

بررسی تاثیر حجامت (wet cupping) بر پارامترهای هماتولوژی در موش سوری (BALB/C)

زهرا آئینی، امین افصحی*، حسین رضوان

دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا همدان

چکیده

سابقه و هدف: حجامت یکی از روش‌های درمانی طب سنتی است که علیرغم تاثیرگذار بودن آن در پیشگیری و درمان بیماری‌ها، مکانیسم حقیقی و نحوه تاثیرگذاری آن کاملاً شناخته شده نیست. به منظور تعیین تاثیر یک و دو بار حجامت بر پارامترهای هماتولوژی، این تحقیق بر روی موش سوری (BALB/C) در سال ۱۳۹۱ در دانشگاه بوعلی سینا همدان انجام شد.

روش بررسی: تحقیق به روش تجربی روی ۲۴ سر موش سوری (BALB/C) در سه گروه انجام گرفت. شاخص‌های هماتولوژی گلبولهای سفید، لنفوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها، گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و پلاکت‌ها تعیین و گروه تجربی ۱ یک بار، و گروه تجربی ۲ دو بار و به فاصله ۱۰ روز پس از حجامت اول با روش مذکور حجامت شده و گروه شاهد نیز بدون حجامت نگه داری شدند. بعد از هفته اول و دوم دوباره شاخص‌های هماتولوژی اندازه‌گیری شده و با آزمون ANOVA مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: میزان RBC در روز ۱۴ در گروه شاهد 10.7 ± 0.36 ، در گروه تجربی اول 9.9 ± 0.23 و گروه تجربی دوم 11.1 ± 0.16 بود ($P < 0.05$). همچنین میزان هماتوکریت در گروه شاهد 47.7 ± 0.61 ، تجربی اول 45.6 ± 1.1 و تجربی دوم 51.0 ± 0.66 اندازه‌گیری شد که افزایش معنی‌داری در گروه دوبار حجامت را نشان داد. سایر شاخص‌ها در روزهای ۷ و ۱۴ اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که حجامت در موش سوری با گذشت زمان موجب افزایش شاخص‌های RBC و هماتوکریت می‌شود و احتمالاً می‌تواند در درمان کم‌خونی ناشی از بیماری‌های مزمن کلیوی موثر باشد. در نهایت، بررسی اثر حجامت بر هورمون اریتروپویتین و اثرات ناشی از آن در درمان کم‌خونی ناشی از بیماری مزمن کلیوی پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: حجامت، موش سوری، هماتوکریت، گلبول قرمز.

مقدمه

خون‌گیری از آن قسمت انجام می‌شود. زمانی که بادکش به تنهایی ایجاد شود، حجامت گرم و خشک (Dry Cupping) نامیده می‌شود و زمانی که پس از بادکش به وسیله ایجاد خراش سطحی روی پوست در سطح اپی درم و بادکش مجدد، از بدن خون گرفته شود حجامت تر (Wet Cupping) نامیده می‌شود (۶،۷). در ایران حجامت همواره جایگاهی ویژه در فرهنگ مردم داشته و به عنوان سنتی موکد، جزء اعتقادات آنان بوده است. ابوعلی سینا در کتاب قانون، تقریباً برای درمان تمام بیماری‌ها بادکش و حجامت را تجویز نموده و آن را یکی ارکان درمان معرفی

طب سنتی ایرانی-اسلامی، دانش طبی جامع و پویایی است که ریشه‌های آن به پیش از ۸۰۰۰ سال قبل از میلاد مسیح باز می‌گردد (۱-۳). حجامت یکی از روش‌های درمانی طب سنتی ایران، برای بازگرداندن و احیای تعادل در ارگانیسم می‌باشد (۴،۵). این عمل به صورت ایجاد مکش در مواضع خاصی از بدن و

آدرس نویسنده مسئول: همدان، دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا همدان، امین افصحی

(e-mail: amin.afsahi101@gmail.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۹/۱۹

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۷/۳۰

این مدت، موش‌ها به آب و غذا آزادانه دسترسی داشتند. گروه تجربی ۱، یک بار و گروه تجربی ۲، دو بار و به فاصله ۱۰ روز پس از حجامت اول، حجامت شده و گروه شاهد نیز بدون حجامت نگه داری شد.

قبل از شروع آزمایش از هر یک از موش‌ها مقدار ۱ میلی‌لیتر خون از ناحیه دم اخذ و برای ارزیابی تعداد کل گلبول سفید خون، لنفوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها، گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و پلاکت به لوله آزمایش استریل حاوی ماده ضد انعقاد EDTA انتقال یافت.

برای انجام حجامت در موش سوری، ابتدا موهای قسمت ساکراکاملا تراشیده شد. سپس ناحیه مورد نظر پس از ضدعفونی با الکل، به ژل لوبرکانانت آغشته گردید تا مرحله بادکش بهتر صورت پذیرد. برای مقید کردن حیوان، یک سوم پائینی دم توسط فرد دیگری نگه داشته شده و نفر دوم با انگشت شصت و اشاره یک دست پشت گردن حیوان را گرفته و با دست دیگر عمل حجامت صورت پذیرفت (شکل ۱).



شکل ۱. نحوه مقید کردن موش جهت انجام حجامت

برای شروع حجامت، ابتدا موضع را ۳۰ ثانیه با استفاده از لیوان مخصوصی با قطر ۲ سانتی‌متر، بادکش نموده و سپس بادکش برداشته شده و با استفاده از تیغ جراحی استریل شماره ۱۱، حدود ۱۴ شیار به طول ۰/۱ سانتی‌متر در ناحیه مذکور ایجاد شد. پس از ایجاد خراش نیز یک مرحله بادکش به مدت ۱ دقیقه انجام و خون خارج شده تمیز گردید. در پایان کار نیز محل حجامت با استفاده از عسل پانسمان شد.

بعد از ۷ و ۱۴ روز، دوباره خون‌گیری به روش گفته شده صورت گرفته و ۷ شاخص هماتولوژی با استفاده از دستگاه سل کانتر دیاترون (Abacus) اندازه‌گیری و مقادیر در سه گروه و زمان‌های پیگیری به وسیله نرم افزار SPSS و آزمون

می‌نماید (۳،۸). زکریای رازی از حجامت برای درمان زکام و آلرژی بهره برده است (۹). حکیم جرجانی نیز در کتاب ذخیره خوارزمشاهی که اولین و مهم‌ترین کتاب طب سنتی به زبان فارسی است، فصل مشخصی را به حجامت اختصاص داده و پیرامون قواعد و زمان مناسب آن سخن می‌گوید (۵).

علیرغم تاثیرگذار بودن حجامت در پیشگیری و درمان بیماری‌های انسانی از گذشته تا به حال، هنوز مکانیسم حقیقی و نحوه تاثیرگذاری آن، کاملاً مشخص نبوده و فقط به فرضیات و هیپوتزهایی پیرامون آن بسنده شده است (۱۰).

مدل حیوانی به دلایل مختلفی از جمله سهولت در استفاده، کم هزینه بودن و نداشتن معذورات اخلاقی کار با انسان، به وسیله محققین و دانشمندان به طور گسترده‌ای در تحقیقات استفاده می‌شود. علاوه بر این از مدل حیوانی در یافتن روش‌های درمانی و داروهای جدید و همچنین کارایی داروها قبل از استفاده در انسان نیز استفاده می‌گردد (۱۴-۱۱).

شاید یکی از دلایل عدم وجود تحقیقات دقیق و گسترده در زمینه حجامت، محدودیت در عدم وجود مدل حیوان آزمایشگاهی مناسب برای انجام آزمایشات گسترده در این زمینه باشد، زیرا با وجود تحقیقات مختلفی که در گوشه و کنار دنیا در مورد حجامت و اثرات درمانی آن صورت گرفته، هنوز مدل حیوان آزمایشگاهی مناسبی برای آن طراحی نشده است. استفاده از مدل آزمایشگاهی می‌تواند در مطالعه مکانیسم‌های مختلف حجامت و احتمالاً یافتن تاثیر مثبت آن در درمان برخی بیماری‌های انسان سودمند باشد (۱۴-۱۱).

لذا به منظور تعیین تاثیر یک بار و دو بار حجامت با فاصله ۱۰ روز بر شاخص‌های هماتولوژی (گلبول‌های سفید، لنفوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها، گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و پلاکت) این تحقیق بر روی موش سوری (BALB/C) در سال ۱۳۹۱ در دانشگاه بوعلی سینا همدان انجام پذیرفت.

مواد و روشها

این تحقیق به روش تجربی و در دانشگاه بوعلی سینا همدان در سال ۱۳۹۱ انجام پذیرفت. تعداد ۲۴ سر موش سوری با سن ۸ هفته از دانشگاه علوم پزشکی همدان تهیه و در بخش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا مطابق با استانداردهای پرورش حیوانات آزمایشگاهی و در دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و نور با تناوب روشن - خاموش ۱۲:۱۲ رشد و پرورش داده شدند. موش‌ها به طور تصادفی در ۳ گروه تقسیم شدند: یک گروه شاهد و دو گروه تجربی. در

ANOVA مورد قضاوت آماری قرار گرفت. سطح معنی‌دار داده‌ها $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تحقیق به روش تجربی روی ۲۴ سر موش سوری و در سه گروه شاهد، یک بار حجامت و دوبار حجامت انجام گرفت. همه موش‌ها بعد از حجامت زنده مانده و آزادانه در قفس حرکت کرده و آب و غذا مصرف می‌کردند.

پارامترهای هماتولوژیکی حیوان بر حسب روزهای پیگیری و به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه گردیده که نشان می‌دهد اختلاف معنی‌داری بین میزان گلبول سفید کل (WBC)، لنفوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها، پلاکت‌ها و هموگلوبین در سه گروه شاهد، گروه یک بار حجامت و گروه دو بار حجامت در روزهای ۷ و ۱۴ آزمایش وجود ندارد. میزان سطح RBC در گروه دو بار حجامت، به طور معنی‌داری در روز ۱۴ بالاتر بود ($p < 0/01$). همچنین مقایسه سطح هماتوکریت (HCT) در گروه‌های مورد آزمایش نیز نشان داد که سطح این فاکتور در گروه دوبار حجامت، در روز ۱۴ به طور معنی‌داری بالاتر است ($p < 0/04$).

بحث

تحقیق حاضر نشان داد که انجام دوبار حجامت موجب افزایش میزان RBC و هماتوکریت می‌شود، ولی روی سایر شاخص‌های مورد مطالعه تاثیر معنی‌داری ندارد. این مطالعه بر اساس جستجو در بانک‌های اطلاعاتی معتبر (science direct, magiran و pubmed) برای اولین بار انجام شده و تا به حال

اثر حجامت روی شاخص‌های هماتولوژی در موش سوری بررسی نشده که مورد بحث قرار گیرد.

در سال‌های اخیر، مطالعات زیادی در مورد اثر حجامت بر درمان برخی از بیماری‌ها از جمله هرپس زوستر صورت گرفته است و نتایج این مطالعات نشان می‌دهند که انجام حجامت نسبت به داروهای مورد استفاده در این تحقیقات اثر بهتری در درمان بیماری هرپس زوستر دارد (۱۷-۱۵). همچنین نتایج حاصل از مطالعات صورت گرفته بر روی اثر حجامت بر درمان فلج صورت (فلج بل) نیز نشان می‌دهد که درمان ترکیبی حجامت با طب سوزنی و یا داروهای نوروتروفیک، در مقایسه با درمان به تنهایی با روش‌ها و داروهای مورد مطالعه، اثر قابل توجهی دارد (۱۲، ۱۵، ۱۸).

همچنین بررسی مطالعات صورت گرفته بر روی اثر حجامت بر درمان آکنه (جوش) نشان می‌دهد که حجامت اثر مطلوب‌تر و بهتری نسبت به داروهای مثل تتراسایکلین و کتوکونازول در درمان این بیماری دارد (۱۵، ۲۱-۱۹).

مطالعات مختلف دیگری نیز به بررسی اثر حجامت بر اسپوندیلوز، سردرد میگرنی، آسم، روماتوئید، کمردرد و ... پرداخته‌اند. نتایج حاصل از این تحقیقات نیز به تاثیر گذاری مثبت حجامت در درمان این بیماری‌ها نیز اشاره دارد (۲۲، ۲۳).

علیرغم مطالعات متعدد صورت گرفته در زمینه اثر حجامت بر درمان بیماری‌های مختلف انسان، همواره محدودیت‌های پیش رو در نمونه‌گیری و جلب رضایت افراد داوطلب، خارج شدن عده‌ای از افراد مورد مطالعه در طول تحقیق به علت‌های مختلف و کافی نبودن تعداد افراد و نمونه‌های مورد بررسی، از دغدغه‌ای اصلی محققان در این زمینه بوده است (۱۰). لذا با

جدول ۱. میزان پارامترهای هماتولوژی بر حسب روزهای مورد بررسی و به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه

روز	گروه	RBC	HGB	HCT	WBC	لنفوسیت	گرانولوسیت	پلاکت
۰	شاهد	۱۱/۲±۰/۱۶	۱۵/۱±۰/۴۴	۴۹/۳±۰/۹۳	۲۳/۴±۱/۶	۱۵/۴±۰/۳۴	۶/۶±۰/۹۵	۸۵۵±۲۴۸
	یک بار حجامت	۱۱/۱±۰/۲۲	۱۵/۵±۰/۵۶	۴۹/۲±۱/۵	۲۳/۹±۱/۴	۱۴/۸±۰/۸۸	۸/۱±۱/۶	۸۸۱±۲۳۳/۹
	دو بار حجامت	۱۰/۹±۰/۲۳	۱۵/۱±۰/۴۵	۵۰/۶±۱/۸	۲۲/۷±۱/۴	۱۴/۸±۰/۶۶	۸/۱±۱/۶	۷۹۷±۱۳۰
۷	شاهد	۱۱/۳±۰/۲۷	۱۵/۹±۰/۳۶	۴۹/۶±۱/۴	۲۵/۸±۱/۸	۱۶/۷±۱/۴	۹/۳±۱/۹	۹۴۱±۲۰۳/۹
	یک بار حجامت	۱۱/۴±۰/۵۵	۱۶/۷±۰/۳۶	۵۰±۱/۷	۲۸/۵±۳/۳	۱۴/۸±۲/۴	۱۳/۵±۱/۳	۵۹۹±۹۷/۲
	دو بار حجامت	۱۲/۳±۰/۴۹	۱۷/۴±۰/۵	۵۳±۱/۸	۲۵/۹±۱/۹	۱۸±۲/۷	۶/۸±۱/۹	۵۶۶±۱۳۶/۳
۱۴	شاهد	۱۰/۷±۰/۳۶	۱۵/۲±۰/۶۵	۴۷/۷±۰/۶۱	۲۳/۶±۳/۲	۱۶/۲±۰/۱	۶±۱/۷	۳۳۳±۸۰/۷
	یک بار حجامت	۹/۹±۰/۲۳	۱۵/۸±۰/۲۳	۴۵/۶±۱/۱	۲۷/۵±۲/۲	۱۸/۶±۰/۴	۸/۸±۳/۳	۷۶۴±۱۶۸/۲
	دو بار حجامت	*۱۱/۱±۰/۱۶	۱۶/۳±۰/۱۴	*۵۱±۰/۶۶	۳۱/۸±۲/۸	۲۳/۲±۲/۸	۶/۹±۱/۲	۸۲۱±۱۵۷/۷

های لنفاوی (renal و iliac inguinal, Popliteal) مطابقت دارد و با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد بادکش این ناحیه و التهاب ایجاد شده ناشی از آن می‌تواند تحریک و فعال شدن سیستم ایمنی را نیز به دنبال داشته باشد.

تحقیقات صورت گرفته در زمینه حجامت، در نمونه انسانی نشان می‌دهد که یک بار حجامت در ناحیه بین دو کتف، پس از دو هفته سطح گلبول های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد (۱۸).

نتایج این تحقیق بر خلاف نتایج بدست آمده در مورد انسان، افزایش معنی‌داری در سطح گلبول قرمز و هماتوکریت (HCT) در گروه دو بار حجامت را نشان داد. همچنین سطح هموگلوبین نیز در این گروه بالاتر بود، اگرچه آنالیز آماری اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. این اختلاف می‌تواند ناشی از اختلاف در روش انجام حجامت در موش سوری و یا اختلاف در مدل حیوانی و انسانی باشد. مطالعات صورت گرفته برای مقایسه خون حاصل از حجامت و خون گیری وریدی در انسان نشان می‌دهد که سطح گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین به طور معنی‌داری در خون حاصل از حجامت بالاتر است (۱،۱۸). به علاوه، مورفولوژی گلبول‌های قرمز خون حاصل از حجامت در مقایسه با خون وریدی متفاوت بوده که نشان دهنده نقش مهم حجامت در دفع گلبول‌های قرمز پیر است که نیازمند تحقیقات بیشتری در این زمینه می‌باشد (۴).

کتاب طب سنتی برای حجامت مواضع متفاوتی را نام برده و برای هر موضع هم اثرات درمانی خاصی را ذکر کرده‌اند (۵،۸). با توجه به نتایج به دست آمده و نیز توجه به این مطلب که ناحیه حجامت شده در موش با محل آناتومیک کلیه حیوان در ارتباط بوده، به نظر می‌رسد که فشار منفی ناشی از بادکش حجامت بر این عضو و متعاقباً بر تولید اریتروپویتین اثر گذاشته و در نهایت موجب تحریک خون سازی و افزایش گلبول های قرمز گردیده است که نیازمند مطالعات تکمیلی است (۳۰،۳۱).

در نهایت، نتایج این تحقیق در امکان انجام حجامت در مدل حیوانی موش سوری، می‌تواند راه را برای سایر تحقیقات در این زمینه و همچنین بررسی اثر حجامت بر هورمون اریتروپویتین و اثرات ناشی از آن از جمله بالا رفتن سطح هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول قرمز و درمان کم خونی ناشی از بیماری مزمن کلیوی هموار نماید.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از ریاست محترم دفتر استعداد های درخشان دانشگاه بوعلی سینا جناب آقای دکتر فیضی و جناب آقای

توجه به این محدودیت‌ها، به نظر می‌رسد طراحی یک مدل حیوانی مناسب بتواند به حل مشکلات یاد شده کمک نماید.

امروزه مدل‌های حیوانی جهت انجام تحقیقات بیولوژی و یافتن روش های درمانی و داروهای جدید و تست کارایی آنها قبل از استفاده در انسان به دلایل مختلف از جمله آسانی کار، کم هزینه بودن و نداشتن معذورات اخلاقی کار با انسان به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند. (۱۱، ۱۳، ۲۶-۲۴) تخمین زده شده است که در دنیا سالانه بین ۱۰-۱۰۰ میلیون حیوان به عنوان مدل آزمایشگاهی در مطالعات زیست شناسی، ژنتیک، زیست پزشکی، تست سم شناسی، مطالعات رفتاری و همچنین یافتن روش های درمانی و داروهای جدید و کارایی داروها قبل از استفاده در انسان مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲۷).

شکارفروش و همکاران در سال ۲۰۱۲ به منظور بررسی اثر حجامت بر فاکتورهای همودینامیک، آریتمی و اندازه انفارکت پس از آسیب ناشی از ایسکمی از رت به عنوان یک مدل آزمایشگاهی استفاده کردند (۲۸).

در مطالعه حاضر نیز جهت بررسی اثر حجامت (wet cupping) بر پارامترهای هماتولوژی از مدل حیوانی موش سوری (BALB/C) استفاده شد.

نتایج این مطالعه روند افزایشی سطح گلبول سفید تام و لنفوسیت ها را در گروه دوبار حجامت نسبت به گروه شاهد در روز های پس از حجامت نشان می‌دهد، اگرچه این افزایش از نظر آنالیز آماری معنی دار نیست.

در این رابطه مطالعات احمد و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی اثر حجامت بر درمان روماتوئید و تاثیر آن بر سطح برخی فاکتورهای ایمنی نیز نشان داد که سطح گلبول سفید تام در گروه درمان شده با حجامت پس از یک ماه افزایش می‌یابد (۲۹). مطالعات مهدوی و همکاران نیز، افزایش قابل توجهی در سطح لنفوسیت، تا دو هفته بعد از حجامت نشان نداد ولی مقایسه نمونه قبل و ۲ هفته بعد از حجامت، افزایش اندکی در سطح گلبول سفید تام خون را نشان داد (۱۸). لذا به طور کلی با توجه به نتایج این مطالعه و مطالعات صورت گرفته به نظر می‌رسد که تکرار حجامت می‌تواند افزایش کمی را در سطح لنفوسیت‌ها و سایر گلبول‌های سفید خون به دنبال داشته باشد.

با توجه به اینکه لنفوسیت‌ها نقش بسیار مهمی در ایمنی اختصاصی بدن به عهده داشته و از عناصر کلیدی و تعیین کننده در سیستم دفاعی محسوب می‌شوند و نیز از آنجایی که ناحیه حجامت شده در این مطالعه با محل تجمع سلول-

دکتر میرزایی، عضو انجمن حجامت ایران که در اجرای این طرح ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Danyali F, VaezMahdavi MR, Ghazanfari T, Naseri M. Comparison of the biochemical, hematological and immunological factors of "cupping" blood with normal venous blood. *Physiology and Pharmacology* 2009; 13 :78 – 87. [In Persian]
2. Elgood C, Editor. A medical history of Persian and the Eastern Caliphate. Tehran: Amir Kabir Publication; 1992. [In Persian]
3. Naseri M, Rezaei zade H, Chopani R, Anoshirvani M, Editors. General overview of traditional medicine Iran. 3rd ed. Tehran: Nashr Shahr Publication; 2007. [In Persian]
4. Allameh Shaykhoo, Editor. Davaolajib. Mashad: Razavieh Publication; 2008. [In Persian]
5. Jorjani SE, Editor. Zakhireh Kharazmshahi. Corrected by Moharrari MR. Tehran: The Academy of Medical Sciences; 1997. [In Persian]
6. Ahmadi A, Schwebel DC, Rezaei M. The efficacy of wet-cupping in the treatment of tension and migraine headache. *Am J Chinese Med* 2008; 36: 37– 44.
7. Lüdtke R, Albrecht U, Stange R, Uehleke B. Brachialgia paraesthetica nocturna can be relieved by “wet cupping”– results of a randomized pilot study. *Complement Ther Med* 2006 :14:247-53.
8. Avicenna, Editor. Al-Qanun fi Al-teb. Hatamy H, Program designer. Tehran: Soroush Publications; 1997. [In Persian]
9. Najm abadi M, Editor. Medical history of Iran and Islamic world. Tehran University Publications; 1993. [In Persian]
10. Zarif kar A, Amir ghofran Z, Habibi H, Mansori R. Effect of wet cupping on serum antibodies against antigens HBS after vaccination against hepatitis B. *Traditional Islam and Iran* 2010;1:259-63. [In Persian]
11. Vakili A. A review of methods to create transient stroke in laboratory animals: a variety of models, the evaluation of brain lesions and neurological disorders. *Journal of Semnan University of Medical Sciences* 2006;8: 1- 10. [In Persian]
12. Pe´rez-Cano FJ, Franch AN, Castellote C, Castell M. The suckling rat as a model for immunonutrition studies in early life. *Clin Dev Immunol* 2012;5:373-10.
13. Mitchell K, Huang ZJ, Moghaddam B, Sawa A. Following the genes: a framework for animal modeling of psychiatric disorders. *BMC Biol* 2011;9:10.1186/1741-7007.
14. Eddouks M, Chattopadhyay D, Zeggwagh NA. Animal models as tools to investigate antidiabetic and anti-inflammatory plants. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012; 2012:142087.
15. Cao H, Li X, Liu J. An updated review of the efficacy of cupping therapy. *PLoS ONE* 2012; 7: e31793.
16. Cao H, Zhu C, Liu J. Wet cupping therapy for treatment of herpes zoster: a systematic review of randomized controlled trials. *Altern Ther Health Med* 2010;16:48-54.
17. Cao H, Han M, Li X, Dong SH, Shang Y, Wang Q, et al. Clinical research evidence of cupping therapy in China: a systematic literature review. *Complement Alternat Med* 2010: 10.
18. Vaez Mahdavi MR, Ghazanfari T, Aghajani M, Danyali F, Naseri M. Evaluation of the effects of traditional cupping on the biochemical, hematological and immunological factors of human venous blood. In: Bhattacharya A, Editor. A compendium of essays on alternative therapy. 1st ed. USA: InTech Publisher; 2012. P.67 – 88.
19. Liu CZ, Lei B, Zheng JF. Randomized control study on the treatment of 26 cases of acne conglobata with encircling acupuncture combined with venesection and cupping. *Zhen Ci Yan Jiu* 2008; 33:406-408.
20. Pan H. Thirty-two cases of acne treated with blood-letting puncture, cupping and Chinese-drug facemask. *J Tradit Chin Med*. 2005; 25:270-72.
21. Song SJ. Observation on therapeutic effect of ear point blood-letting combined with cupping on Back-shu points for treatment of acne vulgaris. *Zhongguo Zhen Jiu* 2007;27:626-28.
22. Farhadi K, Schwebel DC, Saeb M, Choubsaz M, Mohammadi R, Ahmadi A. The effectiveness of wet-cupping for nonspecific low back pain in Iran: a randomized controlled trial. *Complement Ther Med* 2009; 17:9-15.
23. Kim TH, Basargard L, Kim JI, Lee MS. Mongolian traditional style blood-letting therapy: a brief introduction. *Complement Ther Clin Pract* 2011;17:179-83.
24. Lee CM, Boileau AC, Boileau TWM. Review of animal models in carotenoid research. *J Nutr* 1999;129:2271-77.

25. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Union L276/33-79 (20.10.2010).
26. Hakraborty C, Hsu HC, Wen CH, Lin ZH, Agoramoorthy CS. Zebrafish: a complete animal model for in vivo drug discovery and development. *Curr Drug Metabol* 2009;10: 116–24.
27. Cohn M. Alternatives to animal testing gaining ground. *The Baltimore Sun*, 26 August 2010.
28. Shekarforoush Sh, Foadoddini M, Noroozadeh A, Akbarinia H, Khoshbaten A. Cardiac effects of cupping: myocardial infarction, arrhythmias, heart rate and mean arterial blood pressure in the rat heart. *Chinese J Physiol* 2012; 55: 253-58.
29. Ahmed SM, Madbouly NH, Maklad SS, Abu-Shady EA. Immunomodulatory effects of bloodletting cupping therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Egypt J Immunol* 2005;12:39-51.
30. Ghasemi A, Mohammadi M, Translator. *Guyton & Hall medical physiology*. Tehran: Khosravi Publication; 2011. [In Persian]
31. Mirazi N. *Animal physiology*. Hamedan: Bu-Ali Sina University Publication; 2008. [In Persian]