

SYNTHÈSE DU LACTOSE PAR DES TRANCHES DE GLANDE MAMMAIRE DE LAPINE ET DE COBAYE

J. MARTAL

avec la collaboration technique de Jacqueline HASSAN

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

RÉSUMÉ

La synthèse du lactose a été réalisée *in vitro* à partir de tranches de glandes mammaires de Lapine et de Cobaye en lactation. Différents facteurs ont été étudiés : la diffusion du lactose dans le milieu, la durée et les conditions d'incubation, la nature et la composition du milieu en glucose et en acides aminés indispensables, l'influence de l'insuline et le rôle du stade de lactation. La synthèse du lactose chez la Lapine apparaît fortement dépendante de la concentration du milieu en glucose, mais elle n'est pas sensiblement modifiée par l'apport d'acides aminés essentiels, d'insuline, ni par la présence de milieu complexe comme le 199. La synthèse *in vitro* du lactose paraît représentative de celle réalisée *in vivo*. Elle est plus importante chez le Cobaye que chez la Lapine.

INTRODUCTION

Chez la Lapine normale (MEITES *et al.*, 1963, DENAMUR, 1963), hypophysectomisée, (DENAMUR 1964), surrénalectomisée castrée, (DENAMUR, 1964 ; COWIE *et al.*, 1966) et hypophysectomisée-surrénalectomisée-castrée, (DENAMUR, 1965 ; DENAMUR et DELOUIS, 1969) la prolactine induit la lactogénèse en l'absence de toute autre hormone. Injectée au 14^e jour de pseudogestation, elle déclenche une synthèse d'ARN au niveau de la cellule mammaire, influence l'association et la répartition des ribosomes et provoque l'apparition précoce du lactose dans les extraits mammaires (GAYE et DENAMUR, 1969).

Afin de préciser les mécanismes cellulaires mis en jeu par cette hormone, il nous a paru souhaitable d'étudier un dispositif expérimental capable de réaliser *in vitro* la synthèse du lactose. L'incubation de tranches de glande mammaire, dans un milieu

nutritif, satisfait à cette exigence chez le Cobaye (GRANT, 1935 ; MALPRESS et MORRISON, 1950 ; HEYWORTH et BACON, 1955 ; DUNCOMBE, 1957 ; NAITO, 1958), la Ratte (HILL *et al.*, 1952 ; DUNCOMBE, 1957 ; BARTLEY *et al.*, 1966), la Chienne (GROLLMAN *et al.*, 1965), la Brebis (DUNCOMBE, 1957) et la Vache (KNODT *et al.*, 1945), mais il n'existe pas, à notre connaissance, de travaux réalisés par cette méthode sur la synthèse du lactose chez la Lapine.

Bien que les voies métaboliques de la biosynthèse du lactose aient été peu analysées dans cette espèce, les travaux de FRENCH *et al.*, (1952), SCHAMBYE *et al.*, (1953), BALDWIN (1966), HEITZMANN (1967, 1968) suggèrent que les principales étapes sont comparables à celles mises en évidence chez les autres animaux en lactation.

Nous avons donc étudié les principaux paramètres qui permettent ou influencent la synthèse du lactose par des tranches de glande mammaire de Lapine en lactation. Les résultats obtenus par différents auteurs ou par nous-même chez le Cobaye, ont été utilisés comme éléments de comparaison.

MATÉRIEL, ET MÉTHODES

Animaux

Nous avons utilisé 41 lapines (race Lapin Russe) dont les glandes mammaires ont été prélevées entre le 16^e et le 22^e jour de lactation pendant la période de sécrétion maximum (DONOVAN *et al.*, 1957 ; BEL et PRUDHON, 1968 ; LEBAS, 1968, COWIE, 1969) et 46 cobayes (de souche tricolore, pris à des stades différents de leur lactation (0-18 jours). Quatre à douze dosages ont été effectués par animal.

Prélèvement du tissu mammaire

Les lapereaux sont isolés pendant la nuit et remis le matin avec leur mère. A la fin de la tétée, la lapine est anesthésiée (Pentotal sodique 25 mg/kg de poids vif) les trayons sont sectionnés et une U. I. d'ocytocine synthétique (Syntocinon Sandoz) est injectée. L'animal est sacrifié par section des carotides, la glande mammaire est prélevée et immergée dans du tampon Krebs-Ringer bicarbonaté (à 0°C, pH 7,4). Chez le Cobaye, la vidange de la glande mammaire est obtenue après injection de 10 m UI d'ocytocine, suivie d'une traite manuelle. Il ne semble pas que cette hormone influence la synthèse du lactose de la Lapine, car en dépit des taux non physiologiques injectés (1 UI au lieu de 50-100 m UI chez la Lapine, d'après FUCHS *et al.*, (1963), elle est probablement détruite très rapidement (dans le milieu d'incubation en raison de sa demi-vie très courte. (CHAUDHURY et WALKER, 1957). De plus, GATSCHEW (1965) trouve que la sécrétion du lait de Lapine ne semble pas être affectée par les injections régulières d'ocytocine.

Préparation de tranches de glande mammaire

Elle est effectuée à la chambre froide (4°C). Après élimination du tissu adipeux et de la plus grande partie du tissu conjonctif, les tranches (section de 0,3-0,4 mm d'épaisseur à l'aide d'un appareil de STADIE *et al.* 1944) sont lavées plusieurs fois dans du tampon Krebs-Ringer bicarbonaté et séchées sur du papier Joseph. Chaque échantillon incubé comprend environ 350 mg de tissu frais. Le poids du tissu sec est mesuré à partir de tranches desséchées à l'étuve (24 heures à 100°C).

Incubations

Les tranches sont incubées à raison de 100 mg de tissu frais pour 4 ml de milieu (HEYWORTH *et al.*, 1955) dans un incubateur Gallenkamp. Le milieu d'incubation Krebs-Ringer bicarbonaté et glucosé ou milieu 199 de Difco) est oxygéné par un mélange O₂/CO₂ (95 p. 100 — 5 p. 100, débit 600 cm³/mn) qui barbote continuellement dans le liquide (à 37°C). La durée de l'incubation est

en général de 3 à 4 heures. Celle-ci est terminée par addition au milieu d'incubation d'acide trichloracétique à une concentration finale de 10 p. 100.

Extraction et dosage du lactose

Les tranches sont broyées avec un appareil Ultra-Turrax (10 000 tours/mn, 20 s, 4°C). L'homogénat est centrifugé (3 500 tours/mn, 10 mn, 4°C). Le surnageant est filtré et le culot relavé deux fois avec du TCA à 10 p. 100. L'acide trichloracétique est éliminé par 3 extractions à l'éther. Le pH est ajusté à 5 avec de la soude normale. Les acides aminés et les nucléotides sont adsorbés sur colonnes de résines échangeuses d'ions : Dowex 1, X₄ (HCOO⁻, 200 - 400 mesh) et Amberlite IR 120 (H⁺, 100 - 200 mesh). Les éluats (qui contiennent la fraction glucidique) sont chromatographiés sur papier Arches 302 dans le système solvant : acétate d'éthyle-pyridine-eau (6/2,1/1,5). La migration dure 36 heures à 21°C. Les chromatogrammes séchés sont révélés à la benzidine trichloracétique. Après élution, le lactose est dosé par la méthode colorimétrique de SOMOGYI (1952). Les densités optiques sont mesurées à 500 et 600 m μ .

Taux de synthèse du lactose

La concentration moyenne de lactose présent dans les échantillons non incubés est soustraite de la concentration finale de lactose après incubation de chaque échantillon. Les calculs statistiques sont faits par l'analyse de variance.

Le poids de tissu frais (TF) contient sensiblement 80 p. 100 d'eau dans les deux espèces étudiées. Comme les auteurs précédents, nous avons rapporté la synthèse de lactose *au poids de tissu frais*, en dépit du mode d'expression des résultats utilisé par NAITO (1958) chez le Cobaye, en raison de l'augmentation importante de la teneur en ADN au moment de la mise bas, chez la Lapine (DENAMUR, 1961, 1963).

RÉSULTATS

1. Diffusion du lactose dans le milieu d'incubation

Chez le Cobaye et la Lapine, les concentrations du lactose dans les tranches incubées pendant 3 heures ne sont pas sensiblement différentes de celles des tranches non incubées (tabl. 1). La majorité du lactose synthétisé se trouve dans le milieu d'incubation.

2. Influence de la durée d'incubation

La figure 1 présente deux cinétiques de synthèse du lactose, l'une chez le Cobaye, l'autre chez la Lapine. Toutes deux sont linéaires pendant 7 heures.

3. Comparaison des milieux Krebs-Ringer et 199

Le tableau 2 montre chez la Lapine que la différence entre le taux de synthèse du lactose (avec du glucose à 3 g/l) en milieu 199 et en tampon Krebs-Ringer bicarbonaté n'est pas statistiquement significative.

La figure 2 confirme au cours d'une cinétique de courte durée, chez un même animal, cette absence de différence entre les deux milieux étudiés.

4. Influence de la concentration en glucose du milieu

La figure 3 illustre chez le Cobaye et la Lapine que la synthèse du lactose est proportionnelle à la concentration du glucose dans le milieu. Cependant, chez le Cobaye, le taux de synthèse horaire est dix fois plus élevé que chez la Lapine pour

TABLEAU I
Répartition du lactose entre le tissu mammaire et le milieu d'incubation.

	Durée d'incubation (heures)	Concentration du glucose dans le milieu (g/l)	Concentration du lactose dans les tranches non incubées (mg/gTF)	Concentration du lactose dans les tranches incubées (mg/gTF)	Concentration du lactose dans le milieu ⁽¹⁾		Taux de synthèse de lactose (mg/gTF)
					mg/ml	mg/gTF	
Cobaye (2 ^e jour lactation)	3	1	0,83	0,70	0,12	4,8	4,7
Cobaye (4 ^e jour lactation)	3	1	0,95	0,84	0,06	2,4	2,3
Lapine	3	3	0,73	1,06	0,07	2,8	3,1

⁽¹⁾ 100 mg de tissu frais par 4 ml de milieu.

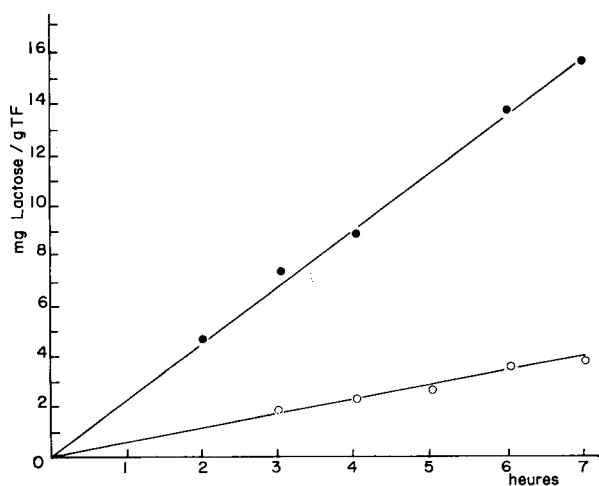


FIG. 1. — Cinétique de synthèse du lactose

- Cobaye au 15^e jour de lactation (milieu Krebs-Ringer bicarbonaté et glucosé à 2 g/l)
- Lapine (milieu Krebs-Ringer bicarbonaté et glucosé à 3 g/l).

TABLEAU 2

Synthèse du lactose en fonction de la concentration en glucose et de la nature du milieu chez la Lapine.

Nature du milieu d'incubation	Concentration du milieu en glucose (g/l)	Nombre de Lapines étudiées	Taux horaire de synthèse de lactose (mg/gTF/h)	Signification statistique	
				entre les 3 doses	entre les milieux
Milieu Krebs-Ringer bicarbonaté	1	7	0,16 ± 0,04	HS *	
	2	11	0,43 ± 0,04		
	3	17	0,54 ± 0,04		
Milieu 199	3	5	0,51 ± 0,07		NS *

* $\bar{x} \pm \sigma/\sqrt{n}$: moyenne ± erreur-type ;

NS : non statistiquement significatif ;

HS : statistiquement hautement significatif $P < 0,01$.

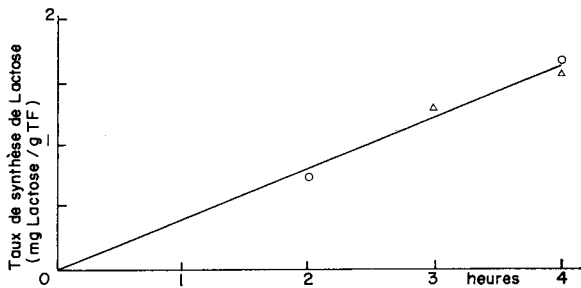


FIG. 2. — Variation de la synthèse du lactose chez une même lapine en fonction de la nature du milieu

- Milieu Krebs-Ringer bicarbonaté et glucosé (3 g/l)
- △ Milieu 199 (3 g/l)

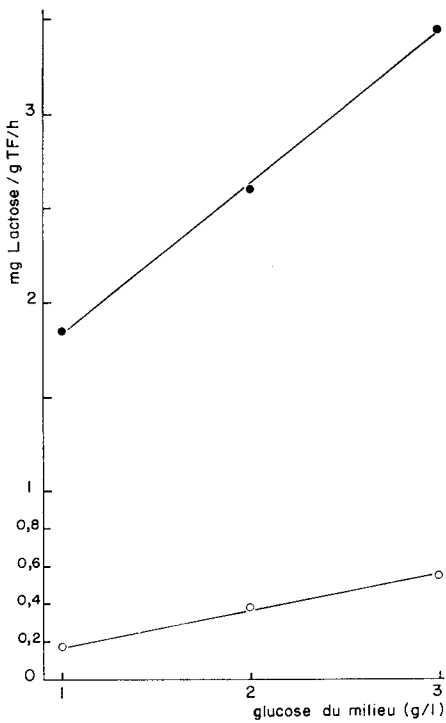


FIG. 3. — Influence de la concentration en glucose sur la synthèse du lactose (incubations de 3 heures)

- Cobaye au 2° jour de lactation
- Lapine

une concentration en glucose de 1 g/l. En élevant la concentration en glucose, le taux de synthèse du lactose augmente chez toutes les lapines, mais les variations individuelles sont importantes. (tabl. 3). Les différences entre les moyennes horaires de synthèse du lactose pour les trois concentrations de glucose étudiées sont néanmoins hautement significatives. La synthèse horaire est linéaire en fonction des concentrations considérées du milieu en glucose.

TABLEAU 3

Synthèse du lactose en fonction de la concentration en glucose du milieu, chez la Lapine.

	Concentration du milieu en glucose			Période de lactation des lapines (jours)
	1 g/l	2 g/l	3 g/l	
Taux de synthèse de lactose durant une incubation de 4 heures (mg/gTF/4 h)	0,28	1,20	3,00	18
	0,56	1,36	1,60	19
	0,64	1,68	2,04	16
	1,16	1,80	3,08	19
	0,16	0,92	1,28	19
	1,24	2,04	2,24	16
Taux de synthèse horaire de lactose (mg/gTF/h)	0,17 ± 0,05	0,38 ± 0,04	0,55 ± 0,07	HS *

* Moyenne ± erreur-type σ/\sqrt{n} .

Différences statistiquement hautement significatives entre les trois concentrations de glucose.

Le tableau 2 montre que l'on retrouve des valeurs quasiment identiques sur un ensemble de 19 Lapines (bien que le facteur animal soit ici, nettement plus important). L'équation de la droite de régression est estimée à :

$$\hat{y} = 0,785 \cdot \log \text{dose} + 0,175$$

Chez une même lapine (fig. 4), le taux de synthèse du lactose n'est pas augmenté quand la concentration en glucose du milieu dépasse 3 g/l. Pour cette concentration optimale de glucose, il demeure cependant nettement plus faible que chez le Cobaye.

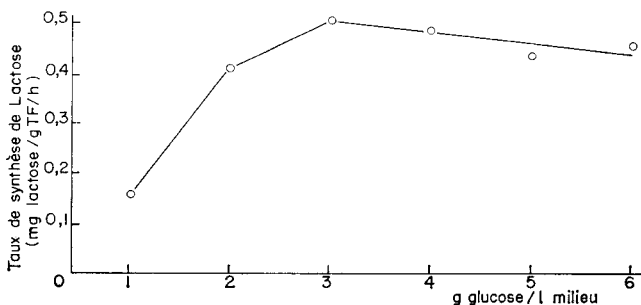


FIG. 4. — Variation de la synthèse du lactose en fonction de la concentration du milieu en glucose, chez une même lapine.

5. Influence de l'addition d'acides aminés indispensables au Krebs-Ringer

Une étude préliminaire suggère (tabl. 4, expériences 42, 52, 53, 60) que la présence d'acides aminés essentiels à la concentration double de celle du milieu minimum de Eagle (la concentration en acides aminés de ce milieu est sensiblement voisine de celle du milieu 199), peut augmenter légèrement le taux de synthèse du lactose. Mais les expériences 59 et 66 ne sont pas statistiquement significatives (tabl. 4).

6. Influence de l'insuline

Le tableau 5 montre qu'en présence ou en absence d'insuline bovine (Endopancrine 24,2 UI/mg) à la concentration de 10 µg par ml de milieu, nous n'observons pas de différence statistiquement significative entre les taux de synthèse du lactose des tranches incubées, quelles que soient les concentrations de glucose étudiées.

7. Influence du stade de lactation

Celui-ci est un facteur important de la synthèse du lactose, chez le Cobaye (fig. 5). Le taux horaire de synthèse est maximum 2-3 jours après la mise bas, diminue environ de moitié à partir de 4-5 jours, puis reste stable. Vers le 16^e-17^e jour, la quantité de lait produite par cobaye ainsi que la quantité de lactose synthétisé *in vitro* sont très variables d'un animal à l'autre. Quel que soit le nombre de lactations des femelles considérées ou le nombre de leurs petits, certaines sont quasiment tarées à cette période alors que d'autres ont encore une sécrétion abondante. Il y a une différence hautement significative entre la synthèse du lactose par les tranches de cobayes à 2,5 jours de lactation et 4,5 jours. En revanche, il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les tranches prélevées à 0,5 jour et celles de cobayes sacrifiés à 2,5 jours ou 4,5 jours de lactation. La signification du pic de synthèse maximum du lactose observé à 2,5 jours est toutefois limitée.

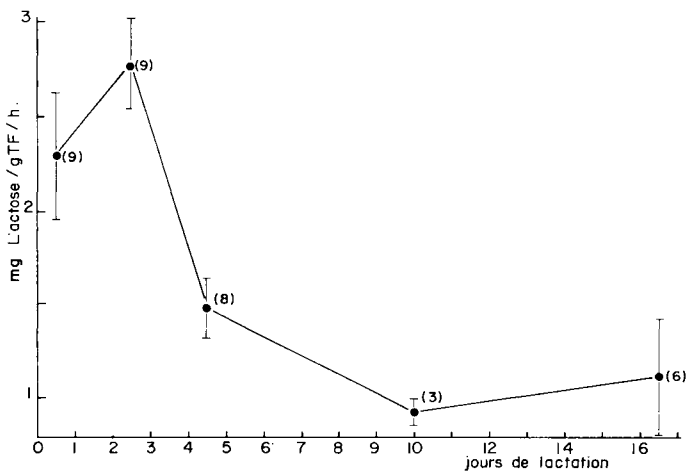


FIG. 5. — Variation de la synthèse du lactose *in vitro* en fonction du stade de lactation des cobayes (première et deuxième lactations)

— Valeur moyenne \pm erreur-type ($\bar{x} \pm \sigma/\sqrt{n}$)

— Incubations de 3 heures en milieu Krebs-Ringer bicarbonaté et glucosé (2 g/l)

TABLEAU 4

Influence de l'addition des acides aminés sur la synthèse du lactose chez la Lapine.

	Concentration du milieu en glucose avec ou sans aminoacides (Aa)						Signification statistique *	Lapines n°
	1 g	1 g + Aa	2 g	2 g + Aa	3 g	3 g + Aa		
Taux de synthèse du lactose (mg/gTF/h)	0,01	0,55	0,36	1,29	0,44			42
		0,28	0,69	0,88	1,00			52
			0,23	0,36	0,32	1,03	NS	53
			0,29 ± 0,01	0,35 ± 0,01	0,38 ± 0,01	0,44 ± 0,02	S	60
				0,37 ± 0,02	0,47 ± 0,04	NS	66	

Aa : aminoacides essentiels à la concentration double de celle du milieu de Eagle.

* Moyenne ± erreur-type ; NS : non statistiquement significatif ; S : significatif pour P = 0,05.

TABLEAU 5

Influence de l'Insuline sur la synthèse du lactose chez la Lapine.

	Concentration du milieu en glucose avec ou sans insuline *						Signification statistique *	Lapine n°
	1 g	1 g + I	2 g	2 g + I	3 g	3 g + I		
Taux de synthèse du lactose (mg/gTF/h)	0,32	0,23	0,51	0,48	0,56	0,49		54
	0,14	0,17	0,49 ± 0,03	0,49 ± 0,01	0,42	0,29	NS	55
	---				0,56 ± 0,04	0,59 ± 0,02	NS	57
					0,62 ± 0,04	0,47 ± 0,03	NS	58
						NS	61	

* Moyenne ± erreur-type ; NS non statistiquement significatif.

I : insuline (10 γ/ml).

DISCUSSION

La synthèse du lactose par des tranches de glande mammaire incubées paraît donc caractérisée par un certain nombre de points.

1. *In vitro* le lactose diffuse ou est sécrété dans le milieu d'incubation. Cette constatation est conforme à l'observation d'HEYWORTH et BACON (1955).

2. *La synthèse du lactose se produit in vitro pendant au moins 7 heures* dans les deux espèces étudiées. Cette observation laisse supposer que les conditions de survie sont relativement favorables. De plus, l'examen au *microscope électronique* du tissu mammaire, après 3 heures d'incubation au cours desquelles la synthèse du lactose a été de 0,68 mg de lactose/gTF/heure (moyenne des échantillons non incubés déduite) a montré chez la Lapine que la majorité des cellules sont comparables à celles décrites pendant la lactogénèse normale par BOUSQUET *et al.* (1969). L'échantillon témoin des tranches incubées, mais non observé au microscope électronique, a synthétisé 1,00 mg de lactose/gTF/heure. La quantité de lactose restée dans les tranches observées est donc de l'ordre de 0,9 mg de lactose/gTF. Il est intéressant d'avoir sur le même échantillon un aspect qualitatif et un aspect quantitatif.

Cependant, un *autre type de cellules épithéliales mammaires* a également été observé sur cet échantillon. Il était caractérisé par un *ergastoplasme dilaté et même vésiculaire*. On peut supposer qu'il s'agit d'un signe précoce de dégénérescence cellulaire caractérisé par un trouble de l'excrétion de protéines nouvellement synthétisées.

3. *La synthèse de lactose apparaît fortement dépendante de la concentration du milieu en glucose*. Chez la Lapine, en effet, une concentration de 3 g en glucose par litre de milieu est apparue nécessaire à une bonne synthèse du lactose, dans nos conditions expérimentales. En revanche, chez le Cobaye, comme HEYWORTH et BACON, nous avons obtenu dès 1 g de glucose par litre de milieu, une synthèse de lactose importante.

4. *La synthèse du lactose chez la Lapine n'est pas sensiblement modifiée par l'apport d'acides aminés, d'insuline ou par l'adjonction des substances contenues dans le milieu 199*. L'incorporation des *acides aminés* marqués dans l' α -lactalbumine (BREW et CAMPBELL, 1967) constituant de la lactose synthétase (EBNER *et al.*, 1966 ; BREW *et al.*, 1968 ; KUHN, 1968) et l'influence stimulante des aminoacides essentiels sur la synthèse de certaines protéines du lait en cultures cellulaires (SCHINGOETHE *et al.*, 1967) nous ont conduit à rechercher les conséquences d'un [enrichissement du tampon] Krebs-Ringer en acides aminés essentiels sur la synthèse du lactose. En fait, nous n'observons qu'une tendance à l'augmentation du lactose synthétisé pour les concentrations des aminoacides étudiées. Celles-ci ne conviennent peut-être pas ou la méthode utilisée pour mesurer la synthèse du lactose est trop imprécise.

La nature du milieu a également été examinée pour savoir si un milieu comprenant de très nombreux éléments nutritifs tels que le 199, ne permettrait pas chez la Lapine d'améliorer la survie du tissu mammaire et d'augmenter la synthèse du lactose.

Cependant, avec le 199, la synthèse du lactose est équivalente à celle obtenue en utilisant du tampon Krebs-Ringer bicarbonaté et glucosé.

Comme HILLS et STADIE (1952) chez la Ratte, nous ne sommes pas parvenus à mettre en évidence une action de l'insuline sur la synthèse du lactose chez la Lapine. MORGAN *et al.*, (1961) notent qu'en présence d'insuline, le facteur limitant à la perméabilité cellulaire du glucose est la phosphorylation, pour des concentrations élevées de glucose. Cette hormone est couramment utilisée, à la dose étudiée, en culture de tissu mammaire, mais son action chez la Souris semble surtout avoir lieu au niveau de la multiplication cellulaire en permettant « l'explosion mitotique » et l'imprégnation des cellules par le cortisol, ce qui permettrait à la prolactine d'agir (TURKINGTON *et al.*, 1968).

5. La synthèse *in vitro* du lactose paraît représentative de celle réalisée *in vivo*. En effet, elle est plus importante chez le Cobaye que chez la Lapine, ce qui est particulièrement illustré par les figures 1 et 3.

Chez le Cobaye, les valeurs de la synthèse du lactose que nous avons obtenues sont comparables (pour une même concentration en glucose et un stade identique de lactation) à celles d'HEYWORTH et BACON (1955), elles-mêmes supérieures à GRANT (1935) et MALPRESS et MORRISON (1950) mais nettement inférieures aux estimations de NAITO (1958). Elles correspondent (pour une concentration en glucose de 1g/l) à celles obtenues *in vivo*, si celles-ci sont calculées sur les bases d'une production laitière quotidienne de 14 g, d'une concentration de 40 g de lactose par litre de lait et d'un poids frais de glande mammaire de 13 g à 2-3 jours de lactation. (NAITO, 1968 ; NAGASAWA *et al.*, 1960).

Chez la Lapine, par contre, et bien que ces comparaisons soient largement spéculatives, il apparaît que la synthèse *in vitro* de lactose (pour une concentration en glucose de 3 g/l) est inférieure aux valeurs *in vivo* calculées sur les bases d'une production laitière de 200 ml par jour, de 13 g de lactose par litre de lait (COATES *et al.*, 1964) et d'une glande mammaire de 130 g de tissu frais entre 16 et 22 jours de lactation. Les résultats moins favorables obtenus chez la Lapine correspondent vraisemblablement à la structure particulière de la glande mammaire de cette espèce, qui rend difficile, sans écrasement du tissu, la préparation des tranches selon des sections franches. Par suite, l'attente du tissu avant l'incubation dépasse fréquemment une demi-heure et l'abondance du tissu conjonctif gêne, sans doute, la pénétration du glucose.

Enfin, chez le Cobaye, nous avons constaté une certaine relation entre le fonctionnement du tissu mammaire *in vitro* et le stade de lactation auquel les tranches mammaires ont été préparées.

La courbe ainsi obtenue est compatible avec celle décrite *in vivo* par NAGASAWA *et al.*, (1960) qui signalent une décroissance du pourcentage du lactose du lait à partir du troisième jour de lactation.

Reçu pour publication en février 1970.

REMERCIEMENTS

Nous exprimons notre sincère reconnaissance à Mr R. DENAMUR et nous remercions vivement M^{lles} Michelle BOUSQUET et Aline SOLARI.

SUMMARY

SYNTHESIS OF LACTOSE BY RABBIT AND GUINEA PIG MAMMARY GLAND SLICES

The synthesis of lactose was performed *in vitro* from rabbit and Guinea pig mammary gland slices. Various factors were studied : diffusion of lactose in the incubation medium, duration and conditions of incubation, nature of the medium and its glucose and essential aminoacid composition, effect of insulin, influence of the lactation stage.

The synthesis of lactose in the Rabbit varies greatly depending upon the glucose content of the medium, but it is almost unaffected by the addition of essential aminoacids or insulin, or by a complex medium such as 199.

The *in vitro* synthesis of lactose seems inkeeping with the *in vivo* synthesis pattern. The rate of synthesis *in vitro* is higher in the Guinea pig than in the Rabbit.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BALDWIN R. L., 1966. Enzymatic activities in mammary glands of several species. *J. Dairy Sci.*, **49**, 1533-1542.
- BARTLEY J. C., ABRAHAM S., CHAIKOFF I. L., 1966. Biosynthesis of lactose by mammary gland slices from the lactating rat. *J. Biol. Chem.*, **241**, 1132-1137.
- BEL L., PRUD'HON M., 1968. Perspectives d'intensification de la production du Lapin de chair grâce au sevrage précoce des lapereaux et à la reproduction continue des lapines. *Bull. techn. Inf. Ingrs. Servs. Agric.*, **229**, 387-393.
- BOUSQUET M., FLÉCHON J. E., DENAMUR R., 1969. Aspects ultrastructuraux de la glande mammaire de Lapine pendant la lactogénèse. *Z. Zellforsch.*, **96**, 418-436.
- BREW K., CAMPBELL P. N., 1967. Studies on the biosynthesis of protein by lactating guinea-pig mammary gland. *Biochem. J.*, **102**, 265-274.
- BREW K., VANAMAN T. C., HILL R. L., 1968. The role of α -lactalbumin and the A protein in lactose synthetase : a unique mechanism for the control of a biological reaction. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)*, **59**, 491-497.
- CHAUDHURY R. R., WALKER J. M., 1957. Rate of disappearance of injected oxytocin from the blood. *J. Physiol. Camb.*, **138**, 50 p-51 p.
- COATES M. E., GREGORY M. E., THOMPSON S. Y., 1964. The composition of rabbit's milk. *Brit. J. Nutr.*, **18**, 583-586.
- COWIE A. T., 1969. Variations in the yield and composition of the milk during lactation in the rabbit and the galactopoietic effect of prolactin. *J. Endocr.*, **44**, 437-450.
- COWIE A. T., WATSON S. C., 1966. The adrenal cortex and lactogenesis in the rabbit. *J. Endocr.*, **35**, 213-214.
- DENAMUR R., 1961. Étude de la glande mammaire de la Lapine pendant la gestation et la lactation. *Ann. Endocr. (Paris)*, **22**, 767-776.
- DENAMUR R., 1963. Croissance mammaire et lactogénèse induites par la prolactine chez la Lapine en gestation. *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, **257**, 1548-1551.
- DENAMUR R., 1964. Les acides nucléiques et les nucléotides libres de la glande mammaire pendant la lactogénèse et la galactopoïèse. *Proc. IInd intern. Cong. Endocrin.* (London). Ed. S. Taylor, Excerpta Medica Int. Congr. Ser. n° 83, p. 434-462.
- DENAMUR R., 1965. Les hormones lactogènes chez la Lapine et la Brebis. *XXIII^e Intern. Cong. Physiol. Sci.*

- DENAMUR R., DELOUIS C., 1969. (sous presse).
- DONOVAN B. T., van der WERFF TEN BOSCH J. J., 1957. The hypothalamus and lactation in the rabbit. *J. Physiol.* (Lond.), **137**, 410-420.
- DUNCOMBE W. G., 1957. Synthesis of lactose *in vitro* by mammary gland slices from lactating rats, guinea-pigs and sheep. *J. Dairy Res.*, **24**, 171-173.
- EBNER K. E., DENTON W. L., BRODBECK U., 1966. The substitution of α -lactalbumin for the B protein of lactose synthetase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **24**, 232-236.
- FRENCH T. H., POPJAK G., MALPRESS F. H., 1952. Biological synthesis of lactose from carbon-14 glucose. *Nature* (Lond.), **169**, 71.
- FUCHS A. R., WAGNER G., 1963. Quantitative aspects of release of oxytocin by suckling in unanaesthetized rabbits. *Acta Endocr.* (Copenhagen), **44**, 581.
- GATSCHEW E., 1965. The physiological and chemical characteristics of lactation in rabbits. *Biol. Z. bl.*, **84**, 447-460.
- GAYE P., DENAMUR R., 1969. Acides ribonucléiques et polyribosomes de la glande mammaire de la Lapine au cours de la lactogénèse induite par la prolactine. *Biochem. Biophys. Acta*, **186**, 99-109.
- GRANT G. A., 1935. The synthesis of lactose by slices of active mammary gland *in vitro*. *Biochem. J.*, **29**, 1905-1909.
- GROLLMAN A. P., HALL C. W., GINSBURG V., 1965. Biosynthesis of fucosylactose and other oligosaccharides found in milk. *J. Biol. Chem.*, **240**, 975-981.
- HEITZMAN R. J., 1967. Enzymes of lactose synthesis in the mammary glands of normal and hormonally treated rabbits. *Biochem. J.*, **104**, 24 p-25 p.
- HEITZMAN R. J., 1968. Enzymes of lactose biosynthesis in normal and hormonally stimulated rabbit mammary glands. *J. Endocr.*, **40**, 81-84.
- HEYWORTH R., BACON J. S. D., 1955. The use of paper chromatography for *in vitro* studies of lactose metabolism in mammary gland preparations. *Biochem. J.*, **61**, 224-232.
- HILLS A. G., STADIE W. C., 1952. The effect of combined insulin upon the metabolism of the lactating mammary gland of the rat. *J. Biol. Chem.* **194**, 25-31.
- KNOTT C. B., PETERSEN W. E., 1945. Studies of the carbohydrate metabolism of mammary gland tissue *in vitro*. *J. Dairy Sci.*, **28**, 415-429.
- KUHN N. J., 1968. Lactogenesis in the rat. *Biochem. J.*, **106**, 743-748.
- LEBAS F., 1968. Mesure quantitative de la production laitière chez la Lapine. *Ann. Zootech.*, **17**, 169-182.
- MALPRESS F. H., MORRISON A. B., 1950. Studies on the synthesis of lactose by the mammary gland. *Biochem. J.*, **46**, 307-312.
- MEITES J., HOPKINS T. F., TALWALKER P. K., 1963. Induction of lactation in pregnant rabbits with prolactin, cortisol acetate or both. *Endocrinology*, **73**, 261-264.
- MORGAN H. E., HENDERSON M. J., REGEN D. M., PARK C. R., 1961. Regulation of glucose uptake in the muscle. *J. Biol. Chem.*, **236**, 253-261.
- NAGASAWA H., TOZAKI T., SHODA Y., NAITO M., 1960. Lactation curve of guinea-pig. *Jap. J. Zootechn. Sci.*, **31**, 195-199.
- NAITO M., 1958. Oxygen consumption and lactose synthesis rates of mammary gland slices from lactating guinea-pigs. *J. Dairy Res.*, **25**, 17-23.
- SHAMBYE P., WOOD H. G., POPJAK G., 1953. Synthesis of lactose in rabbit studied with C¹⁴ labeled compounds. *Fed. Proc. (Amer. Soc. Biol. Chem.)*, **12**, 264-265.
- SCHINGOETHE D. J., HAGEMAN E. C., LARSON B. L., 1967. Essential amino acids for milk protein synthesis in the *in vitro* secretory cell and stimulation by elevated levels. *Biochem. Biophys. Acta*, **148**, 469-480.
- SOMOGYI M., 1952. Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.*, **195**, 19-23.
- STADIE W. C., RIGGS B. C., 1944. Microtome for the preparation of tissue slices for metabolic studies of surviving tissues *in vitro*. *J. Biol. Chem.*, **154**, 687-690.
- TURTINGTON R. W., BREW K., VANAMAN T. C., HILL R. L., 1968. The hormonal control of lactose synthetase in the developing mouse mammary gland. *J. Biol. Chem.*, **243**, 3382-3387.