

KÖPEKLERDE ALLOKSAN İLE OLUŞTURULAN EKSPERİMENTAL Dİ- ABETES ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR *

Ali Muhtar Tiftik¹

Kürşat Turgut²

Mehmet Gürbilek³

Mutlu Sevinç⁴

Investigations on Alloxan-Induced Diabetes in the Dogs

Summary : In this investigation, nine healthy dogs weighing from 9 to 20 kg were used. The dogs were made diabetic by a single intravenous injection of 0.60-0.70 mmol/kg bw of alloxan. Intravenous glucose tolerance tests (IVGTT) were done at the beginning of the study and in the second weeks of alloxan injections.

At the beginning of the study, the mean values of fasted plasma glucose and insulin were found to be 4.56 ± 0.32 mmol/l and 9.73 ± 2.69 mU/ml respectively. After the alloxan injections, clear hyperglycemia and decreasing insulin levels were determined and plasma insulin levels varied between 0-5.33 mU/ml during the study.

In the urinalyses, glucosuria, ketonuria, proteinuria and decreased urinary pH levels were observed in the alloxan diabetic dogs.

After diabetes occurred, experimental diets (low high fibre diets) periode was started. Increasing plasma glucose levels were determined During the low fibre diet periode whereas decreasing glucose levels determined in the high diet periode.

It is concluded that, it is necessary to apply the IVGTT for the certain diagnosis of diabetes and it is appropriate the recommend of rye bread for the regulation of hyperglycemia.

Özet : Araştırmada 9-20 kg ağırlıkta 9 adet köpek kullanıldı. Eksperimental diabet meydana getirmek amacıyla 0.60-0.70 mmol/kg oranında alloksan tek doz olarak intra venöz yolla enjekte edildi. Deneme başlangıcında ve alloksan enjeksiyonundan sonra ikinci haftada olmak üzere iki kez intra venöz glikoz tolerans testi (IVGTT) uygulandı.

Deneme başlangıcında açlık plazma glikoz ortalaması 4.56 ± 0.32 mmol/l ve insülin düzeyi de 9.73 ± 2.69 mU/ml olarak bulundu. Alloksan enjeksiyonundan sonra ise bütün köpeklerde belirgin bir hiperglisemi ile beraber plazma insülin düzeylerinde düşmeler tespit edildi ve deneme süresince plazma insülin seviyeleri 0-5.33 mU/ml arasında değişti.

Alloksan enjeksiyonundan önce ve sonra yapılan idrar analizlerinde diabetik köpeklerde glikozuri, ketonuri ve

proteinurinin şekillendiği, idrar pH'sında azalmaların olduğu tespit edildi.

Diabet şekillendikten sonra düşük ve yüksek fiber oranlı diyet uygulamasına geçildi. Düşük fiberli diyet uygulanan dönemde plazma glikoz seviyelerinde artışlar tespit edildi. Buna mukabil yüksek fiberli diyet uygulamasında kan glikoz düzeylerinde düzenli azalmaların ortaya çıktığı gözlemlendi.

Sonuç olarak kesin diabet teşhisinin konulabilmesi için, IVGTT uygulamalarının gerekli olduğu, kan şekeri düzeylerinin kontrol altına alınabilmesi içinde fiber oranı yüksek çavdar ekmeği kullanımının uygun olacağı kanısına varıldı.

Giriş

Diabetes mellitus, addison hastalığı, cushing sendromu, hipo ve hipertiroidizm gibi metabolik hastalıklar insanlarda olduğu kadar hayvanlarda da görülmekte olup (6,10,13,18,22) bunlar arasında köpeklerde en sık rastlanılanı diabetes mellitus'tur ve köpeklerde diabetes insidansının % 1.52 olduğu bildirilmektedir (10).

Hiperglisemi, glikozuri, ketonemi, ketonuri ve ketoasidozis, hiponatremi ve hiperkalemi gibi bulguların şekillendiği diabetin klinik muayenelerinde polifaji, polidipsi ve poliuri gibi klinik semptomlar görülmekte (3,5,10,12,14), polyneuropathy, patellar reflekslerin kaybolması gibi farklı anamnez ve semptomlarla da karşılaşılabilmektedir (12).

Diabetes mellitustaki hiperglisemilerin düzeltilmesi ve kontrol altına alınabilmesi açısından diyet uygulamaları önemli bir yer tutmakta olup son zamanlarda bu konu üzerinde yoğun araştırmalar (1,9,14,15,16,17,26) yapılmaktadır. Diet uygulamalarının temel esprisini diyetteki bazı faktörlerin barsaklardan yağ ve total kalori alımını azaltmasıdır (26).

Eksperimental diabet oluşturmak amacı ile pankreası spesifik olarak etkileyen ve insülin salınımını bloke eden alloksan, streptozotocin gibi kimyasal maddeler

* Bu araştırma S. Ü. Araştırma Fonu Tarafından Desteklenmiştir.
1. Yrd. Doç. Dr., S. Ü. Vet. Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.
2. Doç. Dr., S. Ü. Vet. Fak. İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Konya.
3. Uzman, S. Ü. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.
4. Araş. Gör., S. Ü. Vet. Fak. İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Konya.

damar içi yolla kullanılmaktadır (4,5,8,11,14,16,19,20,21,23,24,25) ve alloksanın köpeklerdeki dozunun 0.70 - 1.44 mmol/kg arasında olduğu bildirilmektedir (7).

Yapılması planlanan bu çalışmada, deneysel diabet oluşturulması, IVGTT gibi klinik teşhise yönelik laboratuvar uygulamalarının standartize edilmesi ve diabetik köpeklerde diyet uygulamalarının kan glikoz ve insülin düzeylerine etkilerinin araştırılması planlanmıştır.

Metaryal ve Metot

Hayvan materyali : Çalışmada 9-20 kg arasında toplam 9 köpek kullanıldı. Deneme öncesi hayvanlar klinik kontrolden geçirildi ve çalışmaya engel herhangi bir hastalıklarının olmadığı görüldü. Köpekler deneme süresince özel tel kafeslerde tutuldu ve yemleri sabah ve akşam olmak üzere günde iki kez verildi.

Uygulama : Deneme öncesi hayvanlardan kan ve idrar örnekleri toplandı ve gerekli analizleri yapıldı. Daha sonra Kaneko'nun bildirdiği şekilde intra venöz glikoz tolerans testi (IVGTT) uygulandı. Bu amaçla açlık kanının alınmasını takiben (0.saat) % 50'lik glikoz çözeltisinden 0.5 g/kg oranında i.v. yolla enjeksiyonlar yapıldı. Enjeksiyonları takiben bir saatlik süre içerisinde 15'er dakika aralıklarla kan örnekleri alınarak glikoz ve insülin düzeyleri ölçüldü. 1. IVGTT'ni takiben 9 köpekten ikisine 0.70 mmol/kg, diğerlerine de 0.60 mmol/kg oranında Alloksan (Sigma kat. no. 8125) damar içi yolla enjekte edildi.

Alloksan enjeksiyonunu takiben gün aşırı olarak kan ve günlük olarak da idrar analizleri yapıldı. Açlık kan glikoz düzeylerinin 8 mmol/l'yi geçmesi (5) üzerine ikinci kez IVGTT uygulandı ve elde edilen sonuçlara göre diabet teşhisi konuldu. Bütün köpeklerde diabet şekillendikten sonra ise diyet uygulamasına geçildi.

Denemede iki farklı diyet uygulandı. Bunlardan birisini kepeksiz, birinci kalite undan hazırlanmış ekmekek, diğerinde % 20 çavdar ve % 20 kepek ilavesi ile lif (sellüloz vb) oranı yükseltmiş olan çavdar ekmeği teşkil etti.

Köpekler ilk 10 gün süre ile kepeksiz ekmekek diyetine alındı, 1,3,6. günlerde açlık kan örnekleri ile diyeti takiben 1. ve 3. saatlerde kan örnekleri toplandı. 9. günde de sadece açlık kan numuneleri alındı. 10. günden sonra çavdar ekmeği diyetine alındılar ve bu dönemde de bahsedilen gün ve saatlere paralel zamanlarda kan numuneleri toplandı. 20 günlük süre içerisinde sabahları her bir hayvandan idrarlar toplanarak gerekli analizleri yapıldı.

Analizler : Plazma glikoz analizleri Bio-clinica test kitleri (Bio bak lab. supplies trade and industries inc.) ile spektrofotometrik (bosch lamp) olarak, insülin düzeyleri de RIA yolu ile belirlendi. İdrar analizleri için Combi-9 test stripleri (Mac Herey-nagel D5610) ile beraber fehling, rothera, sulfosalisilik asit ve fuschet reaktifleri kullanıldı.

Bulgular

Deneme başlangıcında köpeklerin açlık plazma glikoz ortalamaları 4.56 ± 0.32 mmol/l ve insülin düzeyleri de 9.73 ± 2.69 mU/ml olarak bulundu.

0.70 mmol/kg dozunda alloksan enjekte edilen iki köpekten bir tanesi bir saat içerisinde kusma ile başlayan akut toksisite belirtileri gösterdi ve 1 saat içerisinde komaya girerek öldü. Diğerinde de 24 saat sonra toksisite belirtileri gözlenmesi ve semptomların inatçı bir şekilde devam etmesi üzerine bu köpekte çalışmadan çıkartıldı ve otopsiye alındı. Otopsi öncesi yapılan analizlerde plazma glikoz düzeyinin 11.2 mmol/l'ye çıktığı ve glikozuri (+++++) şekillendiği belirlendi. Otopside makroskopik olarak karaciğerde distrofi, mide ve duodenumda peteşiyel kanamalar ve hemorajik gastroenteritis tespit edildi.

0.60 mmol/l oranında alloksan enjeksiyonu yapılan diğer köpeklerde 3. günden itibaren glikozuri (+++), +++++) şekillendi ve ilk haftada poliüri ile polidipsi belirgin semptomlar olarak kendini gösterdi. Kan glikoz düzeylerinde düzenli bir artış gözlemlendi ve ikinci hafta içerisinde bazı köpeklerin kan şeker seviyeleri 20 mmol/l'nin üzerine çıktı. Bu dönemde yapılan 2. IVGTT sonucunda köpeklerin diabetik olduklarına karar verildi.

Alloksan enjeksiyonu öncesi ve sonrası yapılan IVGTT sonuçları Tablo 1'de sunuldu. Diyet uygulaması dönemlerinde plazma glikoz ortalamaları ve değişim oranları Tablo 2'de gösterildi.

Tablo-1 Alloksan enjeksiyonu öncesi (1.) ve sonrası (2.) yapılan IVGTT'de ortalama plazma glikoz ve insülin düzeyleri

Zaman	1. IVGTT		2. IVGTT	
	Glikoz mmol/l	İnsülin mU/l	Glikoz mmol/l	İnsülin mU/l
0	4.56 ± 0.32	9.73 ± 2.63	17.20 ± 4.26	1.76 ± 0.58
15. dak.	12.70 ± 1.25	27.33 ± 6.92	22.06 ± 3.88	2.05 ± 0.48
30. dak.	9.07 ± 1.08	16.53 ± 4.29	22.27 ± 3.79	2.47 ± 0.57
45. dak.	6.50 ± 0.75	10.54 ± 1.30	21.30 ± 4.01	3.03 ± 0.85
60. dak.	5.41 ± 0.55	10.39 ± 1.07	21.20 ± 3.86	3.31 ± 0.90

Tablo-2 Alloksan-diabetik köpeklerde kepeksiz ekmek ve çavdar ekmeğinin plazma glikoz düzeylerine etkisi ve plazma glikoz ortalamalarındaki % artış (↗) ve azalış (↘) oranları

Zaman	Kepeksiz ekmek (Fiber oranı düşük)		Çavdar ekmeği (Fiber oranı yüksek)	
	Glikoz mmol/l	% Azalma (↘) ve artış (↗) oranı	Glikoz mmol/l	% Azalma (↘) ve artış (↗) oranı
1. gün açlık	12.38 ± 5.32	—	12.75 ± 4.56	—
Diyet sonrası 1. saat	20.32 ± 3.01	64.14 (↗)	18.42 ± 3.75	44.47 (↗)
Diyet sonrası 3. saat	22.45 ± 4.75	81.34 (↗)	18.01 ± 4.22	41.25 (↗)
3. gün açlık	13.40 ± 3.05	8.24 (↗)	11.02 ± 3.45	13.57 (↗)
Diyet sonrası 1. saat	27.10 ± 2.16	118.90 (↗)	17.23 ± 3.42	35.13 (↗)
Diyet sonrası 3. saat	25.22 ± 2.75	103.72 (↗)	23.97 ± 2.45	88.00 (↗)
6. gün açlık	11.70 ± 4.25	12.76 (↗)	9.95 ± 3.25	21.96 (↗)
Diyet sonrası 1. saat	23.90 ± 3.12	93.05 (↗)	18.65 ± 6.03	46.27 (↗)
Diyet sonrası 3. saat	25.70 ± 2.05	107.59 (↗)	19.42 ± 3.62	52.31 (↗)
9. gün açlık	14.09 ± 5.45	13.81 (↗)	9.03 ± 3.24	29.18 (↗)

Tartışma ve Sonuç

Deneme başlangıcında 4.56 ± 0.32 mmol/l olarak bulunan açlık plazma glikoz ve 9.73 ± 2.69 mU/ml olarak tespit edilen plazma insülin düzeyleri, sağlıklı köpeklerde bildirilen (10) $3.61-6.55$ mmol/l glikoz ve $5-20$ mU/ml insülin düzeyleri ile benzer olarak bulundu.

Diabet meydana getirmek için köpeklere uygulanması gereken alloksan dozunun $0.70-1.40$ mmol/kg olduğu bildirilmektedir (7), Yapılan çalışmada 0.70 mmol/kg oranında alloksan uygulanan köpeklerde akut toksisite görülmesi ve bu köpeklerden birinin bir saat içerisinde komaya girerek ölmesi üzerine diğer köpeklere 0.60 mmol/kg oranında alloksan uygulanmıştır ve akut toksisite belirtileri görülmezsizin köpeklerde diabet şekillenmiştir. Bu sonuçlar araştırmacılar (4,5,8,11,20)'la benzer şekilde, deneysel diabet şekillendirmek için köpeklere uygulanacak alloksan dozunun 0.70 mmol/kg'dan daha düşük olmasının uygunluğunu göstermiştir. Alloksan enjeksiyonundan sonra, 8 mmol/l'yi geçen açlık kan glikoz düzeyleri Caruso ve ark (5) tarafından diabet başlangıcı olarak bildirilmiş olmasına, sunulan çalışmada da plazma glikoz düzeylerinin bildirilenden başka yüksek seviyelere ulaşmasına rağmen kesin teşhis için IVGTT uygulanmıştır.

Diabetes mellitusta polidipsi, poliüri gibi semptomlara ilaveten polinöropati, distal reflekslerin kaybolması gibi farklı semptomlar da görülebileceğinden (3,5,10,12,14), kesin teşhis için standart hale getirilmiş IVGTT uygulamalarının gerekli olduğu bildirilmiştir (10). Sunulan çalışmada deneme başlangıcında yapılan

1. IVGTT'de plazma glikozunun yarıya düşmesi için geçen süre ($T^{1/2}$) 32.05 dakika olarak bulunmuş olup bu rakam sağlıklı köpeklerde bildirilen (10) 26 ± 9 dakika ile benzerlik göstermiştir. 1. IVGTT'de insülin düzeyleri, plazma glikoz seviyelerindeki artış ve azalışlara paralel şekilde artmış ve azalmıştır (Tablo 1).

Alloksan uygulanmasından sonra yapılan 2. IVGTT'de ise $T^{1/2}$ değeri 242 dakika olarak bulunurken insülin düzeyleride 1.76 ile 3.31 mu/ml arasında değişti. Bu bulgular Kaneko (10)'ya göre köpeklerde tip 1 diabetin şekillendiğini gösterdiği gibi, 1. ve 2. IVGTT'leri arasındaki farklılıklar da kesin diabetes teşhisi için IVGTT uygulanması yönünde araştırmacıları (3,10,12) teyit etmiştir.

Atkins ve ark (3), diabetik köpeklerden sadece bir tanesinde proteinuri tespit ettiklerini bildirirken Kaneko (10), diabette şekillenen proteinurinin renal kaynaklı olabileceğini belirtmektedir. Sunulan çalışmada, hafif (+) ve orta dereceli (++) olarak tespit edilen proteinuri, diabet şekillendikten sonra değişmez bir bulgu olarak kalmışsada enjekte edilen alloksanın böbrekleri etkileyerek proteinuri'ye sebep olabileceği ihtimali düşünülmüştür. Nygren ve ark (14), alloksan diabetik ratlarda ketonuri tespit edemediklerini bildirmişlerdir. Bunun aksine sunulan çalışmada ise bir köpektaki değişken durum hariç, diğerlerinde belirgin ketonuri şekillenmiştir. Köpeklerdeki bilirubin metabolizması gereği (10), hem diabet öncesi ve hemde diabet sonrası dönemlerde bilirubinuri tespit edilmiştir.

Kesin bir tedavisi olmayan diabetes mellitusta hiperglisemilerin düzeltilebilmesi için insülin yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Son zamanlarda ise alloksan diabetik köpeklerde hiperglisemilerin düzeltilebilmesinde hepatik glikoz üretimi ile yağ asidi oksidasyonunu azaltan metil palmoksirat (23,24), böbrek glikoz eşliğini düşüren floridzin (20) gibi maddeler üzerinde çalışılmakta olup, bu maddelerin kan şekeri düzeylerini azalttığı tespit edilmiştir. Diabeteste kan şekerinin kontrol altına alınabilmesi için diyet uygulamaları üzerinde de yoğun araştırmalar (1,2,9,14,15,16,17,26) yapılmaktadır. Sunulan araştırmada da alloksan diabetik köpeklerde fiber oranı düşük (kepeksiz ekmek) ve yüksek (çavdar ekmeği) iki farklı diyetin kan şekeri düzeylerine etkileri araştırılmış ve çavdar ekmeği uygulamasında plazma glikoz düzeylerinde azalmalar tespit edilmiştir (Tablo 2).

Jenkins ve ark (9), fiber oranı yüksek bulgur ve çavdar ekmeği uygulamasının insüline bağlı olan ve olmayan diabetlilerde kan şekerini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Nygren ve ark (14)'da, alloksan diabetik ratlara düşük fiberli gıda verdiklerinde kan glikoz düzeylerinin ikinci günde % 90'lık bir artış gösterdiğini, yüksek fiberli gıda verdiklerinde ise artış oranlarında % 40'lık azalma ile % 50 civarında kaldığını bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada diyet uygulamalarının

plazma glikoz düzeylerine etkisi iki ayrı şekilde değerlendirilmiştir. Açlık kan glikoz düzeyleri değerlendirildiğinde Yüksek fiberli çavdar ekmeği uygulaması araştırmacıları (9,15) uygun şekilde plazma glikoz düzeylerinde azalmalara yol açmış, 9. gündeki açlık kan şeker düzeyi başlangıçtan % 29 oranında düşük kalmıştır (Tablo 2). Kepeksiz ekmeği uygulamasında ise açlık kan şekerlerinde yükselmeler tespit edilmiştir. Diyet alımı sonrasında plazma glikoz seviyelerindeki artışlar değerlendirildiğinde ise; Nygren ve ark (14)'na benzer şekilde kepeksiz ekmeği alımı sonrasındaki ilk 3 saat içerisinde % 119'a varan artışlar tespit edilmesine rağmen çavdar ekmeği alımından sonraki artışlar en fazla % 88 olmuş ve çavdar ekmeği, artış oranlarında düşmelere yol açmıştır (Tablo 2).

Araştırmacılar (15), diyetteki fiber oranı yükseltilmesi için çavdar ekmeği uygulamasının pratik bir yol olduğunu, diabetik hastalara çavdar ekmeği verildiğinde insülin ihtiyacında azalmalar meydana geldiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde çalışma sonuçlarına bakıldığında (Tablo 2) çavdar ekmeği uygulamasının açlık kan glikoz düzeylerinde düzenli bir azalma meydana getirdiği ve bu şekilde kan şeker düzeyleri kontrol altına alınabileceğinden, insülin kullanımına olan ihtiyacın azalabileceği görülmektedir.

Sonuç olarak; Deneysel diabet meydana getirilmesi amacıyla kullanılan alloxan'ın köpeklerdeki dozunun 0.70 mmol/kg'dan daha düşük olması, 0.50-0.60 mmol/kg arasında kullanılmasının ise yeterli olacağı düşünüldü.

Kiliniğe getirilen küçükbaş hayvanlarda polifaji, polidipsi ve poliuri gibi semptomlarla karşılaşıldığında, glikozuri ve ketonuri gibi bulgular tespit edildiğinde kesin diabet teşhisinin konulabilmesi ve tiplerinin ayırt edilebilmesi için IVGTT yapılmasının gerekli olduğu kanısına varıldı. Ayrıca elde edilen sonuçlar ve diğer araştırmacıların (2,9,14,15,16,17,26) bildirdikleri gözönüne alındığında hiperglisemilerin kontrol altına alınabilmesi için fiber (sellüloz) oranı yüksek gıdalarda beslenmenin uygunluğuna karar verildi.

Kaynaklar

1-Al-waili, N. S. D. (1986), Treatment of diabetes mellitus by artemisia herba-alba extract: Preliminary study. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 13, 569-573.
2-Asp, N. G. (1987), Dietary fibre-definition chemistry and analytical determination. *J. Molec. Aspects. Med.*, 9, 17-29.
3-Atkins, C. O., Hill, J. R., Johnson, R. K. (1979), Diabetes mellitus in the juvenile dog: A report of four cases. *JAVMA*, 175, 362-368.
4-Brown, A. S., Nelson, R. W. and Bottoms G. D. (1987), Models for the pharmacokinetics and pharmacodynamics of insulin in alloxan-induced diabetic dogs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 76, 295-299.
5-Carouso, G., Proietto, J., Calenti, A. and Alford, F. (1983), Insulin resistance in alloxan diabetic dogs: Evidence for reversal following insulin therapy. *Diabetologia*, 25, 273-279.
6-Court, M. H., Dodman, N. H., Nornam, W. M. and Seeler, D. C. (1980), Anaesthetic management of small animal patients with endocrine disease. *Br. Vet. J.*, 144, 323-242.

7-Gilman, A. G., Goodman, L. S. Rall, T. W., Murad, F. (1985), "Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics." 7th ed., New York.
8-Hermansen, K., Schmitz, O. and Orskov. H. (1985), Reversal of D-and A-cell insensitivity to glucose in alloxan-diabetic dogs by treatment with the artificial B-cell (Biostator). *Diabetes* 34, 260-266.
9-Jenkins, D. C. A., Wolover, T. M. S., Lenkins, A. L., Giordana, C., Guidici, S., Thompson, L. U., Kalmusky, J., Josse, R. G. and Wong, G. S. (1986), Low glycaemic response to traditionally processed wheat and rye products: Bulgur and rye bran bread. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 43, 516-520.
10-Kaneko, J. J. (1989), Carbohydrate metabolism and its diseases, in "Clinical Biochemistry of Domestic Animals." Ed. by J. J. Kaneko, Academic Press, 44-81, New York.
11-Kern, T. S. and Ergerman, R. L. (1984), Platelet aggregation in experimental galactosemia. *Diabetes*, 33, 846-850.
12-Kramek, B. A., Moise, N. S., Cooper, B., Raffae, M. R. (1984), Neuropathy associated with diabetes mellitus in the cat. *JAVMA*, 184, 42-46.
13-Kruth, S. A., Seldman, E. C. and Kennedy, P. C. (1982), Insulin secreting islet cell tumors: Establishing a diagnosis and clinical course for 25 dogs. *JAVMA*, 181, 54-58.
14-Nygren, C., Hallmans, G. and Lithner, F. (1981), Long term effects of dietary fibre in bread on weight, blood glucose, glucosuria and faecal fat excretion in alloxan diabetic rats. *Diabetes and metabolism (Paris)*, 7, 115-120.
15-Nygren, C., Hallmans, G. and Lithner, F. (1984), Effect of high bran bread on blood glucose, control in insulin dependent diabetic patients, *Diabetes and metabolism (Paris)*, 10, 39-43.
16-Nygren, C., Hallmans, G. and Johnson, L. (1985), Effects of various brans on energy intake and glucose metabolism in alloxan diabetic rats. *Diabetes and metabolism (Paris)*, 11, 205-209.
17-Olefsky, J. M., Reaven, G. M., Farquar, J. W. (1974), Effects of weight reduction on obesity: Studies of carbohydrate and lipid metabolism. *J. Clin. Invest.*, 53, 64-76.
18-Rijnberg, A. (1977), Metabolic disorders, "Current Veterinary Therapy VI. Small Animal Practice", Ed. R. W. Kirk, WB Saunders Company, London.
19-Roman-Lopez, C. R. and Allred, J. B. (1987), Acute alloxan diabetes alter the activity but not the total quantity of acetyl co A carboxylase in rat liver. *J. Nutr.*, 117, 1976-1981.
20-Starke, A., Grundy, S., McGarry, J. D. and Unger, R. H. (1985), correction of hyperglycemia with phloridzin restores the glucagon response to glucose in insulin deficient dogs: Implication for human diabetes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82, 1544-1546.
21-Takasa, Y., Inoue, S., Marumo, K., Hirato, Y. (1984), Plasma responses of pancreatic polypeptide, glucagon and insulin in normal and alloxan diabetic dogs, and their regional levels in the pancreas. *Acta Endocrinologica*, 105, 233-238.
22-Trim, C. M. and hanson, R. R. (1986), effects of oxyazone on renal function and plasma glucose in ponies. *Veterinary Record*, 118, 65-67.
23-Tuman, R. W., Tutwiler, G. F., Joseph, J. M. and Wallace, N. H. (1988), Hypoglycaemic and hypoketonaemic effects of single and repeated oral doses of methyl palmitate in streptozotocin/Alloxan-induced diabetic dogs. *Br. J. Pharmacol.*, 94, 130-136.
24-Tuman, R. W., Bowden, C. R., Inman, M., Altszuler, N. and Tutwiler, G. F. (1989), Effect of fatty acid oxidation inhibitor methyl palmitate on recovery from insulin-induced hypoglycemia in diabetic dogs. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 250, 836-841.
25-Winocour, P. D., Rathbone, R. L. K. and Mustard, J. Fe. (1986), Pathways responsible for platelet hypersensitivity in rats with diabetes. I. Streptozocin-induced diabetes. *J. Lab. Clin. Med.*, 107, 148-153.
26-Wood, F. C., Bierman, E. L. (1986), Is diet the cornerstone in management of diabetes? *N. Engl. J. Med.*, 315, 1224-1227.