

# INFLUENCIA DE LA SITUACION NUTRICIONAL PRECONCEPCIONAL MATERNA SOBRE EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO FETAL EN RATAS<sup>1</sup>

*Julia Araya A.<sup>2</sup> y Manuel Ruz O.<sup>2</sup>*

Facultad de Medicina Santiago Norte, Universidad de Chile,  
Santiago, Chile

## RESUMEN

Se estudió en ratas hembra de la cepa Wistar, el efecto del estado nutricional preconcepcional de la madre sobre el crecimiento del producto y el intercambio de energía y nitrógeno materno-fetal en ratas preñadas, con y sin suplementación alimentaria, comparadas con ratas control.

Se cruzó durante la preñez a ratas hembra experimentalmente desnutridas desde el destete, con un peso de 152 g, alimentando un grupo con una dieta que contenía 4NDpCal<sup>o</sup>/o, y el otro con 12NDpCal<sup>o</sup>/o. Asimismo, se cruzó a ratas control con un peso similar, durante la preñez, alimentando un grupo con la dieta con 4 y el otro con 12NDpCal<sup>o</sup>/o.

A los 20 días de edad gestacional todas las ratas fueron sacrificadas, estudiándose separadamente en el carcás materno y el contenido uterino, el contenido de nitrógeno y grasa. Además, se determinó el valor calórico de la grasa y del carcás seco sin grasa.

---

Manuscrito modificado recibido: 8-10-80.

- 1 La presente investigación fue financiada con fondos del Servicio Desarrollo Científico, Artístico y de Cooperación Internacional de la Universidad de Chile (Subvención No. B-482-791).
- 2 Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina Santiago Norte, Universidad de Chile, Independencia 1027, Santiago, Chile.

Se observó que los dos grupos con desnutrición preconcepcional fueron más eficientes en utilizar la energía y nitrógeno de la dieta consumida durante la preñez, aun cuando al final de la gestación no alcanzaron el peso de sus respectivos controles.

La rata desnutrida desde el destete que durante la preñez recibe suplementación alimentaria alcanza un peso y una composición corporal similares a la rata control. Sin embargo, mantiene disminuido el número de crías por camada, incrementa sólo en forma leve el crecimiento fetal y, además, el peso del contenido uterino es de sólo el 45% en relación al del control.

Estos resultados demuestran que la suplementación alimentaria impuesta sólo durante la preñez en gestantes desnutridas crónicamente, recupera prioritariamente los tejidos maternos, relegando a segundo término la nutrición fetal.

## INTRODUCCION

El efecto de la desnutrición materna sobre el crecimiento y desarrollo fetal no debe interpretarse en forma aislada, sino que además debe preocuparnos el estado nutricional de la hembra antes de iniciar su vida reproductiva. Si se acepta que el embarazo es un estado fisiológico, la condición nutricional preconcepcional adquiere importancia fundamental para que dicho período sea iniciado con un organismo dotado de las reservas nutritivas que permitan satisfacer las altas exigencias fetales.

A través de numerosas investigaciones, ha quedado establecido que una ingesta de calorías y/o proteínas restringida durante la preñez o parte de ella provoca alteraciones graves en el crecimiento intrauterino. Esto se evidencia principalmente por el bajo peso al nacer que ocurre en muchas especies de mamíferos, incluyendo al hombre.

En estudios con animales de experimentación, se ha visto que si la restricción dietaria se impone a la hembra al comienzo de la preñez, ésta responde disminuyendo el número de animales de la camada, ya sea por una mala implantación (1) o placentación (2), y con una reducción en la actividad de las enzimas asociadas con el crecimiento y la multiplicación celular durante el desarrollo embrionario (3). La restricción de calorías o proteínas en la última parte del período de gestación se asocia con bajo peso al nacer.

En general, las investigaciones sobre el efecto de las manipulaciones con la dieta materna en el crecimiento fetal y postnatal, se

han impuesto a la hembra durante la gestación y/o lactancia (4-7), o durante un corto período antes de la concepción (8), tanto en animales de experimentación como en humanos (9, 10).

Se ha postulado una asociación directa entre talla materna y crecimiento fetal (estimado por peso al nacer) (11-13). Por esta razón, y con miras a obviar esta variable, en la presente investigación iniciamos la preñez de los dos grupos experimentales cuyo peso promedio era similar.

El objetivo del estudio fue conocer la influencia de la desnutrición precoz y crónica de la futura gestante en el crecimiento y desarrollo del producto y en el intercambio de nitrógeno y energía materno-fetal a los 20 días de preñez.

## MATERIAL Y METODOS

### *Dietas*

Se utilizó caseína con 4NDpCal<sup>o</sup>/o, dieta que contiene 6.5 g <sup>o</sup>/o de caseína y 4.25 Cal/g, y caseína con 12NDpCal<sup>o</sup>/o, dieta que contiene 50 g <sup>o</sup>/o de caseína y 4.25 Cal/g. La preparación de ambas dietas ha sido descrita previamente por Araya, *et. al.* (14).

### *Animales*

El estudio incluyó 90 ratas hembra de la cepa Wistar, y de 21 días de edad, las cuales se dividieron en dos grupos.

**Controles** – Treinta animales fueron alimentados con la dieta que contenía 12NDpCal<sup>o</sup>/o desde los 21 a los 60 días de edad (152 g), momento éste en el que habitualmente cruzamos por primera vez las ratas hembra de nuestro bioterio.

**Desnutridas** – Sesenta animales consumieron la dieta con 4NDpCal<sup>o</sup>/o desde los 21 días de nacidas hasta alcanzar un peso promedio de 152 g (160 días de edad). En este grupo duplicamos el número de animales, ya que a través de la experiencia hemos observado que alrededor de solo 50<sup>o</sup>/o logra concebir y/o mantener el producto de la concepción hasta el final del lapso experimental (20 días).

**Grupo Inicial** – Luego, 10 ratas del grupo desnutridas y 10 ratas

del grupo control con un peso promedio similar (152 g) fueron sacrificadas, y sus carcás se analizaron individualmente para determinar nitrógeno (15), grasa y humedad (16), y valor calórico de la grasa y carcás seco sin grasa (17).

*Preñadas con 4NDpCal<sup>0</sup>/o* – A 20 ratas desnutridas y 10 ratas control cuyo peso promedio era de 152 g, se les practicó un *frotis* vaginal. Una vez detectada la fase proestro se aparearon, una sola vez durante 24 horas, contándose como día cero a partir del momento que se retiró el macho. Durante los 20 días de preñez se alimentaron *ad libitum* con la dieta con 4NDpCal<sup>0</sup>/o.

*Preñadas con 12NDpCal<sup>0</sup>/o* – En este caso también se empleó el mismo número de ratas desnutridas y control que en el grupo anterior y se cruzaron en las mismas condiciones. Durante todo el período experimental los animales consumieron dietas con 12 NDpCal<sup>0</sup>/o.

Las ratas fueron alojadas en jaulas individuales, y se llevó un registro diario de su peso e ingesta. Se sacrificaron el día 20 y en el carcás materno, separadamente del contenido uterino, se estudiaron los mismos parámetros que en el grupo inicial.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se dan a conocer los pesos promedio al comienzo y al final para cada grupo experimental, incluyendo o excluyendo el contenido uterino y las ingestas de nitrógeno (mg/día) y energía (Cal/día). Según se observa, los grupos que fueron alimentados con la dieta con 4NDpCal<sup>0</sup>/o lograron al final de la experiencia pesos similares, pero éstos fueron significativamente inferiores a los pesos de los grupos que consumieron la dieta con 12 NDpCal<sup>0</sup>/o ( $P < 0.001$  y  $P \ll 0.001$ ).

Al comparar la ganancia de peso (g/día) entre los grupos experimentales con la ingesta de energía metabolizable, figuran como más eficientes los grupos de ratas preñadas que habían ingresado al estudio con una desnutrición crónica. Sin embargo, a pesar de esta eficiencia, al final del experimento no lograron alcanzar el peso de las control.

Podríamos postular que la restricción calórico-proteínica impuesta a la madre en forma tan precoz, provocaría un daño pro-

**TABLA 1**

**GANANCIA DE PESO E INGESTA DE ENERGIA Y NITROGENO DURANTE 20 DIAS DE LA PREÑEZ DE RATAS CON DESNUTRICION PRECONCEPCIONAL CRONICA Y EN RATAS CONTROL**

Condición nutricional preconcepcional	Desnutridas		Ratas control		P	
	4 (8)	12 (5)	4 (10)	12 (8)		
Dieta durante la preñez, NDpCal <sup>o</sup> / <sub>o</sub>						
Peso inicial, g	152.2 ± 7.1	145.1 ± 5.8	154.8 ± 3.6	152.8 ± 5.1		
Peso final materno, g	159.8 ± 8.8	210.6 ± 8.6	157.9 ± 6.7	214.6 ± 6.2		
Peso final, g*	○ 186.7 ± 9.8	○ 248.3 ± 10.2	● 194.9 ± 7.0	● 276.4 ± 10.4	○ < 0.001	● ≪ 0.001
Ganancia de peso, g/día	1.73	5.16	2.01	6.18		
Ingesta de energía metabolizable, Cal/día	○ 24.1 ± 2.0	● 36.9 ± 0.25	○ 34.4 ± 0.8	● 47.9 ± 1.3	○ < 0.001	● ≪ 0.001
Ingesta de nitrógeno, mg/día	○ 60.3 ± 4.9	● 709.6 ± 4.7	○ 86.2 ± 1.9	● 922.2 ± 27.8	○ < 0.001	● ≪ 0.001

Las cifras entre paréntesis corresponden al número de animales.

\* Incluye contenido uterino.

± = Error de la desviación estándar.

P = Significancia de distribución según la prueba "t" de Student.

fundo, permanente e irreparable que le impediría expresar al máximo su capacidad de crecer. Winick y Noble (18) proponen que el "stress" nutricional impuesto a temprana edad incapacita al animal para una recuperación óptima probablemente debido a cierta interferencia en la replicación celular.

Jackson y Stewart (19), Schultze (20) y Brown y Guthrie (21), han establecido que la restricción dietética impuesta desde el nacimiento se asocia a una capacidad de crecimiento limitada, permitiendo al animal alcanzar sólo la mitad del peso máximo a esperar al ser realimentado *ad libitum* con dietas de valor proteínico adecuado. Sólo si la restricción dietética se impone nueve semanas después del destete puede lograrse el peso máximo como respuesta a la realimentación (22).

Otro factor que debe tomarse en cuenta es la edad del grupo desnutrido (160 días). Miller y Wise han comunicado (23) que los animales más jóvenes son más eficientes en recuperarse de la desnutrición.

La Tabla 2 muestra que la desnutrición preconcepcional afectó el número de animales por camada, el peso de la misma y el peso de cada cría. Aun cuando el grupo desnutrido que se alimentó con 12NDpCal<sup>o</sup>/o incrementó el peso de la camada, éste sólo fue comparable con el peso de la camada que acusó el grupo control alimentado con 4NDpCal<sup>o</sup>/o.

Durante mucho tiempo hemos observado en nuestro bioterio que un alto porcentaje de ratas hembra en edad reproductiva, con desnutrición calórico-proteínica crónica son infértiles, manteniéndose en fase proestro aunque se les permite en repetidas oportunidades aparearse con los machos. Por esta razón en nuestro diseño experimental duplicamos el número de hembras desnutridas para ser cruzadas y, de esa manera, lograr un número de ratas preñadas similar al del grupo control.

Van Marthens y Shimoyave (2) encontraron que el 55<sup>o</sup>/o de las hembras apareadas no pudieron mantener su preñez cuando se les privó de proteínas al comienzo de la gestación. Atribuyen este hecho a una falta de implantación del huevo y a un daño en la placentación causado por la falta de progesterona y estrógenos.

El grupo desnutrido de nuestra investigación inició su vida reproductiva con una desnutrición crónica y precoz, de manera que al prolongarse ésta durante la preñez probablemente, estaríamos provocando un daño en la anidación de algunos de los huevos fecundados por descenso de los niveles de las hormonas involucradas en la mantención del embarazo. Este mismo efecto

TABLA 2

## EFECTO EN RATAS DE LA DESNUTRICION PRECONCEPCIONAL SOBRE EL CRECIMIENTO INTRAUTERINO DEL PRODUCTO

Condición nutricional preconcepcional	Desnutridas		Control		P
Dieta durante la preñez, NDpCal <sup>0</sup> /o	4 (8)	12 (5)	4 (10)	12 (8)	
Número de animales por camada	8.2 ± 0.33	● 8.2 0.37	10.4 ± 0.43	● 10.4 0.30	● <0.001
Peso de la camada, g	14.9 ± 1.49	● 19.0 ± 1.8	22.3 ± 1.3	● 52.7 ± 4.2	● ≤0.001
Peso individual de cada cría, g	1.8 ± 0.07	● 2.3 ± 0.14	2.1 ± 0.07	● 5.1 ± 0.34	● ≤0.001

Las cifras entre paréntesis corresponden al número de animales.

± = Error de la desviación estándar.

P = Significancia de distribución según la prueba "t" de Student.

se observó en el grupo que tuvo oportunidad de recuperarse de la desnutrición de que sufrían, ya que al consumir la dieta con 12NDpCal<sup>0</sup>/o, no aumentó el número de animales por camada.

La cantidad de energía depositada durante 20 días y su distribución entre madre y producto se da a conocer en la Tabla 3.

Queda de manifiesto que al suplementar a la madre desnutrida durante la preñez, ésta retiene en sus tejidos una cantidad similar al grupo control bien alimentado. Es incapaz, sin embargo, de transferir al feto, o éste de adquirir energía suficiente que le permita alcanzar los niveles de los fetos control ( $P \leq 0.001$ ).

La ganancia y el intercambio de nitrógeno entre madre y producto a los 20 días de edad gestacional se exponen en la Tabla 4. Al comparar los dos grupos alimentados con 4NDpCal<sup>0</sup>/o destaca la mayor eficiencia de las ratas desnutridas para ganar

TABLA 3

**DISTRIBUCION DE LA ENERGIA CORPORAL ADQUIRIDA DURANTE LA PREÑEZ EN RATAS  
CON DESNUTRICION PRECONCEPCIONAL Y EN RATAS CONTROL**

Condición nutricional preconcepcional	Desnutridas		Control		P
Dieta durante 20 días de preñez, NDpCal <sup>o</sup> /o	4 (8)	12 (5)	4 (10)	12 (8)	
Cambio de la energía corporal durante 20 días, KCal*	○ 8.5 ± 1.05	● 165.7 ± 14.2	○ 97.5 ± 35.1	● 191.8 ± 14.3	○ < 0.05   ● N.S.
Ganancia de energía por el contenido uterino (fetos, líquido amniótico, placenta), KCal	○ 15.3 ± 2.0	● 18.8 ± 3.0	○ 16.6 ± 0.68	● 38.8 ± 1.73	○ N.S.   ● ≤ 0.001

Las cifras entre paréntesis corresponden al número de animales.

\* Incluye contenido uterino.

± = Error de la desviación estándar.

P = Significancia de distribución según la prueba "t" de Student.

TABLA 4

DISTRIBUCION DEL N ADICIONAL RETENIDO DURANTE 20 DIAS DE PREÑEZ EN RATAS  
DESNUTRIDAS Y CONTROL, ALIMENTADAS CON 4 Y 12NDpCal<sup>0</sup>/o

	Desnutridas		Control		P
	4	12	4	12	
Dieta durante la preñez, NDpCal <sup>0</sup> /o	4 (8)	12 (5)	4 (10)	12 (8)	
Nitrógeno ganado en 20 días de preñez, mg	○ 692 ± 194	● 2613 ± 156	○ 188 ± 82	● 1820 ± 16.4	○ < 0.05 ● ≪ 0.001
Nitrógeno retenido solo en carcás materno, mg	○ 440 ± 188	● 2148 ± 135	○ -198 ± 82	● 1177 ± 4.76	○ < 0.01 ● ≪ 0.001
Nitrógeno retenido en producto de la concepción (feto, placenta, líquido amniótico), mg	○ 252 ± 29.8	● 465 ± 72	○ 386 ± 22.4	● 690 ± 29.5	○ < 0.01 ● < 0.02

Las cifras entre paréntesis corresponden al número de animales.

± = Error estándar.

P = Significancia de distribución según la prueba "t" de Student.

nitrógeno, y su incapacidad para favorecer al producto con el suministro de cantidades adecuadas de este nutriente. El grupo control alimentado con dietas con 4NDpCal<sup>0</sup>/o con el propósito de proteger al máximo el crecimiento fetal, aparece cediendo nitrógeno de su propio carcás. Parecería que el nitrógeno y energía ingeridos por este grupo, aunque cuantitativamente superior al del grupo desnutrido, no fue suficiente para cubrir las necesidades de mantención del carcás materno.

Tagle y Donoso (24) al alimentar ratas control con una dieta inadecuada durante la preñez, observaron una entrega de nitrógeno desde el carcás materno en beneficio de su progenie, mayor a lo observado por nosotros. Naismith (25) al alimentar durante la gestación con 5.9NDpCal<sup>0</sup>/o, no observó este efecto.

El valor proteínico de las dietas usadas por Tagle y Donoso (24) (4NDpCal<sup>0</sup>/o) y Naismith (25) (5.9NDpCal<sup>0</sup>/o), permitió al contenido uterino una adecuada retención de nitrógeno. Ello puede atribuirse a la edad gestacional de los fetos analizados, la que fue superior a los de nuestro experimento.

Hemos podido confirmar que las dietas con 4NDpCal<sup>0</sup>/o son insuficientes para satisfacer los requerimientos de ratas preñadas, ya que aun cuando les permite un pequeño aumento de peso, éste es insuficiente para permitir un desarrollo adecuado del producto. Además, en esta experiencia queda demostrado que la respuesta al bajo valor proteínico de la dieta difiere, dependiendo de la situación nutricional con que la madre inicia su preñez, ya que el daño provocado al producto es más dramático en aquélla con desnutrición preconcepcional.

La influencia de la desnutrición crónica y precoz en el crecimiento fetal se hace aún más evidente al realimentar a la rata gestante con la dieta con 12NDpCal<sup>0</sup>/o. Hemos visto que al producto no le está permitido expresar su máxima potencialidad de crecimiento, quedando relegado a segundo término, al observar la tendencia materna de utilizar la energía y el nitrógeno extra disponible en beneficio propio, con fines de lograr el mismo peso y la misma composición corporal que el carcás materno de la rata control alimentada con 12NDpCal<sup>0</sup>/o.

Lechtig y colaboradores (26) estiman como factor importante en el crecimiento fetal la historia nutricional materna previa a la adolescencia, juzgando que la suplementación alimentaria mejora el estado nutricional de la gestante, lo cual le permitiría incrementar el crecimiento fetal. Probablemente sea difícil lograr un peso óptimo del recién nacido a través de la suplementación

alimentaria sólo durante la preñez.

Los resultados del presente estudio permiten postular que el suministro limitado de nutrientes a través del crítico período de rápida proliferación celular podría ejercer efectos profundos e irreversibles en el organismo de la hembra. Estos impedirían, *a posteriori*, durante su vida reproductiva, el crecimiento y desarrollo óptimo del producto de la concepción, ya que aun recibiendo un suplemento dietético, la recuperación del tejido materno tiene prioridad sobre la nutrición fetal.

### SUMMARY

#### INFLUENCE OF MATERNAL PRECONCEPTIONAL NUTRITIONAL STATUS ON FETAL GROWTH IN RATS

A study was carried out in Wistar female rats to determine the influence of maternal preconceptional undernutrition on fetal growth and maternal-fetal exchange of energy and nitrogen retained by pregnant rats, with and without supplementary feeding, in comparison to a control group.

Experimental malnourished female rats and controls of similar weight, were mated for a single period of 24 hours. From the first day of gestation one group of malnourished and one group of the control rats were fed for 20 days a casein diet with NDpCal<sup>0</sup>/o 12, and the other group of malnourished and control pregnant rats were fed NDpCal<sup>0</sup>/o 4 during 20 days.

At the end of the trials rats were sacrificed: nitrogen, fat and energy values of samples of extracted fat and portions of dried fat-free in the maternal carcass and uterine contents were determined.

Both malnourished groups fed during pregnancy with NDpCal<sup>0</sup>/o 12 or 4, utilized nitrogen and energy more efficiently, but failed to reach the body weight of the pregnant control rats fed with NDpCal<sup>0</sup>/o 12 or 4, respectively.

Food supplementation of the malnourished group during gestation allowed the maternal carcass to catch up growth. The litter size, however, remained diminished, fetal growth improved poorly and the uterine content weight attained only 45<sup>0</sup>/o of the maximum of the controls fed on NDpCal<sup>0</sup>/o 12.

These results showed that when supplementation was imposed only during pregnancy, the recovery of maternal tissue was priority, while nutrition of the fetus was secondary.

## BIBLIOGRAFIA

1. Fisher, C. J. & J. H. Leatham. Effect of protein-free diet on protein metabolism in the pregnant rat. *Endocrinol.*, **76**: 454-462, 1965.
2. Van Marthens, E. & S. Y. Shimoyave. In utero fetal and placental development following maternal protein repletion in rats. *J. Nutr.*, **108**: 959-966, 1978.
3. Araya, J., M. Ruz & J. Zamora. Desnutrición fetal experimental. Contenido de ácidos nucleicos y actividades de nucleasas en placenta. Presentado en: **Jornadas Científicas de la Sociedad Chilena de Nutrición, diciembre de 1979, Santiago, Chile.**
4. Hsueh, A. M., N. Simonson, B. F. Chow & H. M. Hanson. The importance of the period of dietary restriction of the dam on behavior and growth in the rat. *J. Nutr.*, **104**: 37-46, 1974.
5. Hsueh, A. M., C. E. Agustín & B. F. Chow. Growth of young rats after differential manipulation of maternal diet. *J. Nutr.*, **91**: 195-207, 1967.
6. Caldwell, D. F. & J. A. Churchill. Learning ability in the progeny of rats administered a protein deficient diet during second half of gestation. *Neurol.*, **17**: 95-99, 1967.
7. Venkatachalam, P.S. & K.S. Ramanathan. Effect of protein deficiency during gestation and lactation on body weight and composition of offspring. *J. Nutr.*, **84**: 38-42, 1964.
8. Nelson, M. M. & H. M. Evans. Relation of dietary protein levels to reproduction in the rat. *J. Nutr.*, **51**: 71-84, 1953.
9. Smith, C. A. Effects of maternal undernutrition upon the newborn infant in Holland. *J. Pediat.*, **30**: 229-243, 1947.
10. Lechtig, A., J. P. Habicht, E. de León & G. Guzmán. Influencia de la nutrición materna sobre el crecimiento fetal en poblaciones rurales de Guatemala. II. Suplementación alimentaria. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **22**: 117-131, 1972.
11. Thomson, A. M. Diet in pregnancy. II. Assessment of the nutritive value of diets, especially in relation to differences between social classes. *Brit. J. Nutr.*, **13**: 190-204, 1959.
12. Thomson, A. M. The evaluation of human growth pattern. *Am. J. Dis. Child.*, **120**: 398-403, 1970.
13. Thomson, A. M. Diet in pregnancy. Diet in relation to the course and outcome of pregnancy. *Brit. J. Nutr.*, **13**: 509-515, 1959.
14. Araya, J., G. Vera, M. Ruz & J. Zamora. Cambios en la composición corporal durante la preñez en ratas con desnutrición calórica-proteica. I. Efecto sobre el crecimiento y composición corporal fetal. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **28**: 264-288, 1978.

15. Markham, R. A. A steam distillation apparatus suitable for micro-Kjeldahl analysis. **Biochem. J.**, **36**: 790-791, 1942.
16. Association of Official Agricultural Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 11th ed. Washington, D. C., The Association, 1970.
17. Miller, D. S. & P. R. Payne. A ballistic bomb calorimeter. **Brit. J. Nutr.**, **13**: 501-503, 1959.
18. Winick, M. & A. Noble. Cellular response in rats during malnutrition at various ages. **J. Nutr.**, **89**: 300-306, 1966.
19. Jackson, C. M. & C. A. Stewart. The effects of inanition in the young upon the ultimate size of the body and of the various organs in the albino rat. **J. Exp. Zool.**, **30**: 97-128, 1920.
20. Schultze, M. O. Effects of malnutrition in early life on subsequent growth and reproduction of rats. **J. Nutr.**, **56**: 25-33, 1955.
21. Brown, M. L. & H. A. Guthrie. Effect of severe undernutrition in early life upon body and organ weights in adult rats. **Growth**, **32**: 143-150, 1968.
22. Stewart, C. A. Growth of the body and of the various organs of young albino rats after inanition for various periods. **Biol. Bull. Mar. Biol. Lab. Woods Hole**, **31**: 16-51, 1916.
23. Miller, D. S. & A. Wise. The energetics of catch-up growth. **Nutr. Metabol.**, **20**: 125-134, 1976.
24. Tagle, M. A. & G. Donoso. Protein requirements for the pregnant rat. **Nutritio et Dieta**, **11**: 44-52, 1969.
25. Naismith, D. J. The requirement for protein and the utilization of protein and calcium during pregnancy. **Metabolism**, **15**: 582-595, 1966.
26. Lechtig, A., G. Arroyave, J-P. Habicht & M. Béhar. Nutrición materna y crecimiento fetal. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, **21**: 505-530, 1971.