

FABAD Farm. Bil. Der.  
17, 23 - 31, 1992

FABAD J. Pharm. Sci.  
17, 23 - 31, 1992

## DIYETİNE ASKORBİK ASİD EKLENMİŞ KOBAYLARDA GLUKOZ YÜKLEMESİNİN KAN ASKORBİK ASİD VE İNSULİN DÜZEYLERİNE ETKİLERİ

Birsen KAPLAN (\*)

Bilge GÖNÜL (\*)

Şehri ÇELEN (\*\*)

Aysel KÜKNER (\*\*\*)

**Özet:** Askorbik asid (AA) ve glukoz metabolizması arasındaki ilişki araştırıldı. 16 gün süreyle içme sularına C vitamini eklenen (1gr/L/24st) kobaylarda glukoz yüklemeden önce ve sonra kan glukoz, insulin ve AA düzeyleri saptandı. Sonuçlar serbest olarak su içmelerine izin verilen kontrollere karşılaştırıldı. Kontrol ve C vitamini yüklemeli grubtaki deneklere ait pankreas preparatları ışık mikroskopunda incelendi. Patolojik değişiklik görülmedi, fakat vitamin C eklenen kobay pankreasında sinuzoidler genişlemiş bulundu. Vitamin C uygulanan kobayların kan AA düzeyleri 16. günde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yükselmiş bulundu ( $P<0.05$ ). Tüm deney hayvanlarının kan glukoz düzeyi glukoz yüklemesiyle arttı. Kan şeker ve insulin düzeyi glukoz yüklemesiyle artarken kan AA düzeyi düştü.

Bu bulgulara göre, vitamin C uygulamalı ve glukoz enjeksiyonu yapılan kobaylarda serum insulinini ve azalan kan AA arasında ilişki olabileceği sonucuna varıldı.

## EFFECTS OF GLUCOSE LOADING ON THE BLOOD ASCORBIC ACID AND INSULIN LEVELS OF VITAMIN C SUPPLEMENTED GUINEA PIGS

**Summary:** The relationship between ascorbic acid and glucose metabolism was studied. Blood glucose, insulin and ascorbic acid levels were determined, before and after glucose loading, in guinea pigs maintained on vitamin C supplemented drinking water for 16 days (1g Vit C/L/24hr). The results were compared to controls kept on un-supplemented water. Pancreas preparations from controls and experimental animals were examined under the light microscope. There was not pathological change, but large sinusoids in vitamin C supplemented guinea pigs pancreas, 16th day of vitamin C treatment. The blood AA levels of animals were significantly increased ( $P<0.05$ ) compared to controls. The blood glucose levels of all experimental animals were increased with glucose loading. While the blood glucose and insulin levels were increased by glucose loading the blood ascorbic acid level decreased.

In conclusion, there may be relation between increased serum insulin and decreased blood AA in vitamin C supplemented and glucose loaded guinea pigs.

**Key words :** Ascorbic acid, Insulin, Glucose

Başvuru Tarihi : 22.5.1991

Kabul Tarihi : 6.11.1991

(\*) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji ABD, Beşevler-Ankara  
(\*\*) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nükleer Tıp ABD, Beşevler-Ankara  
(\*\*\*) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Morfoloji ABD, Beşevler-Ankara

## GİRİŞ

AA, yapıcı glukoz ve 6 karbonlu monosakkaritlere benzeyen bir ketolaktondur. Beyaz ya da sarı kristaller ya da toz halinde bulunur. Suda, alkolde çözülebilir, kloroform, eter, benzende çözünmez (1). AA, bir çok hayvanın karaciğer hücresi mikrozomlarında sentezlenir (2). Kobay, maymun, insan gibi canlı türleri AA sentezleyemez (1, 2, 3). Bu canlılarda üronik asit yolunda oluşan L-gulonolaktonu, 2-keto-L-gulonolaktona okside eden L-gulonolakton oksidaz enzimi bulunmamaktadır (1, 2, 3, 4, 5, 6). Bu canlılarda enzimin endojen inhibitörleri de bulunmamaktadır. İnsanlarda AA'nın kaynağı eksojendir. (1, 7).

AA oksidasyonu ile birinci stabil ürün olarak dehidroaskorbik asit meydana gelir (7). Dehidroaskorbik asidin kimyasal yapısı allokšana benzemektedir (8). AA'nın allokshanla olan sinerjistik etkisi dehidroaskorbik asit yoluyla olmaktadır (9). Dehidroaskorbik asidin langerhans adacığının beta hücrelerine olan etkisi allokshanla benzerdir (8). Diyabetik bir organizmada doku ve plazma AA düzeyi düşük, dehidroaskorbik asit konsantrasyonu yüksektir (1, 10, 11, 12, 13). Diyabetiklerde frajil kapillerin dayanıklılığını AA yüklemesi artırmaktadır (14). Diyabetiğin bedeninde AA döngüsü yüksektir. Yüksek döngü sonucu AA oksidasyonunun artmasına bağlı olarak dehidroaskorbik asit artar (11). Bazı bilim adamları ise bu durumu diketogulonik asidin az olmasına bağlamaktadır (15). Metabolitlerin günlük idrar atılımında %20-25'i AA ve dehidroaskorbik asit, %20'si diketogulonik asit, %40-45'i oksalattır, AA sülfat ve sakkarosülfat az miktarda bulunur (16).

### Araştırmamızın orijinallliğini,

1- Fizyolojik koşullarda insanlarda

olduğu gibi AA sentezleyemeyen kobaylara 16 gün süreyle AA yüklemesi yapıldıktan sonra bu yüklemenin kan glukoz, insülin bağlantısına etkisinin araştırılması,

2- Akut glukoz yüklemesinden sonra 10, 40, 100 dakikalarda intrakardiyak ponksiyonla alınan kan numunelerinde glukoz, insülin düzeylerinin ölçülerek, AA düzeyleri ile ilişkisinin tartışılması oluşturmaktadır,

3- Ayrıca AA yüklenen kobaylarda glukoz yüklemesinden sonraki pankreas histolojik kesitleri de incelenerek tartışılmıştır.

## GEREC VE YÖNTEM

Denek olarak, insanlar gibi AA'yi eksojen kaynaklardan sağlamak zorunda olan kobaylar seçildi.

Her iki cinsten 15 adet kobayın beden ağırlıkları ortalama  $339 \pm 17$  g olarak bulunmuştur. Kobaylar deney süresince normal oda sıcaklığında tutularak, kontrol (n:5) ve C vitamini yüklemeli (n:10) olmak üzere ikiye ayrıldılar. Kontrol grubuna, 16 gün su ihtiyaçlarını karşılamak üzere, yeşil yapraklı besinler ve yem sanayii kobay peleti verildi. C vitamini yüklemeli gruba, 16 gün süreyle, oral yoldan AA (Redoxon, Roche) yüklemesi yapıldı (1mg/ml/24st) (17). AA eklemeli su ile (18) yem sanayii kobay peleti verildi. Deney süresinin başında ve 16 gün sonunda beden ağırlıkları, idrarda AA ve glukoz atılımı (Combi 3A, Austria) saptandı. 16. günde 18 st aç bırakılan deneklerde kanda glukoz, insülin ve AA düzeyleri tayini glukoz yüklemesiyle belirli aralarla takip edildi. Glukoz yüklemesi için %25'lik glukoz solüsyonundan (1g/kg) ip enjeksiyon yapıldı (19, 20). Bunun için şu işlemler

yapılmıştır : Her iki grupta pentotal (Pentothal sodium, Abbott) anestezisi yapıldı (0.6ml/kg, ip). Intrakardiyak ponksiyonla alınan Odk. kan numunesinde, total kanda AA tayini, 2, 4 - dinitrofenilhidrazin işleminin kanda mikro işlem metodunun modifiye şekli ile (21, 22), serum insulini RIA (Coat-A-Count, DPC) ile (23) kan glukozu, glukoz oksidaz enzimatik yöntemi ile (23) ölçüldü. %25'lik glukoz solusyonundan 1g/kg dozda ip yolla enjekte edildikten sonra 10, 40, 100 dk. alınan kan numunesinde AA ve glukoz düzeyleri her iki grup için saptandı. Kan şekerinin en yüksek bulunduğu 40. dk itibaren de her iki grupta kobayların insulini tayinleri yapıldı. C vitamini yüklemesi yapılmadan ve yüklemenin 16. günü kobayların idrarlarında Combi 3A test stribi ile AA ve glukoz atılımı olup olmadığına bakıldı. Her iki grup kobay servikal dislokasyon ile öldürüldü. Abdominal kaviteden açıldı. Pankreaslar %10'luk nötral formaline alındı (24). Pankreas tespiti yapıldı. Tespit sonrasında 6st suda yıkanan dokular dehidratasyon, şeffaflandırma, blokama işlemlerine tabii tutuldu. Pankreaslar alfa ve beta hücrelerinin spesifik ayırımı sağlayan Gomori'nin Kromyum Hematoksilin Filoksin boyası ile boyanarak (25), Olympus BH<sub>2</sub> mikroskopunda incelenip, Olympus C-35 fotoğraf makinesiyle resimlendirildi.

Kontrol ve deney grubundan elde edilen bulgular karşılaştırılarak "Student's t" testi ile değerlendirildi.

### BULGULAR

Kontrol ve C vitamini yüklenen deney grubunun serum glukoz, insülin ve kan AA düzeyleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

### I - Serum Glukoz Düzeyi Bulguları

Kontrol ve denek serum glukoz düzeyleri 0, 10, 40, 100 dk. student's t testi ile değerlendirildiğinde 10 ve 40. dakikalardaki artışlar arasında istatistiksel açıdan önemli fark olmadığı anlaşılmıştır. Buna karşılık AA yüklemelilerin glukoz düzeyleri 0. ve 100 dk istatistiksel açıdan kontrollara göre belirgin yüksek bulunmuştur (P<0.01).

Denek grubu grup içi ve kontrol grubu grub içi değerlendirmesinde 0, 10, 40, 100dk serum glukoz düzeyleri arasındaki farkın belirgin olduğu anlaşılmıştır (P<0.001). Farkın belirgin oluşu glukoz yüklemesinin yapıldığını göstermektedir.

### II- Serum İnsulin Düzeyi Bulguları

Kontrol ve denek grubu serum insülin düzeylerinin istatistiksel karşılaştırılmasında kontrol ve denek grubunda glukoz yüklemesinin 40. dakikasındaki farkın önemli olduğu anlaşılmıştır. (P<0.001) Kontrol grubu içi glukoz yüklemesi öncesi yani 0. dk ile glukoz yüklemesi sonrası 40 ve 100 dk. serum insülin düzeyleri karşılaştırıldığında fark anlamlıdır (P<0.05).

Denek grubu glukoz yüklemesi öncesi 0. dk ile glukoz yüklemesi sonrası 40. dk insülin düzeyleri karşılaştırması yapıldığında fark belirgindir (P<0.05).0-100 dk arası farkı da belirgindir (P<0.001).

### III- Kan AA Düzeyleri Bulguları

Kontrol ve denek grubu 0 dk kan AA düzeyleri student's t testi ile karşılaştırıldığında fark belirgin olarak an-

**Tablo 1.** Glukoz enjekte edilen kobayların serum insülin, glukoz ve kan AA düzeylerine C vitamini yüklemesinin etkilerinin kontrollerle karşılaştırılması

Deney grubu	Denek sayısı	Glukoz Uygulaması			
		Süre (dk)			
		0	10	40	100
<b>Serum Glukoz Düzeyi (mg/100ml)</b>					
Kontrol	5	118 ± 4.52	211 ± 8.03	258 ± 22.1	196 ± 14.9
C vitamini yüklemeli grup	10	xxx 138 ± 13.3	229 ± 18.8	265 ± 49.4	xxx 244 ± 28.6
<b>Serum İnsülin Düzeyi (µIU/ml)</b>					
Kontrol	5	6.83 ± 4.0	—	18.3 ± 7.5	15.5 ± 4.0
C vitamini yüklemeli grup	10	xx 11.7 ± 2.0	—	xxxx 41.4 ± 4.77	xxx 30.9 ± 11.9
<b>Kan AA Düzeyi (mg/100ml)</b>					
Kontrol	5	2.25 ± 0.23	2.21 ± 0.47	1.04 ± 0.38	1.38 0.38
C vitamini yüklemeli grup	10	x 4.14 ± 0.54	4.14 ± 0.78	xxx 3.66 ± 0.53	xx 3.77 ± 0.6

— Tabloda Aritmetik Ortalama ±SD gösterilmiştir.

— Kontrol - C vitamini yüklemeli gruplar arasında istatistiksel farklar :

xxxx : P<0.001, xxx : P<0.01, xx : P<0.02, x : P<0.05

lamlıdır ( $P<0.05$ ). Denek grubu, kan AA düzeyinin 0. dk kontrol grubu AA düzeyine kıyasla yüksek olması AA yüklemesinin gerçekleştirildiğini belirten bir bulgudur. Glukoz yüklendikten sonra 40. dk kan AA düzeyleri kontrol ve AA yüklemeli iki grup arasında belirgin bir fark göstermektedir. ( $P<0.01$ ). Kontrol ve denek grubu glukoz yüklemesinin 100. dk kan AA düzeyi yine belirgin fark göstermektedir ( $P<0.02$ ).

Kontrol grubu grubu içi kan AA düzeyi 0 dk ve glukoz yüklemesi sonrası 40 dk arası düşüşü anlamlıdır ( $P<0.05$ ). 0-100 dk 10-40 dk arası farkı da istatistiksel açıdan anlamlıdır ( $P<0.01$ ).

Denek grubu grubu içi glukoz yüklemesi öncesi 0 dk ile uygulama sonrası 40 dk arası farkı anlamlıdır ( $P<0.05$ ), 0-100 dk ve 10-40 dk arası düşme de sırasıyla  $P<0.1$  ve  $P<0.05$  olmak üzere belirgin fark göstermektedir.

Kontrol ve AA yüklemeli grup idrar AA ve glukoz atılımı tespiti test şeridi (Combi 3A, Austria) ile yapılmıştır. Sonuç olarak kontrol grubu idrarında uygulama süresince, glukoz ve AA atılımı olmadığı AA yüklemeli grup idrarında ise, AA yüklemesi öncesi, AA ve glukoz atılımı olmayıp, AA yüklemesi sonrası, AA atılımı olduğu (+, ++) ve glukoz atılımı olmadığı şeklindedir.

#### IV. Histolojik Bulgular

AA'nın insulin salınımı üzerindeki etkisi bilinmektedir. Gerekli boyama işlemlerinden sonra Langerhans adacığı alfa ve beta hücrelerinde meydana gelen değişiklikler ışık mikroskopunda fotoğraflandırıldı (Resim 1, Resim 2). Kontrol ve denek grubu pankreaslarının histolojik incelenmesi sonucu :

I- x10'luk büyütme ile kontrol grubunda (26), ada çevrelerinin düzgün, beta hücrelerinin mavi, alfa hücrelerinin pembe boyandığı görülmektedir. C vitamini uygulanan grupta, sinuzoidler genişlemiştir.

II- x40'luk büyütme ile AA uygulamalı hücrelerin kontrol grubuna oranla hücre çekirdeklerinin büyüdüğü, granülasyona ait boya alınımının azaldığı görülmektedir.

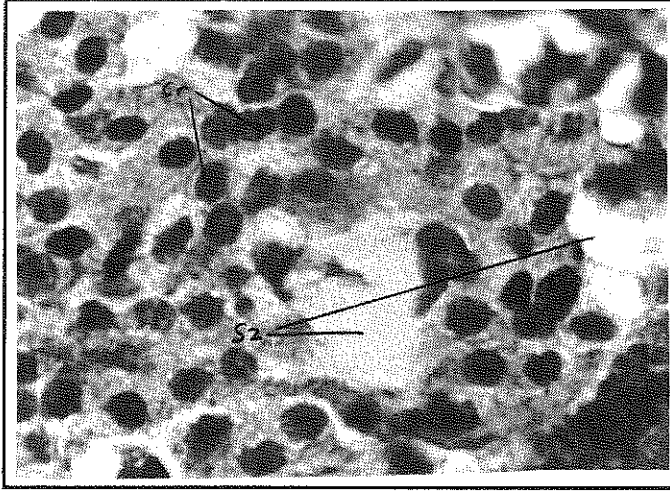
III- x100'lük büyütmede denek grupta, kontrollara oranla hücre çekirdeğindeki kromatinin yoğunlaştığı görülmektedir. (Resim 1, Resim 2)

Kontrol grubunun 16. gündeki vucud ağırlığı artışı, C vitamini yüklemelilerdeki vucud ağırlığından daha fazladır (Sırasıyla, Kontrol grubunda uygulama öncesi  $317\pm 16g$ , 16 gün sonrası  $416\pm 15g$ , C vitamini yüklemelilerde uygulama öncesi  $362\pm 18g$ , 16 gün sonrası  $411\pm 17g$ ). Görüldüğü gibi, beden ağırlığı düşük olan kobaylar, yüksek olanlara nazaran uygulama süresince daha çabuk kilo almışlardır.

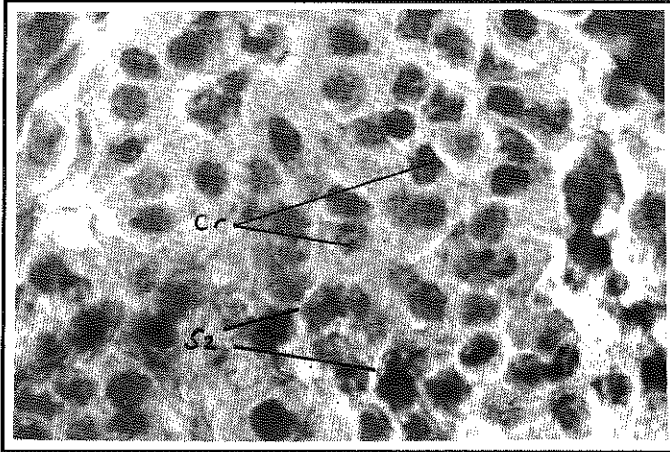
#### TARTIŞMA VE SONUÇ

C vitamini sentezleyemeyen kobaylara, diyetle alınımın dışında içme suyuna C vitamini katılarak, kandaki askorbik asid düzeyi yükseltilebilmektedir. Araştırma sonuçlarımızda glukoz yüklemeden önceki kan AA düzeylerinin kontrollara göre C vitamini yüklemeli deneklerde önemli artış göstermesi de bu bulguyu bir kez daha göstermiştir.

Diğer taraftan glukoz yüklemesini takiben gerek kontrol gerekse C vitamini yüklenmiş grupta kan şekerinin yükselmeye başlaması 40. dakikada en



**Resi 1.** 16 gün süre ile C vitamini yüklenen kobay pankreasından kesit  
Sinuzoidler (Sz) genişlemiştir.  
Hücre çekirdeği kromatininin (Cr) belirgin olarak yoğunlaştığı görülmektedir.  
Gomori'nin Kromyum Hematoksilen Filoksini ile, x100



**Resim 2.** 16 gün aynı şartlarda bakılan kontrol kobay pankreasından bir kesit  
Gomori'nin Kromyum Hematoksilen Filoksini ile, x100

yüksek düzeyine ulaşması, intraperitoneal glukoz enjeksiyonundan sonra absorpsiyonun gerçekleşmesine bağlı artışı göstermektedir.

Kan şekerinin en yüksek olduğu düzeyde, insulin salınımında yeterli uyarının olup olmadığını kontrol etmek üzere yapılan tayinlerde 40. dakikada gerek kontrol, gerekse C vitamini yüklü grupta anlamlı artış bulunması yeterli cevabın oluştuğunu göstermektedir.

100. dakikada yapılan ölçümlerde kan şeker ve insulin değerlerinin düşmeye başlaması, absorpsiyon fazının tamamlanırken, glukozun depoya çekildiğini de ifade eder. Ancak ilginç olan ve çalışmanın temelini oluşturan, kan AA düzeyinin, kan glukoz ve insulin düzeylerinin en yüksek olduğu 40. dakikada en düşük değerine ulaşmasıdır. Bu bulgu askorbik asidin pankreas beta hücrelerini uyararak insulin salınımına neden olduğunu düşündürmektedir, bu düşüncüyü destekleyen diğer bir bulgumuz da AA ekli gruba ait pankreas histolojik kesitlerinde saptanan değişimlerdir. Bu değişimler, glukoz yüklemeli deneklerde pankreasta sinuzoidlerin genişlemesi, beta hücrelerinde granülasyona ait boya alınımının azalması ve hücre çekirdeğinde senteze hazırlık tarzındadır. Bunlarda insulin salınım ve granüllerin tekrar doldurulması için senteze başlanmış olduğunu göstermektedir. İşte bu fazda AA'nın kan düzeyinin düşmesi kan glukoz ve insulin düzeyinin yükselmesi ile direk bağlantılı olduğunu göstermektedir. Ayrıca AA yüklü grupta kan şeker ve insulin düzeylerinin glukoz yükledikten sonra kontrollara oranla yüksek bulunması bu arada kandaki AA'nın glukoz ve insulinin

tersine giderek azalması kan AA'sının bu sürede kullanıldığını göstermektedir.

Cheng ve çalışma grubu, AA'nın hipoglisemik etkisini araştırırken, C vitamini uygulamalarının doza bağımlı olarak insulin sekresyonunu artırıp kan şekerini düşürdüğünü göstermişlerdir (27).

Araştırmamızda, organizmada AA sentezi yapamayan ve bu yönden insanla benzerlik gösteren kobaylar kullanıldı. AA yüklemesinin 16 gün oral yolla yapılması ve glukoz yüklemesi ile hiperglisemik ortam yaratılarak askorbik asid-insulin ilişkisinin, biyokimyasal ve histolojik yöntemlerle araştırılması sonunda, Cheng ve arkadaşlarının bulguları, farklı yöntemlerle teyit edilmiştir.

Tüm bu bulgulara dayanılarak normal bireylerde fizyolojik hiperglisemi fazlarında langerhans adacığı beta hücrelerinden insulin salınımının stimülasyonuna askorbik asidin katkıda bulunabileceği sonucuna varılmıştır.

#### KAYNAKLAR

1. Levine, M., Morita, K., "Ascorbic acid in endocrine systems" *Vitamins and Hormones*, 42, 1-64, 1985.
2. Burns, J.J., Peyser, D., Moltz, A., "Missing step in guinea pigs required for the biosynthesis of L-Ascorbic acid", *Science*, 124, 1148-49, 1956.
3. Burns, J.J., "Missing step in man, monkey, and guinea pigs required for biosynthesis of L-Ascorbic acid", *Nature*, 180, 553, 1957.
4. Bhavagan, N.V., "Biochemistry - Accomprehensive review", Phila-

- delphia, JB Lippincott Com., 256-57, 1974.
5. Harper, H.A., Rodwell, V.W., Mayes, P.A., "Metabolism of carbohydrates", *Rev. Physiolchem.*, Lebanon, Lange Med. Pub., 17 th ed., 315, 1979.
  6. Schlosser, M.J., Kapeghian, J.C., Verlangieri, A.J., "Effects of streptozotosin in the male guinea pig: A potential animal model for studying diabetes", *Life Sci.*, 35, 649-55, 1984.
  7. Sencer, E., "Vitaminler", *Beslenme ve Diyet*, İstanbul, Beta basım, 2. Baskı, 205-14, 1987
  8. Pillsbury, S., Watkins, D., Cooperstein, D.J., "Effect of dehydroascorbic acid on permeability of pancreatic islet tissue in vitro", *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic*, 185 (3), 713-18, 1973.
  9. Patterson, J.W., "The diabetogenic effect of dehydroascorbic acid and dehydroisoascorbic acid", *J. Biol. Chem.*, 183, 81-88, 1950.
  10. Chatterjee, I.B., Banerjee, A., "Estimation of dehydroascorbic acid in blood of diabetic patients", *Analytical Biochemistry*, 98, 368-74, 1979.
  11. Som, S., Basu, S., Mukherjee, D., Deb, S., Choudburry, P.R., Mukherjee, S., Chatterjee, Sn, Chatterjee, I.B., "Ascorbic acid metabolism in Diabetes Mellitus", *Metabolism*, 30 (6), 572-77, 1981.
  12. Stankova, M., Riddle, M., Barned, J., Burry, K., Menoshe, D. Hart, j., Bigley, R., "Plasma ascorbate concentrations and blood cell. Dehydroascorbate transport in patients with diabetes Mellitus", *Metabolism*, 33 (4), 347-53, 1984.
  13. McLennan, S., Yue, D.K., Fisher, E., Capogreco, C., Heffernan S., Ross, G.R., Turtle, J.R., "Deficiency of ascorbic acid in experimental diabetes", *Diabetes*, 37, 359-61, 1988.
  14. Schlosser, M.J., Kapeghian, J.C., Verlangieri, A.J., "Selected physical and biochemical parameters in the streptozotocin-treated guinea pigs. Insights into the diabetic guinea pigs model", *Life Sci.*, 41, 1345-50, 1988.
  15. Erden, F., *Diabetes mellituslu hastalarda serum immunoglobulin ve lipid düzeyleri üzerine etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fak., Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, 1985.
  16. Horning, D., "Metabolism and requirements of ascorbic acid in man", *S. Afr. Med. J.*, 60 (2), 818-29, 1981.
  17. Burns, J.J., Dayton, P.G., Schulenberg, S., "Further observation on the metabolism of L-ascorbic acid in guinea pigs", *J. Bio. Chem.*, 15, 15-21, 1955.
  18. Chatterjee, I.B., Majumber, A.K., Nandi, B.K., Subramanian, N., "Synthesis and some major functions vitamine C in animals", *Ann. NY. Acad. Sci.*, 24-47, 1981.



19. Larkins, R.G., "Effect of islet activating protein on glucose tolerance, insulin secretion and insulin responsiveness in the NZO mouse", *Diabetologia*, 26, 304-309, 1984.
20. Ferranini, E., Bjorkman, O., Reichard, G.A., Olsson, M., Wohren, J., Defronza, R., "The disposal of an oral glucose load in healthy subjects", *Diabetes*, 34, 50-88, 1985.
21. Roe, B., Blecker, E.R., Winsten, S., "Ascorbic acid in blood and urine", Seligson D, *Standard methods of clinical chemistry III*, N.Y., Academic Press, vol III, 35-45, 1958.
22. Roe, H.R., "Ascorbic acid", *The vitamins* Gyorgy, D., Pearson, W.N., (eds.) New York and London, Acad Press, Vol VII, 27-51, 1967.
23. Powsness, E.R., "Basic on Radioactivity and its Measurement", *Fundamentals of Clinical Chemistry*, Tietz, N.W. (ed), Philadelphia, West Washington Square, 124-42, 1987.
24. Lillie, R.D., Fullner, H.M., "Fixation", *Histopatholojik Technic and Practical histochemistry*, USA, McGraw Hill, 4 th ed, 33, 1976.
25. Gridley, M.F., Aker, O.N., *Hususi boyama teknikleri laboratuvar el kitabı*, Gata, Patoloji ABD yayınlarından, Örnek matbaası, No : 82-83, 1954.
26. Kern, H., Logothetopoulos J., "Steroid diabetes in the guinea pig studies on islet cell ultrastructure and regeneration", *Diabetes*, 19, 145-54, 1970.
27. Cheng, S.T., Hsieh-Chen, S.C., Tsai, C., "L-ascorbic acid produce hypoglycemia in anesthetized rats", *J. Pharm. Pharmacol.*, 41, 345-46, 1989.