

اثر مصرف خوراکی تره کوهی بر میزان گلوکز، تری گلیسیرید و کلسترول توتال سرم در موش صحرایی دیابتی

مهرداد روغنی* (Ph.D)، محبوبه آقایی (M.D)

دانشگاه شاهد، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی

چکیده

سابقه و هدف: کاهش دادن سطح گلوکز و لیپیدهای نامطلوب سرم در بیماران دیابتی با استفاده از گیاهان دارویی از اهمیت بالینی زیادی برخوردار می‌باشد. با توجه به وجود شواهد تحقیقاتی مبنی بر شباهت تره کوهی و سیر از نظر برخی مواد مؤثره و ضد دیابتی بودن سیر، لذا در بررسی حاضر اثر مصرف خوراکی و مزمن تره کوهی بر میزان گلوکز، تری گلیسیرید و کلسترول توتال سرم موش صحرایی دیابتی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: برای این منظور موش‌های صحرایی نر به تعداد ۳۶ سر به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با تره کوهی، دیابتی و گروه دیابتی تیمار شده با تره کوهی تقسیم شدند. دو گروه تحت تیمار با تره کوهی نیز پودر مخلوط شده این گیاه با غذای استاندارد موش (۶/۲۵٪) را دریافت نمودند. متغیرهای وزن، گلوکز، تری گلیسیرید و کلسترول توتال سرم در هفته قبل بررسی و در هفته‌های ۲ و ۴ پس از بررسی تعیین گردید.

یافته‌ها: میزان گلوکز سرم در گروه دیابتی افزایش معنی‌داری را در هفته چهارم در مقایسه با هفته قبل از آزمایش نشان می‌دهد ($P < 0/0001$) و میزان گلوکز سرم در گروه دیابتی تحت درمان با تره کوهی کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه دیابتی در همین هفته نشان داد ($P < 0/05$). بعلاوه تجویز این گیاه به موش‌های گروه کنترل تغییر معنی‌دار در میزان گلوکز سرم ایجاد نمود. از طرف دیگر، سطح تری گلیسیرید در گروه دیابتی افزایش معنی‌داری را در هفته چهارم نسبت به هفته قبل بررسی نشان داد ($P < 0/05$) و سطح تری گلیسیرید در هفته چهارم در گروه دیابتی تحت درمان با تره کوهی در مقایسه با گروه دیابتی به‌طور معنی‌دار پایین‌تر بود ($P < 0/05$). هم‌چنین یک کاهش معنی‌دار در سطح کلسترول سرم در گروه دیابتی تحت درمان با تره کوهی در هفته چهارم در مقایسه با گروه دیابتی مشاهده شد ($P < 0/01$).

نتیجه‌گیری: تجویز خوراکی تره کوهی به مدت یک ماه موجب کاهش معنی‌دار سطح گلوکز، کلسترول و تری گلیسیرید سرم در مدل تجربی دیابت قندی القا شده توسط استرپتوزوتوسین در موش صحرایی می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: تره کوهی، گلوکز، لیپید، دیابت قندی، مصرف مزمن، موش صحرایی

مقدمه

دیابت قندی از نظر بالینی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های غدد درون‌ریز محسوب می‌شود که بر اساس پیش‌بینی به‌عمل آمده، شیوع آن در جامعه انسانی در آینده افزایش خواهد یافت [۱]. کم‌بود و یا کاهش نسبی میزان انسولین در این

بیماری با عوارض متابولیکی کوتاه‌مدت، نظیر افزایش سطح قند و برخی چربی‌های خون و مشکلات درازمدت شامل نفریویتی، رتینوپاتی، نوروپاتی و بیماری‌های قلبی-عروقی همراه می‌باشد [۱،۲]. هر چند در حال حاضر درمان اصلی و مؤثر برای دیابت قندی استفاده از انسولین و عوامل

شد. تمام حیوان‌ها در دمای 21 ± 2 درجه سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوان‌ها آزادانه به آب لوله کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) و یا غذای مخلوط شده با پودر بخش هوایی تره کوهی به نسبت ۱/۱۵ به مدت ۴ هفته دسترسی داشتند.

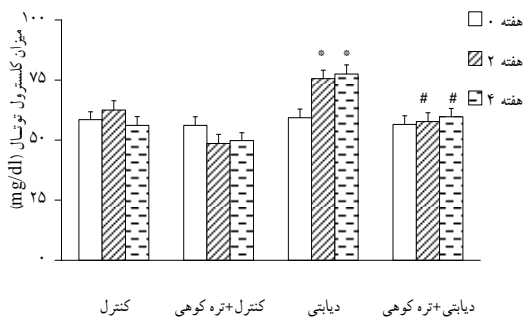
برای تهیه غذای خاص حاوی گیاه، پس از خریداری و تأیید علمی، پودر به دست آمده از آسیاب نمودن با یک نسبت وزنی ۱/۱۵ با غذای پودر شده و استاندارد موش، مخلوط و مجدداً غذای Pelleted تولید گردید [۱۳]. در این بررسی از آن دسته موش‌های صحرایی نر استفاده شد که در شرایط طبیعی بدون برقراری حالت روزه‌داری (Non-fasting) میزان گلوکز سرم آن‌ها کم‌تر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. در این خصوص از شبکه رترواوربیتال و لوله موینه برای خون‌گیری استفاده شد. موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه کنترل ($n=9$)، کنترل تحت تیمار با تره کوهی ($n=8$)، دیابتی ($n=10$)، و دیابتی تحت تیمار با تره کوهی ($n=9$) تقسیم شدند. تیمار با تره کوهی به مدت ۴ هفته ادامه یافت. برای دیابتی نمودن موش‌ها از داروی استرپتوزوتوسین (STZ) (Upjohn, France) به صورت تک دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل و در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد. ۳ روز پس از تزریق، دیابتی بودن حیوانات با اندازه‌گیری قند خون مورد تأیید قرار گرفت. اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (زیست‌شیمی) قبل از انجام کار و در طی هفته‌های ۲ و ۴ پس از بررسی به انجام رسید. همچنین مقدار کلسترول توتال و تری‌گلیسرید، سرم توسط کیت‌های مربوطه (زیست‌شیمی، تهران) و بر اساس دستورالعمل مربوطه مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

از نظر آماری، تمامی نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد (SEM) بیان گردید. برای مقایسه نتایج هر پارامتر در هر یک از گروه‌ها قبل و بعد از بررسی از آزمون Student's paired t-test و Repeated measure ANOVA

هیپوگلیسیمیک می‌باشد، ولی این ترکیبات دارای عوارض نامطلوب متعدد بوده و در درازمدت بر روندهای ایجاد عوارض ناتوان‌کننده دیابت تأثیر ندارند. با توجه به افزایش دانش بشری در مورد هتروژنیته این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیبات مؤثر در درمان دیابت با عوارض جانبی کم‌تر احساس می‌گردد [۳]. گیاهان دارویی و مشتقات آن‌ها اگر چه از دیر باز در درمان دیابت قندی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده‌اند، ولی در مورد اثربخشی قطعی بسیاری از آن‌ها تا کنون شواهد تحقیقاتی و معتبر یافت نمی‌شود [۴]. از این نظر برای تره کوهی و اثرات سودمند آن در درمان برخی حالات مرضی شواهد متعدد یافت می‌شود. در همین ارتباط مشخص شده است که مواد مؤثره آن دارای خاصیت محافظت‌کنندگی در برابر آسیب القاء شده بر اثر عوامل آسیب‌رسان، پائین آورنده کلسترول سرم، برقرار نمودن حالت پایه در مورد برخی اعمال بدن و گشاد کننده عروقی می‌باشد [۵،۶]؛ بعلاوه این گیاه دارای مقدار زیادی از سولفوکسیدهای سیستئینی است که خود این مواد دارای خاصیت ضد دیابتی و آنتی‌اکسیدانسی می‌باشند [۷-۱۲]. از طرف دیگر از نظر برخی مواد مؤثره، مشابه سیر می‌باشد که از این نظر می‌تواند اثرات سودمند بر سطح گلوکز و چربی‌های سرم اعمال نماید [۸]. با توجه به نقش استرس اکسیداتیو و تغییرات آنزیمی در بروز برخی تغییرات بیوشیمیایی و بافتی نامطلوب ناشی از دیابت به‌ویژه نوع ۱ [۱،۲] و با در نظر گرفتن این موضوع که تجویز خوراکی به فرم متداول مصرف گیاهان دارویی در جامعه انسانی نزدیک‌تر می‌باشد و از عوارض جانبی کم‌تری نیز برخوردار است [۴]، لذا در این تحقیق اثر تجویز خوراکی و درازمدت تره کوهی بر میزان گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول توتال سرم در مدل تجربی دیابت قندی القا شده بر اثر استرپتوزوتوسین به مدت ۴ هفته در موش‌های صحرایی نر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تحقیقاتی از ۳۶ رأس موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۸۰-۳۲۰ گرم استفاده



نمودار ۱. شکل، اثر تجویز خوراکی و مزمن تره کوهی به مدت ۲ و ۴ هفته بر میزان کلسترول توتال سرم را در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین نشان می‌دهد.

* $P < 0.05$ (در مقایسه با هفته قبل از بررسی)

$P < 0.01$ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)

از نظر میزان تری‌گلیسیرید سرم، گروه دیابتی درمان نشده یک افزایش معنی‌دار را در مقایسه با هفته قبل از بررسی در هفته‌های ۲ و ۴ نشان داد ($P < 0.05$). از طرف دیگر، تفاوت موجود بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار در همین هفته‌ها در حد معنی‌دار بود ($P < 0.05$). همچنین، گروه کنترل تحت تیمار نیز کاهش مختصر و معنی‌دار را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد ($P < 0.05$) (نمودار ۲).



نمودار ۲. شکل، اثر تجویز خوراکی و مزمن بخش هوایی تره کوهی به مدت ۲ و ۴ هفته بر میزان تری‌گلیسیرید سرم را در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین نشان می‌دهد.

* $P < 0.05$ (در مقایسه با هفته قبل از بررسی)

$P < 0.05$ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)

و برای مقایسه گروه‌ها با هم در هر یک از پریودهای زمانی از آزمون Post-hoc test Tukey's و One-way ANOVA استفاده گردید. بعلاوه سطح معنی‌دار، $P < 0.05$ برای تمامی آنالیزها در نظر گرفته شد.

نتایج

در خصوص وزن حیوانات، دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با تره کوهی یک کاهش معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل در هفته چهارم ($P < 0.05$) مشاهده گردید. از طرف دیگر، تفاوت موجود بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت درمان با تره کوهی در حد معنی‌دار نبود، هرچند که میزان وزن در گروه دیابتی تحت تیمار در هفته چهارم بیش‌تر از گروه دیابتی تیمار نشده بود. از سوی دیگر، تیمار گروه کنترل با تره کوهی تغییر معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نمود (جدول ۱).

از نظر میزان گلوکز سرم مشخص شد که در هفته قبل از بررسی، تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها یافت نمی‌شود، در هفته‌های ۲ و ۴ میزان گلوکز سرم در دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با تره کوهی در حد معنی‌دار ($P < 0.005$) و ($P < 0.001$) بیش‌تر از گروه کنترل بود و گروه کنترل تحت تیمار تفاوت معنی‌دار را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد. بعلاوه، تیمار با این گیاه در گروه دیابتی در همین دوره‌های زمانی کاهش معنی‌دار در میزان گلوکز سرم در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده به‌وجود آورد ($P < 0.05$) (جدول ۱).

در خصوص میزان کلسترول توتال سرم، در موش‌های دیابتی درمان نشده، افزایش معنی‌دار سطح کلسترول در هفته‌های ۲ و ۴ پس از بررسی، در مقایسه با هفته قبل از بررسی مشاهده گردید ($P < 0.05$). بعلاوه سطح کلسترول توتال در گروه دیابتی تحت تیمار در همین هفته‌ها به‌طور معنی‌دار پایین‌تر از گروه دیابتی درمان نشده در همین هفته‌ها بود ($P < 0.01$). از طرف دیگر، تجویز این گیاه در مورد گروه کنترل موجب کاهش مختصر و غیر معنی‌دار در مقایسه با هفته قبل از بررسی گردید (نمودار ۱).

جدول ۱. اثر تجویز خوراکی بخش هوایی تره کوهی بر میزان وزن و گلوکز سرم در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی

میزان گلوکز سرم (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)			وزن بدن (گرم)			
هفته ۴	هفته ۲	هفته صفر (قبل بررسی)	هفته ۴	هفته ۲	هفته صفر (قبل بررسی)	
۱۰۵/۷ ± ۶/۵	۱۴۴/۳ ± ۹/۴	۱۳۵/۲ ± ۷/۶	۳۱۱/۹ ± ۴/۹	۳۰۷/۳ ± ۷/۸	۳۰۵/۳ ± ۵/۶	کنترل
۱۰۵/۴ ± ۷/۸	۱۲۷/۳ ± ۶/۶	۱۳۱/۴ ± ۶/۹	۲۹۱/۳ ± ۷/۳	۲۹۵/۶ ± ۶/۳	۲۹۸/۲ ± ۵/۹	کنترل + تره کوهی
۴۰۷/۶ ± ۱۴/۱****	۴۱۴/۳ ± ۱۵/۱****	۱۱۸/۱ ± ۸/۳	۲۲۵/۴ ± ۶/۵**	۲۶۳/۷ ± ۷/۶*	۲۹۴/۳ ± ۷/۵	دیابتی
۳۱۶/۵ ± ۱۲/۷***	۳۲۷/۵ ± ۱۴/۶***	۱۰۹/۴ ± ۶/۳	۲۳۷/۴ ± ۷/۶**	۲۵۸/۹ ± ۷/۳*	۳۰۷/۶ ± ۵/۱	دیابتی + تره کوهی

* P < ۰/۰۵, ** P < ۰/۰۱, *** P < ۰/۰۰۵, **** P < ۰/۰۰۱ (در مقایسه با گروه کنترل در همان هفته)

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج بررسی حاضر نشان داد که تجویز درازمدت تره کوهی به موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین موجب کاهش سطح گلوکز در حد معنی‌دار می‌شود؛ هم‌چنین سطح تری‌گلیسیرید در هفته ۴ در گروه دیابتی تحت درمان با این گیاه در مقایسه با گروه دیابتی به‌طور معنی‌دار پایین‌تر بود، و کاهش معنی‌دار در سطح کلسترول سرم در گروه دیابتی تحت درمان با گیاه در هفته ۴ در مقایسه با گروه دیابتی مشاهده شد.

بر اساس یافته‌های قبلی، حالت دیابت قندی القاء شده توسط استرپتوزوتوسین در موش صحرایی با تغییرات بارز و نامطلوب در سطح لیپیدها و لیپوپروتئین‌های پلاسما هم‌راه می‌باشد، که در این ارتباط برخی بافت‌های بدن به‌ویژه کبد از نظر جذب اسیدهای چرب آزاد خون، اکسیداسیون و تبدیل متابولیک آن‌ها به سایر مواد، افزایش سنتز کلسترول و فسفولیپیدها و ترشح برخی انواع لیپوپروتئین‌ها به‌داخل خون نقش مهمی دارد [۱۴]. بعلاوه، افزایش سطح تری‌گلیسیرید و کلسترول سرم در موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین گزارش شده است که این در بررسی حاضر نیز به‌دست آمد [۱۴]. از طرف دیگر، در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط آلوکسان یا استرپتوزوتوسین افزایش سطح گلوکز و کاهش سطح انسولین خون می‌تواند به افزایش سطح کلسترول، تری‌گلیسیرید، LDL و VLDL سرم و کاهش سطح HDL منجر شود [۱۵]، که این خود تا حدودی توجیه

کننده تغییرات نامطلوب سطح چربی‌های سرم در موش‌های دیابتی شده در این تحقیق می‌باشد.

در خصوص اثرات سودمند مصرف خوراکی و درازمدت تره کوهی قبلاً مشخص شده است که بروز دیابت قندی در موش کوچک آزمایشگاهی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین، موجب افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از تشدید تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن در برخی نواحی مغز می‌شود [۳] و درمان با عوامل آنتی‌اکسیدانت نظیر تره کوهی با مقدار بالا از ترکیبات سولفوکسیدهای سیستمی می‌تواند از این نظر مؤثر باشد [۸، ۱۱]. بعلاوه مشخص شده است که اثر آنتی‌اکسیدانی این گروه از مواد از طریق افزایش سطح آنزیم‌های مربوط به سیستم آنتی‌اکسیدانت شامل سوپراکسید دیس‌موتاز و کاتالاز به انجام می‌رسد. از طرف دیگر این مواد قادر به کاهش تولید محصولات نهایی پراکسیداسیون لیپیدی نظیر مالون دی‌آلدئید و هیدروپراکسید می‌باشند [۹، ۱۰].

از سوی دیگر، گیاه تره کوهی حاوی مقادیر زیادی از ساپونین‌ها و تانین‌ها است [۶]، که این مواد جذب روده‌ای چربی‌ها را از دستگاه گوارش کاهش داده و سبب مهار آنزیم‌های کلسترول استراز، کمپلکس سنتز کننده اسید چرب و استیل کوآنزیم آ کروکسیلاز می‌گردند [۱۶، ۱۷] و با در نظر گرفتن طول مدت تجویز گیاه، منطقی به نظر می‌آید که گیاه بتواند اثرات سودمند بر سطح چربی‌های سرم اعمال نماید. از نظر اثر کاهش‌دهنده گیاه بر میزان گلوکز سرم که در حد کم و معنی‌دار در این تحقیق مشاهده شد نیز مشخص شده است که

- [3] Suji G, Sivakami S. Approaches to the treatment of diabetes mellitus: an overview. *Cell Mol Biol*, 2003; 49:635-9.
- [4] Shapiro K, Gong WC. Natural products used for diabetes. *J Am Pharm Assoc (Wash)*, 2002; 42:217-26.
- [5] Nguansangiam S, Angsubhakorn S, Bhamarapravati S, Suksamran A. Effects of elephant garlic volatile oil (*Allium ampeloprasum*) and T-2 toxin on murine skin. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2003; 34:899-905.
- [6] Morita T, Ushiroguchi T, Hayashi N, Matsuura H, Itakura Y, Fuwa T. Steroidal saponins from elephant garlic, bulbs of *Allium ampeloprasum* L. *Chem Pharm Bull*, 1988; 36:3480-6.
- [7] Kumari K, Augusti KT. Antidiabetic and antioxidant effects of S-methyl cysteine sulfoxide isolated from onions (*Allium cepa* Linn) as compared to standard drugs in alloxan diabetic rats. *Indian J Exp Biol*, 2002; 40:1005-9.
- [8] Fritsch RM, Keusgen M. Occurrence and taxonomic significance of cysteine sulphoxides in the genus *Allium* L. (Alliaceae). *Phytochemistry*, 2006; 67:1127-35.
- [9] Komatsu W, Miura Y, Yagasaki K. Suppression of hypercholesterolemia in hepatoma-bearing rats by cabbage extract and its component, S-methyl-L-cysteine sulfoxide. *Lipids*, 1998; 33:499-503.
- [10] Sheela CG, Kumud K, Augusti KT. Anti-diabetic effects of onion and garlic sulfoxide amino acids in rats. *Planta Med*, 1995; 61:356-7.
- [11] Kumari K, Augusti KT. Antidiabetic effects of S-methylcysteine sulphoxide on alloxan diabetes. *Planta Med*, 1995; 61:72-4.
- [12] Kumari K, Mathew BC, Augusti KT. Antidiabetic and hypolipidemic effects of S-methyl cysteine sulfoxide isolated from *Allium cepa* Linn. *Indian J Biochem Biophys*, 1995; 32:49-54.
- [13] Swanston-Flatt SK, Day C, Bailey CJ, Flatt PR. Evaluation of traditional plant treatments for diabetes: studies in streptozotocin diabetic mice. *Acta Diabetol Lat*, 1989; 26:51-5.
- [14] Choi JS, Yokozawa T, Oura H. Improvement of hyperglycemia and hyperlipemia in streptozotocin-diabetic rats by a methanolic extract of *Prunus davidiana* stems and its main component, prunin. *Plant Med*, 1991; 57:208-11.
- [15] Yanardag R, Bolkent S, Ozsoy-Sacan O, Karabulut-Bulan O. The effects of chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) extract on the kidney tissue, serum urea and creatinine levels of diabetic rats. *Phytother Res*, 2002; 16: 758-61.
- [16] Sauvaire Y, Ribes G, Baccou JC, Loubatieeres-Mariani MM. Implication of steroid saponins and saponinins in the hypocholesterolemic effect of fenugreek. *Lipids*, 1991; 26:191-7.
- [17] Sauvaire Y, Baissac Y, Leconte O, Petit P, Ribes G. Steroid saponins from fenugreek and some of their biological properties. *Adv Exp Med Biol*, 1996; 405:37-46.
- [18] Liu CT, Hse H, Lii CK, Chen PS, Sheen LY. Effects of garlic oil and diallyl trisulfide on glycemic control in diabetic rats. *Eur J Pharmacol*, 2005; 516:165-73.
- [19] Eidi A, Eidi M, Esmaeili E. Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 2006; 13:624-9.

ترکیبات دارای سولفور در گروه دی‌سولفیدها که به مقدار زیاد در گیاهان هم‌جنس سیر نظیر تره کوهی یافت می‌شوند، می‌توانند از طریق افزایش مصرف محیطی گلوکز، مهار جذب روده‌ای گلوکز و تشدید ترشح انسولین از سلول‌های باقی‌مانده بتا در جزایر لانگرهانس موجب کاهش گلوکز در مدل تجربی دیابت و یا به دنبال اعمال بار گلوکز گردند [۱۸،۱۹].

به‌طور خلاصه، نتایج این پژوهش نشان داد که تجویز خوراکی و درازمدت تره کوهی در مدل تجربی دیابت قندی در موش صحرایی موجب کاهش گلوکز، تری‌گلیسیرید و کلسترول توتال سرم در موش‌های دیابتی می‌گردد. انجام تحقیقات بیش‌تر جهت مشخص نمودن مکانیسم اثر این گیاه و مواد مؤثره آن در دو حالت نرمال و دیابتی در ارتباط با پارامترهای بیوشیمیایی خون پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب تشکر وافر خود را از سرکار خانم فریبا انصاری کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی شاهد در کمک به انجام آزمایشات اعلام می‌دارند.

منابع

- [1] Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. *Med Sci Monit*, 2006; 12:RA130-47.
- [2] Wandell PE. Quality of life of patients with diabetes mellitus. An overview of research in primary health care in the Nordic countries. *Scand J Prim Health Care*, 2005; 23:68-74.

