

## Efecto de la restricción en el consumo de alimento de la rata adulta sobre el crecimiento y la composición tisular de la cría lactante<sup>1</sup>

*Lourdes Barbosa<sup>2</sup> y Soledad De Santiago<sup>2</sup>*

Unidad de Investigación Médica en Nutrición, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) - México D.F., México

**RESUMEN.** Se estudió el efecto de la restricción de alimento en la rata adulta desde el embarazo y la lactancia sobre el crecimiento postnatal y la composición tisular de la cría. Se utilizaron dos grupos de ratas, uno alimentado a libre demanda (LD) y otro alimentado con una restricción del 30% de la dieta habitual (RA). La restricción de alimento se inició a partir del 8º día de embarazo y continuó hasta el día 21º de lactancia. Se registró diariamente el consumo de alimento y el peso corporal de la rata adulta. En la cría se registró diariamente el peso corporal y la longitud de la cola como un indicador de la longitud corporal. Los días 7, 14 y 21 de lactancia se sacrificaron las crías. Se disecó el hígado y el músculo esquelético de las extremidades posteriores y se les determinó peso húmedo, peso seco, proteínas y ácidos nucleicos. Resultados: En la lactancia el grupo de ratas adultas LD presentó un peso corporal mayor que el RA, ambos grupos aumentaron su ingesta 300% en la lactancia. En la cría no se observó diferencia en peso y longitud al nacimiento. Al finalizar la lactancia el crecimiento de la cría fue menor para el grupo de RA. En hígado y músculo esquelético, el peso húmedo y seco, proteínas, DNA y RNA fueron menores. Se concluye que la restricción de alimento en la rata adulta desde el embarazo y durante la lactancia afecta negativamente el crecimiento postnatal, así como la composición tisular del hígado y de la masa muscular de la cría.

**SUMMARY.** Effect of food restriction consumed by dam rat during pregnancy and lactation on the postnatal growth and tissue composition of the pups. The repercussion of food restriction consumed by the adult rat during pregnancy and lactation, on the postnatal growth and tissue composition of the young was evaluated during lactation. Two groups of Sprague-Dawley rats were used, one control group was fed «ad libitum» (AL) and the other group, a restricted diet (RD), 30% less of the normal diet. From the eighth day of pregnancy and throughout lactation, the food intake and weight of the animals was registered daily. At birth the number of young was adjusted to eight and the weight and tail length were registered daily. At 7, 14, and 21 days of lactation the young of both groups were sacrificed. The liver and the muscles of the extreme posterior were dissected and the wet weight, dry weight, proteins and nucleic acids determined. The mother rats fed «ad libitum» increase their intake to 300% from the first day of lactation and they presented a greater body weight than those rats under restricted diet, also begun on the first day of lactation. At birth there were no differences in the weight and the length of the young, however at the end of the lactation the growth rate was significantly lower among the group of rats RD. In the group of young under RD, protein and nucleic acids concentration in the liver were significantly less than those of the AL group and similarly in the muscle, the dry weight, proteins, RNA and DNA were significantly less. From these results it is concluded that the food restriction of the adult rat by 30% during lactation, has a negative effect on the postnatal growth of the young, in terms of weight, length, liver tissue composition and muscular mass.

- 
- 1 Esta investigación fue financiada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México. Proyecto Clave PCALBNA-021565.
  - 2 Investigadora de la Unidad de Investigación Médica en Nutrición, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. Apartado Postal 7-1069. México, D.F. CP 06700 México.

### INTRODUCCION

Para los mamíferos la alimentación con leche materna representa un medio para alcanzar su desarrollo completo en la primera etapa de la vida. En la rata al igual que en el humano el período de lactancia, representa una etapa crítica para su

desarrollo y crecimiento posteriores. El estado nutricional de la madre juega un papel importante ya que para lograr una lactancia adecuada, la madre debe disponer de nutrientes en cantidades suficientes para la síntesis de los componentes de la leche, ya sea a partir de la dieta materna o de las reservas corporales acumuladas durante el embarazo (1). Si la dieta no es suficiente, las reservas maternas y la participación tisular son necesarias para sintetizar la leche necesaria para el crecimiento de la cría (2-4).

Se ha estudiado previamente el efecto de la dieta materna durante el embarazo y la lactancia sobre el crecimiento de las crías. En las ratas con retardo en el crecimiento intrauterino, ocasionado por la insuficiencia vascular placentaria se observó que el peso corporal y el peso de algunos tejidos como el hígado y el cerebro se incrementó cuando se les sometió a una alimentación postnatal adecuada (5). Así mismo se ha observado en diseños experimentales de desnutrición pre y postnatal (6) una disminución en el tamaño del hígado, páncreas e intestino, poniendo de manifiesto el gran impacto que tiene la alimentación durante la lactancia sobre el desarrollo de los diferentes tejidos en la cría de la rata. Por otro lado, carecemos de información acerca de imponer a la rata madre a una restricción de alimentos y observar el efecto sobre el desarrollo y la composición de la masa muscular de la cría.

El presente trabajo tiene como objetivo describir el efecto de la restricción en el consumo de alimentos de la rata madre desde el embarazo y durante la lactancia, sobre el crecimiento postnatal y la composición tisular del hígado y de la masa muscular de la cría.

## MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 36 ratas hembras, de la cepa Sprague-Dawley mantenidas en condiciones de luz-oscuridad (0700-1900 hs), temperatura de 22°C, alimentadas a libre demanda desde los 21 días de edad con una dieta no purificada comercial que contiene 23% de proteínas y 1556 KJ/100g de peso seco (Nutricubos, Purina Co., Guadalajara, Méx.). A la semana 15 de edad las ratas con un peso corporal  $240 \pm 20$  g fueron puestas en contacto con ratas machos de la misma cepa. El primer día de embarazo se determinó, mediante la detección de espermatozoides en el frotis vaginal. Al octavo día de embarazo los animales fueron asignados aleatoriamente a cada uno de los siguientes grupos:

Grupo LD: 18 ratas adultas alimentadas a libre demanda.

Grupo RA: 18 ratas adultas para ser sometidas a una restricción en el consumo de alimentos, la cual consistió en proporcionar diariamente el 70% del peso promedio de alimento consumido el día anterior por el grupo a libre demanda (restricción de alimento al 30%).

El tratamiento dietario se mantuvo desde el embarazo y durante todo el período de lactancia. Durante el estudio los animales dispusieron de agua a libre demanda. A los dos grupos se les permitió llevar a término el embarazo. Al primer

día post-parto se ajustó la camada a 8 crías por rata y fue considerado como el primer día de lactancia, la que se desarrolló hasta los 21 días post-parto, tiempo en que se realizó la separación de las crías.

### Valoración del peso corporal y de la ingesta de alimento materna.

Se realizó el registro diario del peso corporal utilizando una balanza granataria marca Ohaus con una precisión de 1 g. La medición diaria del consumo de alimento se realizó colocando a cada animal 100 g de alimento alrededor de las 9:00 AM y el residuo no consumido retirado al día siguiente a la misma hora. La diferencia entre el alimento colocado y residual fue considerado como el alimento consumido.

### Valoración del crecimiento en la cría.

Se realizó el registro diario del peso corporal y la medición de la longitud de la cola como un indicador de la longitud del animal. La longitud de la cola fue medida adosándola a una superficie rígida, utilizando un Vernier. El peso corporal se midió en una balanza granataria.

### Valoración de la composición de los tejidos de la cría.

Se realizó el sacrificio los días 7, 14 y 21 de lactancia, tiempos que corresponden a la primera semana, a la etapa de máxima producción láctea y al final de la lactancia respectivamente. En los días señalados, las crías macho de 6 ratas de cada grupo fueron sacrificadas con éter y disecados el hígado y el paquete muscular de las extremidades posteriores. Se registró el peso húmedo y seco de los tejidos. Una fracción de los tejidos fue homogeneizada en solución salina isotónica en proporción 1:10 (p/v) a 4°C, en un homogeneizador marca Polytron. En alícuotas del homogenado se procedió a cuantificar la concentración de proteínas por el método de Itzhaki y Gill (7). Se realizó la extracción de ácidos nucleicos por el procedimiento de Shneider (8); las concentraciones de DNA y RNA se determinaron en el extracto mediante la reacción colorimétrica de la desoxirribosa con difenilamina y la ribosa con orcinol de acuerdo a los métodos descritos por Giles (9) y Munro (10) respectivamente.

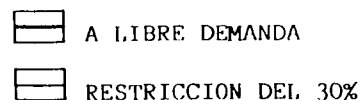
Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  desviación estándar. El manejo de datos se realizó utilizando una computadora PC, los sistemas computacionales utilizados fueron Lotus y MINITAB. La ganancia de peso y la longitud de la cría fueron analizadas utilizando un ajuste polinomial. Con el fin de detectar diferencias en el crecimiento de la cría entre el grupo alimentado a libre demanda y el de restricción de alimento se realizó ANOVA de una vía, seguido por T de Student. Para identificar diferencias en la composición de los tejidos entre los diferentes días de edad post-natal y entre los dos tipos de alimentación se realizó ANOVA de dos vías. El nivel de significación fue de una  $p < 0.05$ .

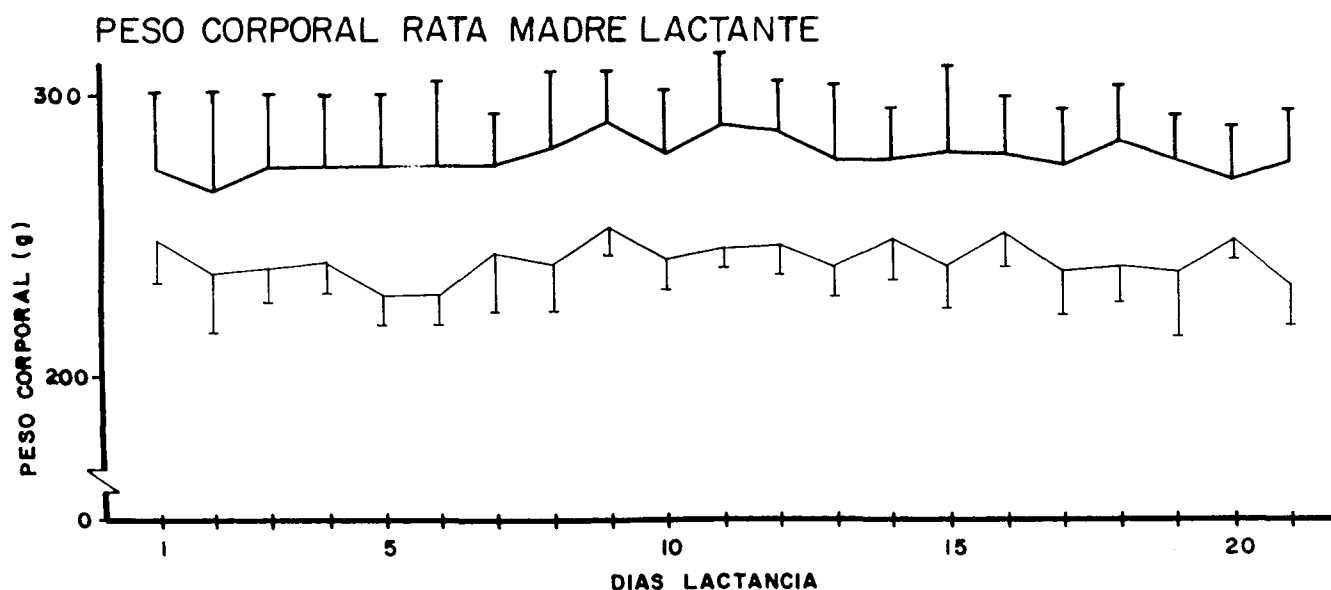
## RESULTADOS

Peso corporal de la rata madre. El grupo de ratas adultas alimentadas a libre demanda presentó un peso corporal promedio de  $280 \pm 20$  g, mayor al que presentaron las ratas adultas bajo restricción de alimento ( $250 \pm 15$ g). Esta diferencia ( $p < 0.001$ ) se mantuvo durante toda la lactancia. Figura 1.

Consumo de alimento de la rata madre. Las ratas alimentadas a libre demanda aumentaron su ingesta a partir del primer día postparto de  $19.8 \pm 5.9$  g hasta  $68.6 \pm 7.3$  g al final de la lactancia. En la Figura 2 se observa como fue el patrón de alimentación para los dos grupos estudiados observándose la diferencia de un 30% menor en el consumo del grupo con restricción ( $p < 0.001$ ).

FIGURA 1





Peso corporal y longitud de la cría lactante. El peso corporal de las crías de ratas bien alimentadas (LD) fue al nacimiento de  $7.0 \pm 0.6$  g incrementándose hasta  $37.9 \pm 6.0$  g a los 21 días de edad en que fueron destetadas Figura 3. El peso corporal en este grupo fue significativamente menor al del grupo de crías bien alimentadas durante toda la lactancia ( $p < 0.001$ ). La longitud de la cola presentó un patrón similar. El primer día de lactancia la longitud de las crías del grupo LD fue de  $1.85 \pm 0.18$  contra  $1.66 \pm 0.13$  cm de las crías del grupo RA. Al finalizar la lactancia alcanzaron una longitud de  $9.37 \pm 0.54$  y  $8.21 \pm 0.61$  cm respectivamente ( $p < 0.01$ ) Figura 4.

Composición de los tejidos de la cría. El peso húmedo, el peso seco, el contenido de proteínas, RNA y DNA se expresan en g y mg por tejido total, considerándose el hígado como órgano íntegro y en el caso del músculo esquelético como tejido total a la cantidad de masa muscular obtenida de las dos extremidades posteriores de la cría después de una cuidadosa disección.

Hígado. El peso húmedo del hígado en ambos grupos aumentó progresivamente con la edad, se observó una diferencia entre los 7 y los 21 días de cerca de un gramo ( $p < 0.001$ ). El peso húmedo del hígado del grupo LD (0.53, 0.87 y 1.66 g) fue mayor en los tres tiempos, al del grupo RA (0.47, 0.72 y 1.31 g) ( $p < 0.01$ ). El peso seco referido como mg por tejido total fue mayor en el grupo LD (114.2, 197.7 y 416.3 mg) en comparación al grupo RA (98.8, 164.3 y 314.3 mg) ( $p < 0.001$ ). Tabla 1. El contenido de proteínas expresado por tejido total aumentó progresivamente con la edad en ambos grupos, de tal manera que se triplicó a los 21 días de edad ( $p < 0.001$ ). Al finalizar la lactancia el contenido de proteínas del hígado de las crías RA fue menor ( $269.8 \pm 33.5$  mg) en comparación al del hígado de las crías LD ( $312.1 \pm 85.0$  mg) ( $p < 0.01$ ). Las concentraciones tisulares de RNA y DNA aumentaron progresivamente con la edad en ambos grupos, observándose concentraciones menores en el grupo RA (RNA 2.1, 3.2 y 6.7, DNA 0.8, 1.5 y 1.9 mg) que en el de LD (RNA 2.3, 5.3 y 9.1, DNA 1.5, 1.8 y 2.9 mg) a los tres tiempos estudiados ( $p < 0.001$ ) Tabla 2.

FIGURA 2

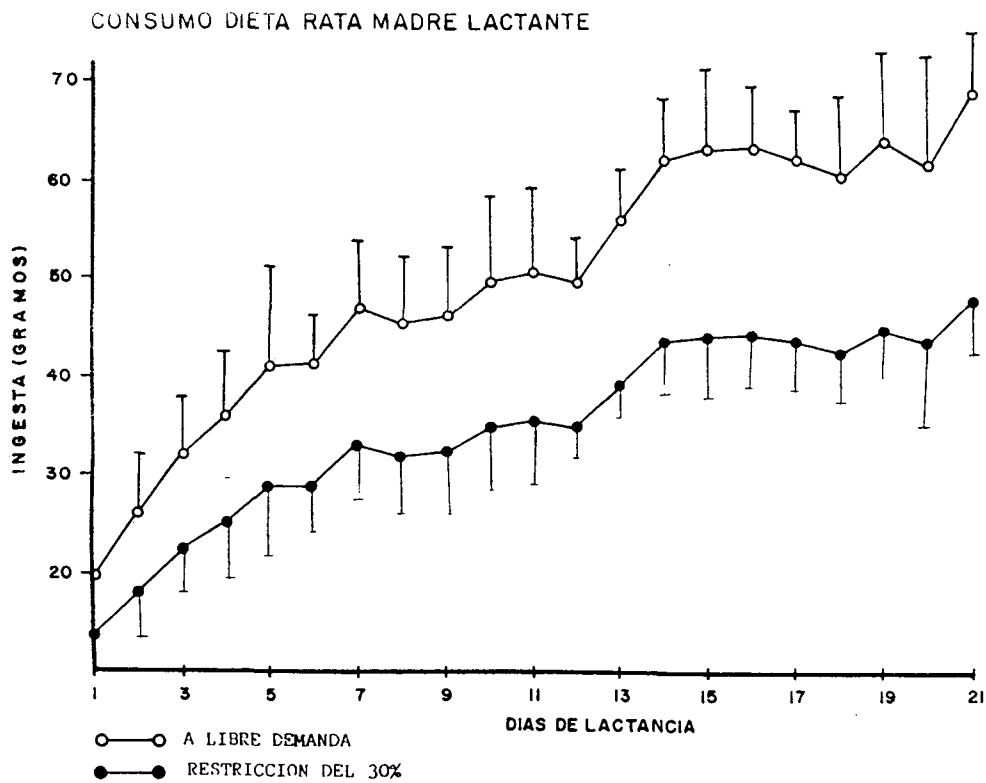


FIGURA 3

PESO CORPORAL DE LAS CRIAS LACTANTES

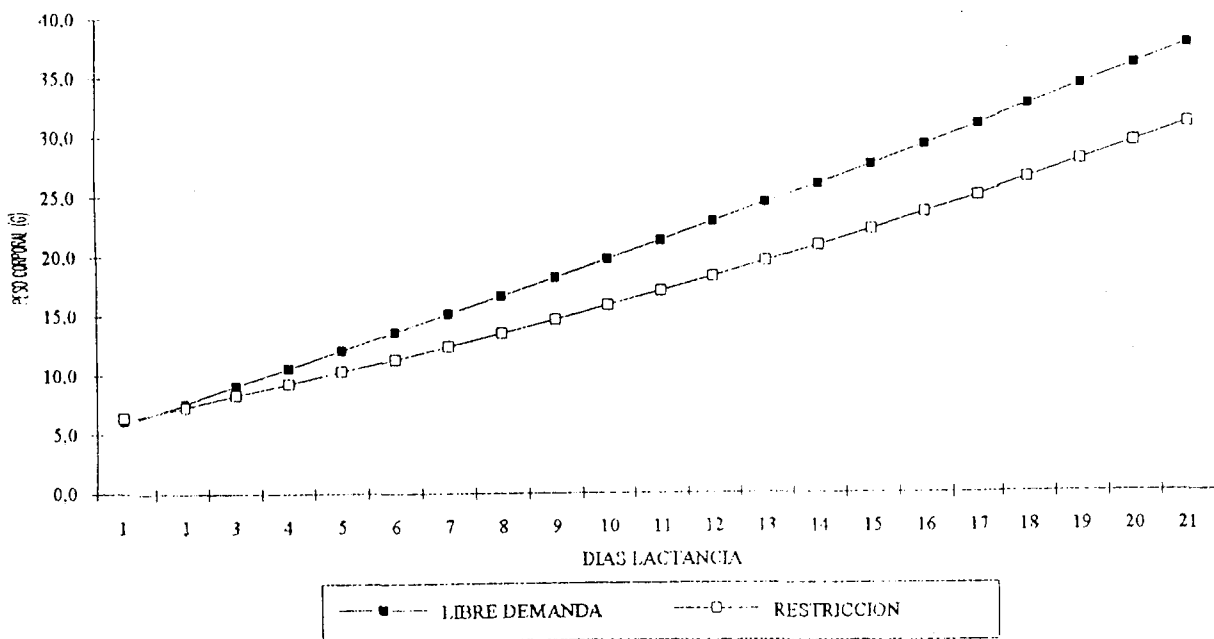


FIGURA 4

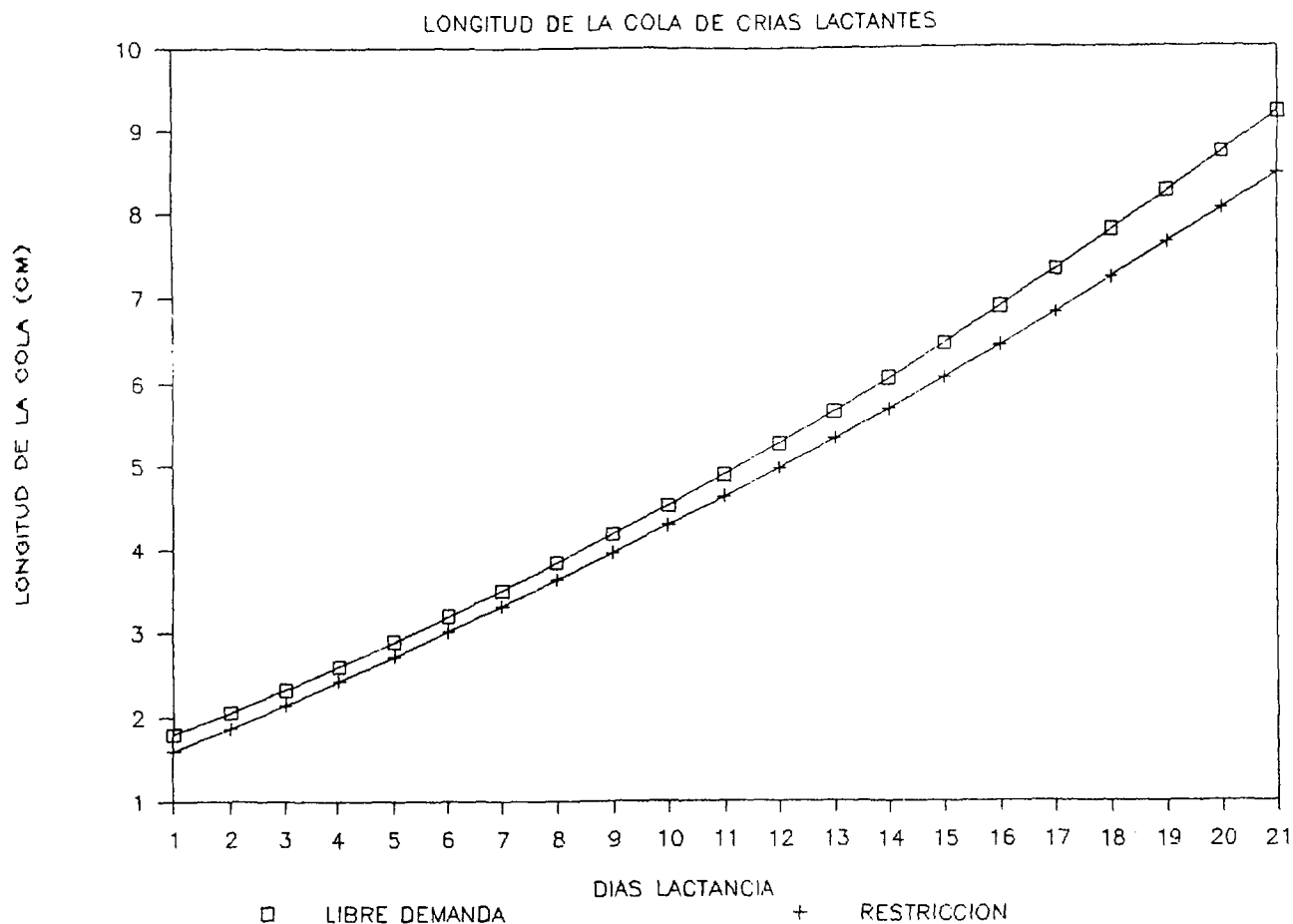


TABLA 1  
PESO HUMEDO Y SECO DEL HIGADO DE LAS  
CRIAS LACTANTES

Días de edad	Peso húmedo gramos		Peso seco mg/tejido total	
	LD	RA	LD	RA
7	0.53 (0.08)	0.47** (0.09)	114.2 (14.9)	98.8** (16.1)
14	0.87 (0.17)	0.72** (0.11)	197.7 (37.9)	164.3** (24.3)
21	1.66* (0.31)	1.31* ** (0.11)	416.3* (61.5)	314.3* ** (27.8)

LD= Crías del grupo alimentado a libre demanda. RA= Crías del grupo con restricción de alimentos. Valores expresados como Promedio (DE) para 5-8 ratas. \*p<0.001 contra 7 días \*\*p<0.01 contra grupo LD.

TABLA 2  
CONTENIDO DE PROTEÍNAS, RNA Y DNA DEL  
HIGADO DE LAS CRIAS LACTANTES

Días de edad	Proteínas		RNA mg / tejido total		DNA	
	LD	RA	LD	RA	LD	RA
7	95.9 (20.5)	79.6** (13.1)	2.3 (0.3)	2.1** (0.5)	1.5 (0.2)	0.8 ** (0.3)
14	148.5 (46.9)	137.0 ** (37.7)	5.3 (0.9)	3.2 ** (0.4)	1.8 (0.4)	1.5 ** (0.3)
21	312.1* (85.0)	269.8*** (33.5)	9.1* (1.4)	6.7*** (0.8)	2.9* (0.7)	1.9*** (0.5)

LD= Crías del grupo alimentado a libre demanda. RA= Crías del grupo con restricción de alimentos. Valores expresados como Promedio (DE) para 5-8 ratas. \*p<0.001 contra 7 días \*\*p<0.05 contra grupo LD.

Músculo. Los pesos húmedo y seco del tejido total aumentaron progresivamente con la edad en ambos grupos, el mayor incremento ocurrió después del día 4 (300%) ( $p < 0.001$ ); al llegar a los 21 días de lactancia se observó que los pesos tanto húmedo como seco del paquete muscular fueron significativamente menores ( $p < 0.05$ ) en las crías RA en comparación de las crías LD (Tabla 3). El contenido muscular proteínico aumentó progresivamente con la edad, con un aumento del 600% entre el 7º ( $53.2 \pm 15.7$  mg) y el 21º día ( $281.2 \pm 62.1$  mg) en el grupo LD y un aumento del 750% entre el 7º ( $27.3 \pm 5.9$  mg) y el 21º día ( $205.5 \pm 44.4$  mg) en el grupo RA ( $p < 0.001$ ). El contenido de proteínas de la masa muscular fue mayor en el grupo LD en comparación al grupo RA ( $p < 0.01$ ). Las concentraciones de RNA y DNA en mg por tejido total presentaron el mismo patrón, aumentaron progresivamente con la edad siendo diferentes en cada tiempo estudiado ( $p < 0.001$ ) y menores en las crías RA en comparación a la crías LD ( $p < 0.01$ ). (Tabla 4).

TABLA 3  
PESO HUMEDO Y SECO DEL PAQUETE MUSCULAR  
DE LAS EXTREMIDADES POSTERIORES DE LAS  
CRIAS

Días de edad	Peso húmedo g / tejido total		Peso seco mg / tejido total	
	LD	RA	LD	RA
7	0.40 (0.05)	0.31 (0.05)	86.74 (15.94)	54.96 (15.92)
14	0.59 (0.16)	0.65 (0.12)	110.29 (32.05)	123.78 (10.62)
21	1.77* (0.32)	1.47* (0.32)	395.11* (79.75)	306.09*** (65.35)

LD= Crías del grupo alimentado a libre demanda. RA= Crías del grupo con restricción de alimentos. Valores expresados como Promedio (DE) para 5-8 ratas. \* $p < 0.001$  contra 7 días \*\* $p < 0.01$  contra grupo LD.

TABLA 4  
CONTENIDO DE PROTEÍNAS, RNA Y DNA DEL  
MUSCULO DE LAS CRIAS LACTANTES

Días de edad	Proteínas		RNA mg / tejido total		DNA	
	LD	RA	LD	RA	LD	RA
7	53.2 (15.7)	27.3 (5.9)	0.9 (0.1)	0.6 (0.1)	0.9 (0.1)	0.4 (0.2)
14	65.7 (23.7)	67.4 (9.3)	1.2 (0.5)	1.1 (0.1)	0.7 (0.2)	0.6 (0.1)
21	281.2* (62.1)	205.5* (44.4)	2.3* (0.4)	2.1* (0.8)	1.2* (0.3)	1.0* (0.3)

LD= Crías del grupo alimentado a libre demanda. RA= Crías del grupo con restricción de alimentos. Valores expresados como Promedio (DE) para 5-8 ratas. \* $p < 0.001$  contra 7 días \*\* $p < 0.01$  contra grupo LD.

## DISCUSION

En los países en vías de desarrollo existen numerosas madres en las áreas rurales y urbanas pobres, las cuales mantienen una lactancia con volúmenes de leche suficientes para el crecimiento de sus hijos a pesar de una nutrición subóptima o marginal (11). Se desconocen cuales son las adaptaciones metabólicas que tiene que efectuar su organismo para poder sostener la demanda impuesta por la lactancia. En este estudio se desarrolló un diseño experimental que nos permite describir el efecto de la restricción de los alimentos iniciada desde el embarazo y continuada durante la lactancia, sobre el crecimiento y desarrollo de la cría. En la rata se ha observado que cuando se disminuye la ingesta de alimento desde el día cero de embarazo, disminuye el número de implantaciones y aumenta la reabsorción de los productos como respuesta a la restricción (12), motivo por el que en este estudio se inicio la restricción de alimento al octavo día de embarazo después de la implantación del huevo (13).

En este estudio la rata adulta alimentada a libre demanda durante la lactancia aumenta su ingesta en un 300% y su peso corporal en un 20% en comparación al tiempo pre-embarazo, datos que coinciden con lo referido anteriormente para ratas de la misma cepa y de edad similar (14). Las crías a partir del día 12 consumen parte del alimento que se le ofrece a la madre, lo cual se puede ver reflejado para ambos grupos en el registro del consumo de alimento de la rata madre. El peso corporal de la rata sometida a restricción de alimento, no alcanzó el peso de la rata alimentada libremente, incluso su peso permaneció similar al peso pre-embarazo, por lo que consideramos que una restricción de alimento del 30% afecta importantemente el estado nutricional de la rata adulta, probablemente debido a una menor acumulación de reservas grasas durante el embarazo (15). Tomando en cuenta el gasto energético que impone la lactancia, el incremento en la ingesta de la rata que amamanta, confirma el papel que presenta la dieta materna en cubrir la demanda impuesta por la síntesis de leche. Las observaciones de que no aumenta el peso corporal en la rata con restricción y de que existe una desaceleración en el crecimiento de sus crías nos sugieren que tal vez la producción láctea se ve afectada, disminuyendo el consumo energético de la cría; sin embargo en este trabajo no medimos la producción ni la composición de la leche de la rata. Otros investigadores han referido que la leche de la rata no se ve modificada a menos que se realice una restricción de alimento por arriba de 60%, observando una disminución en la concentración de proteína, lípidos y lactosa de la leche (16). Diferencias en el diseño hacen difícil una comparación con este trabajo.

A las 24 horas posteriores al parto se realizó el ajuste de la camada a 8 crías, con el cuidado de mantener el número hasta que finalizara la lactancia; el tamaño de la camada representa una variable de confusión que debe ser considerada al estudiar el crecimiento de la cría (17). La valoración de la medición de la longitud de la cola en la rata, ha sido considerada como una

forma práctica y de mayor precisión para el registro del crecimiento longitudinal de la rata. Observamos que al parto no existen diferencias ni en el peso ni en la longitud de las crías de ratas con restricción, es hasta el 5º día postnatal en el caso de la ganancia de peso y en el 16º día en el caso de la longitud, que se observa una desaceleración en el crecimiento de la cría. Las ratas madres sometidas a una restricción de alimento no fueron capaces de sostener el crecimiento de sus crías durante la lactancia.

Para estudiar el efecto de la alimentación materna en la rata que amamanta sobre la composición de los tejidos de la cría, se seleccionó al hígado por ser considerado el órgano principal en el metabolismo de los nutrientes y el músculo esquelético por constituir el 45% del peso corporal total y ser un blanco importante en caso de privación nutricional.

Las crías amamantadas por ratas con deficiente alimentación presentaron un menor desarrollo tanto del hígado como de la masa muscular, probablemente en respuesta a un bajo consumo energético por parte de la cría y debido a una menor producción láctea por parte de la madre. En este trabajo podemos concluir que el consumo insuficiente de alimento por la rata madre presenta un efecto negativo sobre el crecimiento y desarrollo tisular de las crías, por lo que es necesario conocer cual es el efecto directo de la dieta materna sobre la producción y composición de la leche de la rata.

#### REFERENCIAS

- Whithead R.G., M. Lawrence & Prentice A. Maternal nutrition and breastfeeding. *Hum. Nut. Appl. Nutr.*, 40A Suppl:1-10, 1986.
- Moore B.J. & J.A. Brasel. One cycle of reproduction consisting of pregnancy, lactation or no lactation, and recovery. Effects on carcass composition in «ad libitum» fed and food restricted rats. *J. Nutr.*, 114:1548-1559, 1984.
- Roberts S.B. & W.A. Coward. Lactation increase the efficiency of energy utilization in rats. *J. Nutr.*, 114:2193-2200, 1984.
- Lee C.J. & B.F. Chow. Protein metabolism in the offspring on the underfed mother rats. *J. Nutr.*, 87:439-443, 1965.
- Chun-Ja M., N.L. Gelardi & O. William. Growth and cellular composition in rats with intrauterine growth retardation effects of postnatal nutrition. *J. Nutr.* 117:1463-1468, 1987.
- Firmsansyah A., L. Suwandito, D. Penn & E. Lebenthal. Biochemical and morphological changes in the digestive tract of rats after prenatal and postnatal malnutrition. *Am J Clin. Nutr.*, 50:22261-8, 1989.
- Itzhaki R. & A.M. Gill. A microbiuret method for estimating proteins. *Ann Biochem J.*, 224:681-683, 1984.
- Schneider W.C. Method for extraction of nucleic acids. *J. Biol. Chem.*, 161:293-298, 1945.
- Giles W.K. & A. Myers. An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. *Nature (London)*, 206:93, 1965.
- Munro H.N. & A. Fleck. The determination of nucleic acids. *Methods Biochem Anal.*, 14:114-176, 1956.
- Villalpando S., De Santiago S. & S. Flores-Huerta. Maternal nutritional status and milk volume. Is there a cause-effect relationship? *Arch. Lat. Nutr.*, 3:293-303, 1991.
- Lederman S.A. & P. Rosso. Effects of food restriction on fetal and placental growth and maternal body composition. *Growth* 44:77-88, 1980.
- Hastings-Robertss, M.M. & F.J. Zeman. Effects of protein deficiency, paifeeding or diet supplementation on maternal, fetal and placental growth in rats. *J Nutr.*, 1107:973-982, 1977.
- De Santiago S., H. Hernández, S. Flores-Huerta, S. & S. Villalpando. Changes in the composition of mammary tissue, liver and muscle of lactating and weaning rats. *J. Nutr.*, 1221:37-4333, 1991.
- Ozelci A., D.L. Romsos & G.A. Leveille. Influence of initial food restriction on subsequent body weight gain and body fat accumulation in rats. *J. Nutr.*, 108:1724-1732, 1978.
- Rasmunssen K.M. & K.L. Fischbeck. Effect of repeat reproductive cycles on pregnancy outcome in «ad libitum» fed and chronically food-restricted rats. *J. Nutr.*, 117:1959-1966, 1987.
- Mattheij S.A.M., E.F.M. Gruisen & J.J.M. The suckling induced rise of plasma prolactin in lactating rats: Its dependance on stage of lactation and litter size. *Hormone Res.*, 11:3225-336, 1979.

Recibido: 26-10-1993

Aceptado: 07-03-1994