

BIBLIOGRAFIA

- 1) BANCROFT, M., y BELLAIRS, R. (1975). Differentiation of the neural plate and neural tube in the young chick embryo. A study by scanning and transmission electron microscopy. *Anat. Embryol.*, 147: 309-335.
- 2) BRUN, R.B. y GARSON, J.A. (1983). Neurulation in the mexican salamander (*Ambystoma mexicanum*): a drug study and cell shape analysis of the epidermis and the neural plate. *J. Embryol. exp. Morph.*, 74: 275-295.
- 3) BURGESS, D.R. y SCHROEDER, T.E. (1979). The cytoskeleton and the cytomusculature. An overview. En Jasmin, C. y Cantin, M.: *Methods and achievements in experimental Pathology*. Karger, Basel, vol. 8, pp. 171-189.
- 4) BURNSIDE, B. (1971). Microtubules and microfilaments in newt neurulation. *Dev. Biol.*, 26: 416-441.
- 5) FAWCETT, W. (1981). *The cell*. W.B. Saunders Co., Philadelphia.
- 6) FERNANDEZ, J.G. (1986). *Análisis de los patrones de forma celular y polaridad de orgánulos durante la neurulación en el embrión de pollo*. Tesis Doctoral. Universidad de León.
- 7) GLAUERT, A.M. (1975). *Fixation, dehydration and embedding of biological specimens*. North-Holland, Amsterdam.
- 8) HAMBURGER, V. y HAMILTON, H.L. (1951). A series of normal stages in the development of the chick embryos. *J. Morph.*, 88: 49-92.
- 9) HIRAKOW, R. y GOTOH, T. (1975). A quantitative ultrastructural study on the developing rat heart. En Lieberman, M. y Sano, T.: *Developmental and physiological correlates of cardiac muscle*, Raven Press, New York.
- 10) KARFUNKEL, P. (1972). The activity of microtubules and microfilaments in neurulation in the chick. *J. Exp. Zool.*, 181: 289-302.
- 11) LEE, H.; KOSCIUK, M.C.; NAGELE, R.G. y ROISEN, F.J. (1983). Studies on the mechanisms of neurulation in the chick: Possible involvement of myosin in elevation of neural folds. *J. Exp. Zool.*, 225: 449-457.
- 12) LEE, H.Y. y NAGELE, R.G. (1985). Studies on the mechanisms of neurulation in the chick. Interrelationships of contractile proteins, microfilaments and the shape of neuroepithelial cells. *J. Exp. Zool.*, 235: 205-217.
- 13) LEE, H.Y. y NAGELE, R.G. (1985). Possible involvement of calmodulin in apical constriction or neuroepithelial cells and elevation of neural folds in the chick. *Experientia*, 41: 1.186-1.188.
- 14) NAGELE, R.G. y LEE, H. Y. (1979). Ultrastructural changes in cells associated with interkinetic nuclear migration in the developing chick neuroepithelium. *J. Exp. Zool.*, 210: 89-106.
- 15) NAGELE, R.G. y LEE, H.Y. (1980). Studies on the mechanisms of the neurulation in the chick: Microfilament-mediated changes in cell shape during uplifting of neural folds. *J. Exp. Zool.*, 213: 391-398.
- 16) OSTROVSKY, D.; SANGER, J.W. y LASH, J.W. (1983). Light microscope observations on actin distribution during morphogenetic movements in the chick embryos. *J. Embryol. exp. Morph.*, 78: 23-32.
- 17) PAZ, P.; ZAPATA, A.; FERNANDEZ, J.G.; CHAMORRO, C.; VILLAR, J.M. (1985). Evidence of non-early ultrastructural regionalization in the neural epithelium of the chick by stereological methods. *Acta Anat.*, 124: 227-233.
- 18) SADLER, T.W.; GREENBERG, D.; COUGHILN, P. y LESSARD, J.L. (1982). Actin distribution patterns in the mouse neural tube during neurulation. *Science*, 215: 172-174.
- 19) SCHOENWOLF, G.C. (1982). On the morphogenesis of the early rudiments of the developing central nervous system. *Scanning Electron Microsc.*, 1982, 1: 289-308.
- 20) SCHOENWOLF, G.C. y DESMOND, M.E. (1984). Descriptive studies of occlusion and reopening on the spinal canal of the early chick embryo. *Anat. Rec.*, 209: 251-263.
- 21) SCHOENWOLF, G.C. y FRANKS, M.V. (1984). Quantitative analysis of changes in cell shapes during bending of the avian neural plate. *Dev. Biol.*, 105: 257-272.
- 22) SOKAL, R.R. y ROHLF, F.J. (1969). *Biometry*. W.H. Freeman and Co., San Francisco.
- 23) TRINKAUS, J.P. (1984). *Cells into organs. The forces that shape the embryo*. Prentice-Hall Inc., New Jersey, pp. 22-26.

EFFECTOS DE FACTORES FETO-PLACENTARIOS EN EL TEJIDO MAMARIO DE LA RATA - UTILIZACION DEL CONTENIDO MAMARIO DE ACIDOS NUCLEICOS COMO INDICE LACTOGENICO

Por Luis-Ariel García-Pardo (1)

INTRODUCCION

La existencia de un eje adreno-hipofisario funcional, durante las últimas etapas de la gestación, ha sido puesto de manifiesto en los fetos de varias especies animales. Ingle y Fisher¹³ realizaron la primera demostración de que la adrenalectomía, practica en ratas gestantes, producía un aumento del tamaño de la corteza de las suprarrenales de los fetos. Esta observación fue, más tarde, ampliamente confirmada por otros autores^{3,6,12,15,21}. La inyección de cortisona a la madre anulaba el efecto⁶, y cuando se inyectaba esta hormona a ratas gestantes, no adrenalectomizadas, se obtenía una reducción importante del peso de las adrenales de los fetos^{3,4,6}. Recientemente se han aportado evidencias histoquímicas e histoenzimológicas, que revelan la capacidad de las adrenales fetales para aumentar su secreción hormonal frente a condiciones de estrés, aplicadas a ratas durante las últimas fases de la gestación¹⁸. Asimismo se ha demostrado, en fetos de ovino, la capacidad de respuesta de las suprarrenales, a la administración de CRF, con producción de cortisol, a los 95 días de gestación¹¹. Las experiencias realizadas «in vitro» también han puesto de manifiesto la capacidad funcional de las adrenales fetales de rata, conejo, bóvidos y humanos^{1,2,19,23,24,27}. Por otra parte, los factores hormonales de la corteza adrenal son imprescindibles para desencadenar la actividad secretora del tejido mamario, al término de la gestación^{7,10,5}.

La contribución de los factores hormonales de la corteza suprarrenal^{1,2,3} de los fetos al proceso de la lactogénesis ha sido sugerida por algunos investigadores^{8,28}. Aun cuando este planteamiento no está exento de un marcado sentido teleológico, la explotación de una posible participación de los corticoesteroides fetales, en un proceso cuyo fin último es proporcionar los nutrientes necesarios para el desarrollo de los recién nacidos, resulta de gran interés desde un punto de vista estrictamente fisiológico.

En el presente trabajo se compara el contenido mamario de ADN y ARN así como

(1) Departamento de Bioquímica, Biología Molecular, Fisiología y Farmacología

los valores del cociente ARN/ADN, como índices de la actividad lactogénica, en ratas gestantes, fetectomizadas y parcialmente fetectomizadas. El objetivo fundamental de este estudio es determinar si la ausencia de las adrenales fetales, al final de la gestación, puede afectar el establecimiento de la lactación en las madres, que, en circunstancias normales, tiene lugar alrededor del tiempo del parto, en la rata.

Para determinar si las placentas podían mantener su integridad estructural y continuar su desarrollo normal, una vez eliminados los fetos, los pesos de las placentas de las ratas fetectomizadas y de las sometidas a fetectomía simulada fueron registrados en el momento del sacrificio. Los coeficientes de correlación entre el número, peso medio y peso total de las placentas y el contenido total mamario de ácidos nucleicos y cociente ARN/ADN se determinaron estadísticamente, en ambos grupos de ratas. La existencia de interdependencia en estos parámetros puede indicar la existencia de competencia, entre el tejido mamario y los fetos, por factores placentarios.

MATERIAL Y METODOS

Animales: Para la realización del presente trabajo se utilizaron treinta ratas hembra, de la línea *Hooded Norway*, sexualmente maduras y vírgenes, de peso corporal entre 160 y 200 gr. Las instalaciones de control automático de iluminación y temperatura se ajustaron para mantener una temperatura de $20^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y alternar periodos de 10 horas de iluminación y 14 horas de oscuridad. Los animales se mantuvieron en una dieta a base de piensos comerciales para ratas de laboratorio y agua, ad libitum. Las hembras fueron introducidas en jaulas de apareamiento con cinco machos de la misma línea, a razón de seis hembras por cada macho. Los frotis vaginales fueron examinados todas las mañanas, hasta el día en que se observaba la presencia de espermatozoides, momento que marcaba el comienzo de la gestación.

Procedimientos quirúrgicos: Fetectomía. El día 17 de gestación las hembras fueron anestesiadas con éter, practicándose, a continuación, una incisión de aproximadamente 4 cm. de longitud, en la piel de la región ventral media, seguida de una segunda incisión más pequeña, en la pared muscular del abdomen. El útero fue, seguidamente exteriorizado practicándose en su superficie antimesométrica pequeñas incisiones (5 mm.) en los puntos de localización de los cráneos de los fetos. A continuación se extrajeron los fetos mediante la aplicación, sobre estos, de una ligera presión con el extremo de los dedos, a través de la pared uterina. Mediante el pinzamiento, en un punto próximo al feto, del cordón umbilical, este podía ser seccionado en condiciones homeostáticas. Seguidamente se suturó la pared del útero para evitar la expulsión de la placenta. Esta operación se repitió con cada uno de los fetos que ocupaban el útero.

Un grupo de ratas fue sometido a fetectomía incompleta, siguiéndose idéntico procedimiento que el descrito para la fetectomía completa, excepto por el hecho de que un feto permaneció en el útero después de la operación. La duración de la operación fue de una hora, aproximadamente y los animales se recuperaron totalmente a los 30 minutos de finalizada ésta.

Un grupo de ratas, adicional, se sometió a un procedimiento quirúrgico, pretendidamente similar a los descritos anteriormente. Los animales se anestesiaron con el mismo anestésico utilizado con los fetectomizados y se practicaron las mismas incisiones en piel, pared abdominal y uterina que las descritas. Los fetos se manipularon de idéntico modo, si bien se respetó la integridad del cordón umbilical, así como el alojamiento de cada feto en el útero. La operación tuvo, asimismo, la misma duración que las fetectomías totales o parciales.

En el momento del sacrificio, las placentas de las ratas fetectomizadas y las de fetectomía simulada, fueron cuidadosamente recogidas para proceder a su estudio.

Determinación de ácidos nucleicos: Los animales fueron sacrificados el día 23 de gestación, utilizando una guillotina. Las seis glándulas mamarias abdomino-inguinales fueron rápidamente disecadas, lavadas y congeladas en tampón Sacarosa-bicarbonato. Después de su extracción con éter-etanol, el tejido fue homogeneizado, en seco, en un molino Wiley. La extracción de los ácidos nucleicos se realizó por el procedimiento de Schmidt y Thannhauser²⁶ modificado por Tucker y Reece²⁹. El contenido de ARN se determinó valorando la ribosa por el procedimiento del orcinol de Mejbaum (17). El contenido mamario de ARN se calculó por medio de una curva estándar, obtenida utilizando ARN de levadura. El ADN fue extraído con ácido perclórico (PCA) al 5%. Como estándar se utilizó ADN muy polimerizado (Nutritional Biochemical Corporation). El contenido de ácidos nucleicos se expresó como ADN y ARN total, por seis glándulas abdomino-inguinales y se calculó, a continuación, el cociente ARN/ADN. Se realizó un análisis de varianza para todas las variables y se utilizó el procedimiento W de Tukey (HSD) para comparar los valores medios de los distintos grupos experimentales.

RESULTADOS

Efecto de la fetectomía en la glándula mamaria: Se encontró una diferencia de 21,29 gr., en el momento del sacrificio (día 23 de gestación), entre los pesos corporales de los animales sometidos a fetectomía completa y de aquellos en los que se había practicado una fetectomía simulada. El peso del tejido seco de las seis glándulas abdomino-inguinales, sometidas a extracción con éter etílico (DEET) era de 699,1 mg. en el grupo de ratas fetectomizadas y de 690,7 mg. en las ratas control; la diferencia 8,4 mg., no era estadísticamente significativa ($p > 0,05$). Los valores de contenido mamario de ADN de los animales fetectomizados y de los sometidos a fetectomía simulada eran muy similares, 20,07 y 20,28 mg. respectivamente (Fig. 1). Estas cifras no eran significativamente diferentes ($p > 0,05$). El contenido mamario de ARN era de 15,22 mg. en las ratas fetectomizadas y de 17,15 mg. en las testigo. Aún cuando la primera cifra era un 12,6% menor que la segunda, un análisis de varianza para esta variable reveló que la diferencia no era estadísticamente significativa ($p > 0,05$). El cociente ARN/ADN no era significativamente mayor ($p > 0,05$) en las glándulas mamarias de los animales testigo, 0,85 que en aquellos cuyos fetos habían sido eliminados, 0,75.

Fetectomía incompleta: Seis ratas primíparas cuyos fetos habían sido eliminados durante el día 17 de gestación con la excepción de un único feto que permaneció «in situ», no diferían significativamente ($p > 0,05$) en peso corporal, determinado el día 23 de gestación, de las ratas totalmente fetectomizadas ni de las sometidas a fetectomía simulada.

El peso del tejido seco sometido a extracción con éter etílico era de 690,5 mg., un valor casi idéntico al observado en el grupo control (690,7 mg) y solamente 8,6 mg menor que el correspondiente al de las ratas totalmente fetectomizadas. Las diferencias de estos valores en los tres grupos de animales no son estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

El contenido total de ADN en el tejido mamario de las ratas parcialmente fetectomizadas era de 26,35 mg., una cifra significativamente mayor que las encontradas en los otros dos grupos ($p > 0,01$). El contenido total de ARN en las ratas que conservaban 1 feto fue de 21,21 mg., un valor significativamente mayor ($p > 0,05$) que el encontrado en los animales fetectomizados (15,22 mg.), pero no así ($p > 0,05$) que el ob-

tenido en los animales testigo (17,15). El cociente ARN/ADN en el grupo de animales con un feto, era de 0,81, un valor intermedio entre los de los animales fetectomizados (0,75) y el de los animales sometidos a fetectomía simulada (0,85) (Fig. 1).

La apariencia general del tejido placentario, presente en ambos grupos de animales al sacrificio, era semejante y el peso medio de las placentas era de 0,439 g. en los animales fetectomizados y de 0,515 g. en los animales testigo. Estos valores eran significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Mientras el contenido mamario total de ARN mostraba una elevada correlación con el número de placentas ($r = 0,715$) en el grupo de ratas fetectomizadas, en el grupo control el coeficiente de correlación entre estas dos variables era muy bajo ($r = 0,032$). Una correlación todavía mayor se encontró entre el peso total de las placentas y el contenido mamario total de ARN ($r = 0,774$) en los animales fetectomizados, frente a un coeficiente de correlación muy bajo en los animales testigo ($r = 0,165$). El peso medio de las placentas se encontraba asimismo fuertemente correlacionado con el contenido de ARN en las ratas fetectomizadas ($r = 0,796$) pero no en las testigo ($r = 0,385$). Coeficientes de correlación de 0,70, 0,74 y 0,70 fueron encontrados entre el cociente ARN/ADN y el número de placentas, peso total placentario y peso placentario medio respectivamente, en el grupo de ratas fetectomizadas (Tabla I). En las ratas testigo, aún cuando se mantenía una baja correlación entre el número de placentas y peso total de las placentas y el cociente ARN/ADN, resultó sorprendente encontrar una elevada correlación ($r = 0,7975$) entre este parámetro y el peso medio de las placentas.

El contenido mamario de ADN mostró una menor interdependencia positiva que el contenido de ARN con el peso total placentario ($r = 0,638$) y con el número de placentas ($r = 0,534$) en los animales fetectomizados, pero el mayor coeficiente encontrado en este grupo se halló entre el contenido de ADN y peso placentario medio ($r = 0,830$). En los animales testigo, el ADN y los parámetros placentarios presentaban coeficientes de correlación muy bajos.

DISCUSION

En el presente trabajo se ha encontrado que los valores de contenido mamario de ADN y ARN y del cociente ARN/ADN, en los animales fetectomizados y los sometidos a fetectomía simulada no diferían significativamente. Estos resultados refuerzan las observaciones previas de otros autores²⁵ de que la eliminación de embriones en la rata, sin extraer las placentas, no interrumpe la gestación, que continúa hasta que las placentas son expulsadas a término. Por otro lado, nuestros resultados revelan que, ni la ausencia de fetos, ni la posible mayor severidad del procedimiento quirúrgico, en los animales fetectomizados, afectan, marcadamente, al desarrollo del tejido mamario, durante los seis últimos días de la gestación. El mantenimiento de un único feto hasta el sacrificio, por el contrario, resulta en un significativo y manifiesto aumento en el contenido mamario de ácidos nucleicos, al final de la gestación. Este resultado indica una mayor intensidad en el proceso de proliferación del tejido mamario, en las últimas etapas de la gestación y podría sugerir que, siempre que la gestación permanezca inalterada, manteniendo una unidad fetoplacentaria completa en el útero, la reducción del número de fetos permite una mayor disponibilidad de los elementos necesarios para el desarrollo del tejido mamario. El cociente ARN/ADN que indica la intensidad de la actividad secretora en el tejido mamario²⁹, no difiere significativamente, en ninguno de los tres grupos de animales estudiados, aún cuando el valor más elevado correspondió a los animales que conservaban todos los fetos. La escasa magnitud de las diferencias (en ningún caso significativas) en el contenido total de ARN y el co-

ciente ARN/ADN, encontradas entre los animales fetectomizados y los sometidos a fetectomía simulada, argumenta en contra de un papel decisivo, de las adrenales fetales, en la lactogénesis, durante la gestación. Una contribución secundaria, favorecedora de los cambios en contenido de ácidos nucleicos que tienen lugar, en el tejido mamario, poco antes del parto no debe ser descartada, en vista del ligeramente superior valor del cociente ARN/ADN, encontrado el día 23 de gestación, en los animales que conservaron sus fetos. Por otra parte, se han presentado evidencias de que el estrés que supone el parto, desencadena, en la rata, un gran aumento de la concentración plasmática de corticosteroides³⁰ y en el conejo se registró un considerable incremento de corticoides, en el plasma fetal, en el momento del nacimiento²⁰. Como las ratas parcialmente fetectomizadas y las sometidas a fetectomía simulada, utilizadas en el presente trabajo se sacrificaron el día 23 de gestación antes de que el proceso del parto diese comienzo, una hipotética contribución importante de las adrenales fetales, a la lactogénesis, en respuesta al estrés que supone el nacimiento, no pudo ser detectada.

Nuestros resultados, por otra parte, evidencian el mantenimiento de la funcionalidad de las placentas, durante las últimas fases de la gestación, una vez que las unidades feto-placentarias han sido privadas de sus componentes fetales. La elevada interdependencia observada, entre el número de placentas, peso placentario medio y peso placentario total y el contenido de ácidos nucleicos y cociente ARN/ADN mamario de las ratas fetectomizadas sugiere la existencia de influencias positivas de la placenta, en las actividades proliferativa y secretora del tejido mamario, en ausencia de los fetos. La ausencia de diferencias significativas en el contenido mamario de ácidos nucleicos y cociente ARN/ADN, encontrada en el presente trabajo entre los animales con fetos y aquellos fetectomizados que conservaron las placentas, contrasta con la notable reducción en ARN, ADN y ARN/ADN, registrada por otros autores⁹ cuando las placentas eran eliminadas, conjuntamente con los fetos y da cuenta de la necesidad de factores placentarios para el normal desarrollo y función del tejido mamario, durante la segunda mitad de la gestación. A este respecto se debe tener presente que la naturaleza endocrina de la placenta ha sido ampliamente reconocida^{14,16,22}. En presencia de los fetos, la situación cambia radicalmente y, los parámetros placentarios determinados no guardaban correlación apreciable con el ARN y ADN mamaros ni con el cociente ARN/ADN. La competencia entre los fetos y el tejido mamario por factores placentarios queda claramente evidenciada por los bajos coeficientes de correlación encontrados en presencia de los fetos.

RESUMEN

Se estudió la participación de las suprarrenales fetales en la lactogénesis, fetectomizando ratas primíparas el día 17 de la gestación. El contenido mamario de ácidos nucleicos en los animales fetectomizados y en los testigo no es significativamente diferente. El cociente ARN/ADN en ratas que mantuvieron un feto, presentaba un valor intermedio entre los de los animales fetectomizados y los testigo. Estos resultados niegan una contribución decisiva de las adrenales fetales a la lactogénesis, con anterioridad al parto. Las placentas, en los animales fetectomizados y los que conservaron los fetos presentaban idéntico aspecto general y sus pesos eran similares. El contenido mamario de ARN y el cociente ARN/ADN presentaron una correlación elevada con el número de placentas, peso total placentario y peso placentario medio, en los animales fetectomizados. En los animales sometidos a fetectomía simulada, sin embargo, estos factores mostraron una escasa correlación, a excepción del peso placentario medio y el cociente ARN/ADN. Estos resultados revelan una marcada influencia de la placenta sobre la glándula mamaria, una vez eliminada la competencia de los fetos.

TABLA I
 Coeficientes de correlación entre número de placentas (nP) y peso placentario total (tP) y contenido mamario total de ARN, ADN y cociente ARN/ADN, en ratas fetectomizadas (F) y sometidas a fetectomía simulada (FS).

	ADN			ARN			ARN/ADN		
	F	FS	F	F	FS	F	FS	F	FS
nP	0.534	0.111	0.715	0.032	0.704	-0.084			
tP	0.638	-0.117	0.774	0.165	0.730	0.199			
mP	0.830	-0.623	0.796	0.385	0.703	0.797			

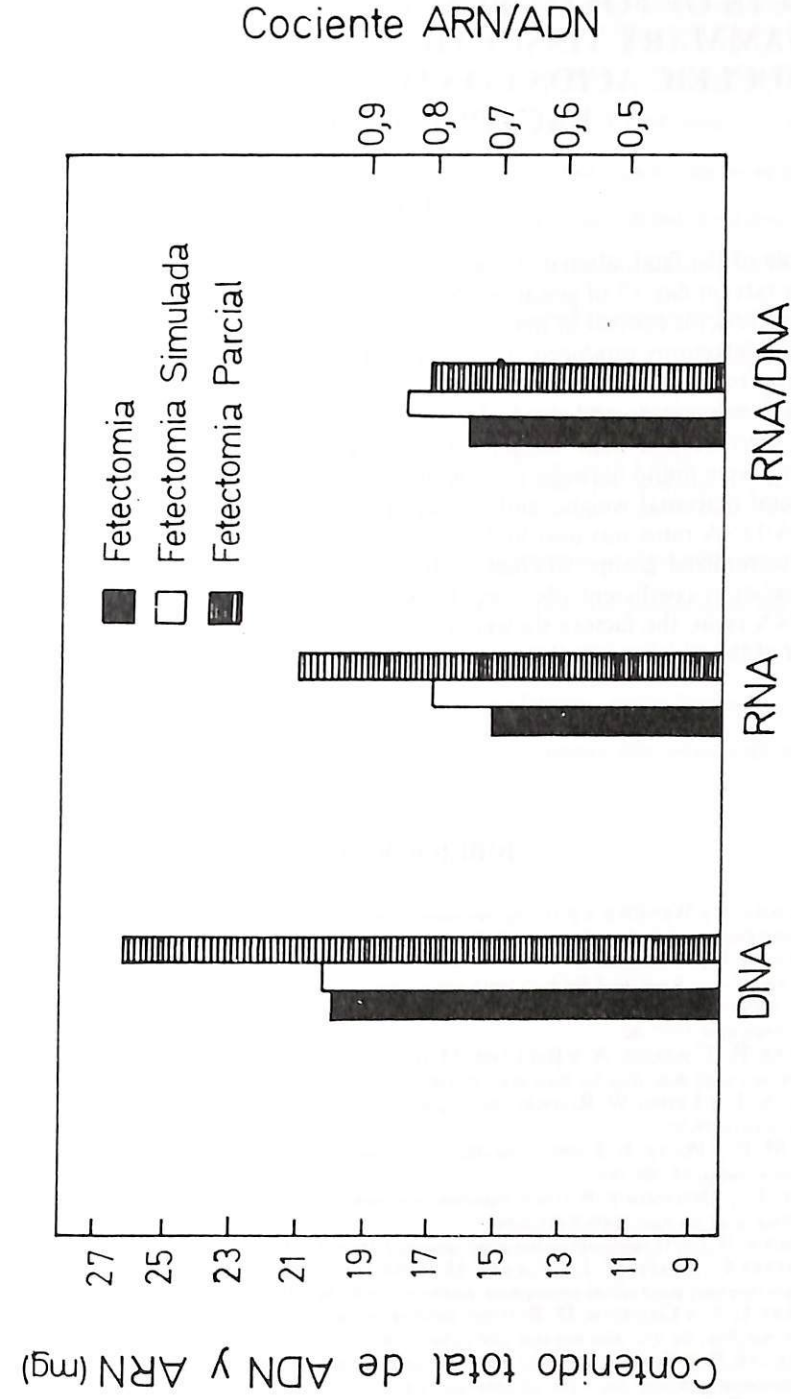


Fig. 1. Contenidos de ácidos nucleicos y cocientes ARN/ADN de glándulas mamarias de ratas fetectomizada, parcialmente fetectomizadas y sometidas a fetectomía simulada.

EFFECTS OF FOETO-PLACENTAL FACTORS ON THE MAMMARY TISSUE OF THE RAT – MAMMARY NUCLEIC ACIDS CONTENT CHANGES AS THE LACTOGENIC INDEX

SUMMARY

The role of the fetal adrenals in lactogenesis was investigated by fetectomizing primiparous rats on day 17 of gestation. No significant differences were found on day 23 in the nucleic acids content of mammary glands of fetectomized or sham-fetectomized rats. Partial fetectomy produced an intermediate RNA/DNA ratio. These results ruled out a major role of the fetal adrenals in lactogenesis prior to parturition. The placentae of the fetectomized- and sham-fetectomized animals had a similar general appearance at sacrifice and their weight was not significantly different. High correlation coefficients were found between total mammary RNA content and the number of placentae, total placental weight, and average placental weight in the fetectomized rats. The RNA/DNA ratio was also highly correlated with the three placental parameters in the fetectomized group, whereas in the sham-fetectomized animals, except for a high correlation coefficient observed between the average placental weight and the RNA/DNA ratio, the factors showed a low correlation. These results reveal a strong influence of the placenta on the mammary gland when the competition of the fetus is absent.

BIBLIOGRAFIA

- 1) CHOURAQUI, J. y WENIGER, J. P. (1969a). Sécration de corticosteroides par la surrenale embryonnaire de veau cultivée in vitro. *Anal Endocrinol.* 30: 533-543.
- 2) CHOURAQUI, J. y WENIGER, J. P. (1969b). Analyse chimique de la sécrétion hormonale de la corticosurrenale de l'embryon de lapin. *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris* 269D: 1.933-1.996.
- 3) CHRISTIANSON, M. y CHESTER JONES, I. (1957). The interrelationships of the adrenal glands of mother and fetus in the rat. *J. Endocrinol.* 15: 17-42.
- 4) COURRIER, R., COLOGNE, A. y BACLESSE, M. (1951). Action de la cortisone administrée a la mère sur la surrenale du fœtus de rat. *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris* 233: 333-336.
- 5) COWIE, A. T. y LYONS, W. R. (1959). Mammogenesis and lactogenesis in hipophysectomized, ovariectomized rats. *J. Endocrinology* 19: 29-32.
- 6) DAVIS, M. E. y PLOTZ, E. J. (1954). The effects of cortisone acetate on intact and adrenalectomized rats during pregnancy. *Endocrinology* 54: 384-395.
- 7) DELOUIS, C. y DENAMOUR, R. (1967). Induction experimentale de la sécrétion lactée pendant la gestation de la brebis. *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris* 264D: 2.493-2.497.
- 8) DENAMOUR, R. (1971). Hormonal control of lactogenesis. *J. Dairy Res.* 38: 237-264.
- 9) DESJARDINS, C., PAAPE, M. J. y TUCKER, H. A. (1968). Contribution of pregnancy, fetuses, fetal placentas and deciduas to mammary gland uterine development. *Endocrinology* 83: 907-911.
- 10) FERRERI, L. F. y GRIFFITH, D. R. (1969). Effect of hydrocortisone acetate on mammary gland nucleic content of pregnant rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 130: 1.216-1.218.
- 11) HARGRAVE, B. y ROSE, J. C. (1986). By 95 days of gestation corticotropin-releasing factor increases plasma ACTH and cortisol in ovino fetuses. *Am. J. Physiol.* 250 (4 par 1): 422-427.
- 12) HOUSSAY, B. A. (1945). The influence of adrenal insufficiency during pregnancy on the mother and the offspring. *Rev. Soc. Argen. Biol.* 21: 306-308.
- 13) JINGLE, D. J. y FISHER, G. T. (1938). Effect of adrenalectomy during gestation on the size of the adrenal glands of newborn rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 39: 149-150.

- 14) KIRIYAMA, T. (1986). Study on the clinical evaluation of dehydroepiandrosterone sulfate loading as a fetoplacental function test: Effect of dehydroepiandrosterone sulfate on the estrogen metabolism at the fetoplacental unit. *Acta. Obstet. Gynaecol Jpn.* 38 (5): 700-708.
- 15) KNOBIL, E. y BRIGGS, R. N. (1955). Fetal-maternal endocrine interrelations: The hypophyseal-adrenal system. *Endocrinology* 57: 147-152.
- 16) MATT, D. W., GIBNEY, J. A., MALAMED, S. y MACDONALD, G. J. (1986). Progesterone and testosterone production by dispersed rat placental cells. *Biol. Reprod.* 34 (3): 587-594.
- 17) MEJBAUM, W. (1939). Über die bestimmung kleiner Pentosemengen, insbesondere in derivaten der adenylsäure. *Z. Physiol Chem.* 258: 117-139.
- 18) MIJATOV-UKROPINA, L., MARIJA, N. y RADOSLAV, M. (1985). Activity of fetal adrenal glands affected by hypoxic hypothermia. *Spr. Arh. Tselok. Lek.* 113(7): 567-576.
- 19) MILKOVIC, K. y MILKOVIC, S. (1962). Studies of the pituitary-adrenocortical system in the fetal rat. *Endocrinology* 71: 799-802.
- 20) MULAY, S., GIANNOPOULAS, G. y SOLOMON, S. (1973). Corticosteroid levels in the mother and fetus of the rabbit during gestation. *Endocrinology* 93: 1.342-1.348.
- 21) NOUMURA, T. (1959). Development of the hypophyseal-drenocortical system in the rat embryo in relation to the maternal system. *Japan J. Zool.* 12: 279-299.
- 22) NOWAK, R. A., KLEIN, J. S., PULIDO, D. N. y BAHR, J. M. (1986). Bilateral maintenance of rabbit corpora lutea by the feto-placental unit. *J. Endocrinol.* 109 (1): 107-110.
- 23) ROSS, T. B. (1963). Production of steroids by embryonic adrenal glands. *Amer. Zool.* 3: 58-69.
- 24) ROSS, T. B. (1967). Steroid synthesis in embryonic and fetal rat adrenal tissue. *Endocrinology* 81: 716-728.
- 25) SELYE, H., COLLIP, J. B. y THOMSON, D. L. (1934). Nervous and hormonal factors in lactation. *Endocrinology* 18: 237-248.
- 26) SCHMIDT, G. y THANNHAUSER, S. J. (1945). A method for the determination of deoxyribonucleic acid, and phosphoproteins in animal tissues. *J. Biol. Chem.* 161: 83-96.
- 27) STARK, E., SZALAY, G. K. y ACS, Z. (1965). Hypophyseal-adrenal activity in combined human fetal tissue cultures. *Can. J. Physiol. and Pharm.* 43: 1-9.
- 28) TUCKER, H. A. (1974). General endocrinological control of lactation. En LARSON, B. L. y SMITH, V. R. *En Lactation, a Comprehensive Treatise*. Academic Press Inc. New York and London. 7: 277-326.
- 29) TUCKER, H. A. y REECE, R. P. (1962). Nucleic acid estimates of mammary tissue and nuclei. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 112: 409-412.
- 30) VOOGT, J. L., SAR, M. y MEITES, J. (1969). Influence of cycling, pregnancy, labor, and suckling on corticosterone-ACTH levels. *Am. J. Physiol.* 216: 655-658.