

實驗糖尿病의 白鼠의 Estrous cycle에 미치는 影響

The Effects of Experimental Diabetes on the Estrous Cycle of the Rats

서울大學 醫科大學 解剖學教室

<指導: 羅世振 教授>

羅鳳鎮

I. 緒論

1937年 Jacobs¹⁾가 尿酸의 酸化物인 alloxan($C_4H_2N_2O_4$)이 實驗動物에서 사람의 糖尿病과 類似한 症勢인 血糖過多, 糖尿, 多尿, 頑渴 및 脂肪血症等을 일으킨다는事實을 報告한 以來 많은 學者들은 이의 作用機轉으로서 Langerhans 氏島에 壞死를 일으키는 것을 發見하였으며^{2~7)} 實驗的糖尿病의 誘發을 為하여 alloxan을 使用한 것은 糖尿病과 그 合併症을 研究함에 있어 많은 貢獻을 하였다^{8~15)}.

糖尿病의 重要한 合併症의 하나는 婦人患者의 不妊症이다. Insulin 出現以前에는 不妊症의 報告가 많았으나 insulin의 發見에 따른 治療에의 應用은 이를 많이 減少시켰다는 것은 臨床家들이 周知하고 있는 事實이다.

Pratt¹⁶⁾는 人工的으로 誘發시킨 糖尿病에 欧患된 雌犬에서 estrous cycle이 休止되는 것을 觀察하였고 Davis et al¹⁷⁾은 alloxan으로 糖尿病을 일으킨 白鼠를 研究하여 다음과 같은 報告를 하였다. 即 “血糖過多에 이어서 estrous cycle의 樣狀에 變化가 온다. 그리하여 塗抹標本上 無視할 수 없는 不規則性과 周期의 延長을 招來한다. 正常의 으로는 4日乃至 5일의 周期가 9日乃至 12일이 되며, 每周期의 大部分을 diestrus가 占한다”고 하였다.

本實驗의 目的是 血糖과 insulin治療가 糖尿病에 欧患된 白鼠의 estrous cycle에 주는 影響을 研究하고자 하는 것이다.

II. 材料 및 方法

實驗에 使用된 動物은 本實驗室에서 飼育된 生後 120日乃至 150日, 體重 210乃至 280g의 Sprague-Dawley 系의 處女白鼠이다. 飼料와 水分은 無制限으로 投與되고 糖尿病은 Lazarow and Palay 氏法¹⁴⁾ 即 尾靜脈에 40mg/Kg의 alloxan을 注射하여 誘發시켰다. 各鼠는 metabolism cage에 넣고 全實驗期間을 通하여 應當 平均 2乃至 3回의 血糖, 尿糖, 尿中葡萄糖濃度를 測定하였다. 血糖測定에도 Folin-Malmros 氏 微量法¹⁸⁾

을, 그리고 尿糖測定에는 Somogyi 氏法¹⁹⁾을 使用하였다. 그리하여 alloxan 投與 72時間後에 血糖過多와 糖尿를 나타내면 確診을 내렸다.

Insulin 投與如否와 血糖의 高低에 따라서 다음의 6群으로 區分하여 estrous cycle을 觀察하였다.

第Ⅰ群: 正常群.

第Ⅱ群: Alloxan 投與는 하였으나 糖尿病에 欧患되지 않은 鼠.

第Ⅲ群: 糖尿病에 欧患된 後 insulin 治療를 받지 않은 鼠.

第Ⅳ群: 治療를 받은 結果

- a) 平均血糖이 220 mg% 以下가 되는 鼠.
- b) 平均血糖이 220 mg% 以上이 되는 鼠.

第Ⅴ群: 治療를 中止한 結果

- a) 平均血糖이 220 mg% 以下가 되는 鼠.
- b) 平均血糖이 220 mg% 以上이 되는 鼠.

第Ⅵ群: 治療 없이 甚한 症勢를 보인 後에 insulin 治療를 받은 鼠.

Insulin 治療를 받는 鼠에 있어서는 insulin 注射後 18時間에 採血하였다. 그 理由는 protamine zinc insulin의 作用이 注射後 18時間 以上 持續되기 때문이다. 各群에 屬하는 鼠의 estrous cycle은 標準塗抹法을 使用 每日 午後 5時에 調査하였다. 이 estrous cycle은 學者에 따라 4期²⁰⁾ 또는 5期²¹⁾로 나뉘어 있으나 本實驗에서는 後者에 準하여 區分하였다. 그러나 本稿에 提示된 圖表上에는 proestrus, estrus, diestrus만을 表示하였다.

III. 結果

白鼠를 上記한 6群으로 分類하여 estrous cycle을 新陳代謝值와 同時に 觀察한 結果를 第1表 및 第2表와 같이 要約할 수 있었다.

第1群은 對照群으로서 正常鼠 14匹로 構成되고 血糖, 尿糖, 尿中葡萄糖濃度는 각각 平均 109 mg%, 0.01 g/day, 0.33 g%이며 平均 4.9日의 周期를 갖고 있었다. 第1圖의 Rat M 179는 이 群을 代表해 준다. 觀

Table 1. Comparison of metabolic data and estrous cycle in normal and diabetic rats

Groups	Number of animal	Insulin dose (u/kg/day)	Avg. blood sugar Mean & S.D. (mg%)	Average urine sugar (g/day)	Average Glucose conc. (g%)	Duration of determination (day)	Number of estrus	Average interval	
								Mean & S.D. (day)	P
I	14		109± 8.2	0.01	0.33	28~52	6~11	4.9±0.35	
II	4		139±42.9	0.02	0.19	30~73	6~16	4.8±0.23	0.5
III	3		418±16.9	5.00	7.74	24~28	1~ 2	21.5±8.05	<0.001
IV-a	7	6.1	186±19.1	0.43	2.26	14~49	3~10	4.8±0.34	0.5
IV-b	5	3.9	308±72.2	2.30	5.18	18~23	1~ 3	11.9±6.63	<0.01
V-a	3		143±15.7	0.02	0.29	23~25	4~ 6	4.9±0.81	0.5
V-b	5		366±50.0	5.25	7.32	23~39	0~ 3	16.8±6.77	<0.001

S. D.: standard deviation

*: The Range of the days of observation

Table 2. Restoration of estrous cycle by means of insulin treatment

Rat No.	off(day)	Insulin on (day)	dose (u/kg/day)	Average blood sugar (mg%)	Average urine sugar (g/day)	Average glucose conc. (g%)	Duration of determination (day)	Number of estrus	Average interval (day)
M- 57	28 —	39 —	10.0 —	404 167	— 0.50	— 1.67	28 39	1 9	4.3
M-191	24 —	40 —	11.1 —	437 173	4.86 0.04	7.81 0.37	24 28	0 6	4.7

In each rat, the upper row shows metabolic data before the insulin treatment; the lower row shows those

conc.: concentration

察期間 29日에 血糖, 尿糖, 尿中葡萄糖濃度는 平均 109 mg%, 0.01 g/day, 0.25 g%이며 同時に estrus의 規則的出現을 보였고 平均 4.8日의 周期를 갖고 있었다.

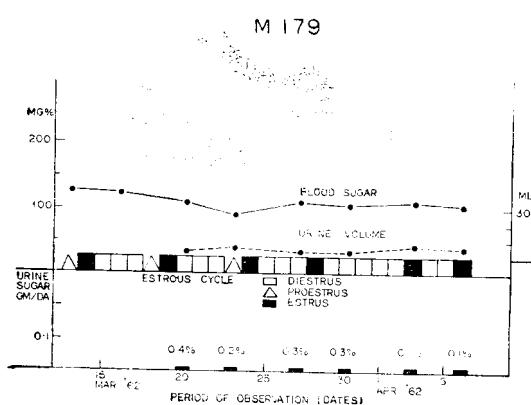


Fig. 1 The metabolic data and the estrous cycle of Rat M-179(Group I). During the course of observation, the average blood sugar was 109 mg%, the average urine sugar, 0.01 g/day and the average glucose concentration in urine, 0.25 g%, respectively. The length of the estrous cycle was 4.8 days. In urine sugar, the height of the bar represents the total amount of urine sugar per 24 hours; concentration of glucose in urine is shown on the top of the bar.

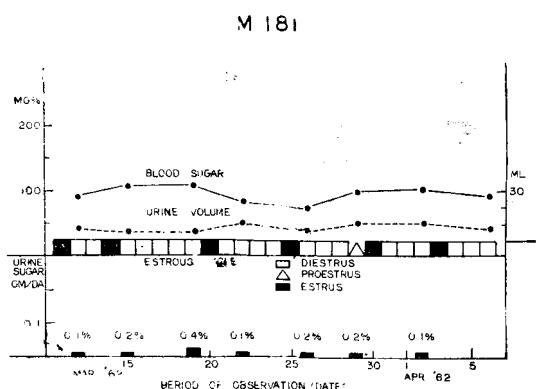


Fig. 2 The metabolic data and the estrous cycle of Rat M-181(Group II). During the course of observation, the average blood sugar was 95 mg%, the average urine sugar, 0.01 g/day and the average glucose concentration in urine, 0.15 g%, respectively. The length of the estrous cycle was 5.0 days.

Alloxan 投與에도 不拘하고 血糖 및 尿糖等이 正常範圍內에 있는 4匹로 構成된 第Ⅱ群은 血糖, 尿糖, 尿中葡萄糖濃度가 각각 平均 139 mg%, 0.02 g/day, 0.19 g%로서 平均 4.8日의 周期를 보였는 바 이것은 第Ⅰ群의 周期와 比較하여 볼 때 p value 가 0.5로서 意義 있는 것 이 못되었다. 第2圖에 圖示한 第Ⅱ群의 代表 Rat M 181은 血糖 95 mg%, 尿糖 0.01 g/day 尿中葡萄糖濃度 0.15 g% 를 보였고 平均 5日에 周期를 갖고 있어서 estrus의 出現이 規則의 이었다.

第Ⅲ群은 治療를 받지 않은 關係로 甚한 糖尿病症勢를 보이는 3匹로 되었다. 平均血糖, 尿糖, 尿中葡萄糖濃度는 각각 418 mg%, 5.00 g/day, 7.74 g%의 甚한 症勢下에서 觀察期間 24日乃至 28日에 1回或은 2回의 出現이 있을 뿐이어서 平均 21.5日의 周期를 갖고 있었으며 正常群의 4.9日과 比較할 때 P value 가 <0.001로서 統計學的意義를 認定할 수 있었다. 이 群을 代表하는 Rat M 184는 第3圖에 圖示된 바와 같이 平均血糖은 414 mg%, 尿糖은 5.13 g/day, 尿中葡萄糖濃度는 7.67 g%로서 觀察期間 25日에 Estrus의 出現은 2回뿐으로 不規則하였다.

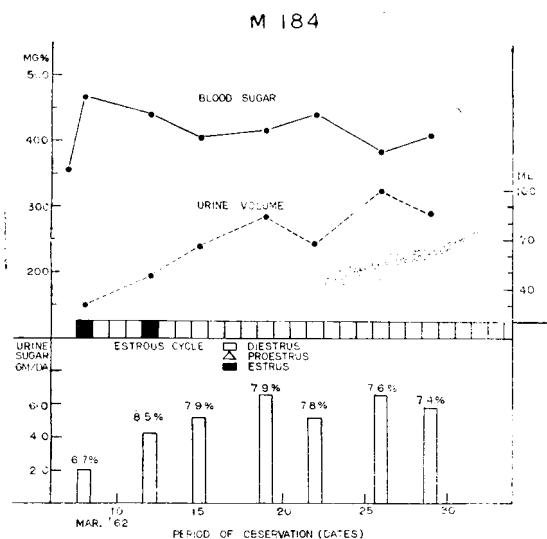


Fig. 3 The metabolic data and the estrous cycle of Rat M-184(Group III). During the course of observation, the average blood sugar was 414 mg%, the average urine sugar, 5.13 g/day and the average glucose concentration in urine, 7.67 g%, respectively. The estrous cycle was irregular and it lasted only twice after the onset of diabetes.

다음은 糖尿病에 潟患된 鼠를 protamine zinc insulin 으로 治療하여 諸新陳代謝值를 正常範圍로 還元코자 하

였다. 그러나 그 目的是 完全히 達成치 못한 關係로 이를 또 다시 두 群으로 나눌 수 있었다. 第Ⅳ-a 群은 治療가 成功의 이어서 平均血糖이 220 mg% 以下일 경우(7匹), 第Ⅳ-b 群은 insulin 量이 不充分하여 平均 220 mg% 以上의 血糖을 갖는 경우(5匹)이다. 第Ⅳ-a 群에서는 每日 體重 1Kg 當 平均 6.1 u.의 insulin 注射로 血糖, 尿糖, 尿中葡萄糖濃度가 각각 平均 186 mg%, 0.43 g/day, 2.26 g%이며 平均周期가 4.8日로서 正常群의 周期와 近似하며 P value 도 0.5로서 estrous cycle의 延長 或은 減少의 意義를 認定할 수 없었다. 即 規則의 estrus의 出現을 볼 수 있었다. 第4圖의 Rat M 57

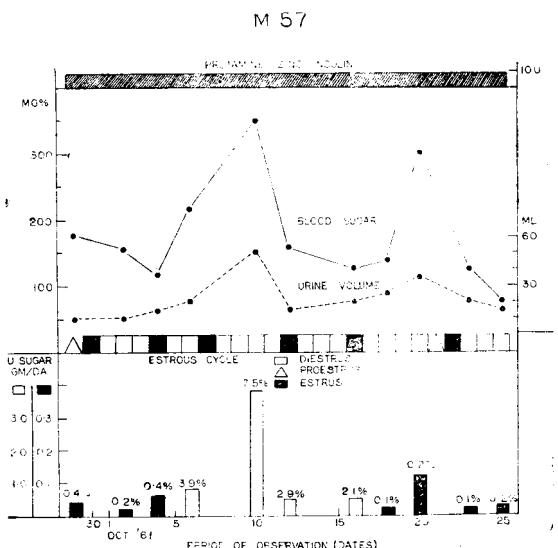


Fig. 4 The metabolic data and the estrous cycle of Rat M-57(Group IV-a). Under the insulin treatment(10.0 u/kg/day) the average blood sugar was 167 mg%, the average urine sugar, 0.50 g/day and the average glucose concentration in urine, 1.67 g%, respectively. The length of the estrous cycle was 4.3 days.

은 그 代表로서 每日 體重 1Kg 當 平均 10 unit의 insulin 注射로서 諸新陳代謝值가 각각 167 mg%, 0.50 g/day, 1.67 g%로 還元되었고 同時に 周期는 平均 4.3日이었다. 第Ⅳ-b 群은 平均 3.9 unit의 insulin 量이 不充分하여 諸新陳代謝值가 높아 각각 308 mg%, 2.30 g/day, 5.18 g%를 보여 주었는데 이때의 estrous cycle은 平均 11.9日로 延長되었으며 이 延長은 第Ⅰ群의 正常鼠의 周期와 統計學的으로 比較하여 본 바 p value 가 <0.01로서 이 延長은 意義가 있었다. Rat M 68은 第Ⅳ-b 群의 代表로서 第5圖에서 볼 수 있는 바와 같이 觀察期間 18日에 2回의 estrus의 出現이 있어 平均 周期는 9.0이었으며 이때의 諸 新陳代謝值는 insulin 注射

量의 不足으로 각각 平均 407 mg%, 3.84 g/day, 7.21 g% 이었다.

M 68

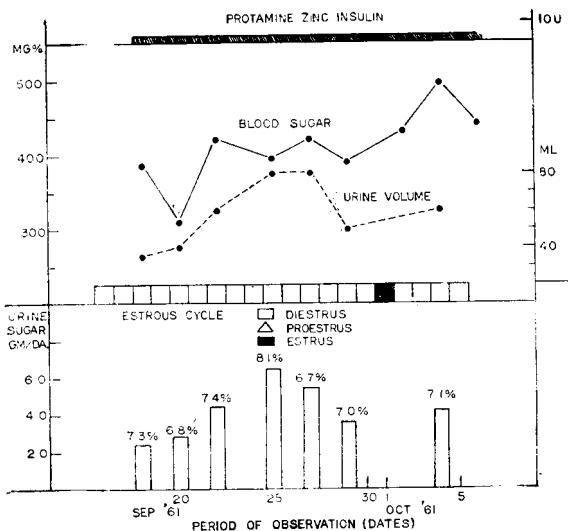


Fig. 5 The metabolic data and the estrous cycle of Rat M-68(Group IV-a). Insulin dose was suboptimal(5.0 u/kg/day). The average blood sugar was 407 mg%, the average urine sugar, 3.84 g/day and the average glucose concentration in urine, 7.21 g%, respectively. The length of the estrous cycle was 9.0 days.

다음 insulin 治療下에서 正常的인 estrous cycle 을 보여 주는例에서 그治療를 中斷한 後에 오는 變化를 觀察하였다(第V群). 이때에는 두 反應을 볼 수 있었다. Insulin 中斷後에도 血糖이 올라가지 않고 平均血糖 220 mg% 以下인 경우(第V-a群)와 中斷後 血糖의 上昇을 招來하여 平均血糖 220mg% 以上인 경우(第V-b群)이다. 第V-a群은 3匹로 되었는데 insulin 治療後의 平均 諸新陳代謝值는 각각 143 mg%, 0.02g/day, 0.29g% 로 正常值와 大差 없었으며 이 때의 周期도 4.9日을 보여주어 正周期와 近似하였다. 第6圖의 Rat M 81은 二代表로서 平均 血糖 161 mg%, 尿糖 0.2g/day, 尿中葡萄糖濃度 0.44g% 보이며 觀察期間 25日에 平均 4.2日의 周期를 갖고 있었다. insulin 治療中斷後 血糖의 上昇을 呈한 第V-b群(5匹)은 그諸新陳代謝值가 각각 平均 366 mg%, 5.25 g/day, 7.32 g%로서 이 때의 周期는 平均 16.8日로서 正常周期와 比較하여 볼 때 그延長이 統計學的으로 意義를 認定할 수 있었다($p < 0.001$). Rat M 85는 第V-b群에 屬하며 第7圖에서 보는 바와 같이 觀察期間 39日에 平均 血糖 363 mg%, 尿糖 4.94 g/day, 尿中葡萄糖濃度 6.15 g% 를 갖고 單只 2回의 estrus 出現으로 그 周期가 19.5日인 不規則性을 나타내었다.

M 81

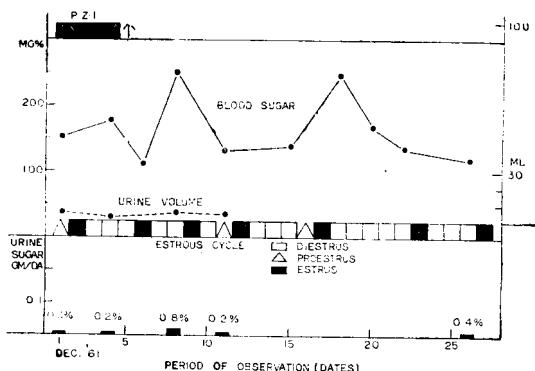


Fig. 6 The metabolic data and the estrous cycle of Rat M-81(Group V-a). Even after the discontinuation of insulin treatment the average blood sugar was 161 mg%, the average urine sugar, 0.02 g/day and the average glucose concentration in urine, 0.44 g%, respectively. The length of the estrous cycle was 4.2 days.

M 85

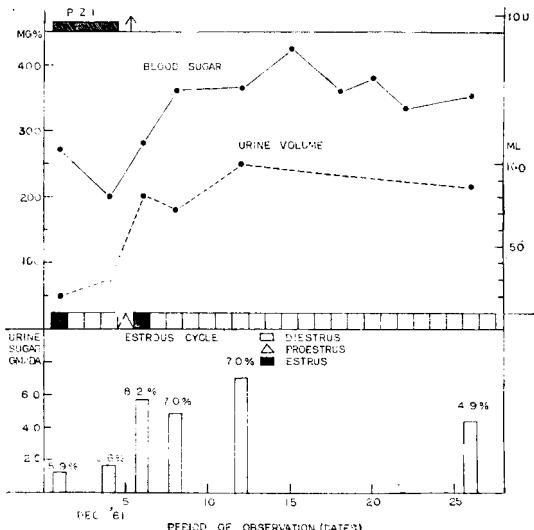


Fig. 7 The metabolic data and the estrous cycle of Rat M-85(Group V-b). After the discontinuation of insulin treatment the average blood sugar was 363 mg%, the average urine sugar, 4.94 g/day and the average glucose concentration in urine, 6.15 gm%, respectively. The estrous cycle showed irregularity, and the average length of the cycle was 19.5 days(the figure shows a part of the course of observation).

다음 第 6 群에서는 어느 一定期間 insulin 治療 없이 甚한 症勢下에서 不規則한 周期를 보이면 것을 protamine zinc insulin 을 注射하여 諸新陳代謝值를 正常範圍로 還元시켜 estrous cycle 에 오는 變化를 觀察하였다. 第 2 表에서 보는 바와 같이 insulin 治療 없이 高血糖下에서 (Rat M 57-404 mg%, Rat M 191-437 mg%) 觀察期間 24 或은 28 日에 或은 1 回의 estrus 出現을 보여 不規則 하던 周期가 適量의 insulin 投與로 諸新陳代謝值가 Rat M 57 은 平均 1.67 mg%, 0.50g/day, 1.67 g%, Rat M 191 은 173 mg%, 0.04 g/day, 0.37 g% 로 還元되자 Rat M 57 은 18 日後, Rat M 191 은 15 日後에 이르러 estrus 的 出現이 始作되었고 이때부터 規則的인 周期를 보여 前者는 平均 4.3 日, 後者는 平均 4.7 日이었다. 第 8 圖는 Rat M 191 을 例로 들이 圖示한 것이다.

以上 各群中 第 III 群과 第 VI 群의 例數가 적은 것은 甚한 症勢下에서 insulin 治療 없이 適當한 期間 生存한 鼠가 적기 때문이다.

IV. 考 察

여러 學者들이 發表한 바에 依하면 正常鼠의 estrus cycle 의 周期는 平均 4 日 乃至 5 日이며 糖尿病에 患된 鼠에서는 그 周期의 延長 或은 estrus 的 休止를 招來한다는 데에 一致하고 있으며 同時に 本研究와도 一致하는 것이다^{22,23)}. 그러나 누구도 糖尿病의 患程度에 따라 그 周期가 어떻게 變하는가 特히 insulin 治療와 이로 因한 新陳代謝值의 變化와의 關係를 論한 報告는 없었고 單只 Jäämeri and Tarikiainen²⁴⁾이 血糖을 參考하여 報告한 것이 있을 뿐이며 特히 Lazarow²⁵⁾에

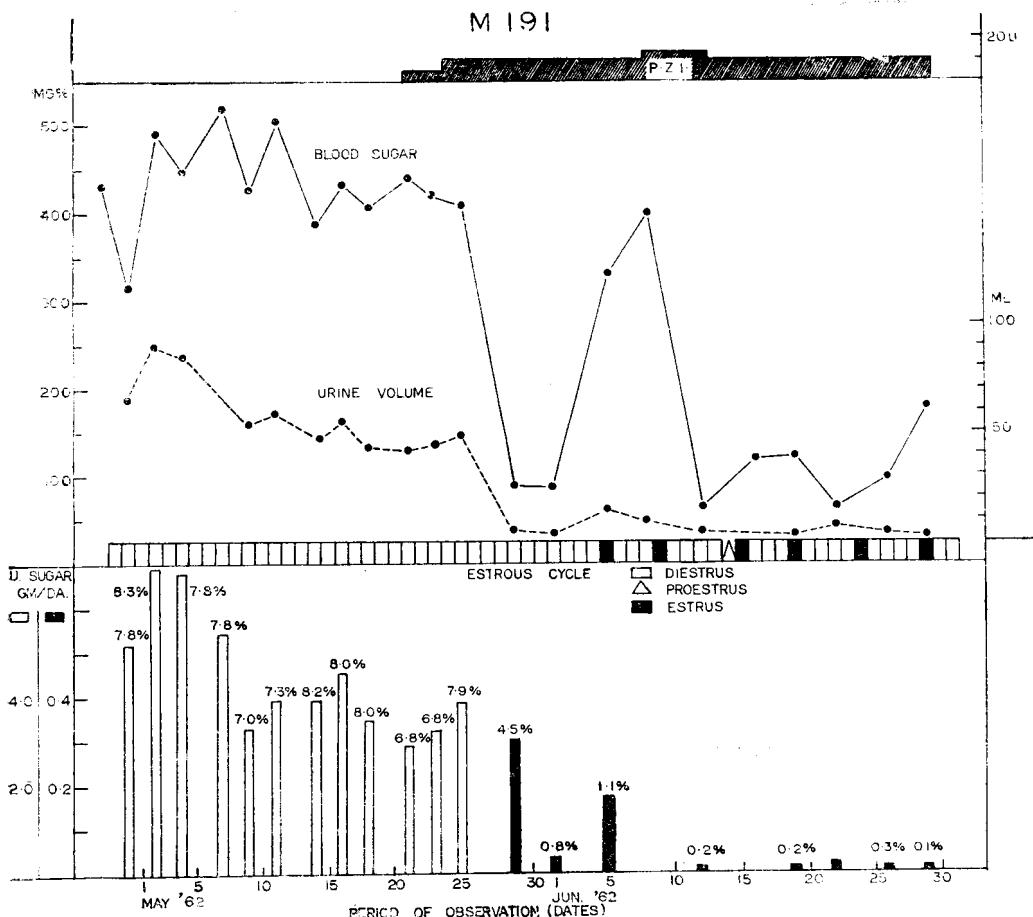


Fig. 8 The metabolic data and the estrous cycle of Rat M-191(Group VI). The metabolic data before the administration of insulin were 437 mg% in blood sugar, 4.86 g/day in urine, 7.81 g% in glucose concentration in urine. The animal showed complete cessation of estrus. Regular cyclical activity was restored at 15 days after the administration of insulin(11.1 u/kg/day). After the initiation of the first estrus, the rat showed blood sugar 173 mg%, urine sugar 0.04 g/day and glucose concentration in urine 0.37 g%, respectively.

依하면 alloxan 으로 誘發된 糖尿病에 樞患된 鼠에 있어서 自然治癒가 된다는 것을 보아 血糖值가 一時的으로 높은 것 만으로 永久히 糖尿病에 樞患했다고 볼 수 없으므로 本實驗에서는 觀察全期間에 걸쳐 週當 2乃至 3回의 檢查를 行하였다.

Alloxan 注射에도 不拘하고 正常新陳代謝值를 갖고 規則的인 estrous cycle 을 보인 第Ⅱ群은 그 原因을 두 가지로 생각할 수 있다. 그것은 鼠의 抵抗이 크거나 그렇지 않으면 尾靜脈으로 注射된 alloxan 的 一部가 皮下로 注入된 경우일 것이다.

Insulin 治療를 받지 않아 甚한 症勢下에 있는 第Ⅲ群에 屬한 3匹이 보인 1回 혹은 2回의 estrus 의 出現이 樞患初期에 있었던 것에 注意해야 할 것이고 그럼으로 해서 이 群에서의 周期의 延長이라 함은 正確한 表現이 될 수 없고 estrus 的 休止를 招來한다 함이 妥當할 것으로 생각된다.

第Ⅳ-a群, 第Ⅴ-a群 即 平均血糖이 220 mg% 以下일 경우 規則的인 estrous cycle 을 보였다. 특히 第Ⅴ-a群에서 insulin 中斷後 血糖의 再上昇을 보이지 않고 正常에 近似하여 estrous cycle 도 正常인 것은 Lazarons²⁵⁾에 依한 自然治癒의 現象에 起因한 것으로 說明될 수 있다.

第Ⅳ-b群, 第Ⅴ-b群은 그 血糖이 平均 220 mg% 以上인 血糖過多를 보이며 第Ⅳ-b群에서 보는 바와 같이 insulin 治療를 받았어도 estrus 가 不規則하게 出現하여 周期의 延長을 招來하였고(第Ⅳ-b群: 11.9日, 第Ⅴ-b群: 16.8日) 이 延長을 正常周期와 比較할 때 p value 가 각각 0.01 혹은 0.001 보다 작으므로서 統計學의 意義가 큰것을 알 수 있다.

一定期間 insulin 治療를 받지 않은 第Ⅳ群이 estrus 的 休止를 보이다가 insulin 注射로 血糖의 還元과 더불어 estrus 的 復活을 보여 주었고 이 estrus 的 出現까지에는 一定時日(Rat 57 은 18日, Rat M 191 은 15日)이 經過하였다. 이것은 血糖을 비롯한 모든 新陳代謝值의 還元으로 一般狀態의 回復에 要하는 期間으로 생각된다.

이렇한 諸現象으로 보아 estrous cycle 은 血糖의 高底와 密接한相互關係가 있음을 指示하는 것 같다. 反面 Jäämeri and Tarikiainen 은 그의 實驗을 通해 estrous cycle 과 血糖이 無關하다고 하였으나 그 根據를 考 case No. 2 를 分析하여 보면 曖昧한 點이 있는것 같다. 即 “血糖過多가 있었으나 正常周期를 가졌다” 하였는데 8週間의 觀察期間中 7回의 estrus 가 出現하여 그 周期는 平均 7日이어서 正常 4日乃至 5日에 比하여 多少간 周期를 가졌고 또 이런 例가 case No. 2의 1例에 不過하여 血糖과의 無關을 主張하기에는 그 根據가 稀薄하다고 보았으며 本實驗의 第Ⅳ-b群中 Rat M 85-1이 insulin 量의 不足으로 血糖은 높았으나 正常周期를

갖고 있어 case No. 2 와 一致하지만 本實驗에서는 이 것이 오히려例外에 屬하는 것인어서 Jäämeri and Tarikiainen의 主張에 參考하여야 하지 않을까 한다. 그外 그들은 甚한 症勢를 갖는 鼠에 insulin 治療를 하였지만 이것은 血糖의 還元을 為한 것 보다는 少量으로 單只 生命의 延長만을 期한 點은 estrous cycle 에 對한 insulin 治療의 影響을 說明하기에는 不足이 있는 것으로 생각된다.

V. 結論

Sprague-Dawley 系의 白鼠에 alloxan 40 mg/kg 을 注射하여 糖尿病을 일으킨 後 糖尿病과 insulin 投與로招來되는 血糖의 變化가 estrous cycle 에 미치는 影響을 觀察하였다.

正常的으로 4日乃至 5日의 周期가 平均 血糖이 220 mg% 以上인 血糖過多를 보일 경우에는 insulin 治療與否에 關係없이 estrous cycle 的 不規則을 그리고 血糖過多가 아주 甚할 때에는 estrus 的 完全休止에 따른 diestrus 的 延長을 招來하였다. 反對로 平均血糖이 220 mg% 以下일 경우에는 規則的인 周期를 보였으며 糖尿病에 樞患되어 estrus 的 休止를 招來하였던 鼠는 insulin 治療로서 血糖의 還元이 이루어지면 漸次的인 estrus 的 復活을 보였다.

이 現象으로 보아 estrous cycle 은 血糖의 高底如何에 影響받는 것을 알 수 있으며 insulin 治療自體가 주는 影響보다는 insulin 投與로 因한 血糖值의 高底와 특히 密接한 關係가 있는 것으로 생각된다.

〈擱筆함에 있어서 始終指導校閱하여 주신 恩師 羅世振教授, 李明馥 教授 및 金在滿 助教授에게 謝意를 表하며 助言을 아끼시지 않은 教室諸先生께 深謝한다.〉

ABSTRACT

The Effects of Experimental Diabetes on the Estrous Cycle of the Rats

Bong Jin Rha, M.D.

Department of Anatomy, College of Medicine

Seoul National University, Seoul

(Director: Prof. Sae Jin Rha)

The cyclical activity of the Sprague-Dawley strain rat was observed under the various conditions of alloxan diabetes using the vaginal smear technique.

The experimental groups were as follows: Group I-normal control rats, Group II-alloxanized non-diabetic rats, Group III-rats with untreated diabetes, Group IV-a-rats with treated diabetes, having average blood sugar less than 220 mg%, Group IV-b-rats with

treated diabetes, having average blood sugar more than 220 mg%, Group V-a-rats having average blood sugar less than 220 mg% after the interruption of insulin, Group V-b rats having average blood sugar more than 220 mg% after the interruption of insulin, Group VI-rats with insulin treatment, following the untreated severe diabetes.

In Group I and Group II, the average length of the estrous cycle was 4.9 and 4.8 days, respectively. In Group III, showing severe diabetes, there was complete cessation of estrous stage. Group IV-a showed regular cycle and Group IV-b showed irregular cycle. Group V-a showed regular cycle, but Group V-b revealed irregular cycle. Group VI had the cessation of estrous stage of the estrous cycle, but the estrous stage was restored when the diabetes was well controlled with the administration of insulin.

It seems obvious that the restoration of the estrous is not due to insulin administered but due to the well controlled condition of diabetes by the administration of insulin.

REFERENCES

- 1) Jacobs, H. R.: *Hypoglycemic action of alloxan*. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 37:407, 1937.
- 2) Gomori, G. and M.G. Goldner: *Production of diabetes mellitus in rats with alloxan*. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 54:287, 1943
- 3) Shaw, D. J., H. L. Sheehan and N. G. B. McLetchie: *Necrosis of islets of Langerhans produced experimentally*. Lancet, 1:484, 1943.
- 4) Goldner, M. G. and G. Gomori: *Mechanism of the diabetogenic action of alloxan*. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 55:73, 1944.
- 5) Kennedy, W.B. and F.D.W. Lukens: *Observations on alloxan diabetes*. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 57:143, 1944.
- 6) Houssay, B. A., O. Orias and I. Sara: *Mechanism of action of alloxan on blood sugar*. Science, 102: 197, 1945.
- 7) Bhattacharya, G.: *On the mechanism of alloxan hypoglycemia*. J. Biol. Chem., 182:739, 1950.
- 8) Dunn, J. S., J. Kirkpatrick, N. G. McLetchie and S. V. Telfer: *Necrosis of the islets of Langerhans produced experimentally*. J. Path. & Bacteriol., 55:245, 1943.
- 9) Dunn, J. S. and N. G. McLetchie: *Experimental alloxan diabetes in rat*. Lancet, 245:384, 1943.
- 10) Dunn, J. S., H. L. Sheehan and N. G. McLetchie: *Necrosis of islets of Langerhans produced experimentally*. Lancet, 244:484, 1943.
- 11) Brunschwig, A., J. G. Allen, M. G. Goldner and G. Gomori: *Alloxan*. J. A. M. A., 122:966, 1943.
- 12) Bailey C.C. and O.T. Bailey: *The production of diabetes mellitus in rabbits with alloxan*. J. A. M. A., 122:1165, 1943.
- 13) Hard, W.L. and C. J. Carr: *Experimental diabetes produced by alloxan*. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 55:214, 1944.
- 14) Lazarow, A. and S. F. Palay: *The production and course of alloxan diabetes in the rat*. J. Lab. & Clin. Med., 31:1004, 1946.
- 15) Levi, J. E. and T. Weinberg: *Pregnancy in alloxan diabetic rats*. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 72:658, 1949.
- 16) Pratt, D.: *Quoted from Jäämeri and Tarikiainen*
- 17) Davis, M. E., N. W. Fugo and K. G. Lawrence: *Effect of alloxan diabetes on reproduction in the rat*. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 66:638, 1947.
- 18) Folin, O. and H. Malmros: *Improved form of Folin's micromethod for blood sugar determination*. J. Biol. Chem., 83:115, 1929.
- 19) Somogyi, M.: *A rapid method for the estimation of urine sugar*. J. Lab. Clin. Med., 26:1220, 1940-41.
- 20) Grönroos, M. and O. Kauppila: *Hormonal cyclic changes in rats under normal conditions and under stress as revealed by vaginal smears after Shorr-staining*. Acta Endocrinol., 32:261, 1959.
- 21) Long, J. A. and H. M. Evans: *The estrous cycles in the rat and its associated phenomena*. Memoirs, University of California, 6:1, 1922.
- 22) Lindau, O. and M. E. Morgans: *Alloxan diabetes and pregnancy: a long term observation*. J. of Endocrinol., 6:463, 1949.
- 23) Hunt, E. L. and B. E. Frye: *The estrous cycle in alloxan-diabetic rats*. Anat. Rec., 128:569, 1957.
- 24) Jäämeri, K. E. U. and H. Tarikiainen: *Le cycle vaginal au cours du diabète alloxanique chez le rat*. Acta Endocrinol., 3:236, 1949.
- 25) Lazarow, A.: *Spontaneous recovery from alloxan diabetes in the rat*. Diabetes, 1:363, 1952.