

اثرات ضد دیابتی عصاره آبی الکلی برگ بو بر دیابت در رت

رویا میرمیدل زاده^۱، زهرا شیردل^{۲*}

چکیده

زمینه و هدف: دیابت قندی یکی از مشکلات مهم پزشکی در همه کشورها می باشد. اثرات پایین آورنده قند خون به وسیله برگ بو چند سالی است که مورد مطالعه قرار گرفته است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات عصاره برگ بو بر پارامترهای بیوشیمیایی خون در رتهای دیابتی است.

مواد و روش کار: در این مطالعه تجربی ۴۰ رت نر به ۴ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند: گروه شاهد، رتهای سالمی که برای یکسان شدن شوک حاصل از تزریق، به آنها سرم فیزیولوژی تزریق شد. گروه کنترل دیابتی بوسیله تزریق داخل صفاقی آلکوسان (۱۲۰ mg/kg) دیابتی شدند. گروههای برگ بو و گلی بن کلامید پس از دیابتی شدن، به ترتیب، عصاره هیدروالکلی برگ بو (۱۰۰ mg/kg)، و داروی گلی بن کلامید (۵۰۰ mcg/kg) را بصورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. پس از خونگیری میزان گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید و لیپوپروتئین های خون تعیین شد و مقایسه بین گروهها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و توسط برنامه نرم افزاری SPSS انجام پذیرفت.

یافته ها: نتایج حاصل از آنالیز واریانس نشان داد برگ بو توانسته میزان سرمی فاکتورهای گلوکز، تری گلیسرید، VLDL و LDL را در رتهای دیابتی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی بطور معنی داری کاهش دهد. کاهش گلوکز و LDL توسط برگ بو به اندازه داروی گلی بن کلامید و کاهش تری گلیسرید و VLDL توسط برگ بو بیشتر از کاهش این فاکتورها توسط داروی گلی بن کلامید بود. در ضمن برگ بو توانست به اندازه گلی بن کلامید HDL خون را در رتهای دیابتی در مقایسه با گروه کنترل افزایش دهد.

نتیجه گیری: براساس نتایج تحقیق حاضر می توان گفت برگ بو در درمان دیابت موثر است، هرچند مشخص نمودن دامنه و ساز و کار دقیق این اثر نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

واژه های کلیدی: برگ بو، قند خون، لیپید، دیابت، گلی بن کلامید

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، عضو هیات علمی دانشگاه پیام نور اردبیل

۲- کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه پیام نور بجنورد

* نویسنده مسئول: بجنورد، دانشگاه پیام نور بجنورد، گروه زیست شناسی

تلفن: ۰۵۸۴-۲۲۲۰۶۷۱ پست الکترونیک: shirdel.biology@yahoo.com

مقدمه

بیماری دیابت قندی یکی از شایع ترین بیماری‌های سیستم غدد درون ریز بدن محسوب می‌شود که بر اساس پیش بینی به عمل آمده شیوع آن در جامعه انسانی افزایش خواهد یافت (۱). این بیماری با علائمی مانند هیپرگلیسمی، پرادراری، پرنوشتی، کاهش وزن، تاخیر در التیام زخمها، تاری دید، افزایش گلوکز در ادرار و برخی علائم دیگر مشخص می‌شود و در صورت عدم درمان مناسب ممکن است آسیب‌های قلبی، عروقی، عصبی، کلیوی و نوروپاتی در بیمار بروز نماید. درمان آن شامل رژیم غذایی، ورزش و دارو می‌باشد (۲،۳). هرچند که در حال حاضر درمان اصلی و موثر برای دیابت قندی استفاده از انسولین و داروهای هیپوگلیسمیک می‌باشد، ولی این ترکیبات دارای عوارض نامطلوب متعدد نیز می‌باشند. گیاهان دارویی و مشتقات آنها از دیرباز در درمان دیابت قندی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده‌اند ولی در مورد اثربخشی قطعی بسیاری از آنها تاکنون شواهد تحقیقاتی و معتبر یافت نشده است (۴). کارایی احتمالی گیاهان دارویی در درمان دیابت و فراوانی آنها در نواحی مختلف ایران کاربرد آنها را در جامعه ما تسهیل می‌نماید.

برگ بو (*Laurus nobilis*) درختچه‌ای از تیره برگ بو (*Lauraceae*) با برگ‌های معطر است. قسمت‌های مورد استفاده این درخت، میوه و برگ آن است. برگ این درخت دارای تانن، یک ماده تلخ، مواد رزینی، پکتیکی، اسانس، ترکیبات پلی فنلی و آنتوسیانین می‌باشد. از برگ این گیاه سابقاً در طب عوام به عنوان معرق و رفع نزله استفاده به عمل می‌آمده است ولی امروزه به عنوان چاشنی اغذیه و به منظور معطر ساختن برخی کنسروها به کار می‌رود. برای برگ‌های آن اثر بادشکن، قی آور (به مقادیر زیاد)، مدر، ضد تشنج، و قاعده آور نیز قائل اند. اسانس برگ و میوه در پیچ خوردگی مفاصل، بواسیر، رفع دردهای رماتیسمی و نیز به عنوان مسکن و ضد التهاب مصرف دارد (۵،۶،۷). در ضمن این گیاه دارای خاصیت آنتی اکسیدان و ضد قارچ می‌باشد (۸،۹،۱۰). اثرات پایین آورنده قند خون به وسیله برگ بو در مطالعاتی مورد پژوهش قرار گرفته است. در همین راستا این مطالعه تجربی به منظور بررسی بیشتر اثر عصاره برگ بو بر پارامترهای بیوشیمیایی خون در رت‌های دیابتی انجام شد.

روش کار

به منظور انجام آزمایشات از موش‌های صحرایی بالغ نر استفاده شد که در مرکز پرورش حیوانات واقع در انیستیتو پاستور ایران تکثیر شده بودند. رت‌ها پس از تهیه به اتاق نگهداری حیوانات در دانشگاه پیام نور اردبیل منتقل و تا انجام آزمایش با رژیم غذایی نرمال و آب لوله کشی شهر تغذیه و تحت شرایط استاندارد (نور، درجه حرارت و تغذیه) نگهداری گردیدند.

برای ایجاد دیابت در رت‌ها از آلوکسان مونو هیدرات^۱ (تولید کارخانه سیگما) استفاده شد. این ماده به مقدار ۱۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن رت بصورت محلول در سرم فیزیولوژی و بصورت داخل صفاقی^۲ به هر حیوان تزریق شد. آلوکسان برای ایجاد دیابت تجربی مورد استفاده قرار می‌گیرد و همچنین موجب تولید گونه‌های فعال اکسیژن فقط در جزایر پانکراس می‌شود (۱۱،۱۲). در این تحقیق گلوکز خون بالاتر از ۳۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر ملاک دیابتی شدن در نظر گرفته شد.

تقسیم بندی گروه‌ها:

۱- گروه شاهد: تزریق سرم فیزیولوژی (بصورت داخل صفاقی).

۲- گروه کنترل دیابتی: تزریق آلوکسان منوهیدرات ۱۲۰ mg/kg (بصورت داخل صفاقی) در سه روز متناوب (برای اثبات دیابت از دستگاه گلوکومتر استفاده شد که برای آزمایشات مراحل اولیه یعنی حصول اطمینان دیابتی شدن موش‌ها روش مناسبی است) (۱۳).

۳- گروه تیمار با برگ بو: تزریق آلوکسان منوهیدرات ۱۲۰ mg/kg (بصورت داخل صفاقی) در سه روز متناوب پس از این مدت قند خون توسط گلوکومتر، بررسی و دیابت، تایید شده و به دنبال تایید دیابت، تزریق عصاره هیدروالکلی برگ بو به میزان ۱۰۰ mg/kg، به صورت داخل صفاقی و بمدت ۱۰ روز متوالی انجام شد.

۴- گروه گلی بن کلامید: تزریق آلوکسان منوهیدرات ۱۲۰ mg/kg (بصورت داخل صفاقی) در سه روز متناوب و تایید دیابت با بررسی قند خون و پس از آن تزریق داروی گلی بن کلامید (بصورت محلول در سرم فیزیولوژی و با دوز ۵۰۰ mg/kg) در ۱۰ روز متوالی انجام شد.

۴۸ ساعت پس از آخرین تزریق، از همه گروه‌ها خونگیری به عمل آمد و از سرم حاصل برای اندازه گیری میزان گلوکز، کلسترول توتال، تری گلیسرید و لیپوپروتئین‌های خون (LDL, HDL, VLDL) به وسیله کیت‌های آنزیمی (ساخت کارخانه زیست شیمی ایران) استفاده شد.

روش تهیه عصاره هیدروالکلی: ۱۰۰ گرم از پودر برگ بو درون ارلن ریخته شد و الکل ۹۶ درصد به آن اضافه گردید به گونه‌ای که سطح پودر را بپوشاند. ارلن به مدت ۲۴ ساعت بر روی دستگاه تکان دهنده قرار گرفت، سپس بوسیله کیف بوخنر و کاغذ صافی، محلول، صاف شده و مجدداً به تفاله باقیمانده الکل ۷۵ درصد اضافه شد و این بار نیز ارلن به مدت ۱۲ ساعت بر روی تکان دهنده قرار داده شد. در نهایت محلول صاف شده توسط دستگاه تقطیر در خلاء (که روی دمای ۵۰ درجه و سرعت چرخش ۹۰ دور در دقیقه تنظیم شده بود) تا یک سوم

1. alloxan monohydrate
2. intraperitoneal

حجم اولیه تغلیظ گردید. برای جدا نمودن پروتئین‌ها و تصفیه مواد، محلول صاف شده ۳ بار توسط کلروفرم دکانته شد. محلول دکانته شده در انکوباتور و دمای زیر ۵۰ درجه قرار داده، بعد از چند روز پودر خشک شده حاصل شود. از هر ۱۰۰ گرم پودر گیاه، ۴/۷ گرم عصاره خشک به دست آمد.

در این تحقیق از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد. آزمون فوق توسط برنامه نرم افزاری SPSS انجام پذیرفت. سطح معناداری در این مطالعه ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج آزمایشات بیوشیمیایی گلوکز، کلسترول توتال، تری

گلیسرید، HDL، LDL و VLDL در جدول ۱ ذکر شده‌اند. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود LDL توسط عصاره برگ بو تا حد گروه شاهد، کاهش و HDL افزایش یافته است و برای پارامترهای مذکور، بین گروه برگ بو با گروه‌های شاهد و گلی بن کلامید اختلاف معنی داری وجود ندارد ($P > 0.05$). اختلاف میانگین معنی دار بین گروه‌های برگ بو و گلی بن کلامید ($P > 0.01$) حاکی از آنست که کاهش در میزان تری گلیسرید و VLDL توسط برگ بو حتی از اثر گلی بن کلامید نیز قوی تر بوده است. درمورد کلسترول تام سرم، هیچ گونه اختلاف معنی داری بین گروه‌ها وجود نداشت ($P > 0.05$). دلیل این پدیده تثبیت مکانیسم های تعدیل کننده غلظت پلاسمائی کلسترول می‌باشد.

جدول ۱: اثر عصاره برگ بو بر سطح گلوکز، کلسترول تام، تری گلیسرید و لیپوپروتئین‌های سرم در گروه‌های مورد مطالعه موش صحرایی

شاخص	گروه‌های آزمایشی (تعداد در هر گروه=۱۰)			
	شاهد	کنترل دیابتی	برگ بو	گلی بن کلامید
گلوکز mg/dl	۱۲۴/۶۱±۱۴/۲۱	۷۶۷/۸۲±۱۱۷/۴۴**	۲۳۵/۵۹±۴۵/۲۵ *	۲۲۱/۸۳±۹/۴
تری گلیسرید mg/dl	۱۰۶/۳۰±۱۴/۴۲	۲۲۶/۳۱±۱۵/۳۵	۱۲۱/۵۹±۲۹/۸۲ *	۱۵۶/۲۹±۱۲/۱۳
کلسترول mg/dl	۹۳/۷۹±۱۲/۳۲	۱۱۰/۹۲±۱۰/۵۴	۱۰۰/۷۱±۱۰/۸۵*	۱۱۰/۳۷±۱۲/۲۰
mg/dl LDL	۳۷±۶/۸۸	۳۹/۰۴±۱۲/۰۹	۲۵/۸۱±۹/۸۹ *	۲۷/۲۵±۹/۸۲
mg/dl HDL	۴۹/۱۶±۷/۳۴	۲۶/۵۸±۶/۱۵	۵۰/۵۸±۱۲/۱۸ *	۵۱/۸۶±۹/۲۲
mg/dl VLDL	۲۱/۲۵±۲/۸۸	۴۵/۲۹±۳/۱۰	۲۴/۳۱±۵/۹۶	۳۱/۲۵±۲/۴۲

** افزایش معنی دار گلوکز در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه شاهد $p < 0.01$

* کاهش معنی دار در گروه برگ بو در مقایسه با گروه شاهد $p < 0.05$

گروه برگ بو و گلی بن کلامید در هیچیک از فاکتورهای مورد بررسی، اختلاف معنی دار نداشتند.

هر ستون انحراف معیار $\pm$ میانگین (Mean $\pm$ SD) را نشان می‌دهد.

بحث

در تحقیق حاضر با تزریق داروی گلی بن کلامید، قند خون بطور معنی داری پایین آمد. این دارو از دسته دارو های آنتی دیابتیک سولفونیل اوره است که آزاد شدن انسولین را از سلول های بتای پانکراس افزایش می‌دهد. علاوه بر این، این دارو دارای اثرات شبه انسولین بر متابولیسم گلوکز می‌باشد بطوریکه سبب کاهش گلیکوژنولیز و گلوکونئوژنز می‌گردد بدین ترتیب با کاهش دو فرایند مذکور (گلیکوژنولیز و گلوکونئوژنز) مقدار قند خون توسط گلی بن کلامید کاهش می‌یابد (۱۶، ۱۴، ۱۵).

در این مطالعه کاهش قند خون توسط عصاره هیدروالکلی برگ بو مشابه نتایج الم خان^۱ و همکاران است (۱۷). در خصوص اثر هیپوگلیسمیک گیاه این فرضیه می‌تواند مطرح باشد که مواد موثره گیاه فعالیت آنزیم کبدی گلوکز ۶ فسفاتاز را که در مدل تجربی دیابت افزایش می‌یابد (۱۸) را به حد

طبیعی کاهش می‌دهند. یکی دیگر از اثرات عصاره مذکور، احتمالاً مهار کردن فسفریلاز کبدی است تا از تجزیه گلیکوژن که در سلول های کبدی ذخیره شده است جلوگیری کند و همچنین بتواند تا حدودی فعالیت آنزیم هائی را که موجب پیشبرد سنتز گلیکوژن می‌شوند افزایش دهد.

با بالا رفتن مقدار قند خون در رت‌های دیابتی متعاقب تزریق آلوکسان، میزان تری گلیسرید نیز افزایش می‌یابد که نشان دهنده نقش انسولین در تنظیم متابولیسم لیپید هاست (۱۹) که بر اساس یافته‌های پیشین نیز، دیابت قندی القا شده توسط آلوکسان در موش صحرایی با تغییرات بارز و نامطلوب در سطح لیپیدها و لیپوپروتئین‌های پلازما همراه می‌باشد، بطوریکه افزایش سطح تری گلیسرید و کلسترول سرم در موش‌های دیابتی شده توسط آلوکسان و استرپتوزوتوسین گزارش شده که در بررسی حاضر نیز دیده شد (۲۱، ۲۰). از طرف دیگر، در موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان افزایش سطح گلوکز خون می‌تواند بطور غیرمستقیم موجب

گلیسریدها سبب کاهش آنها در پلاسما می‌گردد. با کاهش تری گلیسرید توسط برگ بو میزان VLDL نیز بطور معنی داری کم می‌شود (۲۸). با توجه به اینکه VLDL بطور غیر مستقیم در تشکیل ذرات LDL دخالت می‌کند و از آنجا که عصاره برگ بو سبب کاهش چشمگیر VLDL شد لذا انتظار می‌رود که میزان LDL نیز کاهش یابد. با توجه به اینکه غلظت HDL پلاسما با تری گلیسرید رابطه عکس دارد و با در نظر گرفتن اینکه برگ بو توانست میزان تری گلیسرید را کاهش دهد لذا باید انتظار داشت که با کاهش میزان تری گلیسرید، HDL افزایش یابد (۲۹،۲۸).

نتیجه گیری

بطور خلاصه، نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره آبی- الکلی برگ بو در مدل تجربی دیابت قندی در موش صحرایی دارای اثر هیپوگلیسمیک بوده و نیز موجب تغییر مطلوب و سودمند در سطح چربی‌های خون می‌گردد. انجام تحقیقات بیشتر جهت مشخص نمودن سازوکار اثر این گیاه و مواد موثره آن در دو حالت نرمال و دیابتی در ارتباط با پارامترهای بیوشیمیایی خون پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در قالب طرح گرانت به شماره ۰۱۰۲/۳۲/۲۴۰۵ با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه پیام نور اردبیل انجام شده است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه قدردانی می‌شود.

افزایش سطح کلسترول، تری گلیسرید، VLDL، LDL سرم و کاهش سطح HDL منجر شود (۲۲) که این خود تا حدودی توجیه کننده تغییرات نامطلوب سطح چربی‌های سرم در موش‌های دیابتی شده در این تحقیق می‌باشد. در خصوص اثرات سودمند برگ بو در کاهش چربی‌های خون، قبلاً مشخص شده است که این گیاه در جهت کاهش استرس اکسیداتیو عمل می‌نماید که خود این در دیابت قندی افزایش می‌یابد و بخشی از تغییرات بیوشیمیایی خون را بوجود می‌آورد (۸،۱۰،۲۳). بعلاوه مواد موثره گیاه از جمله آنتوسیانین‌ها قادر به القای تغییرات متابولیک مطلوب مرتبط با آنزیم‌های کبدی در جهت اصلاح تغییرات نامطلوب سطح گلوکز و چربی‌های خون می‌باشد (۲۵،۲۴) که این تا حدودی می‌تواند کاهش سطح تری گلیسرید را توجیه کند. ممکنست برگ بو بعلت سطح بالای مواد آنتی اکسیدان از جمله آنتوسیانین‌هایی نظیر سیانیدین^۱، روتینوزید^۲ و پئونیدین^۳ اثر مهاری بر استرس اکسیداتیو ناشی از تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن داشته باشد، این خود می‌تواند بخشی از تغییرات مطلوب در خصوص گلوکز و تری گلیسرید را توجیه نماید (۲۶،۶). بعلاوه با توجه به اینکه در مدل دیابت تجربی ایجاد شده و نیز در جامعه انسانی مبتلا به دیابت نوع ۱، فعالیت آنزیم لیپوپروتئین لیپاز عروقی کاهش می‌یابد مواد موثره گیاه می‌توانند از طریق اثرگذاری بر این سیستم فعالیت این آنزیم را به حد طبیعی برگشت دهند (۱۸،۲۷) که در نتیجه آن تری گلیسریدهای موجود در عروق خونی، تجزیه شده و در نتیجه، هیدرولیز تری

References

- Andrew J, Guideline and Performance Measures for Diabetes, AJMC 2007, 13(2) : 41-46
- Azizi F, Hatami H, Janghorbani M, Epidemiology and Control of Common Disease In Iran, 1st Ed, Tehran, Eshtiagh Press 2007; 32-55 [Persian].
- Delavari A, Mahdavi Hazaveh A, Nowrozi Nejad A, planning of diabetes control in Iran, Ministry Of Health & Medical Education Undersecretary For Health Disease Management Center, Tehran, 2004 [Persian].
- James E Graham, Diane G, Stoebner May, Glenn V, Health Related Quality Of Life In Older Mexican Americans With Diabetes, Health And Quality Of Life Out Comes 2007; 5 (39) : 1-7
- Michael JF, Diabetes Foundation, Clinical Diabetes, American Diabetes Association 2008; 26, 77-82
- Sarah W, Gojka R, Anderes G, Richard S, Hilary K, Global Prevalence Of Diabetes, Diabetes Care 2004; 27 : 1047-1053
- Ghavami H, Ahmadi F, Entezami H, Meamarian R, Survey of effect with diabetes mellitus type II, in Orumieh In the years 2003-2004, Semnan University Medical of Science 2004; 6(3) : 179-186 [Persian].
- Papado Poulos A, Kontodimopoulos N, Predictors of health related quality of life in type 2 diabetic patients in Greece, BMC Public Health 2007; 7 (147): 186-91
- Eljedi A, Rafael T, health related quality of life in diabetic patients and controls without diabetes in refugee camps in the Gaza Strip, BMC Public Health 2006; 6(268) : 1-9.
- Testa MA, Simonson DG, Assessment of quality of life outcomes, New Eng J Med 1996; 334(28): 835-840.
- Darvish Poor Kakhki A, Abed Saeidi J, Yaghmaei F, Alavi Majd H, Montazeri A, Survey correlation between quality of life and disease and demographic variables of diabetic patients referred to Tehran hospitals in 2004,

1. Cyanidin
2. Rutinoside
3. Peonidin

- Iranian Journal of Endocrinology & Metabolism 2006; 29(8): 56-49.
12. Reddy SS, Health Outcomes In Type 2 Diabetes, Int J Clin Pract Suppl 2000; (113):46-53.
 13. Yildirim A, Akinci F, Gozu H, Translation, Cultural Adaptational , Cross- Validation of The Turkish Diabetes Quality Of Life Measure, Quality of Life Research 2007; 6 (5): 873-879.
 14. Alavi N, Ghofranipour F, Developing A Culturally Valid And Relible Quality of Life Questionnaire For Diabetes Mellitus, East Mediterr Health J 2007; 13(1) 177-185.
 15. Baghianimoghadam MH, Afkhami M, Ardakani SS, Mazloomi M, Saaidizadeh, Quality of life in type patient in Yazd, Journal of Shahid Sadoughi University of Medical sciences, 2006;4(14): 49-54[Persian].
 16. Ghanbari A, Parsa Y, Assessment of factors affecting quality of Life in diabetic patient in Iran, J of Public Health Nursing 2005; 22 (4): 311 – 322 [Persian].
 17. Marchasson B, Dubroca B, Manciet G, Prevalence of diabetes and effect on quality of life in older french living in the community, J A M Geriatr Sos, 1997; 45 (3): 295 – 301.
 18. Monjamed Z, Ali Asqharpoor M, Mehran A, Peimani T, The quality of life in diabetic patients with chronic complications, The Journal of Faculty of Nursing & Midwifery 2006;1(12): 55-66[Persian].
 19. Pouwer F, Snoek FJ, Patients evaluation of The quality of diabetes Care (PEQD), Qual Saf Health Care 2002; 11(2): 131-136
 20. Hanninen J, Tkala J, Quality of life In NIDDM patients assessed with the SF-20 questionnaire, Diabetes Res Clin Pract 1998; 42 (1):17-27
 21. Booya F, Bandarian F, Larijani B, Potential Risk Factor Diabetic Neuropathy, BMC Neurology 2005; 5(24):1-5.
 22. Rao AA, Sridhar RS, Quality of care: assessment, Lipid In Health And Disease 2007; 6(12): 1-13
 23. Thomas E, Radhika D, Brian M, Debra Gilin, Development and validation of the diabetes quality of life brief clinical inventory, Diabetes Spectrum 2004; 17 (1): 41-49
 24. Bagheri H, Ebrahimi H, Taghavi NS, Hassani MR, Evaluation of quality of life in patients with diabetes mellitus based on its complications referred to Emam Hossein Hospital, Shahroud, Shahrekord University of medical Sciences Journal, 2005; 2(7): 56-50
 25. Tennvall G, Apelqvist J, Health- Related quality of life in patients with diabetes mellitus and foot ulcers, J Diabetes Complication 2000; 14(5): 235-241
 26. Glasziou P, Alexander J, Beller E, Clarke P, Which health related quality of life score? Health & Quality Of Life Outcomes 2007; 21(5) : 1-11
 27. Brown M, Brown G, Sharma S, Busbee B, Quality of life Associated with visual loss: A time trade off utility analysis comparison With Medical Health States. Ophthalmology 2003; 110 (6): 1076 -1081
 28. Senez B, Felicioli P, Moreau A, Legoaziou MF, Quality of life assessment of type 2 diabetic patients in general medicine, Presse Med 2004; 33 (3) : 161-166.
 29. Ensaf S, Gawad A, Quality of life in Saudis with diabetes, Saudi Journal of Disability and Rehabilitation 2002; 8 (3): 163-168