

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

**LES ACIDES DESOXYRIBONUCLÉIQUES  
AU COURS DE LA LACTOGENÈSE (1)**

R. DENAMUR

*Laboratoire de Physiologie de la Lactation,  
Centre national de Recherches zootechniques, 78 - Jouy-en-Josas  
Institut national de la Recherche agronomique*

---

Une sécrétion lactée relativement importante apparaît au cours de la première gestation de la majorité des espèces étudiées. Nous nous limiterons à discuter le rôle des acides désoxyribonucléiques dans la réalisation de cette lactogenèse naturelle, et dans les lactogenèses induites expérimentalement à la suite de l'administration de la composante hormonale lactogène de l'espèce considérée (DENAMUR, 1968).

---

**I. — LES QUANTITÉS NETTES D'ADN (2)  
DANS LA GLANDE MAMMAIRE SONT AUGMENTÉES  
ET LA SYNTHÈSE DES ADN EST ACCÉLÉRÉE PENDANT  
LES PÉRIODES GESTATIVES OÙ SE PRODUIT LA LACTOGENÈSE**

*I. Quantités nettes d'ADN dans la glande mammaire  
pendant la gestation*

L'évolution des quantités nettes d'ADN présentes dans la glande mammaire au cours de la gestation de plusieurs espèces a été étudiée par de nombreux auteurs : voir DENAMUR (1965) et, plus récemment, chez la Ratte BALDWIN et MILLIGAN (1966), KUHN et LOWENSTEIN (1967), THIBODEAU et THAYER (1967). Ils ont tous montré, à l'exception de KIRKHAM et TURNER (1963), que la croissance mammaire se poursuit activement pendant la deuxième moitié de la gestation, période qui est, en effet, le siège de phénomènes sécrétoires plus ou moins importants selon l'espèce considérée.

(1) Ce texte représente une partie de la conférence donnée par l'auteur au *New Bolton Center*, Philadelphie, le 24 août 1968.

(2) ADN = acide désoxyribonucléique.

Nos résultats obtenus chez la Lapine, la Brebis et la Ratte en mesurant, pendant la gestation de ces espèces, le développement de la glande mammaire par la quantité d'ADN présente dans ce tissu et le déclenchement de la sécrétion lactée par l'estimation du lactose, ont été précédemment résumés (DENAMUR, 1963 *a, b*, 1965). Ils montrent sans ambiguïté que multiplication cellulaire et lactogénèse sont des phénomènes contemporains dans la glande mammaire soumise aux équilibres hormonaux de la gestation. Plusieurs auteurs ont d'ailleurs confirmé ces observations.

— Le lactose n'apparaît, dans les glandes mammaires de la Ratte, qu'à la fin de la gestation (SHINDE *et al.*, 1965 ; KUHN et LOWENSTEIN, 1967 ; KUHN, 1968), période où l'ADN total continue de s'accroître (KUHN et LOWENSTEIN, 1967 ; BALDWIN et MILLIGAN, 1966).

— La synthèse des caséines et celles de l' $\alpha$ -lactalbumine et de la  $\beta$ -lactoglobuline sont nettes le 13-14<sup>e</sup> jour de la gestation de la Souris (LOCKWOOD *et al.*, 1966), époque où l'augmentation de l'ADN mammaire est très accusée (LEWIN, 1957 ; BROOKRESON et TURNER, 1959 ; WADA et TURNER, 1959 ; MUNFORD, 1963-1964).

## 2. Nombre de cellules épithéliales qui synthétisent l'ADN pendant la gestation

La prolifération cellulaire est proportionnelle au nombre de cellules se trouvant dans le cycle de reproduction. Elle est très élevée à certaines phases de la gestation, ainsi que l'ont montré les recherches chez la Souris et la Lapine utilisant l'administration *in vivo* de thymidine radioactive ( $^3\text{H}$  ou  $^{14}\text{C}$ ) et les techniques d'autohistoradiographie.

Chez la Souris, les cellules qui incorporent la thymidine  $^3\text{H}$  se répartissent selon une distribution bimodale dont les maxima sont situés le 4<sup>e</sup> jour (25,3 p. 100 des cellules) et le 12<sup>e</sup> jour (12,1 p. 100) (TRAURIG, 1967 *a*). La synthèse des protéines du lait est, dans cette espèce, déjà très nette le 12<sup>e</sup> jour de la gestation (LOCKWOOD *et al.*, 1966). L'augmentation, pendant ces périodes gestatives, de l'incorporation de la thymidine, n'est pas un artefact reflétant la modification du « pool » des nucléotides libres puisqu'elle correspond à un nombre accru de mitoses radioactives (BANERJEE et WALKER, 1967). La non coïncidence, au début de la gestation, entre l'activité prolifératrice mesurée par le pourcentage de cellules radioactives et l'estimation de l'ADN, peut s'expliquer par :

— la forte proportion, à ce stade gestatif, de tissu conjonctif contenant beaucoup d'ADN (NICOLL et TUCKER, 1965),

— le fait que le premier maximum, situé le 4<sup>e</sup> jour, peut correspondre à une libération accrue mais passagère des œstrogènes nécessaires à l'implantation de l'œuf dans l'utérus.

Chez la Lapine, SOD-MORIAH et SCHMIDT (1968) ont montré que l'activité prolifératrice est élevée, même à la fin de la gestation (5 à 10 p. 100 des cellules épithéliales incorporent la thymidine  $^3\text{H}$ ). Dans cette espèce, les phénomènes sécrétoires sont très nets dans le dernier tiers de la gestation (DENAMUR, 1965).

## 3. La synthèse de l'ADN est plus rapide pendant la gestation de la Souris

La durée de la phase de synthèse de l'ADN (S) diminue du 1<sup>er</sup> au 15<sup>e</sup> jour de la gestation (14,1 h le 8<sup>e</sup> jour ; 8,2 h le 15<sup>e</sup> jour). Elle conserve une valeur peu élevée pendant la fin de la période gestative et le début de la lactation (8,5 h le 2<sup>e</sup> jour, BANERJEE et WALKER, 1967). La durée de la phase S n'est donc pas une constante pour les cellules de la glande mammaire. Elle présente des variations très importantes selon la nature du contrôle hormonal (8,6 à 30,6 h, BRESCIANI, 1964-1965 ; BANERJEE et WALKER, 1967). Sa valeur minimum, qui correspond probablement à la vitesse maximum des diverses réactions enzymatiques nécessaires à la synthèse de l'ADN, ou à la coordination la plus grande de la duplication des chromosomes, est équivalente aux estimations généralement rapportées (5 à 10 h) pour les autres cellules étudiées (DEFENDI et MANSON, 1963 ; BULLOUGH, 1963). Enfin, la phase S a une durée minimum plus faible pour les cellules alvéolaires (8,8 h) que pour les cellules des canaux lactifères (12,2 h, BRESCIANI, 1965).

Ces expériences appellent les remarques suivantes :

— l'importance de la variation de la durée de la phase S pendant la gestation nous amène à considérer que les pourcentages de cellules qui incorporent la thymidine dans un temps limité, ne sont pas exactement comparables entre périodes gestatives ;

— une réduction de la phase S, identique à celle observée pendant la gestation, est obtenue chez la Souris castrée qui reçoit une administration prolongée d'œstrogène et de progestérone (BRESCIANI, 1964-1965). Il est donc probable que les stéroïdes ovariens qui existent en grandes quantités pendant la gestation, sont responsables directement ou indirectement de la diminution, au cours de cette période, de la phase S. Le mécanisme de cette intervention mérite d'être étudié, car les hormones ovariennes sont considérées comme des substances inhibitrices de la sécrétion lactée.

#### *4. Il existe un rythme nycthémeral du nombre des mitoses pendant la gestation de la Souris (ECHAVE LLANOS et PIEZZI, 1963)*

La fréquence maximum se situe pendant la phase d'éclaircissement. Il est difficile de savoir si ce phénomène est le reflet d'une modification de la durée de la mitose [certaines hormones, comme les glucocorticoïdes, présentent un rythme nycthémeral de sécrétion (HALBERG et al., 1959, Souris ; SABA et al., 1963, Ratte ; HUIBREGTSE, 1968, Cobaye) et ralentissent le déroulement de la mitose dans l'épiderme (BULLOUGH, 1962)], ou de changements affectant les autres phases du cycle cellulaire (influence des hormones qui initient la synthèse de l'ADN au cours de  $G_1$  ou de celles qui affectent la durée de la phase S).

#### *5. Commentaires sur ces observations*

La présence simultanée des phénomènes sécrétoires et de la synthèse de l'ADN dans la glande mammaire pendant la gestation, pose de vastes problèmes de biologie générale dont les deux suivants nous paraissent très importants :

— les cellules épithéliales de la glande mammaire peuvent-elles sécréter et proliférer simultanément ?

— certaines structures lobulo-alvéolaires prolifèrent-elles alors que d'autres structures équivalentes présentent une activité sécrétoire ?

#### *Les cellules épithéliales qui sécrètent pendant la gestation peuvent-elles se multiplier pendant cette période ?*

Il n'existe qu'un très petit nombre d'arguments expérimentaux directs en faveur de cette hypothèse (voir revue de MAYER et KLEIN, 1961). Ainsi, récemment, GIRARDIE (1968) a observé pendant la gestation de la Souris (13<sup>e</sup>-14<sup>e</sup> jour) des images mitotiques dans des cellules mammaires dont les cytoplasmes renfermaient des grains protéiques et des gouttelettes lipidiques. TRAURIG (1967 *b*) a de même constaté que la thymidine  $^3\text{H}$  s'incorpore dans des cellules épithéliales qui sécrètent activement (3<sup>e</sup>-4<sup>e</sup> jour de lactation).

Les observations de ces auteurs sont particulièrement intéressantes, car on considère en général que les cellules hautement différenciées prolifèrent peu (BULLOUGH, 1962-1963 ; BASERGA, 1965-1968), et LASFARGUES et MURRAY (1964) pensent même que les cellules épithéliales mammaires perdent leur capacité de proliférer au fur et à mesure qu'elles progressent vers la différenciation. Nos connaissances relatives à la nature des acides ribonucléiques et des protéines (vitesse de synthèse, durée de vie, etc...) nécessaires au déroulement des mitoses et des phénomènes sécrétoires, sont encore trop insuffisantes pour affirmer si sécrétion et mitoses sont possibles simultanément dans une même cellule mammaire.

On peut toutefois imaginer, par analogie avec les résultats des nombreuses recherches effectuées sur d'autres cellules de Mammifères, que la synthèse des ARN se poursuit pendant la phase S du cycle cellulaire (d'une manière même qualitativement identique pour les ARN ribosomiaux des cellules Hela (SCHARFF et ROBBINS, 1965), et que la synthèse des protéines y est très importante (voir revues de BASERGA, 1965-1968). Au cours de la mitose, par contre qui ne dure que le 1/10 environ de la phase S, les synthèses des ARN et des protéines ne sont, en général, plus décelables (les polysomes disparaissent pendant la mitose des cellules Hela : SCHARFF et ROBBINS, 1966).

De nouvelles et nombreuses expériences seront nécessaires avant de comprendre les très importants mécanismes qui régissent multiplication et différenciation des cellules mammaires.

*Certains lobules de la glande mammaire seraient en phase proliférative, alors que d'autres sécrèteraient activement.*

Cette hypothèse ne peut s'appuyer que sur des arguments indirects résultant principalement des observations de BRESCIANI (1968). Pour cet auteur, des structures mammaires morphologiquement identiques (lobules de glande mammaire de Souris) n'incorporent pas la thymidine d'une manière équivalente lorsqu'elles sont soumises à une induction hormonale (œstrogène + progestérone : BRESCIANI, 1968). Il serait intéressant de faire une étude similaire au moment de l'induction des phénomènes sécrétoires, et qui comporterait l'emploi simultané de thymidine radioactive et d'anticorps (radioactifs ou fluorescents), afin de déceler si les cellules qui synthétisent l'ADN sont différentes ou identiques à celles qui synthétisent les protéines du lait.

## II. — LES ADN AU COURS DES LACTOGENÈSES EXPÉRIMENTALES

### I. *Expériences in vitro*

a) *La synthèse de l'ADN précède l'induction de la sécrétion lactée dans les cellules de glandes mammaires cultivées in vitro.*

L'incorporation de la thymidine <sup>3</sup>H dans l'ADN et du phosphore dans les caséines synthétisées par des explants de glandes mammaires (prélevés le 12<sup>e</sup>-13<sup>e</sup> jour de la gestation de la Souris) cultivés dans un milieu synthétique (199), présente des cinétiques comparables, mais décalées dans le temps, celle de la thymidine précédant d'une trentaine d'heures celle du phosphore (STOCKDALE et TOPPER, 1966).

Cette synthèse de l'ADN présente, en outre, les caractéristiques suivantes :

— *Elle commence rapidement après la mise en culture de la glande mammaire* : 8 à 12 heures pour TURKINGTON (1968 a), 12 à 24 heures pour TURKINGTON et TOPPER (1966). La synthèse maximum de l'ADN se situe, selon les expériences, entre 12 à 24 heures (TURKINGTON et TOPPER, 1967), 20 à 24 heures (STOCKDALE et TOPPER, 1966 ; TURKINGTON, 1968 a), ou 24 à 36 heures (TURKINGTON et TOPPER, 1966) après le début de la culture.

— *Un grand nombre de cellules synthétisent de l'ADN.* En effet, la proportion de cellules qui incorporent la thymidine <sup>3</sup>H après un marquage de 4 heures, atteint 40 p. 100 à 12-24 heures (TURKINGTON et TOPPER, 1967), 42,6 p. 100 à 24 heures, 44,9 p. 100 à 48 heures (LOCKWOOD et al., 1967 b) et 70-77 p. 100 à 48 heures après un marquage permanent (STOCKDALE et al., 1966). Enfin, le nombre relatif des mitoses est voisin de 25 p. 1 000 après 24 heures de culture (STOCKDALE et TOPPER, 1966 ; LOCKWOOD et al., 1967 b).

— *La vitesse de la synthèse de l'ADN n'est pas modifiée in vitro* (TURKINGTON, 1968 a).

— *La synthèse de l'ADN nécessite celle de certaines protéines* (TURKINGTON, 1968 a : inhibition par la puromycine et la cycloheximide) et en particulier de l'ADN-polymérase (LOCKWOOD et al. 1967 a).

— La synthèse de l'ADN est induite par l'insuline (JUERGENS *et al.*, 1965 ; STOCKDALE et TOPPER, 1966 ; TURKINGTON, 1968 *a* : minimum 0,5  $\mu\text{g/ml}$  =  $4,10^{-8}$  M, maximum 1  $\mu\text{g/ml}$ ) et à un moindre degré par l'hormone de croissance d'origine ovine ou bovine (minimum  $4,10^{-9}$  M et réponse linéaire avec la dose jusqu'à  $10^{-8}$  M : TURKINGTON, 1968 *a*), dans les explants mammaires provenant de souris gestantes ou adultes, mais elle échappe à tout contrôle hormonal dans les explants mammaires prélevés chez des souris impubères (VOYTOVICH et TOPPER, 1967). L'augmentation de la fixation du glucose par la glande mammaire (MORETTI et ABRAHAM, 1966) produite par l'insuline n'est pas nécessaire à la stimulation de la synthèse de l'ADN, puisque cette dernière peut être obtenue en présence de fructose. Pour TURKINGTON (1968 *a*), l'insuline et l'hormone de croissance pourraient induire la synthèse des protéines spécifiques nécessaires à la duplication des chromosomes. Chez les bactéries, le chromosome doit être fixé à la membrane cellulaire pour que la duplication de l'ADN ait lieu (JACOB *et al.*, 1963 ; MAALOE et KJELDGAARD, 1966 ; SUEOKA, 1967 ; MARVIN, 1968). Des mécanismes membranaires analogues, s'ils existent dans la cellule de Mammifère, pourraient expliquer l'importance de l'insuline dans la multiplication des cellules mammaires. Enfin, la triiodothyronine, la thyroxine, l'HPL (1) (TURKINGTON, 1968 *a*), l'hydrocortisone, la prolactine ovine ou l'association prolactine-hydrocortisone (STOCKDALE et TOPPER, 1966) ne sont pas actives.

b) La synthèse de l'ADN est une condition nécessaire, mais non suffisante, pour que la lactogenèse se produise *in vitro*.

#### Nécessaire.

L'inhibition des mitoses par la colchicine (STOCKDALE et TOPPER, 1966 ; TURKINGTON *et al.*, 1967 *b* ; LOCKWOOD *et al.*, 1967 *b* ; TURKINGTON, 1968 *b*) ou de la synthèse de l'ADN par les androgènes (TURKINGTON et TOPPER, 1967) et les concentrations élevées en ions  $\text{Li-NH}_4$  (TURKINGTON, 1968 *c*) prévient l'augmentation de l'incorporation du  $\text{P}^{32}$  dans les caséines.

#### Non suffisante.

On peut dissocier expérimentalement prolifération cellulaire et différenciation biochimique.

L'association hormonale lactogène IPC (2) n'est pas plus active sur la synthèse de l'ADN que les composantes hormonales non lactogènes IP-IC (STOCKDALE et TOPPER, 1966 ; STOCKDALE *et al.*, 1966 ; TURKINGTON et TOPPER, 1966-1967). La nécessité de l'hydrocortisone pendant les 3 phases  $\text{S}_1$ ,  $\text{G}_2$ , mitose, et de la prolactine en  $\text{G}_1$ , ne correspond pas à une action de ces hormones sur la quantité d'ADN synthétisé (LOCKWOOD *et al.*, 1967 *b*).

La synthèse de l'ADN et les mitoses se produisent *in vitro*, sans une intervention hormonale, dans les cellules mammaires prélevées chez les Souris impubères (21 jours). Cependant, la différenciation biochimique nécessite que l'insuline et l'hydrocortisone soient présentes au cours des phases  $\text{S}_1$ ,  $\text{G}_2$ , mitose, et que la phase  $\text{G}_1$  se déroule en présence d'insuline et de prolactine (VOYTOVICH et TOPPER, 1967).

Les divers adrénostéroïdes (hydrocortisone, prednisolone, aldostérone, etc.) associés à l'insuline et à la prolactine, stimulent différemment *in vitro* la synthèse des caséines. Ils ne modifient pas, cependant, l'importance de la synthèse d'ADN induite par l'insuline (TURKINGTON *et al.*, 1967 *a*).

## 2. Expériences *in vivo*

Chez la Ratte gestante, la sécrétion des protéines du type caséine commence 24 heures après l'ovariectomie pratiquée le 14<sup>e</sup> jour et devient très nette au bout de 48 heures (LIU et DAVIS, 1967). La quantité ou la concentration de l'ADN dans les glandes mammaires ne sont cependant pas affectées les deux premiers jours post-opératoires, et la formation de nouvelles cellules ne paraît pas nécessaire

(1) HPL = Hormone lactogène placentaire d'origine humaine.

(2) I = Insuline ; P = Prolactine ; C = Hydrocortisone.

à l'apparition de la sécrétion. Ainsi, le comportement *in vivo* du tissu mammaire de Ratte gestante en réponse aux hormones lactogènes :

— contraste avec celui *in vitro* des explants mammaires prélevés sur des rattes adultes castrées. Ces derniers, en effet, mis en présence d'insuline, synthétisent peu après leur mise en culture de très importantes quantités d'ADN (TURKINGTON et HILF, 1968) ;

— est en accord avec celui de l'utérus soumis *in vivo* aux œstrogènes (MUELLER, 1964), des vésicules séminales et de la prostate après une imprégnation androgénique (WILLIAMS-ASHMAN, 1965), du foie en réponse aux injections d'hormone de croissance ou de thyroxine (TATA, 1966-1967).

### 3. Commentaires sur ces expériences *in vitro* et *in vivo* de lactogénèse expérimentale

Le nombre de cellules qui incorporent la thymidine est très élevé dans les expériences de lactogénèse *in vitro*. Il atteint 77 p. 100 des cellules épithéliales après un marquage de 48 heures (STOCKDALE et al., 1966). Les conditions de la culture *in vitro* du tissu mammaire et la présence d'insuline induisent donc l'apparition des mitoses dans la majorité des cellules mises en culture, sans l'intervention des hormones considérées comme lactogènes *in vivo*.

La durée de la phase S est constante dans les cellules mammaires cultivées *in vitro* (TURKINGTON, 1968 a), alors qu'*in vivo* elle varie au cours des périodes gestatives qui voient se développer la sécrétion lactée. Il serait intéressant de connaître la valeur absolue de la phase S qui précède la sécrétion lactée induite en culture organotypique. Une telle détermination a toutefois été réalisée dans des cultures cellulaires ayant un temps de génération très bref (17 heures) (explants mammaires de Souris prélevés le 14<sup>e</sup> jour de la gestation et traités à la collagénase). Elle est de 8 heures, ce qui correspond à la durée minimum mesurée *in vivo* (CHURCH, 1965).

La synthèse de l'ADN et la formation de nouvelles cellules sont-elles nécessaires *in vivo* à l'induction de la sécrétion lactée? Il semble qu'il n'y ait pas actuellement d'expérience démonstrative permettant de résoudre cette question. La réponse sécrétoire du tissu mammaire de la Lapine pseudo-gestante (normale ou hypophysectomisée) à la prolactine ou de la Ratte hypophysectomisée à l'association prolactine-hydrocortisone, comporte cependant toujours *in vivo* une composante, multiplication cellulaire (DENAMUR, 1965 ; DENAMUR et GAYE, 1966). Ainsi, chez la Lapine, toutes les doses de prolactine qui sont lactogènes (12,5 UI à 100 UI/jour) conduisent en même temps à un accroissement de l'ADN mammaire qui peut atteindre 100 p. 100 au bout de 48 heures de traitement (DENAMUR, 1965 ; DENAMUR et DELOUIS, 1969 ; GAYE et DENAMUR, 1969). L'augmentation de l'ADN est décelable de 12 à 24 heures après le début du traitement hormonal (GAYE et DENAMUR, 1969). L'apparition du lactose dans les extraits mammaires (12<sup>e</sup> heure) et la variation de l'ADN sont donc partiellement simultanées.

Cependant, l'incorporation comparée des précurseurs radioactifs de l'ADN et des composants du lait, l'administration d'inhibiteurs de la synthèse de l'ADN ou des mitoses, n'ont pas été étudiées dans ces expériences qui ne permettent donc pas de savoir si la synthèse de l'ADN est nécessaire à celle du lactose. Pour les mêmes raisons, on ne peut considérer comme absolument démonstrative l'absence de variation significative de la quantité nette de l'ADN au cours de la lactogénèse chez la Ratte gestante ovariectomisée (LIU et DAVIS, 1967), puisque les techniques utilisées par ces auteurs ne permettent pas de déceler si une faible quantité de l'ADN n'a pas été synthétisée peu avant les manifestations sécrétoires enregistrées.

Enfin, il est intéressant de rappeler que la prolactine qui fait partie de la composante hormonale lactogène de toutes les espèces étudiées (DENAMUR, 1968), est fortement mammogène (la prolactine de poisson n'est pas lactogène chez la Lapine mais possède d'importantes propriétés mammogènes (CHADWICK, 1966), et que le jabot de Pigeon, autre récepteur naturel de la prolactine, répond rapidement à cette hormone par une très forte synthèse de l'ADN (DUMONT, 1965 ; BEN-DAVID, 1967).

Reçu pour publication en janvier 1969.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BALDWIN R. L., MILLIGAN L. P., 1966. Enzymatic changes associated with the initiation and maintenance of lactation in the rat. *J. Biol. Chem.*, **241**, 2058-2066.
- BANERJEE M. R., WALKER R. J., 1967. Variable duration of DNA synthesis in mammary gland cells during pregnancy and lactation of C<sub>3</sub>H/He mouse. *J. Cell Physiol.*, **69**, 133-142.
- BASERGA R., 1965. The relationship of the cell cycle to tumor growth and control of cell division : A review. *Cancer Res.*, **25**, 581-595.
- BASERGA R., 1968. Biochemistry of the cell cycle : A review., *Cell Tissue Kinet.*, **1**, 167-191.
- BEN-DAVID M., 1967. A sensitive bioassay for prolactin based on H<sup>3</sup>-Methyl-Thymidine uptake by the pigeon-crop mucous epithelium. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **125**, 705-708.
- BRESCIANI F., 1964. DNA synthesis in alveolar cells of the mammary gland : Acceleration by ovarian hormones. *Science*, **156**, 653-655.
- BRESCIANI F., 1965. Effect of ovarian hormones on duration of DNA synthesis in cells of the C<sub>3</sub>H mouse mammary gland. *Exp. Cell Res.*, **33**, 13-32.
- BRESCIANI F., 1968. Topography of DNA synthesis in the mammary gland of the C<sub>3</sub>H mouse and its control by ovarian hormones : An autoradiographic study. *Cell Tissue Kinet.*, **1**, 51-63.
- BROOKKRESON A. D., TURNER C. W., 1959. Normal growth of mammary gland in pregnant and lactating mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **102**, 744-745.
- BULLOUGH W. S., 1952. The control of mitotic activity in adult mammalian tissues. *Biol. Rev.*, **37**, 307-342.
- BULLOUGH W. S., 1963. Analysis of the life-cycle in mammalian cells. *Nature*, **199**, 859-862.
- CHADWICK A., 1966. Prolactin-like activity in the pituitary gland of fishes and amphibians. *J. Endocr.* **35**, 75-81.
- CHURCH K., 1965. Replication of chromatin in mouse mammary epithelial cells grown *in vitro*. *Genetics*, **52**, 843-849.
- DEFENDI V., MANSON L. A., 1963. Analysis of the life-cycle in mammalian cells. *Nature*, **198**, 359-361.
- DENAMUR R., 1963 a. Les acides nucléiques de la glande mammaire pendant la gestation et la lactation de la Lapine. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **256**, 4748-4750.
- DENAMUR R., 1963 b. Croissance mammaire et lactogénèse induite par la prolactine chez la Lapine en gestation. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **257**, 1548-1551.
- DENAMUR R., 1965. Les acides nucléiques et les nucléotides libres de la glande mammaire pendant la lactogénèse et la galactopoièse. *Proc. 2nd Internat. Congr. Endocrinol., Excerpta Medica Found.*, **83**, 434-462.
- DENAMUR R., 1968. Comparative aspects of the hormonal control of the lactogenesis. *Proc. 3rd Internat. Congr. Endocrinol., Excerpta Medica Found.* (sous presse).
- DENAMUR R., GAYE P., 1966. Les acides ribonucléiques de la glande mammaire au cours de l'induction et de l'entretien de la sécrétion lactée. Colloque International C. N. R. S. sur la Physiologie de la Reproduction chez les Mammifères, Paris. *Arch. Anal. Micr. Morphol. Exp.*, **56**, suppl., 596-615.
- DENAMUR R., DELOUIS C., 1969. Hormonal control of the lactogenesis in the rabbit. *J. Endocrinol.* (sous presse).
- DUMONT J. N., 1965. Prolactin induced cytologic changes in the mucosa of the pigeon-crop during crop milk formation. *Z. Zellforsch.*, **63**, 755-782.
- ECHAVE LLANOS J.-M., PIEZZI R. S., 1963. Twenty-four hour rhythm in the mitotic activity of normal mammary epithelium on normal and inverted lighting regimens. *J. Physiol.*, **165**, 437-442.
- GAYE P., DENAMUR R., 1969. Acides ribonucléiques et polyribosomes de la glande mammaire de Lapine au cours de la lactogénèse induite par la prolactine. *Biochem. Biophys. Acta* (sous presse).
- GIRARDIE J., 1968. Histo-cytomorphologie de la glande mammaire de la Souris C<sub>3</sub>H et de trois autres rongeurs. *Z. Zellforsch.*, **87**, 478-503.
- HALBERG F., PETERSON R. E., SILBER R. H., 1959. Phase relations of 24 h periodicities in blood corticosterone, mitoses in cortical adrenal parenchyma and total body activity. *Endocrinology*, **64**, 222-230.
- HUIBREGTSE W. H., 1968. 17-Hydroxycorticosteroid excretions rhythms in guinea-pigs. *Am. J. Physiol.*, **214**, 1268-1272.
- JACOB F., BRENNER S., CUZIN F., 1963. On the regulation of DNA replication in bacteria. *Symp. Quant. Biol.*, **28**, 329-348.
- JUERGENS W. G., STOCKDALE F. E., TOPPER Y. J., ELIAS J. J., 1965. Hormone-dependent differentiation of mammary gland *in vitro*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **54**, 629-634.
- KIRKHAM W. R., TURNER C. W., 1953. Nucleic acids of the mammary glands of rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. New York*, **83**, 123-126.
- KUHN N. J., 1968. Lactogenesis in the rat : Metabolism of uridine diphosphate galactose by mammary-gland. *Biochem. J.*, **106**, 743-748.

- KUHN N. J., LOWENSTEIN J. M., 1957. Lactogenesis in the rat ; Changes in metabolic parameters at parturition. *Biochem. J.*, **105**, 995-1002.
- LASFARGUES E. Y., MURRAY M. R., 1964. Cell differentiation and the primary lesion in mouse mammary carcinogenesis. *Nature*, **204**, 593-594.
- LEWIN I., 1957. Xanthine oxydase activity in normal and abnormal growth. *Proc. Royal Soc. Med.*, **50**, 563-570.
- LIU T. M. Y., DAVIS W. J., 1967. Induction of lactation by ovariectomy of pregnant rats. *Endocrinology*, **80**, 1043-1050.
- LOCKWOOD D. H., TURKINGTON R. W., TOPPER Y. J., 1966. Hormone-dependent development of milk protein synthesis in mammary gland *in vitro*. *Biochem. Biophys. Acta*, **130**, 493-501.
- LOCKWOOD D. H., VOYTOVICH A. E., STOCKDALE F. E., TOPPER Y. J., 1967 a. Insulin-dependent DNA polymerase and DNA synthesis in mammary epithelial cells *in vitro*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **58**, 658-664.
- LOCKWOOD D. H., STOCKDALE F. E., TOPPER Y. J., 1967 b. Hormone-dependent differentiation of mammary gland : Sequence of action of hormones in relation to cell cycle. *Science*, **156**, 945-946.
- MAALOE O., KJELDGAARD N. O., 1966. *Control of macromolecular synthesis*, Benjamin, New York and Amsterdam.
- MARVIN D. A., 1968. Control of DNA replication by membrane. *Nature*, **219**, 485-486.
- MAYER G., KLEIN M., 1951. Histology and cytology of the mammary gland in milk, in *The mammary gland and its secretion.*, Vol. 1, 47-126, SK KON, A. T. COWIE, Acad. Press.
- MORETTI R. L., ABRAHAM S., 1956. Effects of insulin on glucose metabolism by explants of mouse mammary gland maintained in organ culture. *Biochem. Biophys. Acta*, **124**, 280-288.
- MUELLER G. C., 1964. The role of RNA and protein synthesis in estrogen action. *2nd Internation. Congr. Endocrinol., Excerpt. Medica Found.*, **83**, 19-29.
- MUNFORD R. E., 1953. Changes in the mammary glands of rats and mice during pregnancy, lactation and involution. II. Levels of DNA and alkaline and acid phosphatases. *J. Endocrinol.*, **28**, 17-34.
- MUNFORD R. E., 1954. A review of anatomical and biochemical changes in the mammary gland with particular reference to quantitative methods of assessing mammary development. *Dairy Sci. Abst.*, **28**, 293-304.
- NICOLL C. S., TUCKER H. A., 1965. Estimates of parenchymal, stromal and lymph node DNA in mammary glands of CH/Crgl/2 mice. *Life Sci.*, **4**, 993-1001.
- SABA G. C., SABA P., CARNICELLI A., MARESCOTTI, 1963. Diurnal rhythm in the adrenalcortical secretion and in the rate of metabolism of corticosterone in the rat. I. In normal animals. *Acta Endocr.*, **44**, 409-412.
- SCHARFF M. D., ROBBINS E., 1965. Synthesis of ribosomal RNA in synchronized HeLa cells. *Nature*, **203**, 454-456.
- SCHARFF M. D., ROBBINS E., 1966. Polyribosome desaggregation during metaphase. *Science*, **151**, 992-995.
- SHINDE Y., OTA K., YOKOYAMA A., 1965. Lactose content of mammary glands of pregnant rats near term : Effect of removal of ovary placenta and foetus. *J. Endocrinol.*, **31**, 105-114.
- SOD-MORIAH U. A., SCHMIDT G. H., 1968. Deoxyribonucleic acid content and proliferative activity of rabbit mammary gland epithelial cells. *Exp. Cell Res.*, **49**, 584-597.
- STOCKDALE F. E., TOPPER Y. J., 1966. The role of DNA synthesis and mitosis in hormone-dependent differentiation. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **56**, 1283-1289.
- STOCKDALE F. E., JUERGENS W. G., TOPPER Y. J., 1966. A histological and biochemical study of hormone-dependent differentiation of mammary gland tissue *in vitro*. *Develop. Biol.*, **13**, 266-281.
- SUEOKA N., 1957. *Mechanisms of replication and repair of nucleic acid. In Molecular Genetics.* Part. **11**, 1-42. Ed. J. H. TAYLOR, Acad. Press.
- TATA J. R., 1955. Hormones and the synthesis and utilization of ribonucleic acids. *Progr. Nucleic Acid Res. Molecular Biol.*, **5**, 191-250.
- TATA J. R., 1967. The formation and distribution of ribosomes during hormone-induced growth and development. The Second Colworth Medal Lecture. *Biochem. J.*, **104**, 1-16.
- THIBODEAU P. S., THAYER S. A., 1967. Effect of pregnancy and hormones on the activity of aspartate transcarbamylase and the level of nucleic acids in the mammary gland of the rat. *Endocrinology*, **80**, 505-509.
- TRAURIG H. H., 1967 a. A radioautographic study of cell proliferation in the mammary gland of the pregnant mouse. *Anat. Rec.*, **153**, 239-248.
- TRAURIG H. H., 1967 b. Cell proliferation in the mammary gland during late pregnancy and lactation. *Anat. Rec.*, **157**, 489-504.
- TURKINGTON R. W., 1968 a. Hormone-induced synthesis of DNA by mammary gland *in vitro*. *Endocrinology*, **82**, 545-546.
- TURKINGTON R. W., 1968 b. Induction of milk protein synthesis by placental lactogen and prolactin *in vitro*. *Endocrinology*, **82**, 575-583.
- TURKINGTON R. W., 1968 c. Cation inhibition of DNA synthesis in mammary epithelial cells *in vitro*. *Experientia*, **24**, 226-228.
- TURKINGTON R. W., HILF R., 1968. Hormonal dependence of DNA synthesis in mammary carcinoma cells. *in vitro*. *Science*, **160**, 1457-1459.
- TURKINGTON R. W., TOPPER Y. J., 1966. Stimulation of casein synthesis and histological development of mammary gland by human placental lactogen *in vitro*. *Endocrinology*, **79**, 175-181.



- TURKINGTON R. W., TOPPER Y. J., 1967. Androgen inhibition of mammary gland differentiation *in vitro*. *Endocrinology*, **80**, 329-336.
- TURKINGTON R. W., JUERGENS W. G., TOPPER, Y. J., 1967 a. Steroid structural requirements for mammary gland differentiation *in vitro*. *Endocrinology*, **80**, 1139-1142.
- TURKINGTON R. W., LOCKWOOD D. H., TOPPER Y. J., 1967 b. The induction of milk protein synthesis in post-mitotic mammary epithelial cells exposed to prolactin. *Biochem. Biophys. Acta*, **148**, 475-480.
- VOYTOVICH A. E., TOPPER Y. J., 1967. Hormone-dependent differentiation in immature mouse mammary gland *in vitro*. *Science*, **158**, 1326-1327.
- WADA H., TURNER C. W., 1959. Effect of recurring pregnancy on mammary gland growth in mice. *J. Dairy Sci.*, **42**, 1198-1202.
- WILLIAMS-ASHMAN H. G., 1965. New facets on the biochemistry of steroid hormone action. *Cancer Res.*, **25**, 1096-1120.
-