابلیت انتقال پیام عصب و غیره می شود (۹، ۱۹ و ۲۳). دوستار و مهاجری گزارش نمودند (۱۳۸۸) که آنتی آکسیدان ها به عنوان یک عامل محافظتی می توانند عامل موثری در پیشگیری از ایجاد اختلالات در بیضه و تخمدان ناشی از بیماری دیابت عمل کنند (۴). البته تاکنون اطلاعاتی در خصوص تغییرات ساختار هیستومتریک عصب سیاتیک در موش های صحرایی دیابتی شده که تحت درمان عصاره ریشه گزنه قرار گرفته و موضوع اصلی تحقیق حاضر می باشد، ارائه نشده است. مطالعات ریخت شناسی توسط Forrest و همکارانش در سال ۱۹۹۷ موید این است که دیابت منجر به ایجاد تغییرات بافتی در رشته های عصب سیاتیک، ادم اندونوریال و تخریب آکسونی گاهی توام با میلین زدایی می شود (۱۴). گزارش های اندکی در رابطه با ناکار آمد شدن غلاف میلین رشته های عصبی به وسیله دیابت وجود دارد. همچنین فعالیت پمپ



تصویر میکروسکوپی ۱: ساختار میکروسکوپی عصب سیاتیک موش های صحرایی: در گروه های کنترل (A)، دیابتی (B)، دیابتی + گزنه (C)، (H&E, $\times 40$). رشته های عصبی شامل آکسون (→)، غلاف میلین (↑)، و شوان (↓) در هر سه گروه مشاهده می شود. قطر رشته های عصبی در گروه دیابتی در مقایسه با دیگر گروه ها کاهش معنی داری نشان می دهد. عصاره ریشه گزنه در گروه دیابتی + گزنه (C) مانع این کاهش شده است و قطر رشته های عصبی در محدوده گروه کنترل می باشد.

ATPase Na^+/K^+ عصب سیاتیک در بیماران دیابتی کاهش می‌یابد (۱۴). در این مطالعه کاهش در تعداد رشته‌های عصبی میلین‌دار قطور، همراه با افزایش تعداد رشته‌های عصبی کوچک در موش‌های صحرایی دیابتی بدون درمان مشاهده شد. همچنین مشاهده شد که قطر رشته‌های عصبی، قطر آکسون و ضخامت غلاف میلین در عصب سیاتیک موش‌های دیابتی بدون درمان نسبت به حیوانات تحت درمان با عصاره ریشه گزنه به طور معنی‌داری کاهش یافته است.

مطالعات Sassohl و Roriguse (۲۰۰۶) بر روی اعصاب فرنیک در حیوانات دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین نشان داد که ۱۲ هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین، میانگین قطر آکسون و ضخامت غلاف میلین به طور معنی‌داری در حیوانات دیابتی نسبت به کنترل کاهش می‌یابد (۲۱). از طرفی مطالعات دیگران حاکی از آن است که هرچه طول مدت دیابت ایجاد شده توسط استرپتوزوتوسین طولانی‌تر باشد کاهش مشخص‌تری در قطر رشته‌های عصبی قابل مشاهده است (۱۴ و ۱۶). آنتی‌اکسیدان‌ها موادی هستند که با حضورشان در غذا یا بدن حتی در مقادیر بسیار کم، بدن را در برابر انواع مختلفی از آسیب‌های اکسیداتیو که ممکن است در اثر گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد گردد، محافظت می‌کنند (۴). عصاره آبی گزنه دو پایه دارای خاصیت ضد اکسیداتیو بالایی می‌باشد و از اکسیداسیون فسفولیپید غشاهای سلول، اسید چرب لینولئیک و قند داکسی‌ریبوز که از طریق آنزیم‌های اکسید کننده دارای گروه‌های فعال فلزی صورت می‌گیرد، جلوگیری می‌کند (۷).

مطالعه حاضر نشان داد که تجویز عصاره ریشه گزنه (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) باعث پیشگیری از تغییرات بافتی در نوروپاتی دیابتی آزمایشگاهی ایجاد شده توسط استرپتوزوتوسین می‌شود. در تأیید این مطلب مهار

سیتوکین‌های NTF^۱ و VIP^۲ که به عنوان مهم‌ترین واسطه‌های التهابی معرفی شده‌اند توسط گیاه گزنه گزارش شده است (۲). آنتو سیانین که یک نوع بیوفلاونوئید طبیعی گیاهی است و در عصاره ریشه گزنه یافت می‌شود یک آنتی‌اکسیدان است که خاصیت ضد التهابی بسیار قوی دارد و معمولاً این عمل را با خنثی کردن آنزیم‌های موثر در التهاب و با جلوگیری از آسیب رساندن رادیکال‌های آزاد به بافت همبند و ترمیم پروتئین‌های آسیب دیده دیواره مویرگ‌های خونی انجام می‌دهد (۱۲ و ۱۸). عصاره ریشه گیاه گزنه با داشتن ترکیباتی مثل پلی‌فنول‌ها و فلاونوئیدها می‌تواند با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مهار پراکسیداسیون لیپیدی خود باعث حفاظت بافتی گردد (۸ و ۱۷). هیپرگلیسمی می‌تواند باعث کاهش اتساع عروق خونی به دلیل کاهش اکسید نیتریک و کاهش خون‌رسانی به رشته‌های عصبی و آسیب‌های بافتی در سیستم عصبی گردد. گزارش‌ها نشان می‌دهد که عصاره ریشه گزنه باعث افزایش تولید اکسید نیتریک از سلول‌های آندوتلیال شده و به طور معنی‌داری از کاهش این ماده جلوگیری می‌کند. این عمل احتمالاً از طریق یکی از فلاونوئیدهای مهم عصاره ریشه گزنه به نام کوئرستین^۳ انجام می‌گیرد (۱۰، ۲۰ و ۲۶). یکی دیگر از عوارض دیابت، ایجاد التهاب در درون رگ‌ها و مویرگ‌های اپی‌نوریال و آندونوریال است و این التهاب زمینه را برای ایجاد نارسایی عروق کوچک و به دنبال آن سایر عوارض مزمن دیابت از جمله اختلالات عصبی فراهم می‌نماید (۱۰ و ۱۵).

همچنین در مطالعه‌ای مشخص شده است که عصاره ریشه گزنه می‌تواند باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در دیابت شود که این عمل احتمالاً از طریق افزایش تولید آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز در اندام‌هایی از بدن از جمله مغز،

- 1- Nuclear Transcription Factor
- 2- Vasoactive Intestinal Peptide
- 3- Quercetin

براساس یافته‌های تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت که دیابت باعث تغییرات هیستومتریک قابل توجهی در عصب سیاتیک می‌شود و عصاره ریشه گزنه قادر است از این تغییرات پیشگیری نموده و یا این اثرات را کاهش دهد. به نظر می‌رسد که عصاره گزنه از طریق خاصیت ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی خود قادر به انجام چنین تغییراتی است.

کلیه، گلبول‌های قرمز و کبد انجام می‌گیرد (۱۷). استرس اکسیداتیو ناشی از ایجاد دیابت احتمالاً یکی از عواملی است که باعث افزایش کلسترول در موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود که یکی دیگر از مواد مهم درون عصاره ریشه گزنه اسید لینولئیک است. مطالعات نشان داده که اسید لینولئیک باعث کاهش کلسترول می‌شود (۱۱ و ۲۶).

تقدیر و تشکر

این پژوهش با پژوهانه دانشگاه شهید چمران اهواز صورت گرفته و به این وسیله از حمایت مالی آن دانشگاه قدردانی می‌شود.

منابع

۵- رجحان محمدصادق (۱۳۷۰). بافت‌شناسی انسانی پایه. چاپ اول، انتشارات چهر، صفحات ۸۴۵-۸۴۸.

۶- لاریجانی باقر و زاهدی فرزانه (۱۳۸۰). همه‌گیرشناسی دیابت در ایران، مجله دیابت و لیپید ایران. دوره ۱ (۱)، صفحات ۸-۱.

۷- مدرسی امیر و رخشنده‌رو فرشاد (۱۳۸۸). بررسی اثر ضد ویروسی عصاره آبی و الکلی گزنه دو پایه در حذف عامل ویروسی ایجاد کننده موزائیک رز در محیط کشت، فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۵ (۳)، صفحات ۴۱۳-۴۰۳.

8- Abrol S.O., Trehan A. and Katare O.P. (2005). Comparative study of different silymarin formulations: formulation and in vitro/in vivo evaluation. *Current Drug Delivery*, 2, 45-51.

9- Ahmed N. (2005). Advanced glycation end-products role in pathology of diabetic complication. *Diabetes Research and Clinical practice*, 67: 3-21.

10- Bhadada S.k., Sahay R.k., Jutesna V.P. and Agrawal J.k. (2001). Diabetic neuropathy current concepts. *Journal Indian Academy of Clinical Medicine*, 2(4): 306-317.

۱- ثامنی حمیدرضا، پناهی مرضیه و سرکاکی علیرضا (۱۳۸۷). بررسی اثر محافظتی پروژسترون بر عملکرد و ساختار عصب سیاتیک در موش صحرایی مبتلا به دیابت، مجله علوم پزشکی سمنان. جلد ۱۰، ۱ (۲۹)، صفحات ۵۵-۶۴.

۲- خلیلی محسن، صحرایی هدایت و حسن‌پورعزتی مجید (۱۳۸۶). بررسی اثر ضد التهابی گیاه گزنه دوپایه در موش‌های صحرایی نر، فصل نامه گیاهان دارویی. سال ششم، ۲ (۲۲)، صفحات ۵۳-۴۶.

۳- خوری وحید، نایب‌پور محسن و میرعباسی عباس (۱۳۸۶). نقش پمپ سدیم- پتاسیم وابسته به انرژی در اثرات عصاره هیدروالکلی ریشه گزنه بر روی گره دهلیزی بطنی جدا شده خرگوش نر، مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران. ۱۷ (۶۱)، صفحات ۲۹-۲۰.

۴- دوستار یوسف و مهاجری داریوش (۱۳۸۸). اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره دانه انگور در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین، مجله تحقیقات علوم پزشکی زاهدان. ۱۲ (۱)، صفحات ۱۴-۹.

- 11- Bendich A. and Brock P.E. (1997). Rational for introduction of long chain polyunsaturated fatty acid and for concomitant in infant formulas The Journal of Vitaminy. Nutrition Research, 67: 213-231.
- 12- Bertuglia S., Malandrino S. and Colantuoni A. (1995). Effect of ischemia reperfusion injury in anthocyanosides myrtillus Vaccinium species in hamster pouch microcirculation. Pharmacology Research, 31 (3 / 4): 183-7.
- 13- Boots Agnes W. and Haenen Guido R.M.M. (2002). Oxidative damage shifts from lipid peroxidation to thiol arylation by catechol-containing antioxidants. Biochemistry, 1583: 279-284.
- 14- Forrest K.Y., Maser R.E. and Pambianco G. (1997). Hypertension as a risk factor for diabetic neuropathy; prospective study. Diabetes, 46: 665-670.
- 15- Gerad S. (2007). Diabetic Neuropathy Nature Clinical Practice. Neurology, 3(6): 331-340
- 16- Gutiérrez R., Diaz S. and Reyes I. (2010). Anti-glycation Effect of Spices and Chilies Uses in Traditional Mexican Cuisine. Journal of Natural Products, 3: 95-102.
- 17- Ismail C. and Yasin T. (2007). Elevation Protective Role of Camellia sinensis and Urtica dioica Infusion against Trichloroacetic Acid-Exposed in Rats. Phytother Research, 21: 1039-44.
- 18- Joseph J.A., Shukitt-Hale B, Denisova N.A., Bielinski D. and Martin A. (1999). Reversals of age-related decline in neuronal signal transduction, cognitive, and motor behavioral deficits with blueberry, spina strawberry dietary supplementation. Journal Neurosciences, 15, 19 (18): 8114-21.
- 19- Nakamura J. and Kato K. (1999). A protein kinase c-B – selective inhibitor ameliorates neural dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. Diabetes, 48: 2090-95.
- 20- Rodriguez L., Reyes-Esparza J., Burchielb S. and Herrera-Ruiza, D. (2008). Risks and Benefits of Commonly used Herbal Medicines in México, Toxicology Pharmacology, 227(1): 125-135.
- 21- Roriguse F. and sassohl V.P. (2006). Streptozotocin induced diabetes as a Model of phrenic nerve neuropathin rats. Journal Neuroscience Methods, 151: 131-138.
- 22- Rui A. and Ghos M. (2003). Resiniferatoxin and Tactile Allodynia Induce Paradoxical Sensitivities in Rat: Mechanism of Action. Journal of Neuroscience, 23(7): 2911-19.
- 23- Sayyed S.G., Kumar A. and Sharma SS. (2006). Effects of U83836E on nerve functions, hyperplasia and Oxidative stress in experimental diabetic neuropathy. Life Sciences, 79: 777-783.
- 24- Tanenberg R. and Medical B. (2007). Diabetic Peripheral Neuropath. Journal of Clinical Review Article, 42(7): 1-8.
- 25- Testai L., Chericoni S., Calderone V. and Wencioni G. (2002). Nierip Cardiovascular effects of urtica dioical root extracts, In vitro and in vivo pharmacological studies. Journal of Ethnopharmacology, 81: 105-109.
- 26- Xiaorui Z. (1999). Role of the WHO monographs on selected medicinal plants. World Health Organization, 2: 329-341.