

## Artículo original de investigación

# Determinación del tiempo de gestación y desarrollo embrionario en rata Wistar (*Rattus norvegicus*) de un bioterio de Cali (Colombia).

## Determination of time of pregnancy and embryonic development of Wistar rat (*Rattus norvegicus*) in a bioterium from Cali (Colombia).

Liliana Cuellar<sup>1,a</sup>, David Zafra<sup>1,a</sup>, Sandra Moreno<sup>2,a</sup>, Doris Rosero<sup>3,b</sup>, Carlos Martínez<sup>4,c</sup>, Freddy Moreno<sup>5,a</sup>

1. Médico.
2. Odontóloga, Magíster en Ciencias Biomédicas, Profesora Departamento de Ciencias Básicas de la Salud.
3. Enfermera, Magíster en Ciencias Biomédicas, Departamento de Ciencias Básicas Médicas.
4. Odontólogo, Magíster en Epidemiología, Profesor Programa de Odontología.
5. Odontólogo, Magíster en Ciencias Biomédicas, Profesor Departamento de Ciencias Básicas de la Salud.

- a. Facultad de Ciencias de la Salud, Pontificia Universidad Javeriana Cali (Colombia).
- b. Universidad ICESI, Cali (Colombia).
- c. Institución Educativa Colegios de Colombia UNICOC, Cali (Colombia).

### CORRESPONDENCIA

Freddy Moreno

ORCID ID <https://orcid.org/0000-0003-0394-9417>

Departamento de Ciencias Básicas de la Salud,  
Pontificia Universidad Javeriana Cali (Colombia).

E-mail: [fmorenog@javerianacali.edu.co](mailto:fmorenog@javerianacali.edu.co)

### CONFLICTO DE INTERESES

Los autores del artículo hacen constar que no existe, de manera directa o indirecta, ningún tipo de conflicto de intereses que pueda poner en peligro la validez de lo comunicado.

RECIBIDO: 01 de noviembre del 2018.

ACEPTADO: 4 de febrero de 2019.

### RESUMEN

**Objetivo:** Determinar el comportamiento del tiempo de gestación y del desarrollo embrionario de la rata Wistar (*Rattus norvegicus*) de un bioterio de Cali (Colombia). **Materiales y métodos:** Estudio observacional descriptivo de corte transversal en el que se embarazaron 22 hembras de 5 a 8 meses de edad, con pesos entre 150 y 200 gramos. Desde el primer día, se procedió con el sacrificio de una hembra diariamente, hasta completar los 22 días de gestación. Se extrajo el útero bicorne de cada biomodelo y de forma macroscópica a partir del día 11, se identificó el número de embriones resorbidos y en desarrollo. **Resultados:** La evidencia sugiere que cada hembra conto con un promedio de 6 embriones por camada (2 embriones reabsorbidos y 4 embriones en desarrollo). Se observó que los embriones del cuerno uterino derecho tienen menor probabilidad de sobrevivir que los del cuerno uterino izquierdo. **Conclusiones:** Uno de los principales inconvenientes al diseñar estudios sobre desarrollo embrionario y fetal con biomodelos murinos, resulta al momento de precisar la cantidad total estándar de embriones resorbidos y embriones en desarrollo por camada. En este estudio se asoció la disminución en el número de embriones por camada a la edad y la manipulación de los biomodelos durante su estancia en el bioterio.

**Palabras clave:** Ratas Wistar, embriología, investigación con embriones, desarrollo embrionario y fetal.

### ABSTRACT

**Aim:** To define the behavior of the gestational time and the embryological development of the Wistar Rat (*Rattus Norvegicus*) in a vivarium from Cali (Colombia). **Materials and methods:** Descriptive observational cross-section study in which pregnant 22 female of Wistar rat, with 5 to 8 months old and weight of 150 to 200 grams. Once it was confirmed the pregnancy; a female was euthanized each day until completing the 22 days of gestation. The uterine horns of each female were removed and macroscopically (day 11) the number of resorbed embryos and embryos in development were identified. **Results:** The evidence suggests that every female had litters between 10 and 12 embryos in development, in contrast with this study which average was of 6 embryos per litter (2 resorbed embryos and 4 embryos in development). Embryos in the right uterine horn have less probability of survival in all the time of tracking was observed. **Conclusions:** One of the main problems of designing studies about the embryological and fetal development with murine biomodels results at the moment of precisising the standard number of resorbed embryos and embryos in development in each litter. In this study was associated to the age of the female rats and the stress from the manipulation.

**Key words:** Wistar rats, embryology, embryo research, embryonic and fetal development.

Cuellar L, Zafra D, Moreno S, Rosero D, Martínez C, Moreno F. Determinación del tiempo de gestación y desarrollo embrionario en rata Wistar (*Rattus norvegicus*) de un bioterio de Cali (Colombia). *Salutem Scientia Spiritus* 2019; 5(1):14-20.



La Revista *Salutem Scientia Spiritus* usa la licencia Creative Commons de Atribución – No comercial – Sin derivar:

Los textos de la revista son posibles de ser descargados en versión PDF siempre que sea reconocida la autoría y el texto no tenga modificaciones de ningún tipo.

## INTRODUCCIÓN

El empleo de murinos en estudios experimentales se ha popularizado en los últimos 100 años, siendo la rata, después del ratón, el biomodelo más utilizado en investigaciones biomédicas debido a su mayor tamaño, gran resistencia, facilidad de mantenimiento y versatilidad al momento de la manipulación. Entre las especies de rata para experimentación más populares se pueden reconocer la Wistar albina, la Sprague Dawley, la Fischer 344, la Lewis, las Holtzman, la Long-Evans y la Lister negra.<sup>1,2</sup>

La rata albina de la cepa Wistar perteneciente a la especie *Rattus norvegicus* (rata parda), se constituyó en la primera cepa de ratas desarrolladas para servir como un organismo modelo en un momento en que los laboratorios utilizaban principalmente al ratón *Mus musculus*. Más de la mitad de todas las cepas de ratas de laboratorio a nivel mundial, destinadas a investigación biológica y médica, son descendientes de la colonia original establecida por los investigadores Henry Donaldson, Milton Greenman y Helen King en el Instituto Wistar de Filadelfia (USA) en 1906. Si bien se desconoce el origen de los animales, en dicho instituto se establecieron dos tipos de colonias, las no consanguíneas con pelajes de color heterogéneo y las líneas consanguíneas mantenidas con apareamientos entre hermano y hermana, conformando el mayor número de líneas descendientes sobre otros biomodelos de experimentación, inclusive sobre la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* o el nematodo *Caenorhabditis Elegans*).<sup>3</sup>

Dentro de las ventajas de emplear un biomodelo de rata Wistar en investigación biomédica se encuentran:<sup>2</sup>

1. Al tratarse de un mamífero, sus procesos bioquímicos son similares al hombre (sin perder la visión objetiva que no se trata de un ser humano en miniatura).
2. El tiempo gestacional es muy corto, son muy prolíficos y se adaptan fácilmente a la vida en los bioterios, lo que permite controlar las variables ambientales en los diferentes estudios.
3. Comparte con el hombre el privilegio de ser la especie de mamífero mejor estudiado desde el punto de vista genético.
4. Existen una gran cantidad de líneas genéticamente definidas como las consanguíneas y congénitas.
5. El trabajo acumulado durante un siglo de investigaciones ha dado como resultado una inmensa cantidad de información sobre los fenotipos mutantes, las características de las líneas, los mapas genéticos y la secuencia completa del genoma.

Sin embargo, es esa misma capacidad de adaptación la que ha evidenciado diferencias significativas al momento de replicar un protocolo experimental biomédico entre biomodelos de rata Wistar de diferentes lugares, razón por la cual se hace imprescindible estandarizar el biomodelo dentro de las condiciones de cada bioterio (alimentación, exposición a la luz, humedad y

temperatura) y las características biológicas (tiempo de gestación, número de embriones, desarrollo prenatal, crecimiento postnatal, tamaño y peso), con el fin de controlar la mayor cantidad de variables que puedan alterar los resultados, debido a que en la literatura científica se ha podido observar que las condiciones biológicas del biomodelo pueden verse alteradas por diversos factores medio-ambientales.<sup>4,5</sup>

Quizás las condiciones biológicas que más se han estudiado son la gestación y el desarrollo embrionario; específicamente la manera como éstas pueden verse afectadas por la acción de agentes teratogénicos y los diferentes niveles de estrés, ocasionando mala implantación uterina, preeclampsia, resorciones fetales, parto pretérmino, bajo peso al nacer y anomalías congénitas.<sup>4-8</sup>

De esta forma, el propósito de este estudio fue describir algunos aspectos de base del desarrollo embrionario de la rata albina Wistar (*Rattus norvegicus*) de un bioterio de la ciudad de Cali (Colombia) para obtener información estándar del biomodelo, como es el caso del número de embriones, el número de embriones resorbidos y el número de embriones en desarrollo por cada cuerno uterino por cada hembra embarazada.

## MATERIALES Y METODOS

Este es un estudio observacional descriptivo de corte transversal sobre el comportamiento del tiempo de gestación y del desarrollo embrionario de la rata albina Wistar (*Rattus norvegicus*) de un bioterio de la ciudad de Cali (Colombia).

### Obtención y manejo de la Muestra

Una vez fue avalada la investigación por parte del Comité Institucional de Ética para el Cuidado y Uso de Animales en Experimentación de la Universidad ICESI –CIECUAE– (registro CIECUAE-029/2013) se procedió a preñar 22 hembras de rata Wistar de 5 a 8 meses de edad y de un peso corporal entre 150 y 200 gramos. Como criterios de preñez se tuvo en cuenta el apareamiento (cópula) del macho a la hembra registrada en vídeo y la confirmación con la aparición del tapón vaginal para determinar el primer día (día 1) del período gestacional. En total fueron preñadas 22 hembras (correspondientes a cada día de embarazo).

### Trabajo de campo

Una vez confirmado la preñez de la hembra se contaron los días correspondientes a cada día de gestación y se realizó la eutanasia del biomodelo. De esta forma, pasadas 24 horas desde la confirmación de la preñez de la hembra uno, ésta fue eutanizada; pasadas 48 horas desde la confirmación de la preñez de la hembra dos, ésta fue eutanizada; y así sucesivamente según correspondió el día de gestación para el resto de las 20 hembras.

## Gestación y desarrollo embrionario rata Wistar

Durante el tiempo que duró el trabajo de campo, se atendieron las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud del Ministerio de la Protección Social de Colombia, además del Estatuto Nacional de Protección de los Animales para el cuidado de animales de experimentación. De esta forma se aseguró el libre suministro (*ad libitum*) de agua limpia y alimento (*Rodentina® Purina®*), la eliminación adecuada de excretas, un ciclo de luz y oscuridad de 12 horas respectivamente, una temperatura entre 20°C y 24°C y condiciones de humedad del 55%-65%. De igual forma los animales fueron vacunados y recibieron la atención médica veterinaria de rutina. Los biomodelos permanecieron todo el tiempo en jaulas individuales de policarbonato dentro del bioterio.

### Eutanasia de los biomodelos

Las 22 hembras en 22 diferentes momentos de acuerdo al día de gestación fueron eutanizadas mediante sedación profunda con

anestesia inhalatoria de Isoflurano al 100% (*Isoflurano USP® Baxter®*) mediante vaporizador a concentración alveolar media 1,5% como dosis de inducción y 1,0% como dosis de mantenimiento. Posteriormente se aplicó una dosis letal de pentobarbital sódico (*Penthal® INVET®*) 20 mg/100 gr de peso corporal en el cuadrante inferior derecho del abdomen a través de la piel con la precaución de no pinzar el intestino, la vejiga o el útero gestante.

### Extracción del útero gestante

Una vez eutanizadas las hembras y comprobado el cese de latido cardíaco, se procedió a extraer el útero gestante de la cavidad abdominal, para lo cual se levantó la piel de la parte baja del tórax con una pinza y se seccionó la piel y la musculatura en una sola intención con una tijera de tal forma que quedó un corte en forma de V. Se levantó el colgajo por encima del diafragma para exponer completamente la cavidad abdominal y se sujetó el animal arqueando la región dorsal para proyectar los órganos

**Tabla 1.** Número de embriones observados de forma macroscópica en el útero

Día de gestación	Embriones resorbidos			Embriones en desarrollo			Total de embriones
	Cuerno uterino derecho	Cuerno uterino izquierdo	Total	Cuerno uterino derecho	Cuerno uterino izquierdo	Total	
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0
11	1	0	1	1	5	6	7
12	0	0	0	2	0	2	2
13	1	0	1	6	5	11	12
14	0	0	0	0	0	0	0
15	2	0	2	1	1	2	4
16	3	2	5	5	2	7	12
17	0	1	1	0	2	2	3
18	0	0	0	0	1	1	1
19	1	3	4	0	1	1	6
20	2	0	2	3	2	5	7
21	4	2	6	2	2	4	10
22	2	1	3	3	6	9	12

abdominales hacia la apertura ventral. Inmediatamente se hizo la extracción de los dos cuernos uterinos y los ovarios –fijados al extremo distal– con un corte a nivel del cérvix y la parte superior de la vagina.

### Conservación y manejo de la muestra

Una vez obtenidos los úteros gestantes, los embriones y sus respectivas placentas fueron extraídos uno a uno de la cavidad uterina. Las carcasas de las hembras fueron desechadas de acuerdo a las normas de bioseguridad y manejo de material biológico anatómopatológico, y los embriones dispuestos de forma individual en una solución de formol buferado (100 ml de formol al 37%, 900 ml de agua destilada, 0,4 ml de sodio-fosfato monobásico y 0,65 ml de sodio-fosfato dibásico) para su fijación.<sup>9</sup>

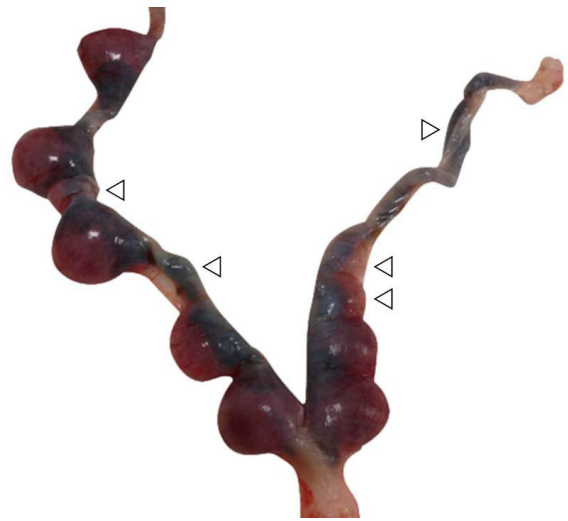
### Observación de los úteros

El útero fue observado de forma macroscópica y descrito de acuerdo al número de embriones resorbidos y al número de embriones en desarrollo en cada cuerno uterino (Tabla 1), teniendo en cuenta las consideraciones de Hill<sup>10</sup> respecto a los estadios de desarrollo de la rata parda, los cuales corresponden a la descripción previa del desarrollo de ratones por Witschi,<sup>11</sup> de ratas por Theiler<sup>12</sup> y de humanos por el Instituto Carnegie,<sup>13</sup> aplicados mediante embriología comparada a la rata albina, ya que la correlación de las diferentes etapas embrionarias desde la implantación del blastocisto hasta la organogénesis al ser bastante similares, permiten la conversión de días gestacionales (ratón y rata) a semanas gestacionales (humanos).<sup>14</sup> Cabe anotar que los embriones solo pudieron ser observados macroscópicamente a partir del día 11 de gestación (Figuras 1-4) y que la hembra 14 no quedó en embarazo.

### Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado con *STATA Corp Ver. 14* e incluyó el cálculo de las medidas de tendencia central y dispersión para el número de embriones resorbidos y en desarrollo. Además, se realizó prueba de normalidad mediante prueba de Shapiro-Wilk. Las diferencias entre el número de embriones (resorbidos vs. en desarrollo) según el cuerno uterino (derecho vs. izquierdo) se realizó mediante prueba de rangos con signos de Wilcoxon. El nivel de confianza y significancia se establecieron en 95% y 5%, respectivamente. En complemento, se calcularon las tasas de incidencia para embriones resorbidos, la razón de tasas de incidencia, la tasa de riesgos instantáneos por regresión de Cox, se calculó la función de supervivencia de los embriones para cada ovario y se aplicó la prueba Logrank para identificar la diferencia entre las funciones.

### RESULTADOS



**Figura 1.** Cuernos uterinos de hembra en semana 16 de gestación en la que se observan siete embriones en desarrollo y cinco embriones resorbidos (cabezas de flecha).



**Figura 2.** Cuernos uterinos de hembra en semana 17 de gestación en la que se observan dos embriones en desarrollo y un embrión resorbido (cabeza de flecha).

Una vez procesada la información de la Tabla 1, se realizó análisis descriptivo a partir de las frecuencias del número de embriones resorbidos y del número de embriones en desarrollo en cada cuerno uterino (Figuras 5 y 6).

Se contabilizó un promedio total de embriones resorbidos de  $1,1363 \pm 1,8072$  y en desarrollo de  $2,2727 \pm 3,2976$ . Para cada cuerno uterino se estimó el número de embriones resorbidos, siendo los promedios en el lado derecho de  $0,7727 \pm 1,1518$  y en

el lado izquierdo de  $0,3636 \pm 0,8477$ . Para el caso de los embriones en desarrollo el comportamiento fue similar para los cuernos uterinos derecho e izquierdo con promedios de  $1,041 \pm 1,7587$  y de  $1,2272 \pm 1,8498$ , respectivamente.

Asimismo, se construyó una base de datos con los registros de cada espécimen para el desarrollo del análisis de sobrevivencia, de tal forma que se estableció como “falla o evento” la resorción del embrión y se utilizó la frecuencia como el peso de la variable en cada momento del tiempo; variable que a su vez, se estableció diariamente –durante 22 días– de acuerdo con el momento de la cuantificación de embriones según el día del sacrificio del espécimen. De esta forma, se estimó una tasa de incidencia de resorción de 2,4 casos por cada 100 embriones/día en el cuerno uterino derecho y de 1,3 casos por 100 embriones/día en el cuerno uterino izquierdo.

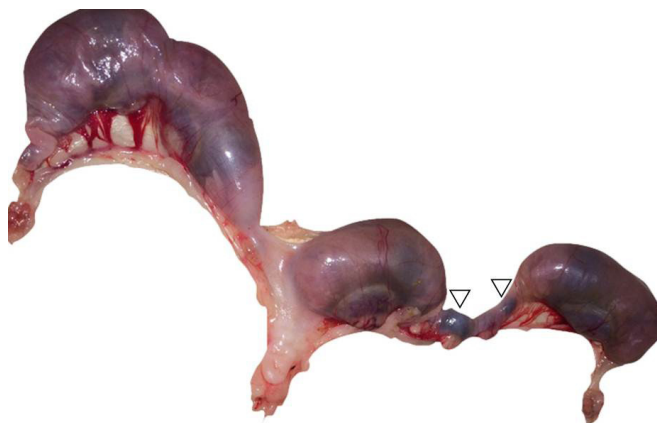
La razón de tasas de incidencia fue de 1,88 [I.C.95%: 0,77-5,04], es decir, que la velocidad de resorción de los embriones del cuerno uterino derecho fue casi el doble que la del cuerno uterino izquierdo. El riesgo de resorción en el lado derecho fue 2.1 veces el riesgo de resorción del lado izquierdo (HR: 2,1; [I.C.95%: 0,90-4,89]); sin embargo, para ambas estimaciones de fuerza de asociación, no existió significancia estadística.

Esto fue corroborado al analizar la función de sobrevivencia, en la cual, los resultados indican que los embriones del cuerno uterino derecho tienen menor probabilidad de sobrevivencia en todo el tiempo de seguimiento, iniciando su caída a partir del día 11 y descendiendo hasta aproximadamente el 22%; mientras que en el cuerno uterino izquierdo, la caída en la sobrevivencia inicia el día 16 y se reduce hasta el 53% aproximadamente. Pese a las diferencias observadas, las funciones de sobrevivencia no son diferentes estadísticamente (Logrank  $\chi^2=3,55$ ;  $p=0,596$ ) (Figura 7).

## DISCUSIÓN

La obtención del número de biomodelos en las edades gestacionales requeridas para las investigaciones biomédicas depende de la efectividad del protocolo de reproducción que se utilice y del conocimiento por parte del personal del bioterio y de los investigadores del comportamiento reproductivo, de la biología del desarrollo y de la anatomía del biomodelo.<sup>15</sup> En este sentido, el útero de las hembras de rata Wistar consiste en dos cuernos uterinos que se ubican a lado y lado dentro de la cavidad abdominal. En el extremo distal de cada cuerno uterino se encuentra un ovario y en el extremo proximal se encuentra un cérvix. Ambos cérvix se insertan en la vagina en la región pélvica.<sup>16</sup>

En la literatura se ha reportado que el número de embriones por cada gestación de 22 a 23 días oscila entre 10 y 12, teniendo en cuenta que, durante la ovulación, el ovario derecho produce una



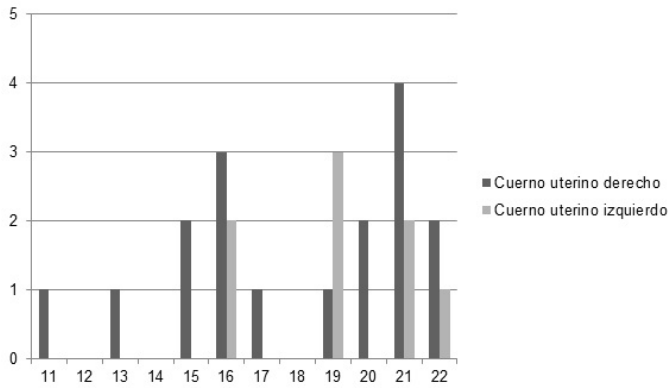
**Figura 3.** Cuernos uterinos de hembra en semana 20 de gestación en la que se observan cinco embriones en desarrollo y dos embriones resorbidos (cabezas de flecha).



**Figura 4.** Cuernos uterinos de hembra en semana 121 de gestación en la que se observan nueve embriones en desarrollo y un embrión resorbido (cabeza de flecha).

media de cuatro óvulos mientras que el izquierdo seis.<sup>17</sup> En este estudio el promedio de embriones por camada, observados de forma macroscópica desde el día 11 de gestación, fue aproximadamente de seis, lo cual contrasta con lo reportado en la literatura y con lo manifestado por los operadores del bioterio, quienes han estimado un número de 12 embriones por camada durante los procesos de reproducción para mantenimiento de la población de base. Por tanto, llama la atención la disminución del número de embriones por camada y el aumento de embriones resorbidos.

Respecto a la resorción fetal –descrita como mortalidad prenatal–, Telford y Woodruff<sup>18</sup> manifestaron que corresponde a un fenómeno normal que acompaña la gestación de los mamíferos múltiparos. Sin embargo, en los animales en cautiverio, se han identificado diferentes causas patológicas, genéticas, fisiológicas y nutricionales que pueden inducir muerte prenatal por resorción del embrión. En las ratas de laboratorio –incluida la cepa albina Wistar– la muerte fetal y la posterior resorción en cualquier etapa de la gestación se han asociado a insuficiencia proteica, a temperaturas ambientales elevadas y a deficiencia de vitaminas



**Figura 5.** Distribución del número embriones reabsorbidos en los cuernos uterinos derecho e izquierdo entre los días de gestación 11 a 22.

(biotina, ácido pantoteico, piroxidina, ácido glutámico, tocoferol y riboflavina entre otras).

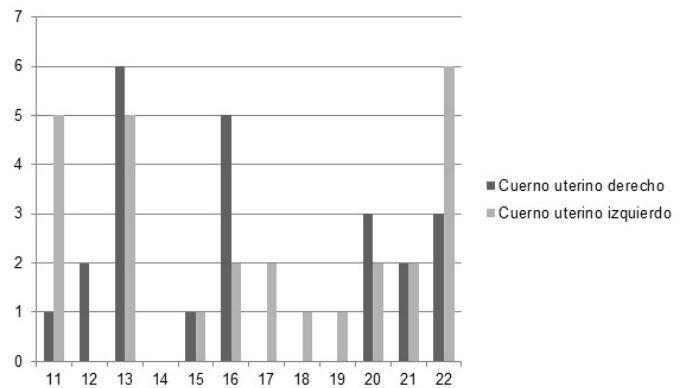
A estos factores también se les debe sumar diferentes aspectos epigenéticos propios del medio ambiente de los bioterios como la alimentación, la temperatura, la humedad y la altura sobre el nivel del mar entre otros, los cuales pueden generar adaptaciones morfológicas durante la gestación producto del estrés metabólico. Asimismo, el estrés psicológico generado a las hembras gestantes durante el desarrollo de los diferentes experimentos, permiten considerar a los protocolos de la investigación misma como un factor de riesgo asociado a mala implantación, resorción fetal, parto pre-término, disminución de la circunferencia de cabeza, retrasos del desarrollo, perturbaciones en el comportamiento, retraso de la respuesta al enderezamiento, retraso en la respuesta al sobresalto y retraso a la apertura del oído.<sup>5-7,19-22</sup>

## CONCLUSIONES

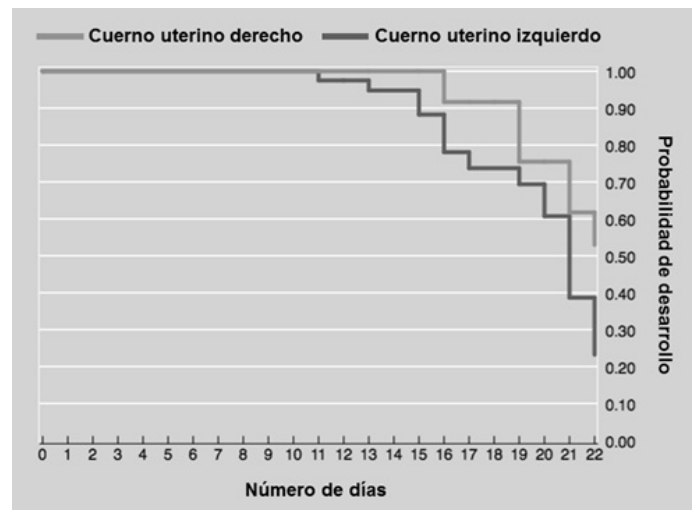
Los factores externos presentes en el medio influyen en el desarrollo gestacional esperado para los biomodelos, lo cual se evidencia en que aún en ratas con edades promedio de reproducción y en condiciones acordes con la regulación normativa para los bioterios, puede observarse una disminución en el número de crías.

En este estudio, las ratas Wistar de un bioterio de Cali que constituyeron la muestra, presentaron un promedio de seis embriones por camada (2 embriones reabsorbidos y 4 embriones en desarrollo), lo cual fue asociado a la edad de las ratas hembras y al estrés generado durante la manipulación.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el número de embriones resorbidos y el número de embriones en desarrollo de cada cuerno uterino.



**Figura 6.** Distribución del número embriones en desarrollo en los cuernos uterinos derecho e izquierdo entre los días de gestación 11 a 22.



**Figura 7.** Función de supervivencia de los embriones de rata Wistar según el cuerno uterino (derecho o izquierdo).

Se recomienda estandarizar el medio ambiente de los bioterios y conocer el proceso reproductivo del biomodelo –en este caso la rata Wistar de un bioterio de la ciudad de Cali (Colombia)– al momento de iniciar un estudio de biología del desarrollo, para:

1. Estimar el tiempo de la gestación, el número de embriones resorbidos y el número de embriones en desarrollo.
2. Optimizar el protocolo de apareamiento y aumentar el rendimiento reproductivo.
3. Predeterminar el número de hembras empleadas y el número de eutanasias programadas.
4. Disminuir la pérdida de tiempo y el sobre costo.
5. Trabajar con ratas hembras entre los 3 y 5 meses de edad

con la menor posibilidad de manipulación por parte de los investigadores.

6. Evitar al máximo las muertes innecesarias; y 6. Garantizar el respeto por los derechos del animal y la aplicación de los principios éticos.

### AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado a través de la Convocatoria Interna de Investigaciones Capital Semilla 2014-2015 de la Pontificia Universidad Javeriana (Cali, Colombia). Los autores del artículo hacen constar que no existe, de manera directa o indirecta, ningún tipo de conflicto de intereses que pueda poner en peligro la validez de lo comunicado.

### REFERENCIAS

1. Von Hoosier G. The age of biology: Opportunities and challenges for Laboratory Animal Medicine. *Scand J Lab Anim Sci.* 1999; 26(4):176-84.
2. Benavides FJ, Guénet JL. *Manual de Genética de Roedores de Laboratorio: Principios Básicos y Aplicaciones.* Servicio de Publicaciones de la Universidad de Alcalá de Henares: Madrid; 2003.
3. Tocher B. The Wistar institute archives: Rats (not mice) and history. *Mendel Newsletter of Wistar Institute Library;* 1998. Disponible en <http://www.amphilsoc.org/mendel/1998.htm>
4. Barr M. Prenatal growth of Wistar Rats: Circadian periodicity of fetal growth late in gestation. *Teratology.* 1973; 7:283-288. DOI: 10.1002/tera.1420070309
5. Stott DH. Follow-up study from birth of the effects of prenatal stresses. *Dev Med Child Neurol.* 1973; 15(6):770-787. DOI: j.1469-8749.1973.tb04912.x
6. Newton RW, Hunt LP. Psychosocial stress in pregnancy and its relation to low birth weight. *Br Med J (Clin Res Ed)* . 1984; 288(6425):1191-1194. DOI: 10.1136/bmj.288.6425.1191
7. Fride E, Weinstock M. The effects of prenatal exposure to predictable or unpredictable stress on early development in the rat. *Dev Psychobiol.* 1984; 17(6):651-660. DOI: 10.1002/dev.420170607
8. Chahoud I, Paumgarten FJR (2005) Relationships between fetal body weight of Wistar rats at term and the extent of skeletal ossification. *Braz J Med Biol Res* 38(4):565-575.
9. Greenwald SE, Brown AG. Histology and staining. En: *Biomedical Technology and Devices Handbook*, Zouridakis G y Moore J (eds) CRC Press: London; 2004.
10. Hill MA. Embryology rat development stages. 2013. Disponible en [http://php.med.unsw.edu.au/embryology/index.php?title=Rat\\_Development\\_Stages](http://php.med.unsw.edu.au/embryology/index.php?title=Rat_Development_Stages)
11. Witschi E. Development: Rat. En: *Growth Including Reproduction and Morphological Development*, Altman PL y Dittmer DS (eds). Federation of American Societies for Experimental Biology: Washington DC; 1962. p. 304-314.
12. Theiler K. *The house mouse: Atlas of mouse development.* Springer-Verlag: New York; 1972.
13. O'Rahill YR. Early human development and the chief sources of information on staged human embryos. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* . 1979; 9(4):273-280. DOI: 10.1016/0028-2243(79)90068-6
14. Bedzhov I, Zernicka-Goetz M. Self-Organizing properties of mouse pluripotent cells initiate morphogenesis upon implantation. *Cell.* 2014; 156(5):1032-1044. DOI: 10.1016/j.cell.2014.01.023
15. Mendoza DM, Salazar L, Bravo LE. Establecimiento de un protocolo de reproducción para la obtención de especímenes murinos embrionarios-fetales. *Revista de Medicina Veterinaria* . 2013; (26):79-89.
16. Greene ECH. *Anatomy of the rat.* Hafner Publishing: New York; 1959.
17. Carrasco-García AA, Camacho-Pernas MA, Pacheco-Cabrera P, Carrillo-Castilla P. Estudio de la actividad contráctil uterina basal durante el ciclo estral de la rata. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana.* 2008; 8(1):25-32.
18. Teleford JR, Woodruff CS, Linford RH. Fetal resorption in the rat as influenced by certain antioxidants. *J Anat.* 1962; 110:29-36. DOI: 10.1002/aja.1001100104
19. Barlow SM, Knight AF, Sullivan FM. Delay in postnatal growth and development of offspring produced by maternal restraint stress during pregnancy in the rat. *Teratology.* 1978; 18:211-218. DOI: 10.1002/tera.1420180206
20. Lou HC, Hansen D, Nordentoft M, Pryds OM, Jensen F, Nim J *et al.* Prenatal stressors of human life affect fetal brain development. *Dev Med Child Neurol.* 1994; 36(9):826-832. DOI: 10.1111/j.1469-8749.1994.tb08192.x
21. Takiuti NH, Kahhale S, Zugaib M. Stress in pregnancy: A new Wistar rat model for human preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2002; 186(3):544-550. DOI: 10.1067/mob.2002.121102
22. Hamid HY, Bakar-Zakaria ZA, Yimer N, Meng G, Haron AW, Mustapha NM. Effects of elevated ambient temperature on embryo implantation in rats. *Afr J Biotechnol.* 2012; 11(24):6624-6632. DOI: 10.5897/AJB11.3228