

Efectos de la tiroidectomía y la sialadenectomía submaxilar sobre parámetros fisiológicos de la rata hembra

O. Domínguez-López, A. Fernández-Riestra, B. Marín y A. Menéndez-Patterson

Departamento Interfacultativo de Fisiología
(Medicina y Biología)
Universidad de Oviedo
33006 Oviedo (España)

(Recibido el 16 de julio de 1984)

O. DOMINGUEZ-LOPEZ, A. FERNANDEZ-RIESTRA, B. MARIN and A. MENENDEZ-PATTERSON. *Effects of Thyroidectomy and Submaxillar Sialadenectomy on Physiological Parameters in Female Rat*. Rev. esp. Fisiol., 41, 151-160. 1985.

The effects of interaction of the thyroid function with the submaxillary glands on the female rat, on the body growth, weight evolution of adrenal glands, ovary and parotid glands, puberty onset, estrous cycle, fertility, gestation and offspring size, plasmatic levels of glucose, glucagon, Na⁺, K⁺ and total protein have been studied. The effects of sialadenectomy and thyroid function are both independent in all parameters, except in ovary growth, which is depressed by thyroid function when submaxillary glands are removed, and in circulating glucose, since sialadenectomy stabilizes to hypoglycemia which results from thyroidectomy.

Key words: Growth, Sialadenectomy, Thyroidectomy.

Las glándulas submaxilares * son órganos diana de las hormonas tiroideas, las cuales parece que regulan la estructura y función de los túbulos contorneados granulares de las SMG de rata y ratón (1, 10, 11, 26). En estos túbulos se encuentran polipéptidos activos biológicamente sobre diversos tejidos (2). Se ha comprobado que la sialadenectomía produce un retraso en el crecimiento corporal de ratas y ratones (12, 16, 18),

que revierte tras la administración de tirotrópina (27), por lo que parece están implicados procesos endocrinos.

La tiroidectomía en ratas recién nacidas origina un fuerte retraso del crecimiento, aunque persistente (9), mientras que realizada en animales de más edad, produce la detención del crecimiento (21). Es sabido que las hormonas tiroideas están relacionadas con los procesos de crecimiento al estimular la síntesis y acción de la hormona del crecimiento hipofisaria (14, 23), y probablemente estén también implicados otros procesos. Así, el factor de crecimiento epidérmico y el factor de crecimiento

* Abreviaturas: S: Hembras sialadenectomizadas. SMG: Glándulas submaxilares. T: Hembras tiroidectomizadas. TS: Hembras tiroidectomizadas y sialadenectomizadas.

nervioso están relacionados con el crecimiento y la maduración de tejidos epiteliales y nerviosos respectivamente (15, 24), y ambas proteínas son sintetizadas por las SMG dependiendo de hormonas tiroideas (26).

Se han encontrado descensos en las concentraciones séricas de las hormonas folículo-estimulante y luteinizante tras sialadenectomía y tiroidectomía (4, 5), así como prolongación de los ciclos estruales (11, 18, 19). Se ha descrito, después de la tiroidectomía una disminución del número de cuerpos amarillos (11), y después de la sialadenectomía un menor desarrollo folicular (22).

Este trabajo ha sido realizado con el objeto de establecer si la relación tiroides-glándulas submaxilares está implicada en el crecimiento corporal y en el desarrollo de varios órganos de la rata hembra (SMG, parótidas, ovarios y glándulas adrenales); así como en los niveles plasmáticos de glucosa, glucagón, sodio, potasio y proteínas totales. Además, se estudian los efectos sobre las funciones de reproducción de la rata hembra, observando el momento de la madurez sexual, la duración del ciclo del estro, el índice de fertilidad, el desarrollo de la gestación y el tamaño de la camada.

Material y métodos

Se utilizaron ratas hembras Wistar, con edad inicial de 30 días. Se reunieron al azar, tras la realización de la respectiva técnica quirúrgica, en los siguientes grupos: 1) Controles, ratas pseudooperadas; 2) Sialadenectomizadas, ratas con sialadenectomía submaxilar; 3) Tiroidectomizadas; 4) Tiroidectomizadas y sialadenectomizadas. Toda operación, o pseudooperación, se realizó bajo anestesia con éter. La tiroidectomía fue confirmada por la disminución en la ganancia de peso corporal y por la ausencia de tejido

tiroideo remanente tras su sacrificio. Los animales fueron mantenidos en condiciones estándar de luz y temperatura, 12 h luz-12 h oscuridad y $23 \pm 3^\circ\text{C}$, y tuvieron libre acceso a comida y agua. Después de 1 y 4 meses, con ayuno previo de 6 h y bajo anestesia de éter, se les extrajeron muestras de sangre de la vena cava posterior, a las que se añadió una solución de Trasylol + EDTA; el plasma fue almacenado a -20°C .

Se realizaron las siguientes determinaciones plasmáticas: 1) glucemia, por el método de glucosa oxidasa; 2) glucagón, por radioinmunoensayo con la técnica de FALOONA y UNGER (7); el contenido de glucagón inmunorreactivo se determinó con antisuero específico C-terminal (30-K), generosamente donado por el Dr. Unger; 3) Na^+ y K^+ , con fotómetro de llama; 4) proteínas totales, por el método de LOWRY *et al.* (17), utilizando como proteína estándar la albúmina bovina.

Asimismo, se extrajeron y pesaron los siguientes órganos: SMG, glándulas parótidas, ovarios y glándulas adrenales. Los pesos se expresan en mg/100 g de peso corporal.

Respecto a la función de reproducción se observó: la madurez sexual, estimada con el momento de apertura vaginal; la duración del ciclo estrual, determinada tras frotis vaginal diario, a partir del 2.º mes después de la operación y durante un número de ciclos estruales de 4 ó 5; la fertilidad, estimada con el porcentaje de preñez de hembras pertenecientes a los 4 grupos, y emparejadas a lo largo de 2 ciclos estruales con machos normales de probada capacidad eyaculatoria; el desarrollo de la gestación, determinando la ganancia de peso de las hembras gestantes; y el tamaño de camada.

El análisis estadístico utilizado (6) comprendió varias pruebas: 1) análisis de la varianza unifactorial, en la comparación de los 4 grupos; si éste detectaba

diferencias significativas, era seguido del test de Tukey para la comparación de medias individuales; 2) prueba «t» de Student, en la comparación de 2 únicos grupos; y 3), prueba X^2 de Pearson, en el análisis de caracteres cualitativos.

Resultados y Discusión

El crecimiento corporal (tabla I), posterior a la extirpación del tiroides a hembras jóvenes, es muy reducido, aunque continuado, y resulta ser menor que el encontrado en ratas tiroidectomizadas recién nacidas (9). Puesto que la tiroidectomía se ha realizado sobre ratas destetadas, el crecimiento detectado no puede deberse a hormonas y factores de crecimiento de la leche, como sugieren GLASSCOCK y NICOLL (9) para el crecimiento de las ratas recién nacidas tiroidectomizadas. Por otro lado, la sialadenectomía también ha producido retraso del crecimiento corporal, aunque menos acusado que con la tiroidectomía y transitorio, ya que 4 meses después de la operación las hembras S habían alcanzado un desarrollo similar a las controles. Este dato coincide con observaciones anteriores en hembras (18). Sin embargo, en machos el crecimiento está permanentemente disminuido tras sialadenectomía de ratas y ratones destetados (16, 18), lo que parece indicar la existencia de dimorfismo sexual en los sistemas implicados en la recuperación del desarrollo normal de las hembras S. El retraso en el crecimiento de animales sialadenectomizados ha sido atribuido a los efectos de una menor estimulación de los enterocitos y a una menor tasa metabólica, causadas por la ausencia de saliva submaxilar (16). El retraso del crecimiento de las hembras sialadenectomizadas es transitorio, tanto en presencia de tiroides (grupo S) como en su ausencia (grupo TS); en este último caso, las ratas alcanzan un desarrollo similar a las T.

Todo ello parece indicar que la acción de las SMG sobre el crecimiento corporal no se solapa con la función tiroidea.

La extirpación de las SMG no produce alteraciones en el crecimiento de las glándulas adrenales (tabla I), resultado que coincide con lo observado en machos por VELASCO-PLAZA *et al.* (25), quienes, además, encontraron una disminución del metabolismo oxidativo de estas glándulas, medido 3 meses después de la sialadenectomía. En cuanto a las hembras tiroidectomizadas, los resultados coinciden con la atrofia adrenal descrita previamente (8).

El crecimiento del ovario no ha resultado modificado por la tiroidectomía (tabla I). Concordando con otros autores (19) se aprecia un menor desarrollo del ovario en las ratas S; sin embargo, en las ratas TS, la sialadenectomía no ha alterado su crecimiento. De la consideración de ambos resultados, junto con el encontrado para las ratas T, parece deducirse que, en ausencia de SMG, el crecimiento del ovario resulta disminuido por la función tiroidea.

La ausencia de hormonas tiroideas provoca un crecimiento inicial más rápido de SMG y parótidas (tabla I), aunque sin sobrepasar un desarrollo final equivalente al normal (en peso relativo). Ello puede indicar que estas glándulas maduran dependiendo de hormonas tiroideas o de algún intermediario de su acción, pero que no son imprescindibles. Por otro lado, y en relación con resultados opuestos que informan de hipertrofia de las parótidas (18) y disminución de su tamaño (19) tras extirpación de las SMG, los resultados no muestran alteraciones estadísticamente significativas, aunque se aprecia una tendencia a un desarrollo superior de dichas glándulas en las ratas sialadenectomizadas.

Respecto a las concentraciones plasmáticas de los electrolitos Na^+ y K^+ (tabla II), no ha habido ninguna variación ocasionada por la sialadenectomía

Tabla I. Evolución del peso corporal y de distintos órganos de ratas hembras, 1 y 4 meses después de la operación.
Los valores son media \pm error estándar, entre paréntesis el número de datos.

Parámetros	Período postoperatorio (meses)	Grupos			
		Controles	Sialadenectomizadas	Tiroidectomizadas	Tiroidectomizadas + Sialadenectomizadas
Ganancia de peso corporal (PC) (g)	1	120,5 \pm 2,4 (14)	92,6 \pm 2,4 (16)***†††	37,1 \pm 4,8 (15)***†††	23,1 \pm 3,5 (17)***
	4	189,7 \pm 3,1 (23)	178,8 \pm 3,2 (22)	47,7 \pm 5,2 (12)***	37,1 \pm 4,7 (14)***
Glándulas adrenales (mg/100 g PC)	1	27,5 \pm 0,8 (14)	26,0 \pm 1,1 (16)†††	23,0 \pm 0,7 (15)***	21,6 \pm 1,0 (17)***
	4	25,6 \pm 1,1 (23)	24,7 \pm 0,9 (22)†	16,8 \pm 1,5 (12)***	20,6 \pm 1,7 (14)***
Ovarios (mg/100 g PC)	1	57,4 \pm 2,4 (14)	52,1 \pm 1,4 (16)	54,0 \pm 3,0 (15)	57,8 \pm 2,7 (17)
	4	52,5 \pm 2,6 (23)	44,0 \pm 1,7 (22)*†	52,1 \pm 4,5 (12)	53,7 \pm 3,3 (14)
Glándulas parótidas (mg/100 g PC)	1	67,8 \pm 2,3 (14)	69,8 \pm 2,7 (16)†	75,4 \pm 2,5 (14)*	76,9 \pm 2,5 (17)*
	4	58,2 \pm 2,2 (23)	63,0 \pm 2,0 (22)†††	61,4 \pm 4,0 (12)†††	73,9 \pm 2,9 (14)***
Glándulas submaxilares (mg/100 g PC)	1	203,6 \pm 5,0 (14)		227,4 \pm 7,8 (15)**	
	4	183,0 \pm 4,7 (23)		174,0 \pm 11,5 (12)	

* o †, $p \leq 0,05$ respecto al grupo de controles o al de tiroidectomizadas + sialadenectomizadas, respectivamente.

** $p \leq 0,025$ respecto al grupo de controles.

*** o †††, $p \leq 0,01$ respecto al grupo de controles o al de tiroidectomizadas + sialadenectomizadas, respectivamente.

Tabla II. Concentraciones plasmáticas de distintos parámetros de ratas hembras, 1 y 4 meses después de la operación. Los valores son media \pm error estándar, entre paréntesis el número de datos.

Parámetros	Periodo postoperatorio (meses)	Grupos			
		Controles	Sialadenectomizadas	Tiroidectomizadas	Tiroidectomizadas + Sialadenectomizadas
Glucosa (mg/100 ml)	1	163,70 \pm 7,10 (14)	156,50 \pm 5,10 (16)††	146,00 \pm 7,70 (15)*†	125,70 \pm 3,70 (17)**
	4	154,20 \pm 4,30 (23)	149,30 \pm 4,70 (22)††	102,20 \pm 7,20 (12)**††	121,40 \pm 6,70 (14)**
Glucagón (pg/ml)	1	207,30 \pm 28,40 (12)	231,70 \pm 43,90 (9)	229,10 \pm 25,20 (14)	303,60 \pm 47,70 (9)
	4	172,40 \pm 40,70 (8)	170,00 \pm 14,70 (8)	425,70 \pm 90,40 (8)**††	269,60 \pm 32,50 (8)
Sodio (mEq/l)	1	140,90 \pm 5,30 (13)	142,60 \pm 4,30 (16)	149,30 \pm 3,50 (14)	144,90 \pm 5,00 (15)
	4	156,30 \pm 3,00 (23)	150,00 \pm 3,30 (20)	155,50 \pm 3,40 (12)	152,60 \pm 2,90 (14)
Potasio (mEq/l)	1	3,10 \pm 0,18 (13)	3,10 \pm 0,14 (16)††	3,78 \pm 0,18 (14)**	3,64 \pm 0,10 (15)*
	4	3,85 \pm 0,21 (23)	3,99 \pm 0,44 (20)	4,19 \pm 0,23 (12)	4,00 \pm 0,15 (14)
Proteínas totales (g/l)	1	82,10 \pm 10,20 (14)	75,20 \pm 10,40 (15)	82,20 \pm 9,20 (15)	69,20 \pm 4,10 (16)
	4	88,50 \pm 3,50 (16)	96,60 \pm 3,60 (20)	89,70 \pm 3,10 (12)	89,00 \pm 5,90 (13)

* o †, $p \leq 0,05$ respecto al grupo de controles o al de tiroidectomizadas + sialadenectomizadas, respectivamente.

** o ††, $p \leq 0,01$ respecto al grupo de controles o al de tiroidectomizadas + sialadenectomizadas, respectivamente.

en ninguno de los grupos. En cambio, la tiroidectomía ha originado una retención transitoria de K^+ , que se corresponde con la atrofia adrenal (tabla I) y podría explicarse con la menor tasa de síntesis de aldosterona tras tiroidectomía (3) mientras que su posterior normalización se explicaría por mecanismos de compensación del sistema endocrino.

La falta de SMG no altera el valor de la glucemia (tabla II), mientras que la tiroidectomía, hipotiroidismo, produce una hipoglucemia permanente, creciente en las hembras T, y constante en las TS. Los niveles plasmáticos de glucagón han permanecido sin cambios en todos los grupos salvo en el T (tabla II), donde aparece un aumento de su concentración 4 meses después de la operación. Este incremento de glucagón circulante acompaña a la disminución de la glucemia, y puede ser debido a una compensación metabólica del organismo para evitar que la hipoglucemia alcance valores críticos. Como no hay variaciones en las hembras TS, pueden achacarse a la presencia de las SMG en las hembras T. Es de destacar que el incremento en glucagón no produce aumento paralelo de la glucemia, lo cual apunta hacia algún problema en la disponibilidad de la glucosa. Las observaciones referidas al grupo S contrastan con las de otros autores, en las que se indica que la extirpación de las SMG mejora las manifestaciones de diabetes, y que inyecciones de extractos de SMG tienen efectos diabetogénicos (20). El hecho de que las ratas hipoglucémicas, TS, no mostraran diferencias significativas en glucagón circulante, podría deberse a la alta varianza del radioinmunoensayo o/y al reducido tamaño de muestra.

Los resultados de los parámetros de reproducción (tabla III) muestran que la función tiroidea no afecta a la apertura vaginal, sin embargo, la sialadenectomía retrasa dicho momento. Es sabido que la llegada de la pubertad se asocia

a efectos nutricionales, puesto que un consumo restringido de la dieta retrasa en hembras normales la apertura vaginal (13); por otro lado la sialadenectomía produce alteraciones en la utilización de los nutrientes de la dieta (12), así que el retraso encontrado en dicho momento puede estar motivado por esta alteración. Las ratas TS mostraron la llegada de la pubertad en un momento intermedio a las S y controles, aunque estadísticamente similar al de ambas.

El ciclo estrual no ha resultado modificado por la extirpación de las SMG (tabla III). Sin embargo la tiroidectomía lo ha alargado, coincidiendo con lo descrito por otros autores (11). Estas alteraciones se deben, probablemente, a los descensos de FSH y LH en suero, provocados por la tiroidectomía (5). A pesar de las irregularidades del ciclo estrual de estas hembras, alcanzan la ovulación y muestran un porcentaje de preñez similar al de las controles, con lo que su fertilidad no ha resultado alterada. Tampoco hay alteraciones en la fertilidad de las hembras sialadenectomizadas.

Se han presentado diferentes comportamientos en la ganancia de peso durante la gestación de hembras de los distintos grupos (tabla III). Las hembras S incrementaron su peso en cantidades similares a las controles durante todo el período gestacional. Las hembras T crecieron en igual proporción que las controles durante las dos primeras semanas, mostrando un menor incremento de peso en la última semana. La sialadenectomía afecta sin embargo al crecimiento de las hembras tiroidectomizadas, ya que las TS muestran durante la primera semana una menor ganancia de peso que las de los otros tres grupos; durante la segunda semana ganan peso en proporción similar a las controles, y durante la tercera semana muestran una ganancia de peso inferior en un 83 % a las controles. La ganancia de peso de las controles aumentó, durante la tercera semana, 4 veces

Tabla III. *Parámetros de las funciones de reproducción femenina en rata.*
 Los valores son media \pm error estándar, o porcentaje en su caso; entre paréntesis el número de datos.

Parámetro	Edad	Grupos			
		Controles	Sialadenectomizadas	Tiroidectomizadas	Tiroidectomizadas + Sialadenectomizadas
Apertura vaginal (días)	3. ^{er} mes	36,40 \pm 0,60 (41)	38,30 \pm 0,50 (53)*	36,60 \pm 0,60 (31)	37,70 \pm 0,50 (45)
Ciclo del estro (días)	4. ^o mes	4,39 \pm 0,07 (161)	4,32 \pm 0,05 (261)††	5,68 \pm 0,12 (88)**	5,57 \pm 0,12 (116)**
Porcentaje de preñez (%)	1. ^o semana	85,70 (14)	72,00 (25)	82,40 (17)	55,60 (18)
Ganancia de peso corporal durante la gestación (g)	2. ^o semana	18,70 \pm 2,30 (3)	19,50 \pm 1,70 (15)††	10,70 \pm 3,60 (7)	7,80 \pm 2,80 (9)*
	3. ^o semana	17,70 \pm 3,90 (3)	26,60 \pm 2,70 (15)††	17,40 \pm 5,60 (7)	12,10 \pm 4,10 (8)
Hembras que parieron (%)		68,70 \pm 4,60 (3)	67,60 \pm 4,40 (15)††	37,60 \pm 5,90 (5)**††	11,70 \pm 5,60 (7)**
Número de crías/camada		100	100	42,90**	30**
		12,60 \pm 0,80 (12)	9,20 \pm 0,90 (18)*††	5,70 \pm 1,10 (6)**	3,30 \pm 2,20 (3)**

* o †, $p \leq 0,05$ respecto al grupo de controles o al de tiroidectomizadas + sialadenectomizadas, respectivamente.
 ** o ††, $p \leq 0,01$ respecto al grupo de controles o al de tiroidectomizadas + sialadenectomizadas, respectivamente.

respecto a las anteriores, y en este mismo período las hembras T no mostraron incremento en la curva de crecimiento, mientras que las TS acusaron un descenso en dicha curva. La sialadenectomía «per se» no ha afectado en ningún momento a este parámetro, sin embargo ha agudizado los efectos de la tiroidectomía en la tercera semana (período de mayor ganancia de peso en la rata).

De las hembras T y TS sólo parieron un 43 y 30 % respectivamente, de las preñadas (tabla III); en el resto se observaron temblores, hipotermia acusada y espasmos musculares antes de que murieran sin haber conseguido parir, las que pudieron hacerlo parieron con un retraso de 1, 2 y hasta 4 días. Esta distocia puede deberse a una incapacidad de la musculatura uterina para producir contracciones suficientemente enérgicas y bien coordinadas, causada por la falta de sustrato energético, hipoglucemia (tabla II), y por despolarización de membranas excitables a causa de la retención de K⁺ (tabla II). Las hembras S parieron todas, al igual que las controles.

Las madres S presentaron un tamaño de camada inferior al de las controles, quizá debido a deficiencias en la ovulación provocadas por las menores concentraciones séricas de FSH y LH (4), coincidiendo con datos de un menor desarrollo folicular en situación similar (22). Este resultado está en desacuerdo con el encontrado por LI *et al.* (16) que informaron de tamaños de camada similares entre ratones madres sialadenectomizados y controles. Mayores diferencias en el tamaño de camada presentaron las madres tiroidectomizadas (T y TS), en ellas se redujo a menos de la mitad del de las controles. Aunque las tiroidectomizadas mostraron un índice de fertilidad similar a las controles (% de preñez), su ciclo sexual resultó irregular y alargado, alteración que puede deberse a la disminución de las concentraciones de FSH y LH plasmáticas tras tiroidecto-

mía (5). La disminución de FSH concuerda con la reducción de cuerpos amarillos encontrada en hembras tiroidectomizadas (11). Ambos datos indican la existencia de dificultades en la maduración de los folículos ováricos, con lo que probablemente se liberen un menor número de óvulos en cada ovulación.

No se encontraron diferencias significativas en la ganancia de peso corporal de las crías lactantes pertenecientes a las madres controles y experimentales, durante el primer mes de vida (datos no presentados en las tablas). Este hecho está relacionado con los tamaños de camada de los distintos grupos, que fueron muy heterogéneos (tabla III). Las madres controles tuvieron camada con doble número de individuos que las tiroidectomizadas, y sin embargo la ganancia de peso media por camada resultó similar. Por otro lado, la experiencia indica que una camada con menor número de individuos y madre normal, alcanza al final de la lactación un peso medio significativamente superior al obtenido por camadas más numerosas. Con todo ello se deduce que las madres tiroidectomizadas producen menor cantidad de leche y/o leche con menor riqueza nutritiva.

Resumen

Se estudia en rata hembra la relación entre tiroides y glándulas submaxilares sobre el crecimiento corporal, evolución del peso de glándulas adrenales, ovarios y glándulas parótidas, apertura vaginal, ciclo del estro, fertilidad, evolución de la gestación y tamaño de camada, niveles plasmáticos de glucosa, glucagón, Na⁺, K⁺ y proteínas totales. Los efectos de la sialadenectomía son independientes de la función tiroidea en todos los parámetros excepto en el crecimiento del ovario, que resulta deprimido por la función tiroidea en ausencia de glándulas submaxilares, y en la glucemia circulante, ya que la hipoglucemia resultante de la tiroidectomía es estabilizada por la sialadenectomía.

Bibliografía

1. ARVY, L. y GABE, M.: *C. R. Acad. Sci.*, **144**, 1610-1613, 1950.
2. BARKA, T.: *J. Histochem. Cytochem.*, **28**, 836-869, 1980.
3. BENELLI, C., MICHEL, O. y MICHEL, R.: *J. Steroid. Biochem.*, **16**, 755-761, 1982.
4. BIXLER, D., WEBSTER, R. C. y MUHLER, J.: *J. Dent. Res.*, **36**, 559-562, 1957.
5. BRUNI, J. F., MARSHALL, S., DIBBET, J. A. y MEITES, J.: *Endocrinology*, **97**, 558-563, 1975.
6. DOMÉNECH, J. M.: *Bioestadística*. Herder, Barcelona, 1980.
7. FALOONA, G. R. y UNGER, R. H.: En «Methods of Hormone Radioimmunoassay» (B. M. Jaffe and H. R. Behrman, eds.). Academic Press, Nueva York, 1974, pp. 317-330.
8. GAUNT, R., GRISOLDI, E., SMITH, N., STEINETZ, B. G. y CHART, J. J.: *Endocrinology*, **87**, 1088-1090, 1970.
9. GLASSCOCK, G. F. y NICOLL, C. S.: *Endocrinology*, **109**, 176-181, 1981.
10. GRAD, B. y LEBLOND, C. P.: *Endocrinology*, **45**, 250-266, 1949.
11. HAGINO, N.: *Endocrinology*, **88**, 1332-1336, 1971.
12. HALDI, J. y WYNN, W.: *J. Dent. Res.*, **42**, 11-15, 1963.
13. HANSEN, P. J., SCHILLO, K. K., HINSHELWOOD, M. M. y HUSER, E. R.: *Biol. Reprod.*, **29**, 924-931, 1983.
14. HOLDER, A. T. y WALLIS, M.: *J. Endocr.*, **74**, 223-229, 1977.
15. HOLLENBERG, M. D.: *Vitamins and Hormones*, **37**, 69-110, 1979.
16. LI, A. K. C., SCHATTENKERK, M. E., DE VRIES, J. E., FORD, W. D. A. y MATT, R. A.: *Am. J. Physiol.*, **244**, R41-R44, 1983.
17. LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L. y RANDALL, R. J.: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275, 1951.
18. MENÉNDEZ-PATTERSON, A., SUÁREZ, J., CORNEJO, S. y MARÍN, B.: *Arch. Oral Biol.*, **30**, 243-248, 1985.
19. MENÉNDEZ-PATTERSON, A., VELASCO-PLAZA, A. y MARÍN, B.: *Reproducción*, **6**, 19-27, 1982.
20. PISANTY, J., DIECK, M. N., GARZA, M. L. y GÓMEZ, M. F.: *IRCS Med. Sci.*, **3**, 521-526.
21. RASTOGI, R. B., LAPIERRE, Y. y SINGHAL, R. L.: *J. Neurochem.*, **26**, 443-447, 1975.
22. RODRÍGUEZ-PERES, A. y LÓPEZ-ARRANZ, J. S.: *An. Anat.*, **23**, 255-263, 1974.
23. SAMUELS, H. H., STANLEY, F. y SHAPIRO, L. E.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **73**, 3877-3881, 1971.
24. SERVER, A. C. y SHOOTER, E. M.: *Adv. Protein Chem.*, **31**, 339-409, 1977.
25. VELASCO-PLAZA, A., MENÉNDEZ-PATTERSON, A. y MARÍN, B.: *Arch. Oral Biol.*, **24**, 245-247, 1979.
26. WALKER, P., WEICHSEL, M. E., Jr., HOATH, S. B., POLAND, R. E. y FISHER, D. A.: *Endocrinology*, **109**, 582-587, 1981.
27. WASE, A. W. y FENG, Y. S. L.: *Fed. Proc.*, **15**, 379-380, 1956.

