

CONVERSION EN ŒSTRONE DE QUELQUES STÉROÏDES C-19 CHEZ LA TRUIE GESTANTE

J. FÈVRE

avec la collaboration technique d'Odette REYNAUD

*Station centrale de Physiologie animale,
Centre national de Recherches zootechniques, 78 - Jouy-en-Josas
Institut national de la Recherche agronomique*

RÉSUMÉ

Le but de ce travail a été de connaître les précurseurs des œstrogènes excrétés par la Truie durant la gestation. Pour cela nous avons injecté à différents moments de la gestation (au 28^e jour ou après le 70^e jour) des androgènes radioactifs : déhydroépiandrostérone -³H, sulfate de déhydroépiandrostérone -³H androstènedione -¹⁴C ou testostérone -¹⁴C. L'administration a eu lieu soit dans le compartiment maternel (veine marginale de l'oreille ou artère utérine), soit dans le compartiment fœtal (injection intra-amniotique ou intra-cordone).

L'analyse de la radioactivité urinaire a montré que l'androstènedione était le précurseur le plus efficace, quel que soit le lieu et le moment d'administration. La testostérone et la déhydroépiandrostérone se convertissent également en œstrone, mais à un taux inférieur à celui de l'androstènedione, la conversion de la déhydroépiandrostérone étant cependant faible. Le sulfate de déhydroépiandrostérone présente une conversion en œstrone très faible ou même nulle parfois.

Il ressort également des résultats que la conversion de ces androgènes en œstrone est plus importante lorsque les précurseurs sont administrés dans le compartiment fœtal.

INTRODUCTION

La biosynthèse des œstrogènes pendant la gestation est actuellement bien connue pour l'espèce humaine. De l'ensemble des résultats, il ressort plusieurs faits essentiels. Le fœtus et le placenta forment une unité fonctionnelle, capable de synthétiser différents stéroïdes, alors que le placenta seul ou le fœtus seul ne le peuvent pas. La contribution du compartiment fœto-placentaire dans l'élaboration des œstrogènes excrétés par la mère augmente rapidement au cours de la grossesse et, vers le terme, la participation fœto-placentaire dans l'œstriol urinaire maternel est de 90 p. 100 (SITTEI et MAC DONALD, 1966). Les étapes de la biosynthèse des œstrogènes ont été également

bien précisées, en particulier l'importance du sulfate de déhydroépiandrostérone comme précurseur des œstrogènes. De plus, les rôles respectifs du placenta, des surrénales et du foie fœtaux ont été mis en évidence. Par exemple l'étape importante dans la synthèse de l'œstriol qu'est la 16α -hydroxylation, a lieu dans le foie fœtal.

Pour les autres espèces, la biosynthèse des œstrogènes au cours de la gestation est loin d'être aussi bien connue. Cependant, d'une part chez la Brebis et chez la Truie, nous savons qu'également l'unité foeto-placentaire est à l'origine de la majorité des œstrogènes excrétés par la mère (FÈVRE, 1967 ; FÈVRE, LÉGLISE, ROMBAUTS, 1968). D'autre part, l'activité enzymatique du placenta a été étudiée *in vitro* chez plusieurs espèces animales (Truie, Vache, Brebis, Jument,...) par AINSWORTH et RYAN (1966) qui ont ainsi montré que chaque placenta étudié possédait des systèmes enzymatiques capables d'aromatiser les stéroïdes C_{19} , mais non les stéroïdes C_{21} . Partant de ces différents résultats, nous avons voulu connaître quels étaient, *in vivo*, les précurseurs des œstrogènes pendant la gestation de la Truie et essayer de mieux préciser les parts respectives de la mère et de l'ensemble foeto-placentaire, en administrant divers stéroïdes marqués, soit dans le compartiment maternel, soit dans le compartiment foeto-placentaire, à divers stades de la gestation et en analysant ensuite la radioactivité urinaire maternelle, en particulier celle qui est associée à l'œstrone, principal œstrogène urinaire chez la Truie (ROMBAUTS, 1962).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

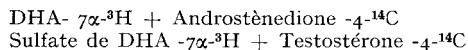
Matériel animal

Tous les animaux utilisés dans les différentes expériences étaient des truies de race *Large-White* gestantes. Ils furent maintenus en cage à métabolisme, ce qui a permis de recueillir quantitativement les urines séparées des fèces. Les stéroïdes ⁽¹⁾ radioactifs dissous dans une solution de sérum physiologique contenant 2 p. 100 d'éthanol, furent administrés par diverses voies à différents stades de la gestation. Le tableau 1 indique le moment et le lieu d'injection sur chaque animal et les stéroïdes administrés. L'urine fut recueillie quotidiennement jusqu'au moment où elle ne présentait plus de radioactivité.

Matériel radioactif

La DHA- 7α -³H (12,9 Ci/mmole) et le sulfate de DHA- 7α -³H provenaient de la firme New England Nuclear Corporation (Boston, Mass.), la testostérone 4 -¹⁴C (55,2 ou 29,2 mCi/mmole) et l'androstènedione 4 -¹⁴C (56,6 mCi/mmole) du Radiochemical Center (Amersham).

Pour chaque expérience, l'un des couples suivants de stéroïdes radioactifs a été injecté :



(¹) 3β -hydroxy-androst-5 ène-17-one : déhydroépiandrostérone (DHA) ;

Sulfate de déhydroépiandrostérone : sulfate de DHA ;

17β -hydroxy-androst-4-ène-3 one : testostérone ;

Androst-4 -ène-3, 17-dione : androstènedione ;

3 hydroxyœstra-1,3,5 (10)-triène-17-one : œstrone ;

œstra-1, 3, 5 (10)-triène-3,17 β -diol : œstradiol ;

œstra-1, 3, 5 (10)-triène-3,16 α , 17 β -triol : œstriol.

TABLEAU I

Nature et lieux d'injection des stéroïdes radioactifs

Animal	Jour de gestation	Lieu d'administration	DHA-7 α - ^3H (μCi)	Sulfate de DHA-7 α - ^3H (μCi)	Androstènedione-4- ^{14}C (μCi)	Testostérone 4- ^{14}C (μCi)	$^3\text{H}/^{14}\text{C}$	$^{14}\text{C}/^3\text{H}$
2677*	27	Veine marginale de l'oreille		361,8		51,10	7,08	0,14
707	27	Veine marginale de l'oreille		234,10		43,90	5,33	0,19
714	27	Artère utérine	101,07		16,23		6,23	0,16
2439	73	Veine marginale de l'oreille	263,50		41,95		6,28	0,16
2677*	98	Veine marginale de l'oreille		136,00		48,70	2,79	0,36
64405	76	Veine ombilicale	323,14		29,87		10,82	0,09
71143	78	Veine ombilicale		X**		X**	X**	X**
714	87	Intra-amniotique	62,86		27,00		2,33	0,43
804	85	Intra-amniotique		338,70		80,92	4,18	0,24

* La Truie 2677 a été ovariectomisée le 8^e jour après la saillie. La gestation a été maintenue par l'administration, par voie intra-musculaire, de 300 mg de progestérone par jour.

** Les doses de sulfates de DHA et de Testostérone radioactifs n'ont pu être calculées.

Nous avons choisi ces androgènes car, dans le schéma classique de biosynthèse des stéroïdes, ce sont les précurseurs immédiats des œstrogènes.

Avant chaque injection, la pureté radiochimique de ces divers composés a été vérifiée par chromatographie sur couche mince de gel de silice, dans les systèmes suivants :

- Carbonate de sodium 0,4 M pour le sulfate de DHA,
- Acétate d'éthyle-cyclohexane 50/50 pour la DHA,
- Chloroforme-éthanol 97/5 pour la testostérone,
- Acétate d'éthyle-dichlorométhane-formamide 93/6/1 pour l'androstènedione.

Dosage des œstrogènes de l'urine

Les œstrogènes ont été dosés selon une méthode chromatographique dérivée de celle de BROWN (1955) et décrite dans un article précédent (FÈVRE, LÉGLISE, ROMBAUTS, 1968). Les différentes purifications ne provoquent pas d'échanges isotopiques (TERQUI, ROMBAUTS, FÈVRE, 1968).

Mesure de la radioactivité

La radioactivité a été mesurée, d'une part dans l'urine, et, d'autre part, dans les fractions des œstrogènes isolées par la méthode de dosage avec un compteur à scintillation Packard 3375.

— La radioactivité urinaire a été mesurée à l'aide du mélange scintillant T 2-1 décrit par PATTERSON et GREENE (1965) :

Solution A : 1 litre de toluène, 4 g de 2,5 diphényloxazol (P.P.O.) et 100 mg de 1,4 bis 2-(4 méthyl-5-phényloxazolyl) benzène (diméthyl P.O.P.O.P.).

Solution B : triton X 100 (TOUZART et MATIGNON).

Le mélange scintillant est constitué de deux volumes de la solution A et d'un volume de la solution B. Pour une proportion de 17 ml de ce mélange et de 5 ml de solution aqueuse, on obtient un gel stable et homogène de 0°C à — 5°C.

Les mesures ont été effectuées, pour un même échantillon d'urines, à 5 concentrations différentes : 0,5, 1, 2, 3, 4 ml d'urine, complétés à 5 ml par de l'eau bidistillée.

— La radioactivité des fractions « œstrone », « œstradiol » et « œstriol » a été mesurée dans du toluène contenant 4 g/l de PPO et 200 mg/l de diméthyl POPOP.

Les corrections de « quenching » ont été effectuées par la méthode de la standardisation externe.

Tous les échantillons ont été comptés au moins 3 fois 10 minutes.

La localisation des pics de radioactivité, après chromatographie sur papier ou sur couches minces, a été effectuée avec un radiochromatographe Scanner Packard, modèle 7201.

Analyse de la radioactivité urinaire autre que celle des œstrogènes

Une analyse rapide de la radioactivité de l'urine a été effectuée afin d'avoir une image des éventuelles transformations subies par les précurseurs injectés. L'échantillon d'urine est hydrolysé par voie enzymatique, puis extrait par du trichloréthylène (3 × 1 vol.). La radioactivité contenue dans les fractions phénoliques est éliminée par lavages à la soude (2 N). Après lavage à l'eau, le trichloréthylène est évaporé à sec. L'extrait sec est repris par du benzène et chromatographié sur colonne d'alumine contenant 10 p. 100 d'eau préparée dans le benzène. Les stéroïdes sont élués par 13 ml d'une solution à 0,2 p. 100 d'éthanol dans le benzène, puis par 8 ml d'une solution à 1,5 p. 100 d'éthanol dans le benzène, ce qui permet d'éliminer la plus grande partie des impuretés. Les éluats sont réunis et chromatographiés sur papier Whatman n° 1 pendant 20 heures, dans le système *n*-hexane-propanediol. Les pics de radioactivité sont élués, puis chromatographiés sur couche mince de gel de silice, parallèlement, dans deux systèmes : acétate d'éthyle-chloroforme (20-100) et chloroforme-éthanol (90-10). Les pics de radioactivité sont identifiés par rapport à des stéroïdes de référence, élués, puis comptés au compteur à scintillation liquide.

RÉSULTATS

L'étude de l'excrétion urinaire des œstrogènes chez la Truie gestante a montré l'existence d'un premier pic d'élimination d'œstrone entre le 25^e et le 31^e jour de gestation, avec un maximum au 28^e jour. Ensuite, l'excrétion baisse jusque vers le 70^e-75^e jour de gestation, moment auquel elle commence à remonter pour atteindre ses valeurs maximales au cours des derniers jours de gestation (ROMBAUTS, 1962). Cette cinétique d'élimination nous a conduit à pratiquer les injections de stéroïdes radioactifs soit le 27^e jour de gestation, soit après le 70^e jour (tabl. 1).

1. Injections dans le compartiment maternel

Les premières administrations de stéroïdes C₁₉ radioactifs furent faites dans la veine marginale de l'oreille (animaux nos 2677, 707, 2439). L'œstrone étant le métabolite urinaire principal chez la Truie, nous n'avons étudié que ce métabolite. Cependant, nous avons vérifié que la fraction « œstradiol » ne contenait pas de radioactivité et nous avons constaté que la radioactivité de la fraction « œstriol » représentait en moyenne moins de 10 p. 100 de la radioactivité de la fraction « œstrone ».

Les pourcentages de conversion en œstrone (tabl. 2, fig. 1) des différents andro-

TABLEAU 2

Pourcentages de conversion en œstrone
(injections dans le compartiment maternel)

Animaux	Jour de gestation	DHA- ³ H		SDHA- ³ H		Androstène- dione - ¹⁴ C		Testo- térone - ¹⁴ C	
		Ci	Cr	Ci	Cr	Ci	Cr	Ci	Cr
2677	27			0,02	0,03			0,30	0,54
707	27			0	0			1,67	2,21
714	27	0,51	1,03			2,37	3,54		
2439	73	0,98	1,64			2,69	3,99		
2677	98			0	0			1,43	2,06

$$Ci = \frac{\text{dpm métabolite urinaire}}{\text{dpm traceur injecté}} \times 100$$

$$Cr = \frac{\text{dpm métabolite urinaire}}{\text{dpm traceur récupéré}} \times 100$$

gènes administrés, sont faibles. Nous avons, pour le sulfate de DHA, trouvé une conversion très faible, sinon nulle (0,02 p. 100, au maximum, de la radioactivité injectée). La DHA donne un pourcentage de conversion plus élevé que le sulfate, mais toujours inférieur à 1 p. 100. Le pourcentage de conversion de la testostérone

a été, en début de gestation, de 0,30 pour un animal et de 1,67 pour un autre. La différence entre ces deux résultats pourrait s'expliquer par le fait que le premier animal est un animal ovariectomisé et les 0,30 p. 100 de conversion reflèteraient uniquement la part foeto-placentaire dans la conversion de la testostérone en œstrone, alors que chez le deuxième animal le résultat correspondrait à la conversion par l'ovaire et par l'ensemble foeto-placentaire. Cependant, des expériences antérieures, sur truies ovariectomisées en début de gestation, avaient montré, dès la fin du pre-

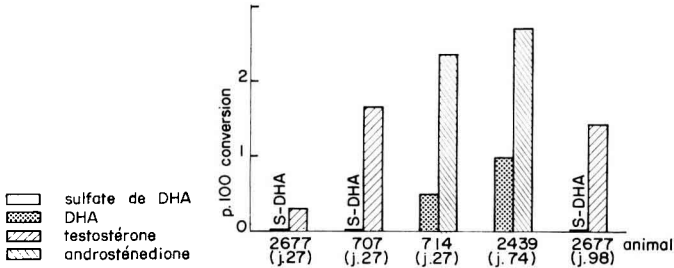


FIG. 1. — Pourcentages de conversion en œstrone (injections dans le compartiment maternel)

mier mois de gestation, l'origine extra-ovarienne des œstrogènes (FÈVRE, LÉGLISE, ROMBAUTS, 1968). Cette différence peut aussi s'expliquer par des variations individuelles identiques à celles qu'avaient trouvées BAULIEU et DRAY chez la Femme (1963). En fin de gestation, le pourcentage de conversion paraît plus élevé : chez le même animal ovariectomisé nous trouvons que la conversion en œstrone est de 1,43 p. 100 à partir du 98^e jour contre 0,30 p. 100 à partir du 27^e jour.

L'administration d'androstènedione-4-¹⁴C dans la veine marginale de l'oreille n'a eu lieu qu'en fin de gestation et nous avons trouvé une conversion de 2,69 p. 100.

Pensant que les faibles conversions obtenues pouvaient provenir d'un phénomène de dilution, nous avons injecté de la DHA-7 α -³H et de l'androstènedione-4-¹⁴C dans l'artère utérine au 27^e jour de gestation (Truie n^o 714). Les pourcentages de conversion ont été respectivement de 0,51 p. 100 pour la DHA et de 2,37 p. 100 pour l'androstènedione.

Nous avons calculé le rapport :

$$R = \frac{^{14}\text{C}/^3\text{H} \text{ métabolite}}{^{14}\text{C}/^3\text{H} \text{ précurseur injecté}}$$

qui indique combien de fois le stéroïde marqué au ¹⁴C est plus transformé en œstrone que le stéroïde marqué au ³H. Le tableau 3 indique ces résultats.

D'après ces expériences, il semble que ce soit l'androstènedione qui est le stéroïde C₁₉ le plus converti en œstrone puis la testostérone et la DHA. Enfin, le sulfate de DHA semble ne présenter qu'une très faible conversion en œstrogènes. Ces résultats sont résumés dans la figure 1.

On pouvait se demander si les androgènes injectés franchissaient la barrière placentaire, en particulier si le sulfate de DHA était transférable sous cette forme conjuguée. Aussi avons-nous, dans les expériences suivantes, administré les stéroïdes marqués directement dans le compartiment foetal, soit dans la cavité amniotique, soit dans la veine ombilicale d'un fœtus.

TABLEAU 3
Rapports de conversion
 (injections dans le compartiment maternel)

Animal	Stéroïdes injectés	$^{14}\text{C}/^3\text{H}$ injecté	$^{14}\text{C}/^3\text{H}$ œstrone	R
2677 (J 27)	S-DHA- ^3H Testostérone- ^{14}C	0,14	1,90	13,57
707	S-DHA- ^3H Testostérone- ^{14}C	0,19	non calculables ($\rightarrow \infty$)	
714	DHA- ^3H Androstènedione- ^{14}C	0,16	0,75	4,69
2439	DHA- ^3H Androstènedione- ^{14}C	0,16	0,43	2,69
2677 (J 98)	S-DHA- ^3H Testostérone- ^{14}C	0,36	non calculables ($\rightarrow \infty$)	

$$R = \frac{^{14}\text{C}/^3\text{H} \text{ œstrone}}{^{14}\text{C}/^3\text{H} \text{ injecté}}$$

2. Injections dans le compartiment fœtal

Dans le cas des administrations dans la veine ombilicale les truies avortèrent cinq jours après l'intervention chirurgicale. Cependant, les dosages d'œstrogènes ont montré que les fœtus étaient encore vivants 2 à 3 jours après l'injection. L'étude de la conversion des androgènes en œstrone n'a donc porté que sur les jours où les fœtus étaient vivants.

Les injections intra-amniotiques ne posèrent aucun problème.

Le tableau 4 et la figure 2 donnent les pourcentages de conversion en œstrone des différents stéroïdes administrés. Les meilleurs rendements sont obtenus avec l'androstènedione : 5,23 p. 100 dans le cas d'injection intra-cordone et 11,92 p.100 dans le cas d'injection intra-amniotique. La testostérone se convertit également en œstrone, à un taux inférieur à celui de l'androstènedione. La conversion de la DHA est supérieure à celle qui a lieu lors de l'administration dans le compartiment maternel. Celle du sulfate de DHA est toujours faible ou nulle.

Nous avons également calculé le rapport R pour les injections dans le compartiment fœtal. (tabl. 5). Il apparaît que l'androstènedione est 4 à 5 fois plus convertie en œstrone que la DHA.

TABLEAU 4

Pourcentages de conversion en œstrone
(injections dans le compartiment foetal)

Animaux	Lieu d'administration	Jour de gestation	DHA- ³ H		SDHA- ³ H		Androstène-dione- ¹⁴ C		Testo-stérone- ¹⁴ C	
			Ci	Cr	Ci	Cr	Ci	Cr	Ci	Cr
64405	Veine ombilicale	76	1,32	11,51			5,23	24,75		
71143		78				1,81				6,72
804	Intra amniotique	85			0,2	1,48			4,70	15,57
714		87	2,41	6,07			11,92	17,63		

$$Ci = \frac{\text{dpm métabolite urinaire}}{\text{dpm traceur injecté}} \times 100 \quad Cr = \frac{\text{dpm métabolite urinaire}}{\text{dpm traceur récupéré}} \times 100$$

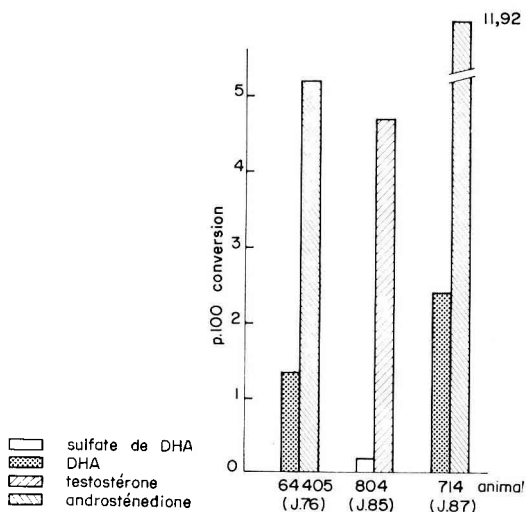


FIG. 2. — Pourcentages de conversion en œstrone
(injections dans le compartiment foetal)

TABLEAU 5

Rapports de conversion
(injections dans le compartiment fœtal)

Animal	Stéroïdes injectés	$^{14}\text{C}/^3\text{H}$ injecté	$^{14}\text{C}/^3\text{H}$ œstrone	R
64405	DHA- ^3H Androstènedione- ^{14}C	0,09	0,38	4,22
714	DHA- ^3H Androstènedione- ^{14}C	0,43	2,12	4,93
804	S-DHA- ^3H Testostérone- ^{14}C	0,24	4,37	18,21

$$R = \frac{^{14}\text{C}/^3\text{H} \text{ œstrone}}{^{14}\text{C}/^3\text{H} \text{ injecté}}$$

DISCUSSION

L'analyse sommaire de la radioactivité urinaire, autre que celle qui se trouve dans la fraction phénolique, a montré que, quelle que soit la paire de stéroïdes injectée, on retrouve dans l'urine de l'androstènedione et de la testostérone doublement marquées. Ce fait indique que, d'une part, la DHA et le sulfate de DHA se transforment partiellement en androstènedione et en testostérone et que, d'autre part, il y a transformation réversible de l'androstènedione en testostérone.

La conversion de testostérone en œstrone peut se faire alors selon deux séquences :

1. Testostérone \rightarrow Androstènedione \rightarrow Œstrone
2. Testostérone \rightarrow Œstradiol \rightarrow Œstrone

Cependant, le fait qu'on ne trouve pas de radioactivité dans la fraction œstradiol laisse penser que la voie 1 est prépondérante. Cette hypothèse est en accord avec les résultats de AINSWORTH et RYAN (1966). Ils ont montré que *in vitro* des fractions microsomales de placentas de truies étaient capables d'aromatiser l'androstènedione et que le métabolite identifié dans la fraction phénolique était l'œstrone. Ces auteurs ont trouvé une conversion en œstrone de la DHA supérieure à celle de l'androstènedione, résultats en contradiction avec les nôtres, mais ce sont des résultats obtenus par des expériences *in vitro* alors que les nôtres sont réalisées *in vivo*.

Les études pendant la gestation chez l'espèce humaine, celles, entre autres, de SITERI et MAC DONALD (1963, 1966), de BAULIEU et DRAY (1963), de BOLTE *et al.* (1964 a, b, c), ont mis en évidence le rôle essentiel du sulfate de DHA dans la biosynthèse des œstrogènes. Chez la Truie nous n'avons trouvé qu'une très faible conversion

ou une conversion nulle de ce stéroïde. Le sulfate de DHA est un produit de sécrétion des surrénales humaines. Il ne l'est pas chez la Truie. Il est intéressant de noter que le sulfate de DHA artificiellement introduit dans nos expériences n'est pas ou est très peu métabolisé en œstrogènes. On peut penser que l'ensemble foeto-placentaire manque d'activité ou n'a qu'une faible activité sulfatase, ce qui empêcherait ou limiterait l'utilisation du sulfate de DHA dans la biosynthèse des œstrogènes chez la Truie.

La conversion en œstrone des androgènes injectés semble supérieure lorsque l'administration a lieu dans le compartiment foetal (fig. 1 et 2). L'ensemble foeto-placentaire pourrait donc utiliser pour synthétiser les œstrogènes, des précurseurs directement produits par lui et non fournis par la mère. Nous vérifierons ce fait en mesurant l'excrétion urinaire d'œstrone chez des truies surrénalectomisées pendant la gestation.

En ce qui concerne les précurseurs plus lointains des œstrogènes, il est permis de supposer que la voie des Δ_4 -cétostéroïdes est importante chez la Truie et que, en particulier, la 17α -hydroxyprogesterone peut être un précurseur important de l'androstènedione et, par suite, des œstrogènes. Cette étude fait partie d'un prochain travail.

Pour l'instant, il semble possible de schématiser les voies finales de biosynthèse des œstrogènes chez la Truie pendant la gestation, selon la figure 3.

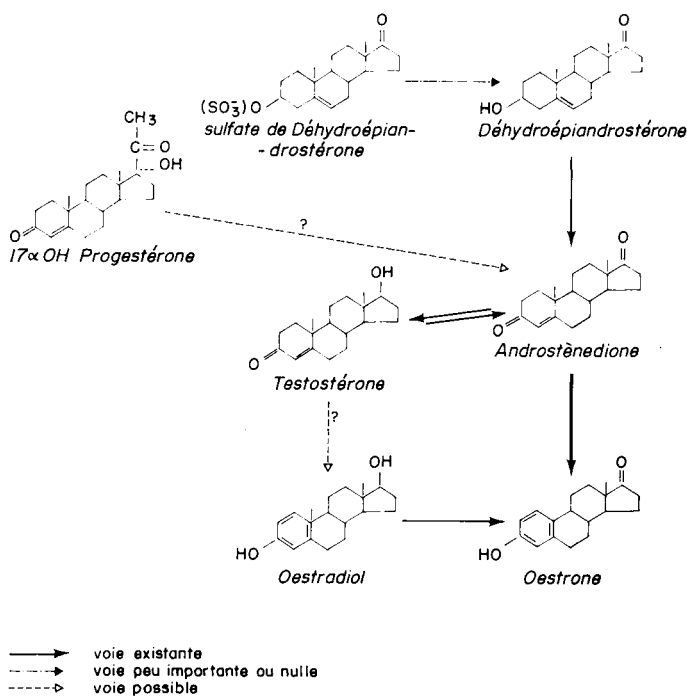


FIG. 3. — Tentative de schéma des voies biochimiques de formation de l'œstrone chez la Truie

SUMMARY

CONVERSION OF SOME C-19 STEROIDS TO ESTRONE
IN THE PREGNANT SOW

This investigation was undertaken in order to study the precursors of estrogens excreted by the pregnant sow. Radio-active C-19 steroid hormones (7α - ^3H dehydroepiandrosterone (DHA) ; 7α - ^3H dehydroepiandrosterone sulphate (DHAS), 4 - ^{14}C androstenedione, 4 - ^{14}C testosterone) were injected at day 28 or after day 70 of pregnancy into irrespectivethe maternal (peripheral ear vein or uterine artery) or fetal (intra-amniotic or intra-cord injection) compartments (table 1).

Urinary radio-activity analysis showed that androstenedione was the most efficient precursor. Its rate of conversion to estrone was the highest of the site or day of injection. The conversion rates of testosterone and DHA, were, lower, DHA being transformed to a much smaller degree than testosterone. The conversion rate of DHAS was very low or nul (tables 2, 3, 4, 5 and figures 1 and 2).

Our results also show that the conversion of C-19 steroids to estrone is higher when they are administered into the fetal compartment.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AINSWORTH L., RYAN K. J., 1966. Steroid hormone transformations by endocrine organs from pregnant mammals. I. Estrogen biosynthesis by mammalian placental, preparations *in vitro*. *Endocrinology*, **79**, 875-883.
- BAULIEU E. E., DRAY F., 1963. Conversion of ^3H -dehydroisoandrosterone (3β -hydroxy- Δ -5-androsten-17-one) sulfate to ^3H -estrogens in normal pregnant women. *J. Clin. Endocr. Metab.*, **23**, 1298-1301.
- BOLTE E., MANCUSO S., ERIKSSON G., WIGVIST N., DICZFALUSY E., 1964 a. Studies on the aromatization of neutral steroids in pregnant women. I. Aromatization of C-19 steroids by placentas perfused *in situ*. *Acta Endocr.*, **45**, 535-559.
- BOLTE E., MANCUSO S., ERIKSSON G., WIGVIST N., DICZFALUSY E., 1964 b. Studies on the aromatization of neutral steroids in pregnant women. II. Aromatization of dehydroepiandrosterone and of its sulphate administered simultaneously in a uterine artery. *Acta Endocr.*, **45**, 560-575.
- BOLTE E., MANCUSO S., ERIKSSON G., WIGVIST N., DICZFALUSY E., 1964 c. Studies on the aromatization of neutral steroids in pregnant women. III. Over-all aromatization of dehydroepiandrosterone sulphate circulating in the foetal and maternal compartments. *Acta Endocr.*, **45**, 576-599.
- BROWN J. B., 1955. A chemical method for the determination of oestriol, œstrone and oestradiol in human urine. *Biochem. J.*, **60**, 185-193.
- FÈVRE J., 1967. Œstrogènes urinaires chez la Brebis gestante ovariectomisée. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **7**, 29-32.
- FÈVRE J., LÉGLISE P.-C., ROMBAUTS P., 1968. Du rôle de l'hypophyse et des ovaires dans la biosynthèse des œstrogènes au cours de la gestation chez la Truie. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **8**, 225-233.
- PATTERSON M. S., GREEN R. C., 1965. Measurement of low energy beta emitters in aqueous solution by liquid scintillation counting of emulsions. *Analyt. Chem.*, **37**, 854-857.
- ROMBAUTS P., 1962. Excrétion urinaire des œstrogènes chez la Truie pendant la gestation. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **2**, 151-156.
- SITERI P. K., MAC DONALD P. C., 1963. The utilization of circulating dehydroisoandrosterone sulphate for estrogen synthesis during human pregnancy. *Steroids*, **2**, 713-730.
- SITERI P. K., MAC DONALD P. C., 1966. Placental estrogen biosynthesis during human pregnancy. *J. Clin. Endocr. Metab.*, **28**, 751-761.
- TERQUI M., ROMBAUTS P., FÈVRE J., 1968. Répartition urinaire et fécale de l'excrétion des œstrogènes chez la Truie et la Brebis. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **8**, 339-348.