

## 난소 제거된 흰쥐 자궁의 phosphatase 활성에 미치는 난소호르몬의 영향\*

이화여자대학교 의과대학

김 성 예

= Abstract =

### The Effect of Ovarian Hormone on the Phosphatase Activity in the Ovariectomized Rat Uterus

Sung Rye Kim

College of Medicine, Ewha Womans University

Quantitative analysis of the activities of phosphatase in ovariectomized rat uterus was carried out.

1. The activities of total phosphatase were decreased by ovarian steroids (except progesterone treated group at pH 9).
2. The ratio of acid: alkali, neutral phosphatase was 4 : 1.
3. Among total enzymes, the proportion of  $Mg^{++}$ -dependent phosphatase was much higher than the other specific enzyme.
4. The activities of alkali, acid phosphatase were decreased by cystein, but the activity of neutral phosphatase was increased.
5. At the neutral media, the experimental group treated with progesterone and estradiol-17 $\beta$  on day 1 appeared the following special figures.
  - (1) The activity of total phosphatase was low.
  - (2)  $K^+$ -dependent phosphatase was negligible.
  - (3)  $Mg^{++}$ -dependent phosphatase transformed into  $Mg^{++}$ -independent phosphatase.
  - (4) The activity of phosphatase was stimulated by cystein.
6. These results means the fact that phosphatase activity is affected by ovarian steroids, and by pH.

### 서 론

포유동물의 성주기는 뇌하수체에서 분비되는 생식선 자극호르몬과 난소에서 분비되는 성호르몬에 의해 조절되

\*본 연구는 1979년도 한국생활과학연구원 연구비에 의해 진행 된 것임.

며 성주기를 통하여 자궁은 형태적, 기능적으로 변화하고 있다는 것이 밝혀지고 있다. 1974년 Meglioli<sup>1)</sup>는 난소에서 분비되는 호르몬 특히 estrogen이 발정전기에서 발정기까지 자궁내액의 분비를 촉진시킨다고 하였다. 또한 난소호르몬은 배아의 착상, 임신유지, 그리고 분만을 위한 환경여건을 갖추는데 필수 호르몬이라는 것이 알려지고 있다<sup>2)-10)</sup>.

그러나 이들 홀몬의 변화가 성주기와 자궁내 환경, 태아(embryo)에 어떤 영향을 미쳐서 착상을 유도하는 그 작용기전에 관해서는 아직 알려져 있지 않다.

이를 밝히려는 많은 연구들이 조직적, 생화학적인 측면에서 이루어지고 있어, 자궁내벽의 표피세포와 기질세포에서의 유사분열<sup>11)</sup>과 세포내 미세구조<sup>12)</sup> 등에 관한 형태적인 변화에 관한 연구와 자궁내 분비액의 생화학적인 분석<sup>13)</sup> 등에 관한 연구들이 이루어지고 있으며 본인은 이를 밝히려는 연구의 일환으로 생쥐의 발정주기와 초기 임신기간동안에 cytochrome p-450의 활성<sup>14)</sup>과 월경의 초기 임신기간동안의 cytochrome p-450의 활성<sup>15)</sup>을 관찰 보고한 바 있다.

Cytochrome p-450은 hepatic microsomal monooxygenase system의 terminal oxidase로 식이와 영양소, 체내 홀몬변화에 영향을 받으며, 스테로이드홀몬, 또는 지방산등이 이 효소의 기질로 작용하는 것으로 알려져 있다. 본인의 실험에서도 이 cytochrome p-450은 홀몬분비가 왕성한 다음 자궁내액의 분비가 왕성할 시기에 그 활성이 크게 증가하는 것을 관찰하였다<sup>14)15)</sup>.

한편 자궁내액은 자궁표피세포로부터 분비되며 membrane bound ATPase에 의해 조절되는 능동수송에 의한다는 것이 밝혀지고 있으나<sup>16)17)</sup> 자궁내액의 분비 흡수와 생합성에 필요한 energy 공급을 조절하는 ATPase의 활성과 분포에 관하여는 별로 알려져 있지 않다.

이상의 사실들로 미루어 볼때 자궁내 분비액이 가장 많아지고, 조직적 변화가 왕성한 시기인 발정기와 착상준비기간 동안에 이 ATPase활성의 변화를 밝힘으로써 이때의 필수홀몬인 난소홀몬의 기작을 구명해 보고자 본 실험을 시도하였다.

저자는 발정주기에 따른 ATPase활성의 변화를 관찰<sup>18)</sup> 하였는데 이 효소 역시 estrogen홀몬분비가 왕성한 다음 자궁내액분비가 왕성한 시기에 그 활성이 현저히 증가하는 것을 관찰할 수 있었다.

그래서 본 실험에서는 이 홀몬을 분비하고 있는 난소를 제거하고 외부에서 이 홀몬을 처리해 주었을 때 에너지공급을 주관하고 있는 ATPase활성을 관찰함으로써 이 홀몬들의 임신조절기전을 밝혀보고자 하였으며 이 문제는 인구문제 해결을 위한 가족계획과 축산진흥에 다소나마 기여할 수 있는 길이 될까 사려되어 본 실험을 착수하였다.

## 실험재료 및 방법

### 1) 실험동물

본 실험에서는 일정한 조건하에서 사육한 흰쥐(Spr-

ague-Dawley strain)를 생후 1개월 정도된 암컷을 본 리시켜 두었다가 2개월 정도 되었을 때(체중 160~220g) ethyl ether 마취하에서 배부측부분절개수술로 양쪽난소를 제거한 후 적리 치유시킨 후(2주) 진강한 것만을 골라 한 실험군당 5마리씩 사용하였다.

### 2) 실험군

제 1 실험군(C) : 대조군으로 oliv oil만을 4일간 처리

제 2 실험군(P) : progesterone(Sigma, 2mg/daily)을 4일간 처리

제 3 실험군(PEP) : 제 1일은 progesterone(2mg/daily)과 estradiol-17 $\beta$ (Sigma 0.1 $\mu$ g/daily)를 동시에, 제 2, 3, 4일은 progesterone만 처리

제 4 실험군(PEPE) : 제 1, 4일은 progesterone과 estradiol-17 $\beta$ 을, 제 2, 3일은 progesterone만 처리하였다.

### 3) 실험방법

모든 실험군에 사용한 홀몬은 oliv oil에 녹혀 아침 9시에 피하주사를 0.4ml씩 하였으며 제 5일째 되는 날은 유리봉으로 臍部를 자극하고(Trauma) 다음날 아침(9~10시) 양쪽 자궁을 적출하여 ice-cold saline으로 씻은 후 해부현미경 밑에서 양쪽 자궁의 endometrium만을 모은 후(0~4°C) glass blender(pyrex)를 사용하여 ice-cold 증류수로 homogenate를 만들어 2000rpm에서 10분간 원심분리시켜 상등액만을 1mg 조직에 ice-cold 증류수 1ml를 첨가 현탁액을 만들었다.

Phosphatase의 활성은 Ernst(1972 a,b)<sup>19)20)</sup>의 방법을 따랐으며 substrate p-nitrophenylphosphate(P-NP)에서 유리되는 P-nitrophenol(P-NP)을 측정하였다. 자궁조직의 효소들은 다음과 같이(Table 1) 여러가지

**Table 1.** The component and composition of the reaction for the tissue enzymes

Component	Conc. (mM)	Reaction media			
		Basic	K <sup>+</sup> -free	Mg <sup>++</sup> -free	cystein
*Tris-HCl	100	+	+	+	+
P-NPP	2.5	+	+	+	+
MgCl <sub>2</sub>	10	+	+	-	+
KCl	10	+	-	+	+
Cystein	10	-	-	-	+

"+" and "-" mean inclusion in and exclusion for the components of the reaction medium, respectively.\* The reaction media were buffered at 5.0, 7.0, 9.0 of pH.

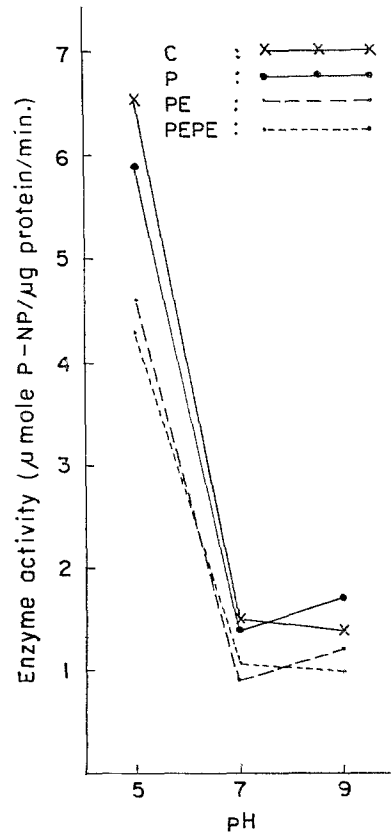
**Table 2.** The effect of ovarian hormone on the phosphatase activities in the ovariectomized rat uterus

pH	Group	Reaction media			
		Basic	K <sup>+</sup> -dependent	Mg <sup>++</sup> -dependent	Cysteine
5	C	6.508 ± 0.842(100)*	-0.474 ± 0.575(7.28)	3.028 ± 0.429(46.53)	0.782 ± 0.105(12.01)
	P	5.930 ± 0.356(100)	0.618 ± 0.190(10.42)	2.518 ± 0.506(42.46)	0.929 ± 0.109(15.67)
	PEP	4.639 ± 0.875(100)	0.801 ± 0.496(17.27)	1.710 ± 0.392(36.86)	0.946 ± 0.209(20.39)
	PEPE	4.269 ± 0.694(100)	0.281 ± 0.251(6.58)	1.530 ± 0.516(35.84)	0.533 ± 0.093(12.49)
7	C	1.475 ± 0.136(100)	0.126 ± 0.022(8.54)	0.648 ± 0.128(43.93)	2.856 ± 0.285(193.63)
	P	1.443 ± 0.132(100)	0.176 ± 0.119(12.20)	0.698 ± 0.087(48.37)	2.866 ± 0.143(198.61)
	PEP	0.900 ± 0.123(100)	0.038 ± 0.033(4.22)	-0.329 ± 0.223(36.56)	1.893 ± 0.289(210.38)
	PEPE	1.071 ± 0.090(100)	0.127 ± 0.023(11.86)	0.549 ± 0.075(51.26)	1.897 ± 0.033(177.12)
9	C	1.350 ± 0.160(100)	0.069 ± 0.070(4.68)	0.392 ± 0.078(26.58)	1.034 ± 0.130(70.10)
	P	1.738 ± 0.170(100)	-0.009 ± 0.186(0.52)	0.334 ± 0.039(19.22)	1.070 ± 0.086(61.54)
	PEP	1.246 ± 0.164(100)	-0.057 ± 0.049(4.57)	0.085 ± 0.103 (6.82)	1.064 ± 0.262(85.39)
	PEPE	1.033 ± 0.117(100)	-0.032 ± 0.075(3.10)	0.392 ± 0.073(37.90)	0.750 ± 0.067(72.56)

⊙ : Mean ± SE ( $\mu$ M p-nitrophenol/ $\mu$ g protein of uterine tissue/min.).  
 \* : The percentage(%) against the reaction product in basic medium.

반응액 1ml 속에 조직액 1ml 씩을 넣어 37°C에서 10분간 반응시켰다. 효소의 pH 별 활성을 비교 검토하기 위해 반응액을 pH 5, 7, 9로 만들어 반응시킨 후 0.5ml TCA 용액으로 반응을 정지시키고, 여기에 1M Tris-HCl 용액 2.5ml을 넣어 재발색시킨 다음 Spectrophotometer(Schimatdz MSP-50)로 파장 410m $\mu$ 에서 측정하였으며 이때 standard로는 p-nitrophenol(Sigma)을 사용하였다. 한편 단백질 정량은 Lowry(1951)<sup>21)</sup> 방법을 택하였다. 이때 standard로는 bovine serum albumin(BSA, Sigma)을 사용하였다.

Table 1의 basic reaction medium에서 측정된 P-NP는 자궁내막조직의 phosphatase의 전환성을 나타내며, K<sup>+</sup>-free medium에서 측정된 활성은 basic medium에서 측정된 전환성과의 차로써 K<sup>+</sup>-dependent ATPase 활성을 나타내도록 고안했다. Mg<sup>++</sup>-free medium에서 측정된 것도 마찬가지로 전환성과의 차로써 Mg<sup>++</sup>-dependent ATPase를 나타낸다. 그리고 alkaline phosphatase inhibitor인 cystein<sup>22)</sup>을 포함한 medium은 전 transport ATPase에서 alkaline phosphatase의 활성이 얼마나 억제되었는가를 식별할 수 있도록 고안되었다. 각 반응액에 표시된 효소의 활성은 nM P-NP/ $\mu$ g tissue protein/min로 나타내었다.



**Fig. 1.** Effect of pH upon phosphatase activity. (Basic medium)

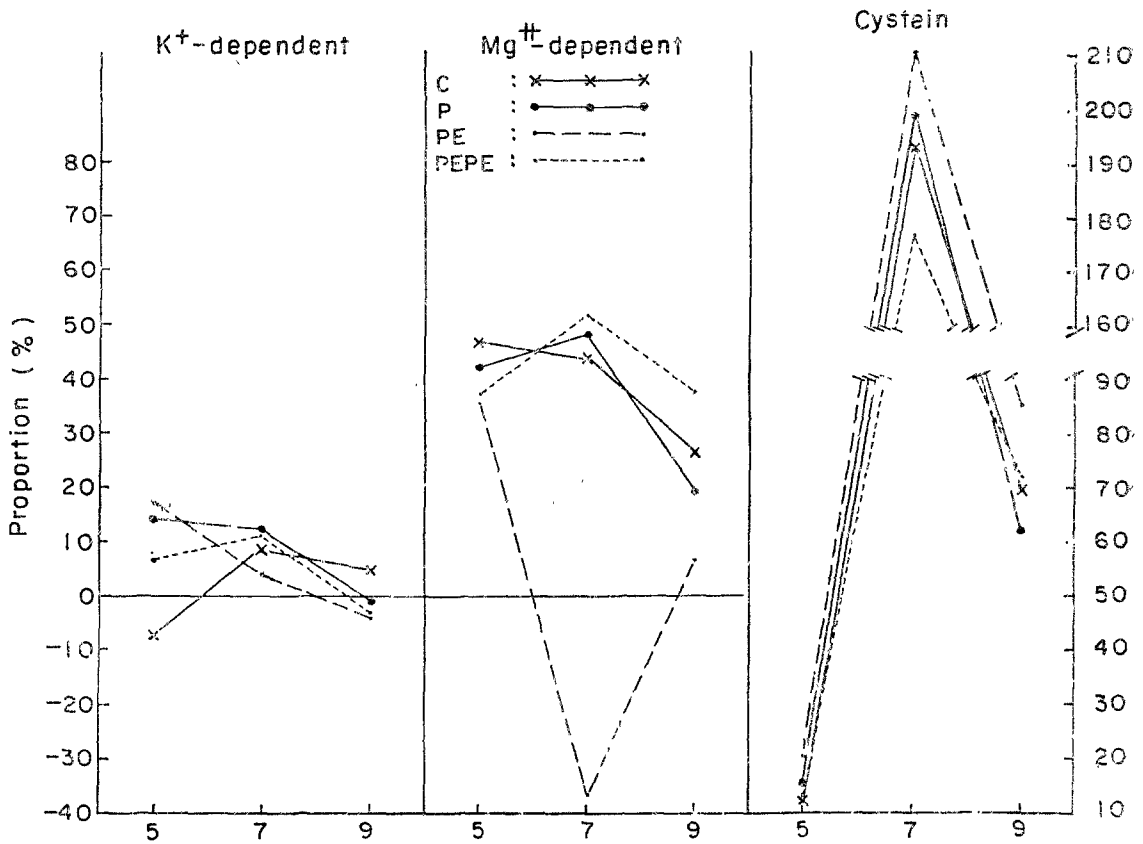


Fig. 2. The proportion of specific enzyme activity against total enzyme.

### 실험결과 와 논의

난소를 제거하고 난소 홀몬을 처리하여 흰쥐 자궁내벽에서 나타난 phosphatase의 활성변화를 정량적으로 분석 Table 2에 표시하였다. 그리고 전효소(total phosphatase)의 활성을 pH 별로 식별하기 위한 것은 Fig. 1에, 전효소의 활성(100%)에 대하여 각 효소가 차지하는 비율(%)은 Fig. 2에 도시하였다(Fig. 1, 2).

(1) **Total phosphatase:** Basic medium에서 나타난 전효소의 활성을 보면

pH 5: 대조군에서(6.508n mole) 홀몬을 처리 받은 실험군 보다 그 활성이 높았으며 progesterone(5.93 nM)만 처리했을 때 보다 estradiol-17 $\beta$ 를 처리한 실험군에서(4.639, 4.269nM) 더욱더 그 활성이 감소현상을 나타내고 있다. 각 실험군간의 유의한 차이는 없

다.

pH 7: 중성 반응액에서도 그 경향성은 산성 반응액의 결과와 유사하다.

pH 9: progesterone 처리군만 제외하고는 그 경향성은 같다.

pH 간의 ratio: Fig. 1에 잘 나타나 있듯이 pH5에서 나타난 모든 실험군에서의 활성은 pH 7, 9에서 나타난 활성의 4~5배되는 높은 활성을 나타내고 있다.

이처럼 pH5에서 그 활성이 높게 나타나는 것은 본 실험의 자궁내벽의 phosphatase는 산성에서 활성이 활발한 acid phosphatase라는 것을 의미한다.

본 실험에서 progesterone과 estradiol-17 $\beta$ 를 처리 받을 수록 전 효소의 활성이 감소되는 현상은 1970년 Karmakar와 Spector<sup>23)</sup>가 estrogen을 처리한 자궁의 outer muscle layer에서 ATPase 반응이 상실된다고 보고한 결과와 일치되는 현상이다. 또한 Martin 파

Finn<sup>24)</sup>이 생쥐, 흰쥐에서 발정기와 발정간기에는 거의 홀몬 분비가 검출되지 않는다고 하였으며 본인이 이 시기에 phosphatase의 활성이 현저히 다른 시기보다 증가하고 있는 것을 관찰할 수 있었던 결과와도 일치되는 결과이다. 이러한 결과들로 미루어 볼때 자궁포피세포에서 내강속으로 분비액을 분비(발정기에 왕성)하는때는 이 홀몬의 직접적인 영향을 받지 않으며, 1978년 O'shea와 Murdoch<sup>25)</sup>가 자궁내 placenta 형성등의 nutrition source인 glycogen 분해 효소인  $\alpha$ -glucosidase는 estrogen에 의해 활성이 증가된다는 보고와 Finn과 Martin(1973년)<sup>26)</sup>이 ovarian steroids가 자궁의 대사작용에 영향을 미친다고 보고한 결과들과 비교해 볼때 steroid 홀몬은 자궁의 대사에 직접적인 영향을 미치며 이렇게 됨으로써 energy 대사에 필요한 이 phosphatase의 활성이 증가되는 것으로 생각된다.

(2) **K<sup>+</sup>-dependent phosphatase:** K<sup>+</sup>-free 반응액에서 나타난 활성과 전효소의 활성과의 차이로 K<sup>+</sup>-dependent phosphatase의 활성을 나타내었다.

pH 5: 대조군에서 independent(-0.474nM, 7.28%)를 나타내다가 홀몬을 처리받은 실험군에서는 dependent를 나타내나 전효소 활성에 비해 극히 작은 6-10% 정도를 차지하고 있으며 실험군간의 유의한 차이는 없다.

pH 7: dependent가 모든 실험군에서 4~12%정도이며 유의한 차이는 아니다.

pH 9: pH 5의 결과와는 반대로 대조군에서는 dependent(0.069nM, 4.68%)를 나타내다가 홀몬을 처리받은 실험군에서는 independent(0.5~4.5%)를 나타내고 있다. 역시 실험군간의 유의성은 없다.

이러한 결과는 K<sup>+</sup>-dependent phosphatase는 미비하나마 pH에 따라, 또 홀몬에 따라 그 활성이 달라지는 것을 볼 수 있으며 또 이 효소가 차지하는 비율은 전효소에 비해 극히 적은데 이 결과는 본인이 발정주기별로 관찰한 결과와 일치된다.

(3) **Mg<sup>++</sup>-dependent:** 이 효소의 활성 역시 전효소의 활성과의 차로써 표시하였다.

pH 5: 대조군에서 3.028nM(46.53%)를 나타내던 활성이 홀몬을 처리함에 따라 각각 42, 36, 35%로 감소하고 있어 전효소의 활성과 유사한 결과를 보여주고 있다. 또한 Mg<sup>++</sup>-dependent가 차지하는율이 36~47% 정도를 차지하고 있어 산성인 반응액에서 나타내었던 전효소의 활성증 대부분이 이 효소였다는 것을 알 수 있다.

pH 7: 대조군에서 43.93% 나타내다가 제1, 4일에 progesterone과 estrogen을 처리받은 실험군에서 51.

26%로 증가하고 있다. 그러나 제1일에 progesterone과 estrogen을 처리받은 실험군에서는 independent(36.56%)를 나타내고 있어 Neutral Mg<sup>++</sup>-dependent인 phosphatase도 홀몬에 의해 그 양상이 달라지는 것을 알 수 있다.

pH 9: 대조군에서 26.58%를 나타내던 활성이 pH 7에서와 마찬가지로 제1, 4일에 progesterone과 estrogen을 처리받은 실험군에서는 37.9%를 차지하고 있어 이 실험군에서는(PEPE) Mg<sup>++</sup>-dependent phosphatase는 pH 7-9 범위내에서 그 활성이 최저인 것을 알 수 있다.

#### (4) Cystein에 의한 억제작용

pH 5: 산성인 반응액에서는 그 억제 현상이 현저(80~88%)해서 모든 실험군에서 12~20%만을 나타내며 홀몬을 처리받은 실험군에서는 대조군 보다 그 억제 현상이 감소되고 있다. 실험군간의 유의성은 없다.

pH 7: Fig. 2에서 현저하게 표시되는 바와 같이 산성, 알칼리성 반응액에서 cystein이 억제 작용을 나타내는 것과는 반대로 활성이 증가되어 177~210%까지 나타내고 있다.

pH 9: 알칼리 반응에서도 산성 반응액에서 보다 억제 현상이 저하되어(15~39%) 61~85%의 활성을 나타내고 있다.

이와같은 cystein에 의한 결과를 볼때 alkali phosphatase의 억제제<sup>22)</sup>라고 한 이 cystein은 acid phosphatase를 더 현저하게 억제시키고 있으며 neutral phosphatase는 오히려 그 활성을 촉진시키는 것을 관찰할 수 있었다. 이처럼 cystein에 의한 억제 현상 역시 acid에서 현저한 것은 전효소 활성에서 acid phosphatase가 4~5배가 높게 나타났던 결과와 같은 현상으로 acid phosphatase가 많다는 것을 의미한다.

이상과 같은 본 실험의 결과들을 볼 때 같은 steroid 홀몬이라도 pH에 따라 또 specific enzyme에 미치는 영향이 각각 다르게 나타나고 있다. 1978년 Murdoch와 O'Shea가 같은 홀몬이라도 reproductive tract에 따라 같은 효소의 활성에 미치는 영향이 다르게 나타난다고 보고하고 있다. 그러므로 앞으로 더 세밀한 계획에 따른 많은 연구를 해야만 이 효소와 자궁내 환경 변화의 관계를 구명할 수 있을 것으로 사려된다.

## 결 론

성숙한 암컷 흰쥐의 난소를 제거하고 ovarian steroid hormones를 처리한 후 phosphatase의 활성을 측

정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 난소 홀몬을 처리받은 실험군에서 전효소의 활성이 감소되고 있다(pH9, P group은 예외).
2. acid phosphatase와 neutral, alkali phosphatase의 활성의 비는 4:1정도이다.
3. 전효소 중  $Mg^{++}$ -dependent phosphatase가 가장 높은 비율을 차지하고 있다.
4. Cystein에 의해 acid phosphatase의 활성이 가장 현저하게 감소되며 alkali phosphatase활성도 감소되고 있으며 neutral phosphatase활성은 현저하게 증가된다.
5. Progesterone, estradiol-17 $\beta$ 를 제 1일에 처리받은 실험군(PE)에서는 중성 반응액에서 현저하게 다른 양상을 나타내고 있다.
  - (1) 전효소 활성이 제일 낮았다.
  - (2)  $K^+$ -dependent phosphatase는 겨우 4% 정도였다.
  - (3)  $Mg^{++}$ -dependent phosphatase는 independent를 나타내고 있다.
  - (4) Cystein에 의해 phosphatase activity는 촉진되고 있다.
6. 이상의 결과들로부터 볼 때 phosphatase는 난소 홀몬에 의해, pH에 의해 그 활성이 다르게 나타나는 것을 확인할 수 있었다.

#### —References—

- 1) Meglioli G.: Oestrogenic sensitivity of rat uterine secretion. J. Reprod. Fert., 46 ; 396—399, 1976.
- 2) Tachi, G., S. Tachi, and H.R. Linder: Modification by progesterone of oestradiol-induced cell proliferation, RNA synthesis, and oestradiol distribution in the rat uterus. J. Reprod. Fert., 31 ; 59—76, 1972.
- 3) Finn, C.A. and J.R. Hinchiffe: Histological and histochemical analysis of the formation of implantation in the mouse uterus. J. Reprod. Fert., 9 ; 301—309, 1965.
- 4) Nisson, O.: Correlation of Structure of function of luminal cell surface in the uterine epithelium of mouse and man. Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat., 56 ; 803—808, 1962.
- 5) Smith, D.M. and J.D. Biggers: The estrogen

requirement for implantation and the effect of its does on the implantation(and the effect of its does on the implantation) response in the mouse. J. Endocrin., 41 ; 17—29, 1968.

- 6) Aldeen, K.A.M.: The influence of oestrogens and progesterone on the distribution of alkaline phosphatase in the mouse uterine endometrium. J. Endocrin., 46 ; 406, 1970.
- 7) David, A., B.G. Brachett, G.R. Gascia and L. Mastroianni, Jr: Composition of rabbit oviduct fluid in ligated segments of the fallopian tube. J. Reprod. Fert., 19 ; 285—293, 1969.
- 8) Iritan, A., Nishikawa, Y., W.R. Gomes and N.L. Van Demark: Secretion rate and Chemical composition of oviduct and uterine fluids in rabbits. J. Anim. Sci., 33 ; 829—838, 1971.
- 9) Lutwak-Mann, C.: The rabbit blastocyst and its environment physiology and biochemical aspects: In the Biology of the Blastocyst. Ed. R.J. Blandaw, Univ. of Chicago press, Chicago and London, pp. 243—260, 1971.
- 10) Gidley-Baird A.A.: Plasma progesterone, FSH and LH levels associated with implantation in the mouse. Aust. J. Biol. Sci., 30 ; 289—296 19 77.
- 11) Noyes, R.W., Hertig, A.T. and Rock, J.: Dating the endometrial biopsy. Fert. Steril., 1 ; 3—25, 1950.
- 12) Cavazos, F. and Lucas, F.V.: Giant lysosomes and their associated structure in the normal human endometrium. Amer. J. Obst. Gynec., 106 ; 434—446, 1970.
- 13) Long, J.A. and Evans, H.M.: The oestrus cycle in the rat and its associated phenomena. Mem. Univ. Calif., 6 ; 1—146, 1922.
- 14) Ham, Y.A., Kim, S.R., Hong, Y.S. and Sung, N.E.: Effect of estrous cycle and perimplantation on hepatic microsomal cytochrome p-450 levels in mice. The Ewha Medical Journal, 2 ; 201—204, 1979.
- 15) Ham, Y.A., Kim, S.R., Hong, Y.S. and Sung, N.E.: Hepatic microsomal cytochrome p-450 levels during preimplantation in rats. The Ewha Medical Journal, 3 ; 63—67, 1980.
- 16) Hall, K.: Uterine mitosis, alkaline phosphatase

- and adenosine triphosphatase during development and regression of deciduomata in pseudopregnant mice. *J. Endocrinol.*, 44 ; 91—100, 1969. Elek, London. ; 61—97, 1973.
- 17) Lawn, A.M.: The ultrastructure of the endometrium during the sexual cycle. In *Adv. Reprod. Physiol.*, 6. Ed. M.W.H. Bishop. Elek, London. ; 61—97, 1973.
- 18) Kim, M.K., Kim, S.R. and Cho, W.K.: Changes in phosphatase activity of the mouse uterus during the estrous cycle. (in press)
- 19) Ernst, S.A.: Transport adenosine triphosphatase cytochemistry, I. Biochemical characterization of a cytochemical medium for ultrastructural localization of ouabain-sensitive, potassium phosphatase activity in avian salt gland. *J. Histochem.*, 20 ; 13—22, 1972a.
- 20) Ernst, S.A.: Transport adenosine triphosphatase cytochemistry, II Cytochemical localization of ouabain-sensitive, potassium dependent-phosphatase activity of the avian salt gland. *J. Histochem.*, 20 ; 23—38, 1972 b.
- 21) Lowry, O.H., N.J. Rosebrouch, L.A. Farr and R.J. Randall.: Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193 ; 265—275, 1951.
- 22) Guth, L. and Albers, R.W.: Histochemical demonstration of (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>) activated adenosine triphosphate. *J. Histochem. Cytochem.*, 22 ; 320—326, 1974.
- 23) Karmaker, P.K. and R.G. Spector: The effect of oestradiol-17 $\beta$  on uterine adenosine triphosphate in the rat. *Experientia*, 26 ; 1336—1338, 1970.
- 24) Finn, C.A. and L. Martin: The control of implantation. *J. Reprod. Fert.*, 39 ; 195—206, 1974.
- 25) O'Shea, T. and B.E. Murdoch:  $\alpha$ -Glucosidase activity in the reproductive tract of the ewe. *Aust. J. Biol. Sci.*, 31 ; 363—371, 1978.
- 26) Finn, C.A. and L. Martin: Endocrine control of gland proliferation in the mouse uterus. *Biol. Reprod.*, 8 ; 585—588, 1973.
- 27) Murdoch, B.E. and T. O'Shea: Activity of enzymes in the mucosal tissues and ringsings of the reproductive tract of the naturally cyclic ewe. *Aust. J. Biol. Sci.*, 31 ; 345—354, 1978.