

NORMAL VE DİABETİK ŞAHISLARDA İNSÜLİNİN ÖN KOLDA TOTAL KETON CİSİMLERİ ÜTİLİZASYONU ÜZERİNE OLAN TESİRİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Ayhan Arınık^(x)

ÖZET

Bu çalışma, insülinin periferide total keton cisimleri ütilizasyonu üzerine olan tesirini araştırmak gayesi ile 15 normal ve 12 diabetik şahısta yapılmıştır.

Bu maksatla hastaların ön kol kan akımı da ölçülerek, brakial arterlerine pompa ile sabit bir süratle insülin perfüze edilmiş ve vena sefalikadan alınan kan numuneleri ile, diğer kol arterinden alınan kan numuneleri arasındaki total keton cisimleri farkından ve ölçülen ön kol kan akımından net total keton cisimleri ütilizasyonu hesaplanmıştır.

Netice olarak insülinin normal ve diabetik şahısların ön kolunda total keton cisimleri ütilizasyonunu anlamlı bir şekilde arttırdığı tesbit edilmiştir.

SUMMARY

In this study, the influence of insulin on periferic total ketone bodies utilisation is investigated on 27 persons, 12 diabetic and 15 normal.

In all of them, the forearme blood flow and the differences between the total keton bodies in artery and vein were measued, before and after constant insulin perfusion (100 μ /min) which was given through brachial artery.

(x) İç Hastalıkları Kürsüsü Öğretim Üyesi, Bursa Tıp Fakültesi.

It is found that by the insulin perfusion, the total keton bodies utilisation in the forearme of normal and diabetic persons was significantly increased.

Keton cisimleri Periferik dokularda Krebs siklusunda okside olarak ütilize olurlar ve böylece organizma için gerekli enerji sağlanmasına katkıda bulunurlar. Bu ütilizasyonun olabilmesi için periferik dokulara gelen aseto asetat, keto asil aktivasyon sistemleri ve adenosin trifosfat muvacehesinde AA CoA'ya dönüşür. Bu da thiolase vasıtası ile 2 molekül Ac CoA'ya ayrılır⁽¹⁾, teşekkül eden Ac CoA'lar okzal asetat ile sitrat teşkil ederek Krebs siklusuna girerler ve CO₂, H₂O ve enerji husule gelir⁽¹⁾ keton cisimlerinin karaciğer harici dokularda kullanıldıkları muhtelif organlara, meselâ böbrek ve adalelere⁽²⁻³⁾, iç organları çıkarılmış hayvanlara⁽⁴⁾, karaciğeri çıkarılmış köpeklere⁽¹⁾, kalp-akciğer preparatına⁽⁵⁾ ve normal hayvanlara⁽⁶⁾ aseto asetat ve betaoksibütirat perfüzyonlarıyla gösterilmiştir.

İnsülinin keton cisimlerinin teşekkülü üzerine olan tesirlerini araştıran ve bu tesirin teşekkülü önleyici olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur^(7,8,9,10,5,11,12,13,14).

İnsülinin karaciğer dışı dokularda keton cisimleri ütilizasyonu üzerine olan tesirleri ise halen münakaşalıdır^(15,16,17,18, 19,20,21,22,23). Sağlam insan organizması adale dokusunda insülinin ve diğer bazı hormonların glikoz, serbest yağ asitleri, elektrolitler, hücre zarı geçirgenliği ve hücre zarı elektriki potansiyeli üzerine olan tesirlerini inceliyen muhtelif çalışmalar^(24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,23,34,) yapılmış olmakla beraber, keton cisimlerinin

başlıca ütilizasyon yeri olan bu dokuda, hormonun bu bakımdan tesirini araştıran bir çalışmaya tesadüf edilmemiştir.

Bu sebeple normal ve diabetik organizmada, en büyük kitlesini adalenin teşkil ettiği ön kolda, sistemik tesir yapmayan dozda⁽²⁴⁾ glukagonsuz insilüni intra arteryel vererek ve ön kol kan akımını ölçerek kan keton cisimleri ütilizasyonunu araştırmak bu çalışmanın gayesi olmuştur.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma 15'i herhangi bir metabolik bozukluğu bulunmayan ve konumuz bakımından normal kabul edilen, 12'si diabetik olan 27 şahısta yapılmıştır.

Normal grubu teşkil eden 15 vak'ının hepside erkek idi. Diabetik grubu teşkil eden 12 vak'ının 7'si kadın, 5'i erkek idi ve hepside insülin tedavisine ihtiyaç gösteren hastalar idi.

Birinci grubu teşkil eden şahısların yaşları 14-60 ve ağırlıkları 48-72 arasında, ikinci grubu teşkil eden vak'alarda kadınların yaşları 27-65 ve ağırlıkları 38-75 kg., erkeklerin ise yaşları 25-50 ve ağırlıkları 65-70 kg. arasında idi.

Normal grubu teşkil eden şahıslara testten evvel asgari 3 gün müddet ile günde 300 gr. karbonhidrat, 60-80 gr. protein ve 80-100 gr. yağdan ibaret 2500 kalorilik bir diyet tatbik edildi.

Diabetik hastalara ise, testten asgari 3 gün önce 200 gr. karbonhidrat, 90 gr. protein, 90 gr. yağdan ibaret takriben 2000 kalorilik bir rejim tatbik edildi. Kristalize

insülin kullanan şahıslarda testten 1 gün evvel insülin kesilmiş, NPH insülin kullanan şahıslarda ise testten asgari 3 gün önce kristalize insüline geçilmiş ve gene testten 1 gün evvel insülin kesilmiştir.

Bu çalışmada insülin perfüzyonundan evvelki kontrol zamanında, perfüzyon esnasında, perfüzyon kesildikten sonraki devrede ön kolda total keton cisimleri ütilizasyonundaki değişiklikleri araştırmak gaye edinilmiş olduğundan, bütün vak'aların ön kol kan akımı ölçülmüştür. Kullandığımız pompa enjektörü 20 cc'lik olduğundan insülin perfüzyonu ve kan akımı ölçümü ancak 20 dak.yapılabilmektedir. Bu sebeple net keton ütilizasyonu ancak bu süre içinde hesaplanabilmektedir. Testin geri kalan kısmında keton cisimleri ütilizasyonu, periferik ütilizasyon koeffisiyanı olarak kabul edilen A-V/A üzerinden değerlendirilmiştir^(35,36).

Çalışma, 16 saatlik bir açlık devresini takiben yapılmıştır. Bütün vak'alara test sabahı çalışmaya başlanmasından 2 saat önce ağızdan 0.10 gr. phenobarbital verilmiş ve bütün test süresince azami itina ile ağrı tevlit etmeyecek şekilde çalışılmıştır. Böylece heyecan faktörünün asgari seviyeye indirilmesine, periferik ütilizasyonu değiştirebilecek dolaşım sürati ve debi değişmelerini önlemeye mümkün olduğu kadar gayret edilmiştir⁽³⁷⁾.

Çalışma odasına alınan hasta yatağa sırt üstü yatırılır. Sağ kol, kol eksenini vücut ile 60°'lik bir açı yapacak şekilde kol tahtası üzerine uzatılır. Lokal procaine anestezisi yapıldıktan sonra bir Cournand iğnesi ile kan akımının aksi yönünde olarak antekübital sahada arteria brachialis'e girilir. Gene antekübital sahada vena saphena

(veya bazelika)'ya kan akımının aksi yönünde olmak üzere plâstik iğne ile girilir.

Sağ kol arterine kateter konup boya ve insülin perfüzyonu yapılacağından arteriyel kan numunelerinin alınabilmesi için sol kol arteriya brakialis'ede diğer bir Cournand iğnesi konur. Bundan başka normal şahısların 6 sında ve diabetik şahısların 5 inde sol kol derin venlerinden birine de plâstik iğne konarak bütün çalışma müddetince aynı fasılalar ile kan numuneleri alınmıştır. Böylece hastaların kontrol gruplarını kendilerinin teşkil etmesi sağlanmıştır.

Bu şekilde hazırlanmış şahsın sağ arteriya brakialis'indeki cournand iğnesinden polietilen kateter geçirilir ve iğne çekilerek kateter arterde bırakılır. Kateterin diğer ucu boya ve insülin solüsyonunun bulunduğu enjektöre takılır. Solüsyonun sabit bir süratle perfüzyonu özel pompa ile sağlanmıştır. Biz pompayı dakikada 0,97 cc perfüzyon yapacak şekilde ayarlayarak kullandık.

Bütün bu ilk hazırlıklar bittikten sonra 10 dak. beklenmiş mütakiben 10'ar dakika fasılalarla 3 defa bazal kontrol kan numuneleri alınmıştır (-20,-10,0).

Bundan sonra pompa çalıştırılır ve perfüzyona başlanır. 20 dakika süren perfüzyonun 5,10. ve 20. dakikalarında venöz ve arteriyel kan numuneleri alınmıştır. Perfüzyon kesildikten sonrada 0 zamanına göre 45., 60.,90. ve 120. dakikalarda da gerekli kan numuneleri alınmıştır.

Ön kol kan akımı tayini: Andres,Zierler ve arkadaşlarının tarif ettikleri surette⁽³⁸⁾ Evans Blue (T-1824) ile yapıldı⁽³⁹⁾. Bunun için % .1 lik (1 cc de 10 mgr. Evans

Blue ihtiva eden hususi hazırlanmış ampuller kullanıldı. Boya dakikada 0.5 mgr. gidecek şekilde verildiğinden ve kullanılan pompanın enjektörü 20 cc'lik olduğundan, dakikada 0.97 cc olmak üzere 20 dakika müddetle perfüzyon yapıldı. Bu 20 dakika içinde gidecek toplam 19.4 cc mayı, hesaplanmış miktar glukagonsuz insülin ihtiva eden 18.4 cc serum fiziyojolojiye 1 cc % 1'lik boya solüsyonu ilave edilerek hazırlandı. Enjektör pompaya yerleştirildi, ajutajı arterdeki kateterin ajutajına takıldı. Perfüzyona başlamadan evvel 0 zamana kan numuneleri ile beraber boya tayininde kullanılacak blank için de kan numunesi alındı. Bilahare perfüzyona başlandı. Boyanın homojen bir şekilde dağılması için asgari 8 dakika geçmesinin lüzumlu olduğu bildirildiğinden⁽³⁸⁾, dakika hacmi tayini için kullanılacak kan numuneleri aynı kolun veninden olmak üzere perfüzyonun 10. ve 20. dakikalarında alındı. Boya konstrasyonlarını tayin için Gibson ve Evans'ın bildirdiği metod kullanıldı⁽³⁹⁾.

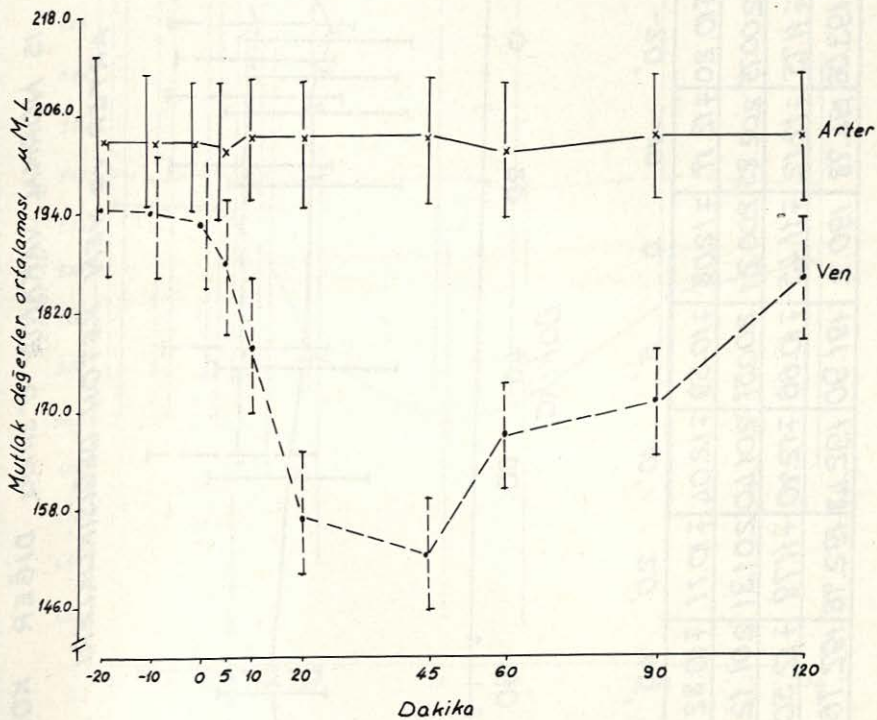
İnsülin vakaların hepsinde kg. başına 100 mikro ünitedakika olarak verildi. Andres ve arkadaşlarına göre bu miktar sistemik tesir husule getirmeyen fakat lokal olarak kan şekeri üzerine anlamlı bir tesir gösteren miktardır⁽²⁴⁾.

Kan keton cisimleri Bloom tarafından tarif edilen mikrodestilasyon usulü ile kantitatif olarak tayin edilmiştir⁽⁴¹⁾.

NETİCELER VE MÜNAKAŞA

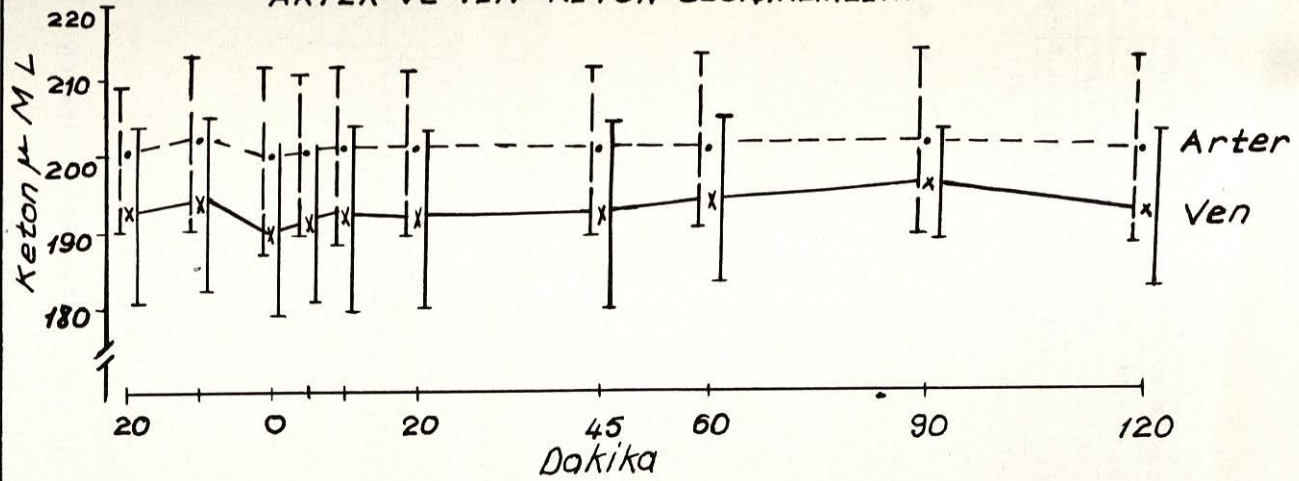
Normallerde insülin perfüzyonu ile ön kol kan keton seviyelerinde husule gelen değişiklikler: Bu grubu teşkil eden 15 vak'ada insülin perfüzyonu ile kan keton seviyelerinde husule gelen değişiklikler istatistiki metodlar ile

NORMAL GURUBU TEŞKİL EDEN 15 VAKA'NIN
ARTER VE VEN KETONEMİ DEĞİŞİKLİKLERİ



		-20'	-10'	0	5'	10'	20'	45'	60'	90'	120'
Arter	$\bar{\Sigma}m$	$\bar{7} 9.60$	$\bar{7} 7.92$	$\bar{7} 8.26$	$\bar{7} 8.27$	$\bar{7} 8.05$	$\bar{7} 8.21$	$\bar{7} 7.97$	$\bar{7} 8.06$	$\bar{7} 7.81$	$\bar{7} 7.97$
	m	203.98	203.29	203.28	203.14	204.20	203.40	203.76	202.94	204.20	203.75
Ven	$\bar{\Sigma}m$	$\bar{7} 8.21$	$\bar{7} 7.42$	$\bar{7} 7.84$	$\bar{7} 8.52$	$\bar{7} 8.23$	$\bar{7} 7.50$	$\bar{7} 6.81$	$\bar{7} 6.81$	$\bar{7} 6.65$	$\bar{7} 7.58$
	m	194.88	194.45	193.96	188.34	178.92	157.77	152.83	167.18	171.45	186.30

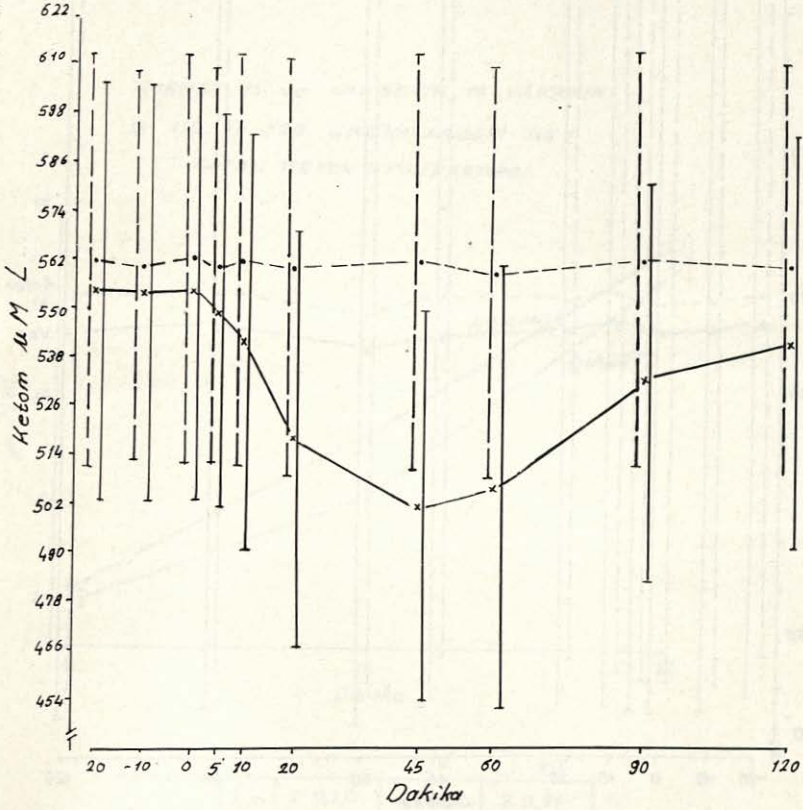
15 NORMAL VAKANIN 6'sında DİĞER KOL
ARTER VE VEN KETON DEĞİŞİKLİKLERİ



		-20'	-10'	0	5'	10'	20'	45'	60'	90'	120'
Arter	Σm	$\bar{1}0.20$	$\bar{1}2.17$	$\bar{1}2.08$	$\bar{1}0.69$	$\bar{1}2.04$	$\bar{1}0.71$	$\bar{1}0.82$	$\bar{1}2.04$	$\bar{1}2.00$	$\bar{1}2.04$
	m	200.75	202.85	200.21	200.51	201.40	201.31	201.12	201.40	201.96	201.68
Ven	Σm	$\bar{1}1.75$	$\bar{1}2.12$	$\bar{1}1.45$	$\bar{1}0.66$	$\bar{1}2.70$	$\bar{1}1.79$	$\bar{1}2.50$	$\bar{1}1.80$	$\bar{1}7.62$	$\bar{1}0.95$
	m	193.06	194.78	190.2	191.90	192.48	192.76	192.76	194.20	196.20	193.05

Grafik - 2

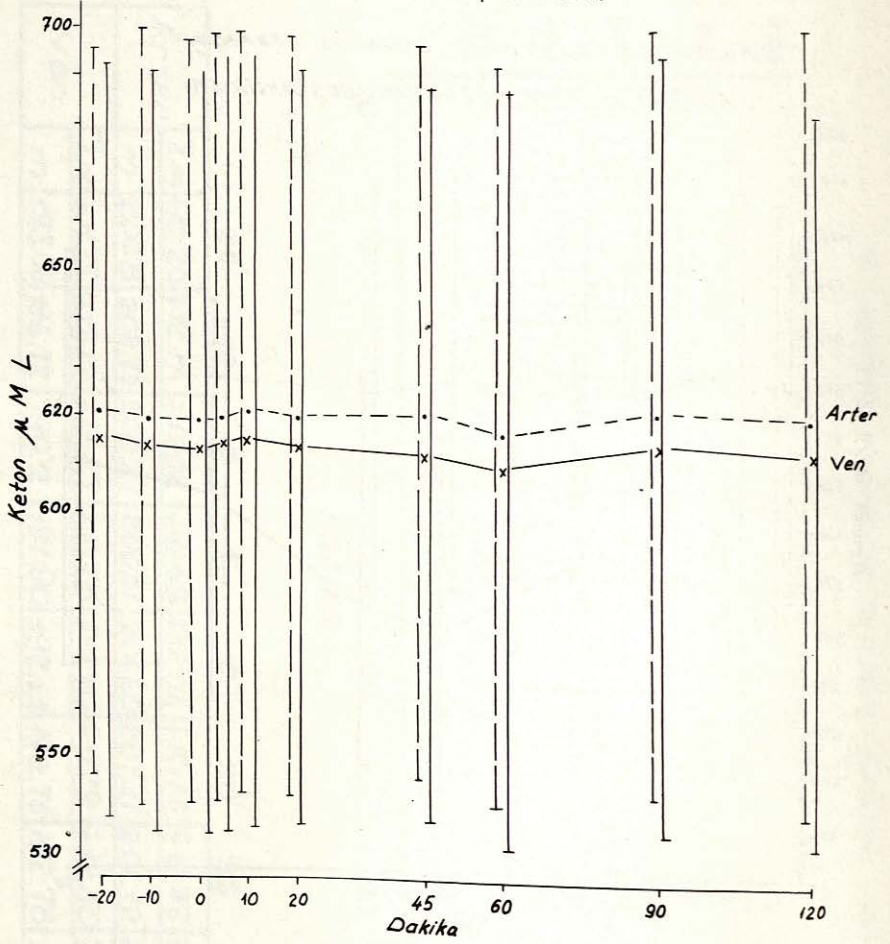
DIABETİK GURUBU TEŞKİL EDEN 12 VAKANIN
ARTER ve VEN KETONEMİ DEĞİŞİKLİKLERİ



		-20	-10	0	5'	10'	20'	45'	60'	90'	120'
Arter	$\bar{\Sigma}m$	$\bar{\pm}51.0$	$\bar{\pm}47.90$	$\bar{\pm}50.79$	$\bar{\pm}53.8$	$\bar{\pm}51.67$	$\bar{\pm}50.8$	$\bar{\pm}50.8$	$\bar{\pm}51.2$	$\bar{\pm}51.4$	
	m	562.03	561.45	563.15	561.05	562.00	560.47	562.00	558.66	562.89	560.80
Ven	$\bar{\Sigma}m$	$\bar{\pm}50.87$	$\bar{\pm}51.10$	$\bar{\pm}50.09$	$\bar{\pm}51.29$	$\bar{\pm}51.67$	$\bar{\pm}50.6$	$\bar{\pm}49.73$	$\bar{\pm}53.6$	$\bar{\pm}49.5$	$\bar{\pm}51.2$
	m	554.10	554.50	555.10	549.05	542.50	518.60	501.51	505.41	532.68	541.34

Grafik - 3

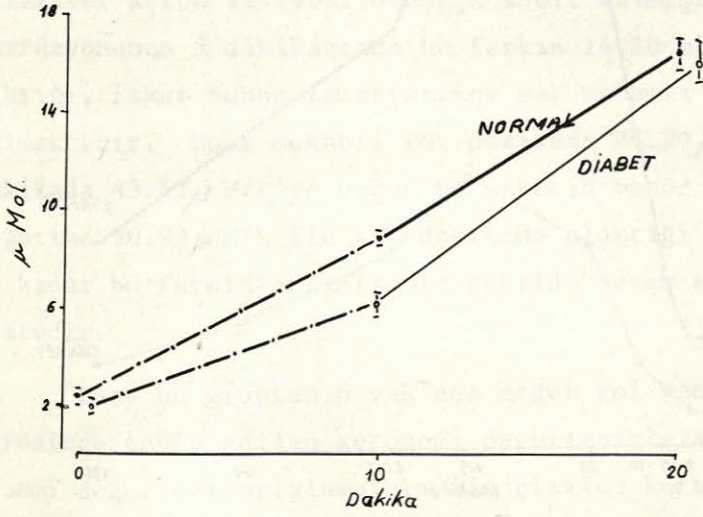
12 DİABETİK VAKANIN 5'inde DİĞER KOL ARTER ve VEN
KETON DEĞİŞİKLİKLERİ



		-20'	-10'	0	5'	10'	20'	45'	60'	90'	120'
Arter	Σm	$\bar{76.81}$	$\bar{79.50}$	$\bar{78.18}$	$\bar{70.09}$	$\bar{78.63}$	$\bar{77.72}$	$\bar{77.72}$	$\bar{76.81}$	$\bar{78.63}$	$\bar{80.00}$
	m	621.36	619.82	619.84	619.96	627.66	620.30	620.98	615.82	621.22	619.60
Ven	Σm	$\bar{77.18}$	$\bar{78.50}$	$\bar{78.50}$	$\bar{79.00}$	$\bar{79.40}$	$\bar{76.30}$	$\bar{77.67}$	$\bar{77.86}$	$\bar{79.40}$	$\bar{79.45}$
	m	614.44	613.10	614.08	615.14	614.44	614.44	612.72	609.64	614.46	612.72

Grafik - 4

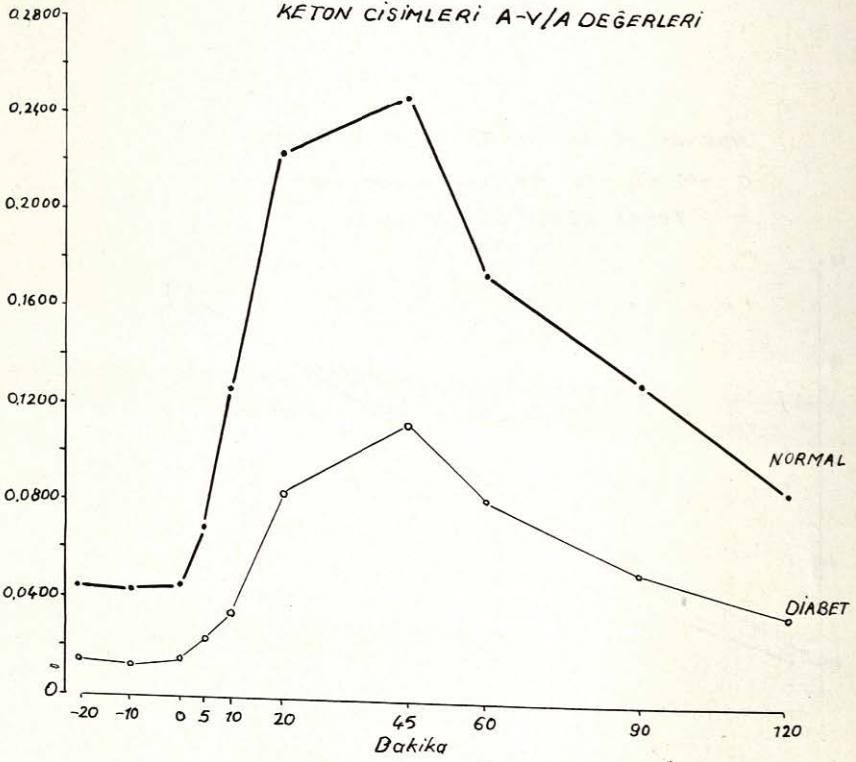
NORMAL 15 ve DIABETİK 12 VAKANIN
0. 10. ve 20. DAKİKALARDAKİ NET
TOTAL KETON UTILİZASYONU



		0	10'	20'
NORMAL	Σm	\bar{F} 0.20	\bar{F} 0.37	\bar{F} 0.71
	m	2.36	8.89	16.45
DIABET	Σm	\bar{F} 0.19	\bar{F} 0.40	\bar{F} 1.05
	m	2.10	6.29	16.05

Grafik - 5

NORMAL 15 ve DİABETİK 12 VAKANIN KAN TOTAL
KETON CİSİMLERİ A-Y/A DEĞERLERİ



		-20'	-10'	0	5'	10'	20'	45'	60'	90'	120'
NORMAL	Σm	∓ 0.0023	∓ 0.0023	∓ 0.0031	∓ 0.045	∓ 0.0077	∓ 0.0083	∓ 0.0030	∓ 0.0088	∓ 0.0079	∓ 0.0044
	m	0.0454	0.0442	0.0447	0.0689	0.1264	0.2332	0.2477	0.1752	0.1810	0.0880
DİABET	Σm	∓ 0.0011	∓ 0.0022	∓ 0.0020	∓ 0.0041	∓ 0.0031	∓ 0.0085	∓ 0.0089	∓ 0.0041	∓ 0.0031	∓ 0.0029
	m	0.0148	0.0132	0.0158	0.0242	0.0346	0.0841	0.1143	0.0822	0.0553	0.0371

Grafik - 6

mikromol/L olarak mutlak değerler üzerinden hesaplanan standart erörleri belirtilerek, aritmetik ortalamalarından elde edilen kurbalar halinde grafik - 1 de gösterilmiştir. Burada, insülin perfüzyonunun başlama zamanından önceki bazal arter ve ven keton seviyeleri arasındaki farkların oldukça sabit kaldığı görülmektedir. Burada ortalama arteriyal keton seviyesi 203.51 mikromol/L ven ketonemi seviyesi ise 194.43 mikromol/L olmak üzere arada 9.09 mikromol/L'lik bir fark tesbit edilmiştir. Ayrıca bütün test süresince arteriyel keton seviyesi oldukça sabit kalmıştır. İnsülin perfüzyonunun 5 dakikasında bu farkın 14.20 mikromol/L'ye çıktığı, fakat bunun istatistikçe pek anlamlı olmadığı görülmektedir. Buna mukabil 10. dakikada 25.28 μ M/L, 20. dakikada 45.67 μ M/L'ye varan bu arteriö-venöz farkın, azami değerine 50.93 μ M/L ile 45. dakikada ulaştığı ve test sonuna kadar bu farkın anlamlı bir şekilde devam ettiği görülmektedir.

Gene bu gruptan 6 vak'ada diğer kol veninden test süresince takip edilen ketonemi değerleriyle arteriyal ketonemi değerleri ortalamaları ile çizilen kurbalar grafik-2 de gösterilmiştir. Burada görüldüğü gibi bütün test süresince bazal kontrol değerlerinden farklı bir değişiklik görülmemiştir.

Diabetik vak'alarda insülin perfüzyonu ile ön kol kan keton seviyelerinde husule gelen değişiklikler: Bu grubu teşkil eden 12 vak'ada insülin perfüzyonu esnasında ve perfüzyonun kesilmesinden sonra kan keton seviyesinde husule gelen değişiklikler grafik-3'de gösterilmiştir. Bu vak'alarında bazal arter ve ven ketonemi seviyeleri ortalamaları oldukça sabit bir seyir göstermektedir. Ortalama arte-

riyel ketonemi seviyesi $562.21 \mu\text{M/L}$ ve ven ketonemi seviyesi $554,65 \mu\text{M/L}$, aradaki fark ise $7.56 \mu\text{M/L}$ dir. Arteriyel ketonemi seviyesinin bütün test müddetince oldukça sabit kaldığı görülmektedir. 5. dakikada A- V farkı $11.40 \mu\text{M/L}$ ve düşüşün en bariz olduğu 40. dakikada $60.49 \mu\text{M/L}$ olarak bulunmuş ve test sonuna kadar gittikçe azalan bir şekilde devam etmiştir.

Bu gruptan 5 vak'anın diğer kol veninden test süresince takip edilen ketonemi değerleri ile arteriyel ketonemi değerleri ortalamaları ile çizilen kurplar grafik - 4 de gösterilmiştir. Burada da test süresince bazal kontrol değerlerinden farklı bir değişiklik görülmemiştir.

Normal şahıslarda ve diabetiklerde insülin perfüzyonunun 10. ve 20. dakikalarında ölçülen ön kol kan akımı ve bu zamanlardaki arter ve ven keton cisimleri farklarından ön kol net keton cisimleri ütilizasyon miktarları hesaplanmıştır. Teknik imkânsızlıktan ölçemediğimiz bazal ön kol akımı ve net keton cisimleri ütilizasyonunu şu şekilde hesapladık: Literatürde verdiğimiz doz insülinin kan akımını ilk 10 dakikada ortalama % 26 arttırdığı bildirilmektedir (24). Buna dayanarak grupların bazal ön kol kan akımını 10. dakikada ölçülenin % 26 eksiği olarak kabul ettik. Buna göre ortalama değerlerden elde edilen eğriler grafik- 5 de gösterilmiştir.

Bu çalışmada normal şahıslarda ön kol kan akımı değerleri istatistiki ortalaması 10. dakikada 35.37 cc , 20. dakikada 36.17 cc bulunmuştur. Bu iki zaman arasında ön kol kan akımında % 2.26 bir artma husule geldiği görülmektedir. Aynı şekilde diabetik 12 vak'ada ön kol kan akımı

değerleri istatistikî ortalaması 10. dakikada 35.68 cc, 20. dakikada 36.58 cc olup bu iki zaman arasındaki artış % 2.52 nisbetindedir.

Normal grupta 10. ve 20. dakikalarda ölçülen ve 0 zamanından itibaren olarak hesaplanan ön kol kan akımlarına göre bulunan net keton ütilizasyonları sırası ile 0 zamanında $2.36 \mu\text{M}$ 10. dakikada $8.89 \mu\text{M}$ ve 20. dakikada $16.45 \mu\text{M}$ olarak hesaplanmıştır. Diabetik grupta ise bu değerler $2.10 \mu\text{M}$, $6.29 \mu\text{M}$ ve $16.05 \mu\text{M}$ olarak bulunmuştur.

Bundan başka her iki grup vak'ada net ütilizasyonun ölçülemediği zamanlara ait keton cisimleri ütilizasyonunu takip edebilmek maksadı ile periferik ütilizasyon koefisyanı olarak A-V/A değerleri hesaplanmıştır. Her iki gruba ait vak'aların aynı zamanlarda bulunan A-V/A değerleri ortalamaları grafik 6 da gösterilmiştir.

Bu neticelere göre verilen dozdaki insülin sistemik bir tesir göstermemiştir. Gerek normal gerekse diabetik şahısların ön kolunda keton cisimleri ütilizasyonunu anlamlı bir şekilde arttırmıştır.

KAYNAKLAR

1. Campbell, J., and Best, C.H.: *Physiologic aspects of ketosis. Metabolism* 5: 95, 1956
2. Snapper, I., und Grünbaum, A.: *Über der abbau der diacetsaure in der niere. Biochem. Ztschr.* 185: 223, 1927
3. Snapper, I., und Grünbaum, A.: *Über der abbau von diacetsaure und betad buttersaure in der muskeln. Biochem. Ztschr.* 201: 464, 1928

4. Chaikoff, J.L., and Soskin, S.: The utilisation of acetoacetate by normal and diabetic dogs before and after evisceration. *Am.J.Physiol.* 87: 58, 1928
5. Waters, W.T.A., Fletcher, J.P., and Mirsky, I.A.: The relation between carbohydrate and beta oxybutyrate utilisation by the heart-lung preparation. *Physiol.* 122: 542, 1938
6. Wick, A.N., and Drury, D.R.: The effect of concentration on the rate of utilisation of beta-hydroxy butyric acid by the rabbit. *J.Biol.Chem.* 138: 129, 1941
7. Alberti, K.G.M.M.: Blood metabolites in the diagnosis and treatment of diabetes mellitus post-Grad med. *J.* 49: 955. 1973
8. Albrink, M.J., and Man, E.B.: Serum triglycerides in health and diabetes. *Diabetes* 7: 194, 1958
9. Campbell, J.: Hyperlipidemia with ketoacidosis. *Metabolism* 11: 762, 1962
10. Lehninger, A.L., and Greville, G.D.: The enzymatic oxidation of d- and l-betaoxybutyrate. *Biochem.Biophys. Acta* 12: 188, 1953
11. Werk, E.Jr., Mc Pherson, H.T., Hamrick, L.V.Jr., Myers, J.D., and Engel, F.L.: Studies on ketone metabolism in man. I. A method for the quantitative estimation for the splanchnic ketone production, *J.Clin.Invest.* 34: 1256, 1955
12. Werk, E.Jr., Mc Pherson, H.T., et al.: Studies on ketone metabolism in man II. The effect of glucose, insulin, cortisone and hypoglycemia on splanchnic ketone production. *J.Clin.Invest.* 37: 1379, 1958

13. Werk, E. Jr., Knowless, N. C. Jr.: The blood ketone and plasma free fatty acid concentration in diabetic and normal subjects. *Diabetes* 10: 22, 1961
14. Wildenhoff, K. E. Johansen, J. P., Karstoft, H., Yde, H.: Diurnal variations in the concentrations of blood acetate and 3-hydroxybutyrate. *Acta med. Scand.* 195: 25, 1974
15. Arınık, A., Sandalcı, Ö., Berker, F.: Diabet ketoasidozunda insulinin kan ketonları üzerine kantitatif etkisi. *Tıp Fak. Me. (İst.)* 27: 115, 1964
16. Beatty, C. H., and West, E. S.: Effect of succinate, fumarate and oxalacetate on ketone body production by liver slices from nondiabetic and diabetic cats. *J. Biol. Chem.* 230: 725, 1958
17. Fasella, P., Baglioni, C., Turano, C., and Sliprandi, N.: Action of citrate and oxalacetate on dietary and diabetic ketosis *Lancet* 1: 1907, 1958.
18. Houssay, B. A.: Hormonal factors of diabetic ketosis. *Diabetes* 12: 481, 1963
19. Krebs, H. A.: The biochemical lesion in ketosis. *AMA Arch. Int. Med.* 107: 51, 1961
20. Mc Kay, E. M., Barnes, R. H., Carne, H. O., and Wick, A. N.: Ketogenic activity of acetic acid. *J. Biol. Chem.* 135: 157 1940
21. Stadie, W. C., Zapp, A. J., and Lukens, F. D. W.: Effects of insulin upon ketone metabolism of normal and diabetic cats. *J. Biol. Chem.* 132: 423, 1940

22. Stadie, W.C.: *Ketogenesis. Diabetes* 7: 173, 1958
23. Zierler, K.L., Rabinowitz, D.: *Effect of very small concentration of insulin in forearm metabolism. Persistence of its action on potassium and free fatty acids without its effect on glucose. J.Clin.Invest.* 43.5, 1964
24. Andres, R., Baltzan, M.A., Cader, G., and Zierler, K.L.: *Effect of insulin on carbohydrate metabolism and on potassium in the forearm of man. J.Clin.Invest.* 41:108, 1962
25. Andres, R., Cader, G., Zierler, K.L., and Baltzan, M.A.: *Heterogeneity of forearm metabolism with special reference to the free fatty acids. J.Clin.Invest.* 41: 116, 1962
26. Butterfield, W.J.H., Garratt, C.J., and Whichelow, M.J.: *Peripheral hormone action: Studies on the clearance and effect of 1131-iodo insulin in the peripheral tissues of normal, acromegalic and diabetic subjects. Clin.Sci.* 24: 331, 1963
27. Rabinowitz, D., and Zierler, K.L.: *Role of free fatty acids in forearm metabolism in man, quantitated by use of insulin. J.Clin. Invest.* 41. 2191, 1962
28. Rabinowitz, D., and Zierler, K.L.: *Forearm metabolism in obesity and its response to intraarterial insulin. Characterisation of insulin resistance and evidence for adaptive hyperinsulinism. J.Clin.Invest.* 41: 2173, 1962
29. Zierler, K.L., *Increased muscle permeability to aldolase produced by insulin and by albumins. Am.J.Physiol.* 192: 283, 1958

30. Zierler, K.L.: *Effect of insulin on membrane potential and potassium content of rat muscle. Am.J.Physiol. 197: 519, 1959*
31. Zierler, K.L.: *Hyperpolarisation of muscle by insulin in a glucose-free environment. Am.J.Physiol. 197: 524, 1959*
32. Zierler, K.L.: *A model of poorly permeabl membrane as an alter native to the carrier hypothesis of cell membrane penetration. Bull. Johns Hopkins Hosp. 35, 1961*
33. Zierler, K.L., Rabinowitz, D.: *Role of insulin and growth hormone based on studies of forearm metabolism in man. Medicine 42: 385, 1963*
34. Zierler, K.L.: *Possible mechanism of insulin action on membrane potential and ion fluxes. Am. J. Med. 40: 735, 1966*
35. Goetz, F.C., Gilbertsen, A.S., Josephson, V.: *Acute effects of Orinase on peripheral glucose utilisation. Metabolism 5: 788, 1956*
36. Madison, L.L., and Unger, R.H.: *Comparison of the effects of insulin and orinase (tolbutamide) on peripheral glucose utilisation in the dog. Metabolism 7: 227, 1958*
37. Hundle, L.E. Jr., Conger, G.B., and Wolff, S.: *Studies on diabetes mellitus. The relationship of stressfull life situations to the concentrations of ketone bodies in the blood of diabetic and non diabetic humans. J. Clin. Invest. 29: 754. 1950*

38. Andres,R.,Zierler,K.L.,Anderson,A.M.,Stainsky,W.N.,Cader,
G., Ghrayyib,A.S.,and Lilienthal,J.L. Jr.: Measurement
of blood flow and volume in the forearm of man; with
notes on the theory of indicator dilution,and on pro-
duction of turbulence,hemolysis and vasodilation by
intravascular injection. *J.Clin.Invest.* 33: 482,1954
39. Gibson,J.G., and Evans,A.W.Jr.: Clinical studies of the
blood volume. I.Clinical application of a method emp-
loying the the azo dy (Evans Blue) and the spectrop-
hotometer. *J.Clin.Invest.* 16: 301, 1937
40. Shaw,W.V.,and Tapley,D.F.: Oxalacetate in the livers
of alloxane diabetic rats. *Biochem. Biophys. Acta*
30: 426, 1958
41. Bloom,W.L.: The determination of ketone bodies in biolo-
gical fluids. *J. Lab. Clin. Med.* 51: 824, 1958