



ผลของวิตามินอีต่อการตายของเซลล์ประสาทในปมประสาทไขสันหลังและ การงอกใหม่ของเส้นประสาทภายหลังการบาดเจ็บในหนูแรท

จุฑามาศ ดอกแก้ว*, สิทธิพร แยกทอง

บทคัดย่อ

ผลของวิตามินอีต่อการตายของเซลล์ประสาทในปมประสาทไขสันหลังและการงอกใหม่ของเส้นประสาทภายหลังการบาดเจ็บในหนูแรท

จุฑามาศ ดอกแก้ว*, สิทธิพร แยกทอง

บทนำ : เมื่อเส้นประสาทได้รับบาดเจ็บ จะเกิดกระบวนการเสื่อมสลายของเส้นประสาท เรียกว่า Wallerian degeneration และจะเกิดการงอกใหม่ของเส้นประสาทได้เอง (nerve regeneration) แต่มักใช้เวลานานและมีการตายของเซลล์ประสาทเกิดขึ้น นอกจากนี้ภาวะเส้นประสาทบาดเจ็บก็มีการพบภาวะ oxidative stress ด้วย จึงมีการพัฒนาวิธีการรักษา เพื่อให้การงอกใหม่มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น วิตามินอีมีคุณสมบัติที่ช่วยลดการเกิดภาวะ oxidative stress ในงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการพบผลดีของวิตามินอีในการรักษาโรคทางระบบประสาทที่เป็นผลจาก oxidative stress วิตามินอีจึงน่าจะมีผลดีต่อภาวะเส้นประสาทบาดเจ็บ ดังนั้น วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้ เพื่อศึกษาผลของวิตามินอีต่อการสูญเสียเซลล์ประสาทรับความรู้สึกในปมประสาทไขสันหลัง (DRG) และการงอกใหม่ของ axon (axonal regeneration) ภายหลังการบาดเจ็บของเส้นประสาท **วัสดุและวิธีการ :** การศึกษาแรกทำการหนีบเส้นประสาท sciatic ที่ขาข้างซ้ายของหนู และป้อนวิตามินอีเข้าทางปาก ขนาด 100, 500 และ 1,000 mg/kg/day เป็นระยะเวลา 10 วัน แล้วทำการนับจำนวนเซลล์ประสาทในปมประสาทไขสันหลังที่ระดับ L4 จากนั้นเลือกวิตามินอีขนาด 500 mg/kg/day มาศึกษาต่อในการทดลองที่ 2 โดยหนีบเส้นประสาท sciatic เหมือนการทดลองแรก แต่ใช้เวลานานกว่าที่ 3 สัปดาห์ แล้วทดสอบการคืนหน้าที่ในการสั่งการของเส้นประสาท sciatic โดยวัดจากรอยพิมพ์เท้าหนูเพื่อคำนวณค่า Sciatic functional index (SFI) และศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของเส้นประสาท sciatic **ผลการศึกษา :** การศึกษาแรกพบว่า วิตามินอีขนาด 500 และ 1,000 mg/kg/day ช่วยบรรเทาการลดลงของจำนวนเซลล์ประสาทในปมประสาทไขสันหลังได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่ม 100 mg/kg/day และกลุ่มควบคุม การศึกษาที่ 2 พบว่า วิตามินอีขนาด 500 mg/kg/day ไม่มีผลต่อการคืนหน้าที่ของเส้นประสาทสั่งการของเส้นประสาท sciatic แต่ในลักษณะทางจุลกายวิภาค พบว่า สามารถช่วยเพิ่ม fiber density ใน segment ที่ 2 และ 3 และเพิ่มจำนวน myelinated nerve fiber ใน segment ที่ 3 ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งบ่งชี้ถึงการงอกใหม่ของเส้นประสาท sciatic **สรุปผล :** วิตามินอีมีผลดีในภาวะเส้นประสาทบาดเจ็บ โดยช่วยบรรเทาการลดลงของจำนวนเซลล์ประสาทใน DRG และให้ผลดีต่อการงอกใหม่ของเส้นประสาท sciatic

คำสำคัญ : วิตามินอี, ภาวะเส้นประสาทบาดเจ็บ, oxidative stress

Abstract

Effect of vitamin E on dorsal root ganglion neuronal death and nerve regeneration after nerve injury in rats

Dokkaew J*, Agthong S

Introduction : After nerve injury, there is degeneration of nerve fibers called Wallerian degeneration followed by nerve regeneration. However, the recovery is limited by slow axonal regeneration and neuronal cell death. To improve the regeneration, many drugs have been testing. Vitamin E has antioxidant property which can reduce oxidative stress. In the past, several studies have shown the benefits of vitamin E in nervous system disorders in which oxidative stress plays a causal role. Oxidative stress is also found after nerve injury. Therefore, vitamin E may be beneficial to nerve injury. The aim of

*ติดต่อผู้พิมพ์ : โทร 081-023-4396, 083-980-7471, E-mail j_jorjia@hotmail.com

*Corresponding author : Tel. 081-023-4396, 083-980-7471, E-mail j_jorjia@hotmail.com

this study was to test the effect of vitamin E on dorsal root ganglion neuronal death and nerve regeneration after nerve injury in rats. **Material and method :** Study1 Crushing the left sciatic nerve, vitamin E was given via gavage in a dose of 100, 500 and 1,000 mg/kg/day for 10 days. L4 DRG neurons was counted The next study used the same nerve injury model with vitamin E 500 mg/kg/day treatment for 3 weeks. Then, the functional recovery of sciatic nerve was tested by measuring foot prints for calculating the Sciatic functional index (SFI) and measure morphometry of sciatic nerve. **Results :** Study1 Vitamin E 500 and 1,000 mg/kg/day significantly reduced neuronal cell loss in DRG ($p<0.01$) compared with 100 mg/kg/day and control group. Study 2 showed that vitamin E 500 mg/kg/day did not significantly improve the functional recovery. However, in the nerve morphometry study, fiber density in segment 2 and 3 and myelinated nerve fiber in segment 3 were significantly increased in the vitamin E group ($p<0.05$) compared with the control group which indicated the nerve regeneration. **Conclusion :** These data show the benefits of vitamin E on nerve injury by reducing neuronal cell loss and enhancing nerve fiber regeneration.

Keyword : Vitamin E, nerve injury, oxidative stress

บทนำ

ภายหลังการบาดเจ็บของเส้นประสาท เส้นประสาทสามารถงอกใหม่ได้ แต่มักใช้เวลานานและการคืนหน้าที่มักไม่สมบูรณ์ จึงมีการพัฒนาวิธีการรักษา โดยการใช้สารเคมีหรือยาต่างๆรวมทั้งสารกลุ่ม antioxidant เพื่อช่วยลดระยะเวลาการงอกใหม่ของเส้นประสาท (nerve regeneration) และทำให้การงอกใหม่มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น วิตามินอีเป็นสารที่ละลายในไขมัน มีคุณสมบัติเป็น antioxidant ที่ช่วยลดการเกิดภาวะ oxidative stress ซึ่งภาวะนี้จะส่งผลให้เกิดการทำลายโมเลกุลของเซลล์ ในงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการพบผลดีของวิตามินอีในการรักษาโรคของสมอง เช่น โรคอัลไซเมอร์และโรคพาร์กินสัน สำหรับระบบประสาทส่วนปลาย วิตามินอีสามารถรักษาผลข้างเคียงของยารักษาเมเร็งต่อเส้นประสาทได้เป็นอย่างดี จากประโยชน์ข้างต้น วิตามินอี จึงน่าจะมีผลดีต่อภาวะเส้นประสาทบาดเจ็บ

วิธีดำเนินการวิจัย

ยาและสารเคมีที่ใช้ Corn oil จากบริษัท Sime Darby Edible Products Limited ซึ่งไม่มี vitamin E ผสมอยู่ และ Vitamin E จากบริษัท Sigma ชื่อสารเคมี คือ DL- α -Tocopherol acetate, Cat. No. T3376

การทดลองที่ 1 ผลของวิตามินอีต่อการลดลงของจำนวนเซลล์ประสาทในปมประสาทไขสันหลัง

ขั้นตอนการทดลอง

การแบ่งกลุ่มหนู โดยสุ่มเลือกแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว คือ

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม (control,C) ได้รับ vehicle

คือ corn oil

กลุ่มที่ 2 low E ได้รับ Vitamin E 100 mg/kg/day เจือจางใน corn oil

กลุ่มที่ 3 medium E ได้รับ Vitamin E 500 mg/kg/day เจือจางใน corn oil

กลุ่มที่ 4 high E ได้รับ Vitamin E 1,000 mg/kg/day เจือจางใน corn oil

จากนั้นทำให้หนูเกิดการบาดเจ็บโดยการหนีบเส้นประสาท sciatic โดยวางยาสลบหนู จากนั้นโกนขนที่ขาหลังและสะโพกด้านซ้ายและทาน้ำยาฆ่าเชื้อ ทำการผ่าตัดเปิดชั้นผิวหนัง แหวกก้ามเนื้อหาเส้นประสาทแล้วทำการหนีบเส้นประสาท sciatic ระดับกลางต้นขาโดยใช้ arterial clamp เป็นเวลา 30 วินาที ทำตำหนิบริเวณที่หนีบโดยใช้ไหมชนิดไม่ละลายเบอร์ 8/0 ผูกที่ชั้น epineurium และเย็บปิดผิวหนังด้วยไหมไม่ละลายเบอร์ 5/0 รอให้หนูฟื้น เมื่อหนูเริ่มรู้สึกตัวฟื้นดีแล้วเริ่มให้ยาด้วยการป้อนเข้าทางปาก (gavage) วันละ 1 ครั้ง ที่เวลาเดียวกัน เป็นระยะเวลา 10 วัน โดยให้ดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 หนูกลุ่มควบคุม ได้รับ vehicle=corn oil 2 ml/kg

กลุ่มที่ 2 ได้รับ Vitamin E =100 mg/kg

กลุ่มที่ 3 ได้รับ Vitamin E =500 mg/kg

กลุ่มที่ 4 ได้รับ Vitamin E =1,000 mg/kg

เมื่อครบกำหนด 10 วันหลังผ่าตัด ทำการ sacrifice หนู เพื่อเก็บปมประสาทไขสันหลัง (DRG) ระดับ L4 ทั้งข้างซ้ายและข้างขวานำมานับจำนวนเซลล์ประสาทใน DRG และเปรียบเทียบจำนวนเซลล์ประสาทใน DRG ระหว่างกลุ่มต่างๆ ด้วยการวิเคราะห์ทาง



สถิติ one-way ANOVA โดยถือความแตกต่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $p \leq 0.05$

การทดลองที่ 2 ผลของวิตามินอีต่อการงอกใหม่ของเส้นประสาท sciatic ทั้งในแง่การคืนหน้าที่และลักษณะทางจุลกายวิภาค

เนื่องจากการทดลองแรก ไม่สามารถประเมินด้าน motor ของเส้นประสาท sciatic ได้ จึงมาทำการศึกษาในการทดลองนี้ โดยระยะเวลาการบาดเจ็บที่นานขึ้น คือ 3 สัปดาห์ เพื่อประเมินการคืนหน้าที่ของเส้นประสาทสั่งการของเส้นประสาท sciatic และศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของเส้นประสาท sciatic ที่มีการงอกใหม่

ขั้นตอนการทดลอง

ทำการแบ่งกลุ่มหนู โดยสุ่มเลือกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุมมี 7 ตัว และกลุ่มวิตามินอีมี 8 ตัว แล้วทำการหนีบเส้นประสาท sciatic และให้ยาป้อนเข้าทางปาก (gavage) วันละ 1 ครั้ง ที่เวลาเดียวกัน เหมือนการทดลองแรก แต่ใช้เวลานานกว่าที่ 3 สัปดาห์ โดยให้ดังต่อไปนี้

กลุ่มควบคุม ได้รับ vehicle=corn oil 1 ml/kg

กลุ่ม Vitamin E ได้รับ vitamin E =500 mg/kg

เมื่อครบกำหนด 3 สัปดาห์หลังผ่าตัด ทำการประเมินการคืนหน้าที่ด้าน motor ของเส้นประสาท sciatic โดยวิธี Walking track analysis โดยป้อนหมึกสีเข้มที่เท้าทั้งสองข้างของหนู ให้หนูเดินตามกล่องจำกัดทางเดินแล้ววัดค่า Foot print length (PL), ค่า Toe spread (TS) และ ค่า Intermediate toe spread (ITS) บนรอยพิมพ์เท้าทั้ง 2 ข้างของหนู นำค่าดังกล่าวเข้าสู่สูตรคำนวณ Sciatic functional index (SFI) (Varejao *et al.*, 2001)

แล้วจึงทำการ sacrifice หนู เพื่อเก็บเส้นประสาท Sciatic นำมาศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาค

$$SFI = -38.3 \left[\frac{EPL-NPL}{NPL} \right] + 109.5 \left[\frac{ETS-NTS}{NTS} \right] + 13.3 \left[\frac{EIT-NIT}{NIT} \right] - 8.8$$

N = normal (Right) side

E = experiment (Left) side

และเปรียบเทียบค่า SFI และค่าลักษณะทางจุลกายวิภาคในเส้นประสาทระดับต่างๆ ระหว่างกลุ่มทดลอง ด้วยการวิเคราะห์ทางสถิติ Unpaired t-test โดยถือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $p \leq 0.05$

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ผลของวิตามินอีต่อการลดลงของจำนวนเซลล์ประสาทในปมประสาทไขสันหลัง

พบว่า vitamin E ช่วยบรรเทาการลดลงของจำนวนเซลล์ประสาทใน DRG ได้ ซึ่งขนาดที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด คือ 1,000 mg/kg/day รองลงมาคือ ขนาด 500 mg/kg/day ซึ่งทั้ง 2 ขนาด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มวิตามินอีขนาด 100 mg/kg/day และกลุ่ม control แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนเซลล์ประสาทใน DRG ระดับ L4 ในแต่ละข้าง รวมทั้ง % การลดลงของข้างซ้ายเมื่อเทียบกับข้างขวา

Group	Numbers of DRG		
	Right	Left	% Decrease
Control	19,660±660	13,458±299	31.5±1.2
Low Vitamin E	20,038±77	13,696±311	31.6±1.7
Medium Vitamin E	20,162±42	16,709±435	17.1±2.2*
High Vitamin E	20,115±230	17,396±363	13.5±1.3*

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SEM, * $p < 0.01$

การทดลองที่ 2 ผลของวิตามินอีต่อการงอกใหม่ของเส้นประสาท sciatic ทั้งในแง่การคืนหน้าที่และลักษณะทางจุลกายวิภาค

พบว่า vitamin E ขนาด 500 mg/kg/day ไม่มีผลต่อการคืนหน้าที่ของเส้นประสาทสั่งการของเส้นประสาท sciatic โดยค่า Sciatic functional index เฉลี่ยของกลุ่ม Control มีค่า -

30.6 ± 4.2 และในกลุ่ม Vitamin E มีค่า -31.1 ± 6.9 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มการทดลอง

ส่วนทางด้านจุลกายวิภาคของเส้นประสาท sciatic พบว่า ในกลุ่มวิตามินอี ค่า % ของด้านซ้ายต่อด้านขวาของค่า fiber density ใน segment ที่ 2 คือ 177.4 ± 10.0 และใน



segment ที่ 3 คือ 158.1 ± 12.7 เมื่อเทียบกับกลุ่ม control ซึ่งมีค่า 151.8 ± 3.6 และ 125.6 ± 6.0 ตามลำดับ และค่า total count ใน segment ที่ 3 ของกลุ่มวิตามินอี คือ 130.2 ± 7.9 เมื่อเทียบกับกลุ่ม control ซึ่งมีค่า 107.3 ± 2.5 แสดงให้เห็นว่าค่า % ของด้านซ้ายต่อด้านขวาของกลุ่มวิตามินอีใน nerve segment

ดังกล่าว มีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่ม control ส่วนใน segment ที่ 1 นั้น ค่าของกลุ่มวิตามินอีก็สูงกว่ากลุ่มควบคุมเช่นกัน เพียงแต่ไม่ถึงนัยสำคัญดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงค่าลักษณะทางจุลกายวิภาคของเส้นประสาท sciatic คำนวณเป็น % ของข้างซ้ายเทียบกับข้างขวา

Group	Fiber diameter (%L/R)	Axon diameter (%L/R)	Myelin thickness (%L/R)	G- ratio (%L/R)	Fiber density (%L/R)	Total count (%L/R)
Control						
Segment1	58.2 ± 1.9	64.7 ± 3.2	51.2 ± 2.1	108.1 ± 3.1	138.5 ± 5.7	110.0 ± 4.0
Segment2	54.8 ± 1.2	57.0 ± 0.8	52.7 ± 2.3	101.9 ± 2.3	151.8 ± 3.6	109.9 ± 4.4
Segment3	54.5 ± 1.2	59.6 ± 1.7	49.3 ± 1.8	107.1 ± 2.1	125.6 ± 6.0	107.3 ± 2.5
Vitamin E						
Segment1	58.4 ± 1.6	61.1 ± 3.7	55.3 ± 1.9	101.8 ± 3.5	153.7 ± 13.4	126.4 ± 10.2
Segment2	55.3 ± 2.0	54.4 ± 3.4	53.3 ± 2.5	98.9 ± 3.8	$177.4 \pm 10.0^*$	126.7 ± 9.5
Segment3	53.6 ± 1.9	56.3 ± 2.1	50.6 ± 2.5	$103. \pm 2.1$	$158.1 \pm 12.7^*$	$130.2 \pm 7.9^*$

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM * $p < 0.05$ เปรียบเทียบระหว่าง %L/R ระหว่างสองกลุ่มในแต่ละ segment

การอภิปรายผล

การศึกษาก่อนหน้านี้มีความหลากหลายมากของการเลือกใช้ขนาดของวิตามินอี ดังนี้ ในกรณีของ neuropathy มีการศึกษาของ Dam และคณะ โดยเลือกใช้วิตามินอีขนาด 12 g/kg, 70 mg/kg และ 25 mg/kg ให้หนูเป็นโรคเบาหวานและพบว่าวิตามินอีขนาด 12 g/kg ให้ผลดีที่สุดที่ทำให้การทำหน้าที่ของเส้นประสาทดีขึ้น (Dam *et al.*, 1999) ต่อมา มีการศึกษาของ Kim และคณะ ที่ใช้วิตามินอีขนาด 0.1, 1 และ 5 g/kg และพบว่าวิตามินอีขนาด 5 g/kg เป็นขนาดที่ให้ผลดีที่สุดในการลด neuropathic pain (Kim *et al.*, 2006) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Tiwari และคณะ ที่เลือกใช้วิตามินอี 2 โครงสร้าง คือ แอลฟาโทโคฟีรอล ขนาด 100 mg/kg และโทโคไตรอีนอล ขนาด 50, 100 และ 200 mg/kg ใน model หนูเป็น alcoholic neuropathy และพบว่าวิตามินอีทั้ง 2 โครงสร้าง สามารถยังยั้งการเกิด neuropathic pain ได้ (Tiwari *et al.*, 2009) ส่วนในกรณีของ nerve injury นั้น มีการศึกษาของ Hosida และคณะ ที่ใช้วิตามินอีปริมาณ 20 μ g/ml และ 200 μ g/ml ใน model หนูที่ได้รับบาดเจ็บของเส้นประสาท facial พบว่าวิตามินอีขนาด 20 μ g/ml มีประสิทธิภาพดีกว่า 200 μ g/ml ในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระและมีผลดีต่อเซลล์ประสาทหลังการบาดเจ็บ (Hosida

et al., 2009) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Morani และคณะ ในหนูที่ทำการ sciatic nerve crush injury และหนูได้รับวิตามินอีขนาด 50 mg/kg ผสมกับวิตามินบี 12 และพบว่าวิตามินอีขนาดนี้ร่วมกับวิตามินบี 12 ให้ผลดีต่อการฟื้นฟูเส้นประสาทได้ (Morani *et al.*, 2010) จากการศึกษาที่ได้กล่าวมาข้างต้นจะเห็นว่าบางการศึกษาที่มีการเลือกใช้ขนาดของวิตามินอีในปริมาณที่สูงและพบว่าให้ผลดีต่อเส้นประสาทได้ ในขณะที่เดียวกันก็มีการศึกษาที่วิตามินอีในขนาดที่ต่ำก็ให้ผลดีกว่าขนาดที่สูง ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกใช้วิตามินอีขนาด 100, 500 และ 1,000 mg/kg/day มาศึกษา และพบว่าวิตามินอีขนาด 500 และ 1,000 mg/kg/day ให้ผลดีต่อเซลล์ประสาท จึงเลือกใช้วิตามินอีขนาด 500 mg/kg/day ไปศึกษาในการทดลองที่ 2 เนื่องจากเป็นขนาดต่ำสุดที่ยังให้ผลดี และจากผลการทดลองที่ 2 ในทางจุลกายวิภาค พบว่า วิตามินอีช่วยเพิ่มจำนวนของ axonal sprout ใน segment ที่ 2 และ 3 ซึ่งเป็นการนับจำนวนรวมไม่ได้แยกว่าเป็น motor หรือ sensory axon แต่ก็ถือเป็นแนวโน้มที่ดีที่ทำให้เกิด regeneration ได้ ส่วนผลที่ไม่ได้ช่วยในแง่การคืนหน้าที่ของเส้นประสาทอาจเป็นเพราะว่ามี sensory axon มากกว่า motor axon ก็ได้ หรือแม้ว่าจะมีจำนวน motor axon มาก แต่การคืนหน้าที่ของเส้นประสาทสั่งการของเส้นประสาท sciatic ยังขึ้นกับ



ปัจจัยอื่นๆอีก นอกเหนือจาก จำนวน axon เช่น การทำงานของ motor neuron ใน spinal cord, ความเร็วในการงอกใหม่ของ axon เป็นต้น ซึ่งวิตามินอีอาจไม่มีผลต่อปัจจัยเหล่านี้

สรุปผลการทดลอง

1. วิตามินอีสามารถลดการสูญเสียเซลล์ประสาทรับความรู้สึกในปมประสาทไขสันหลัง (DRG) หลังการบาดเจ็บของเส้นประสาทได้
2. วิตามินอีไม่มีผลต่อการคืนหน้าที่ของเส้นประสาทส่งการของเส้นประสาท sciatic แต่ในทางจุลกายวิภาคสามารถเพิ่มจำนวนการงอกใหม่ของ axon (axonal regeneration) หลังการบาดเจ็บของเส้นประสาทได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ เครื่องมือ และอุปกรณ์ในการทำงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

References

- Dam P, Bravenboer B, Asbeck B, *et al.* High rat food vitamin E content improves nerve function in streptozotocin-diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* 1999;376:217-22.
- Hosida S, Hatano M, Furukawa M, *et al.* Neuroprotective effect of vitamin E on adult rat motor neurons following facial nerve avulsion. *J Acta Otolaryngol.* 2009;129:330-6.
- Kim HK, Kim JH, Gao X, *et al.* Analgesic effect of vitamin E is mediated by reducing central sensitization in neuropathic pain. *J Pain.* 2006;122:53-62.
- Morani AS, Bodhankar SL. Early co-administration of vitamin E acetate and methylcobalamin improves thermal hyperalgesia and motor nerve conduction velocity following sciatic nerve crush injury in rats. *J Pharmacol Rep.* 2010;62:405-9.

Tiwari V, Kuhad A, Chopra K. Tocotrienol ameliorates behavioral and biochemical alterations in the rat model of alcoholic neuropathy. *J Pain.* 2009;145:129-35.

Varejao A S P, Meek M F, Ferreira A J A, *et al.* Functional evaluation of peripheral nerve regeneration in the rat: walking tract analysis. *J Neurosci Met.* 2001;108:1-9.