El hígado graso en el Kwashiorkor

DRES. HERNANDO FLORES*, ANNE SEAKINS** y FERNANDO MONCKEBERG*.

Una de las características más notables de la desnutrición proteica Infantil (Kwashiorkor) es la hepatomegalia debido a la infiltración grasa del hígado. Este es un signo comúnmente utilizado para diferenciar el kwashiorkor del otro tipo de desnutrición Infantil, marasmo.

El 50 o más por ciento del peso húmedo del hígado puede ser grasa en el kwashiorkor. Aun que el contenido lipídico del hígado ha sido examinado químicamente sólo en contadas ocasiones, hay acuerdo universal en que el exceso de lípidos hepáticos está constituido prácticamente en su totalidad por triglicéridos. Utilizando una adaptación para micro-cantidades de un método para determinar triglicéridos (1) pudimos establecer que, en efecto éstos constituyen prácticamente toda la grasa hepática en niños con kwashiorkor (Tabla 1).

Se han elaborado diversas hipótesis para explicar patogénesis del hígado graso en el kwashiorkor. Es notable que las observaciones de los distintos investigadores son bastantes similares, a pesar de lo cual las conclusiones sacadas de estos mismos datos son muy diferentes.

Bronte-Stewart (2) sugirió que uno de los factores principales en la infiltración grasa del hígado sería una deficiencia de ácidos grasos esenciales. Schendel y Hansen (3) observaron que, en efecto, en el plasma de pacientes de kwashiorkor en recuperación había un patrón de ácidos grasos reminiscente de la deficiencia de ácidos grasos esenciales, pero interpretaron este dato como el resultado de la gran demanda producida por el gran aumento en las necesidades de transporte de lípidos que se produce durante la recuperación del

kwashiorkor. Esta interpretación está en acuerdo con un estudio posterior de Macdonald y col. (4).

Una de las primeras posibilidades en ser considerada fue la de una deficiencia específica de factores lipotrópicos. Waterlow (5) introdujo colina, metionina o inositol como suplementos en la dieta de niños con kwashiorkor en tratamiento. Los agentes lipotrópicos no tuvieron efecto beneficioso alguno. Posteriormente se ha comprobado que la concentración de fosfolípidos en el hígado, si se descuenta el efecto diluyente del exceso de triglicéridos, es normal en pacientes con kwashiorkor (6).

Además, la concentración de fosfolípidos plasmáticos en estos pacientes está sólo levemente disminuida, y su alza con el tratamiento es de importancia secundaria (4, 7-10).

Lewis y colaboradores (8) postularon que el exceso de grasa hepática proviene de los tejidos de depósito, basados fundamentalmente en la observación de niveles muy altos de ácidos grasos

TABLA 1

COMPARACION ENTRE EL CONTENIDO DE LÍPIDOS TOTALES Y DE TRIGLICERIDOS EN BIOSIAS DE HIGADO DE NIÑOS CON KWASHIORKOR.

Pacientes	Lípidos hepáticos, mg/g Triglicéridos	Totales
A. C.	505	487
E. G.	271	349
I. B.	301	268
L. T.	355	196
A. Q.	419	340

* Departamento de Nutrición y Tecnología de los Alimentos Sede Sur, Universidad de Chile.

** Tropical Metabolism Research Unit, University of the West Indies, Mona, Kingston 7, Jamaica.

libres en el plasma de pacientes con kwashiorkor. La evidencia de estos niveles elevados es, en efecto, muy abundante y consistente (8, 11-15).

Sin embargo, en nuestros pacientes, seleccionados entre niños con kwashiorkor sin complicaciones, el nivel de ácidos grasos libres plasmáticos fue normal (9, 16). En la literatura es frecuente encontrar que los pacientes con kwashiorkor tienen vómitos y diarreas como signos acompañantes del síndrome. Creemos que el stress y ayuno fisiológico que ambos producen pueden explicar la elevación de ácidos grasos libres observada por otros autores, que no necesita estar necesariamente asociada con el kwashiorkor.

La observación de Lewis y colaboradores (8) de que el nivel de ácidos grasos libres plasmáticos retorna rápidamente a valores normales al administrar almidones o sacarosa, pero no proteínas, provee más evidencia en este sentido.

Como ya dijimos, la principal fracción lipídica acumulada en el hígado en el kwashiorkor es triglicéridos. Puede entonces enfocarse el problema desde el punto de vista del metabolismo de estos ésteres. Este enfoque es el que hemos utilizado en una primera aproximación.

Una de las alteraciones del metabolismo de lípidos mejor documentadas en el kwashiorkor es la marcada hipotrigliceridemia que se observa en pacientes no tratados (4, 7-10, 16). También hay abundante evidencia de que inmediatamente de iniciado el tratamiento hay un alza dramática de los niveles de triglicéridos circulantes, a valores mayores que los normales (4, 7-10, 16-19). Esta alza, por su rapidez y magnitud, llevó a Schwartz y Dean (7) a postular que las deficiencias nutricionales que conducen al kwashiorkor producen también un bloqueo de la salida de lípidos desde el hígado. Esta es, precisamente, la hipótesis de mayor aceptación en la actualidad puesto que prácticamente toda la evidencia obtenida con posterioridad a la observación de Schwartz y Dean tiende a apoyarla. A pesar de la diversidad de hipótesis ofrecidas para explicar el mecanismo del hígado graso, la incapacidad relativa del hígado para deshacerse de los triglicéridos es sugerida siempre como un factor contributorio (3, 8, 11).

Waterlow (5) obtuvo evidencia indirecta de que el factor dietario responsable del desengrasamiento hepático durante el tratamiento es proteína. Y Lewis y colaboradores (8) demostraron que los cambios en los niveles de triglicéridos circulantes no ocurren hasta que se introduce proteína en la dieta.

La principal vía metabólica de los triglicéridos circulantes antes del tratamiento como del alza de dichos niveles durante la recuperación (9, 16-19), un hecho que ha sido confirmado empleando otro método de análisis de lipoproteínas plasmáticas (10). La hipótesis planteada es, entonces, que el

alza en triglicéridos plasmáticos durante el tratamiento indica desengrasamiento hepático. Mediante la determinación química de lípidos hepáticos antes y después del alza de triglicéridos circulantes característica del tratamiento del kwashiorkor hemos podido comprobar que, efectivamente, hay una disminución de un 50% en el nivel de lípidos hepáticos durante este período (Figura 1). La importancia de esta observación radica en que podría utilizarse esta respuesta de los triglicéridos circulantes como indicador de la evolución del síndrome durante el tratamiento, dada su rapidez y sensibilidad.

Figura 1.— Correlación entre los cambios en la concentración de triglicéridos en la lipoproteína sérica de muy baja densidad y en el hígado durante la recuperación del kwashiorkor. Adaptado de Ref. 16, cortesía del Editor Br. J. Nutr.

En experimentos "in vitro", con hígados de rata perfundidos, Heimberg y colaboradores (20) observaron que los componentes de la lipoproteína de densidad menor que 1,019, que incluye VLDL, se liberan al líquido de perfusión guardando una proporción constante. Sobre esta base, los autores propusieron que el bloqueo de la síntesis de cualquiera de los componentes de la lipoproteína (proteína, fosfolípidos, colesterol, ésteres de colesterol) produce un bloqueo en la síntesis de esta misma, y por ende, hígado graso.

Hay pocos estudios acerca de la composición de VLDL humana. Durante la recuperación del

kwashiorkor hemos observado que la proporción de triglicéridos, fosfolípidos y colesterol en la fracción de lipoproteínas de densidad menor que 1.063 es bastante constante (16). Por otro lado, Schonfeld (21) ha encontrado que durante la inducción por carbohidratos en pacientes con hiperlipemia hay un alza en la razón triglicéridos-proteína en la fracción VLDL, indicando que la lipoproteína puede tener una sobrecarga de triglicéridos. En un estudio reciente más extensivo analizamos la composición de VLDL obtenida de plasma de adultos normales bajo diferentes regímenes dietarios, de niños con kwashiorkor antes, durante y después del tratamiento y de niños recuperados de desnutrición consumiendo dietas de diferente contenido graso, y encontramos una notable constancia en la proporción de los componentes, incluyendo proteína (Figura 2). Más aún, los datos de Schonfeld

Figura 2.— Correlación entre la concentración de los diversos componentes de la lipoproteína sérica de muy baja densidad. Las muestras fueron obtenidas de niños con desnutrición proteica (kwashiorkor) en diversas etapas de su recuperación, así como de sujetos normales.

obtenidos de individuos normales calzan sorprendentemente bien en nuestras ecuaciones de regresión. Parece entonces que, si exceptuamos a los pacientes con hiperlipemia, VLDL se comporta como una entidad química definida, y la proposición de Heimberg y colaboradores (20) sería aplicable también a humanos. Esta evidencia valida la hipótesis de que en el kwashiorkor el defecto está a nivel de la síntesis del apoapéptido de la VLDL (16). Esta hipótesis se basó en la idea generalmente aceptada de que la etiología dietaria del kwashiorkor en una muy baja ingesta proteica y en la asociación observada entre la presencia de hígado graso y niveles muy bajos de beta globulina parece contener la apoproteína circulante de VLDL (22) descrita por Roheim y colaboradores (23).

No parece factible obtener mayores evidencias acerca del mecanismo propuesto a partir de observaciones o experimentación en humanos. Por ello decidimos intentar la obtención de un modelo animal adecuado para experimentación. A pesar de que en general la rata es considerada un muy mal sustrato para la producción de signos similares al kwashiorkor, no había en la literatura referencia a la utilización de otras que ratas adultas, de 200 o más gramos de peso al momento de iniciar la depleción proteica. En estas condiciones es, efectivamente, muy difícil obtener signos reales de carencia de proteínas, presumiblemente porque en el animal adulto la gran masa proteína muscular actúa como reserva, impidiendo una real depleción a nivel de órganos como el hígado. Razonando de esta forma, tuvimos éxito en la obtención de una rata depletada de proteínas con signos de todo similares al kwashiorkor en niños, por el sencillo expediente de utilizar ratas al momento del destete, o algo más jóvenes (24). En un plazo de 8 días las ratas ya tenían hígado graso, hipoproteinemia, hipotrigliceridemia, evidencias de edema y de lesiones carenciales específicas, a pesar de que la dieta carente de proteínas era adecuada en todos los demás nutrientes.

A los 15 días de consumir la dieta aprroteica los signos de depleción proteica eran más evidentes, de forma que elegimos este tiempo para utilizar el modelo animal. Los parámetros principales medidos en estas ratas se muestran en la Tabla 2.

Gran importancia en el diseño de los experimentos posteriores tuvo el excelente trabajo publicado por Roheim, Miller y Eder (23) acerca de los factores que inciden en la liberación de lípidos, especialmente triglicéridos, al medio de perfusión por hígados de rata perfundidos. En breve, estos autores proveyeron sólida evidencia de que existe en el plasma de ratas normales un apoapéptido, libre de lípidos, que actúa como sustrato en la síntesis especialmente de VLDL, vale decir,

TABLA 2
DESNUTRICION PROTEICA EN RATAS

	<i>Normales</i>	<i>Desnutridas</i>
Peso corporal, g	75,0 ± 2,4 *	21,4 ± 1,8
Proteinemia, g/100 ml.	6,3 ± 0,6	3,4 ± 0,2
Triglicéridos séricos, m/100 ml.	29,3 ± 2,8	18,0 ± 1,8
Triglicéridos hepáticos, mg/g	5,1 ± 0,7	17,6 ± 2,4

* Media ± ES.

Tomada de la ref. 24: Por cortesía del Editor, J. Nutr.

proporcionando la matriz proteica de la lipoproteína. Aún cuando este apo-peptido no había sido aislado —tampoco lo ha sido hasta la fecha— una preparación muy cruda de plasma que lo contiene servía adecuadamente para utilizarla en nuestros estudios. Es así como pudimos comprobar que la inyección de esta preparación cruda, libre de lípidos, produce, en ratas con hígado graso debido a depleción proteica, un marcado aumento del nivel de triglicéridos circulantes (Fig. 3). No sólo observamos este efecto en las ratas con depleción proteica sino que la inyección de esta preparación cruda de apoproteína indujo una mayor incorporación de un ácido graso marcado en triglicéridos séricos (Tabla 3) y explicable en su totalidad por la incorporación de la marca en triglicéridos de la fracción VLDL (Tabla 4 (24)). Estos resultados fueron interpretados como un aumento de la síntesis de VLDL inducido por la inyección del apo-peptido de la lipoproteína, y se concluyó que en las ratas depletadas de proteínas, y probablemente también en el kwashiorkor humano, la disponibilidad del apo-peptido es limitante para la síntesis de VLDL.

Figura 3.— Efecto de la apoproteína de la lipoproteína de muy baja densidad sobre el nivel de triglicéridos séricos en ratas con hígado graso debido a depleción proteica. El grupo de animales control recibió albúmina isóloga en vez de apoproteína (línea interior). De la referencia 24, por cortesía del Editor, J. Nutr.

TABLA 3

INCORPORACION DE ACIDO OLEICO —I— 131
EN TRIGLICERIDOS PLASMATICOS

El ácido oleico marcado se inyectó por vía intramuscular a tiempo 0. A los 60 min. se inyectó una fracción cruda de suero conteniendo la apolipoproteína de VLDL ó albúmina. Las ratas se sacrificaron a los 150 minutos.

<i>Tratamiento</i>	<i>Normales</i>	<i>Desnutridas</i>
Apolipoproteína	18.176 ± 2.873	35.417 ± 4.665
Albúmina	29.982 ± 7.900	9.335 ± 2.000
P.	0,10	0,05

TABLA 4

INCORPORACION DE ACIDO OLEICO —I— 131
EN TRIGLICERIDOS DE VLDL SERICA EN RATAS
NORMALES

<i>Tratamiento</i>	<i>Triglicéridos totales cpm/ml</i>	<i>Triglicéridos en VLDL, cpm/ml</i>	<i>Total VLDL</i>
Apolipoproteína	4.220	4.360	1,03
"	7.900	8.140	1,03
"	6.450	7.670	1,18
Albúmina	21.800	13.300	0,61
"	10.200	7.020	0,69
"	12.600	10.420	0,83

Los efectos mencionados más arriba, sin embargo, no se observaron en ratas normales, en las que un factor distinto de la disponibilidad de la apoproteína sería el limitante para la síntesis de VLDL.

Concluyente y alentador como puede ser el resultado de los experimentos descritos en ratas, aparentemente enmascararon en esa oportunidad otros factores que inciden en el metabolismo de lípidos en la desnutrición proteica y en general, en la respuesta del animal a la depleción proteica especialmente en lo que se refiere a la infiltración grasa del hígado. En efecto, experimentos posteriores han demostrado que en ratas con bajo peso corporal al momento de iniciar la administración de la dieta carente de proteínas, la incidencia de hígado graso al final del período experimental es considerablemente menor. En los casos extremos, las ratas son incapaces de desarrollar hígado graso. (Fig. 4). En estas últimas ratas, que debían su bajo peso a una infección pulmonar, pudimos observar que la síntesis de triglicéridos en el hígado está marcadamente disminuida, lo que explicaría la ausencia de hígado graso (Tabla 5).

Figura 4.— Relación entre el peso de las ratas al momento de empezar la depleción proteica (destete) y su capacidad para desarrollar hígado graso. Grupo A: ratas con hígado graso. Grupo B: ratas sin hígado graso. Ambos grupos ingirieron una dieta apoproteica durante 15 días.

TABLA 5

INCORPORACION DE ACIDO OLEICO —I— 131
EN TRIGLICERIDOS HEPATICOS EN RATAS

Las ratas normales y de bajo peso se seleccionaron 10 min. después de la inyección intravenosa de ácido oleico —I— 131.

Los lípidos hepáticos se fraccionaron por cromatografía en ácido silícico.

Ratas	Normales	Bajo peso	Bajo peso y depleción proteica
Triglicéridos hepáticos, mg/g	5,1	2,1	1,4
Incorporación de marca, % de la dosis	2,4	0,7	0,49

Generalmente se insiste en que el kwashiorkor y el marasmo son los extremos entre los cuales hay una gradiente con una variada gama de signos clínicos y bioquímicos. Es probable que los resultados obtenidos en estas ratas desnutridas antes de comenzar la depleción proteica ayudan a dilucidar los factores que inciden en la ocurrencia de cuadros intermedios de desnutrición infantil. En este sentido podemos también señalar la significativa relación existente entre nivel de triglicéridos circulantes y edad de pacientes con kwashiorkor que presentan hígado graso (Fig. 5). Con estos antecedentes, es comprensible que se hayan encontrado algunos cuadros de metabolismo de lípidos distintos de los descritos hasta ahora en pacientes con hígado graso debido al kwashiorkor. Así, Coward y Whitehead, en Sudáfrica (25) informan que algunos de sus pacientes con kwashiorkor presentaron, al ingreso al hospital, niveles elevados de VLDL plasmática. En un estudio realizado en

Figura 5. Relación entre el nivel de triglicéridos plasmáticos en ayunas y la edad de pacientes jamaicanos con kwashiorkor.

Figura 6. Niveles de triglicéridos plasmáticos en ayunas en pacientes jamaicanos con kwashiorkor antes y después del tratamiento. Los 3 grupos A, B, y C, se dividieron arbitrariamente de acuerdo a si los niveles subieron, se mantuvieron o bajaron después del tratamiento.

Jamaica (26) se estableció que, efectivamente hay tres grupos de pacientes en lo que respecta al nivel de triglicéridos plasmáticos antes del tratamiento, que presentan niveles bajos, como los ya descritos, niveles normales y niveles altos (26) (Fig. 6). Las causas de estos cuadros poco corrientes no están aún dilucidadas.

Otro factor que tiene también incidencia en el metabolismo de lípidos, y por ende, sobre los resultados de observaciones y experimentos en este

campo, es el nivel de lípidos de la dieta. La respuesta del nivel de triglicéridos plasmáticos a cambios del contenido de lípidos dietarios entre 25 y 60% de las calorías es muy rápida y marcada, como hemos establecido tanto en pacientes recuperados de desnutrición infantil (Figura 7) (27) como en voluntarios adultos normales (Tabla 6).

Parce evidente que la ingesta de lípidos debe también ser considerada cuando se fijan los niveles "normales" de triglicéridos circulantes.

Figura 7.— Efecto de cambios en el contenido de lípidos de la dieta sobre el nivel de triglicéridos plasmáticos en ayunas de niños preescolares. Línea continua: el cambio se hizo de una dieta que contenía un 60% a otra que contenía un 26% de calorías grasas. El cambio se hizo el día 0. La línea quebrada indica el cambio opuesto.

TABLE 6

EFEECTO DE LA INGESTA DE LÍPIDOS SOBRE EL NIVEL DE TRIGLICÉRIDOS SÉRICOS EN AYUNAS EN 5 VOLUNTARIOS ADULTOS

Entre paréntesis se indica el contenido de lípidos de las dietas como porcentaje de las calorías totales ingeridas. Las dietas se prepararon utilizando alimentos comunes, cuidando de que primaran los de alto contenido graso. En el día 0 se indica la ingesta habitual de lípidos de los sujetos.

Días en la dieta experimental →	Triglicéridos séricos, mg/100 ml.			
	0	1	2	3
HF	188,3 (20,6)	105,0 (70,6)	89,0 (67,9)	78,1 (70,4)
AS	136,0 (39,6)	93,1 (75,4)	74,1 (71,5)	70,6 (71,8)
MS	114,0 (35,1)	71,5 (70,1)	49,5 (73,0)	67,0 (74,2)
CA	100,6 (22,0)	44,8 (65,9)	40,9 (69,6)	67,4 (73,6)
AA-H	56,6 (43,2)	39,6 (65,9)	41,6 (69,6)	48,4 (73,6)

AGRADECIMIENTOS:

Este trabajo ha sido financiado por grants del NIH HDO 3741-12 y de la Comisión de Investigación Científica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, proyecto (69-54) 25014262. Parte de él fue realizado en el Tropical Metabolism Research Unit, University of the West Indies, Jamaica, mientras H. F. hacía uso de una beca del Wellcome Trust, Londres. La versión presentada aquí incluye, con la gentil autorización de Raven Press, datos presentados en el International Symposium on Dietary Lipids and Postnatal Development, Milán, octubre de 1972 (28) al que H. F. asistió gracias a un grant de la Ford Foundation.

En diversos aspectos inéditos de este trabajo colaboraron los Dres. Oliver Brooke y Ann Ashworth — Hill de la University of the West Indies, Jamaica, G. Mutebi, alumno de la misma Universidad, Mireya Fernández y Guillermina Szklarz de la Universidad de Chile, estos últimos como parte de tesis requeridas por sus planes de estudio. Los Profesores J. C. Waterlow (London School of Hygiene and Tropical Medicine) G. A. O. Alleyne (University of the West Indies) y los Dres. David Piccu y Douglas Kerr (Tropical Metabolism Research Unit, University of the West Indies) han aportado valiosas sugerencias.

También en aspectos inéditos del trabajo prestaron valiosa colaboración técnica Carmen Amos (Jamaica) y L. Salinas (Universidad de Chile).

REFERENCIAS

- 1.— Carlson L. A. Determination of serum triglycerides J. Atheroscl Res. 3: 334, 1963.
- 2.— Bronte Stewart B. In Recent Advance in human Nutrition by J. F. Brock, p. 182 Ed. Churchill, London 1961.
- 3.— Schendel, H. E. & Hansen J. D. L. Studies in Fat metabolism in kwashiorkor II Serum polyunsaturated Fatty acids Am. J. Clin. Nutr. 9: 735, 1961.
- 4.— Mac Donald I., Hansen J. D. L. & Bronte Stewart B. Liver depot and serum lipids during early recovery from kwashiorkor Clin. Sci. 24: 55, 1963.
- 5.— Waterlow J. C. Fatty liver disease in Infants in the British West Indies. Medical Research Council, Special Report Series Nº 263, London, 1948.
- 6.— Chatterjee K. K. and Mukherjee K. L. Phospholipids of the liver in children suffering from protein-calorie undernutrition. Brit. J. Nutr. 22: 145, 1968.
- 7.— Schwartz R. & Dean R. F. A. The serum lipids in kwashiorkor J. Trop. Pediat. 3: 23, 1957.

- 8.—*Lewis B., Hansen J. D. L., Wittman W., Krut L. H. & Stewart F.* Plasma free fatty acids in kwashiorkor and the pathogenesis of the pathogenesis of the fatty liver. *Am. J. Clin. Nutr.* 15: 161, 1964.
- 9.—*Flores H., Pak N., Maccioni A., & Monckeberg F.* Lipid Transport in kwashiorkor. Abstracts of the 37th. Annual Meeting of the Society for Pediatric Research, Abril 1967, Atlantic City, U. S. A. p 143.
- 10.—*Truswell A. S., Hansen J. D. L., Watson C. E. & Wannenburg P.* Relation of serum lipids and lipoproteins to fatty liver in kwashiorkor. *Am. J. Clin. Nutr.* 22: 568, 1969.
- 11.—*Fletcher K.* Observations on the origin of liver fat in infantile malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* 19: 170, 1966.
- 12.—*Lewis B., Wittman W., Font L. H., Hansen J. D. L. & Brock J. F.* Free fatty acid flux through plasma in protein-malnutrition of infants. *Clin. Sci.* 30: 371, 1966.
- 13.—*Rao K. S. J. & Prasad P. J. K.* Serum triglycerides and non-esterified fatty acids in kwashiorkor. *Am. J. Clin. Nutr.* 19: 205, 1966.
- 14.—*Hadden D. R.* Glucose free fatty acid and insulin interrelations in kwashiorkor and marasmus. *Lancet* ii: 589, 1967.
- 15.—*Milner R. D. G.* Metabolic and hormonal responses to glucose and glucagon in patients with infantile malnutrition *Pediat. Res.* 5: 33, 1971.
- 16.—*Flores H., Pak N., Maccioni A., & Monckeberg F.* Lipid Transport in kwashiorkor. *Br. J. Nutr.* 24 1005, 1970.
- 17.—*Monckeberg F.* Alteraciones bioquímicas en la desnutrición Infantil, *Nutr. Bromatol. Toxicol.* 5: 31, 1966.
- 18.—*Monckeberg F.* Adaptation to caloric and protein restriction in Infants. In *Caloric deficiencies and protein deficiencies*, p. 91. Ed. R. A. McCance y Widdowson E. M. London J. and A. Churchill Ltd.
- 19.—*Cravioto J., De la Pena, C. L. & Burgos G.* "Fat metabolism in chronic, severe malnutrition: lipoprotein in Children with kwashiorkor" *Metabolism* 8: 722, 1959.
- 20.—*Heimberg M., Weinstein I., Dishmon G. & Fried M.* Lipoprotein lipid transport by livers from normal and CCL4 poisoned animals. *Am. J. Physiol.* 209: 1053, 1965.
- 21.—*Schonfeld G.* Changes in the composition of VLDL during carbohydrate induction in man. *J. Lab. Clin. Med.* 75: 206, 1970.
- 22.—*Lees R. S.* Immunological evidence for the presence of S. protein (apoprotein of B-lipoprotein) in normal and abetalipoproteinemic plasma. *J. Lipid Res.* 8: 396, 1967.
- 23.—*Roheim P. S., Miller L. & Eder H. A.* The formation of plasma lipoprotein from apoprotein in plasma. *J. Biol. Chem* 240: 2994, 1965.
- 24.—*Flores H., Siervalta W., & Monckeberg F.* Triglyceride transport in protein - depleted rats. *J. Nutr.* 100: 375, 1970.
- 25.—*Coward. W. A. and Whitehead. R. G.* Quantitative changes in serum proteins fractions during the development of kwashiorkor and in recovery. *Br. J. Nutr.* 28: 433, 1972.
- 26.—*Flores H., & Seakins A.* Abstracts of the XVI Annual Meeting of the Standing Advisory Committee for Medical Research in the British Caribbean. Bridgetown. Barbados 1971, p. 14.
- 27.—*Seakins A. & Flores H.* Dietary fat and serum triglycerides. Abstracts of the XV Annual Meeting of the Standing Advisory Committee for Medical Research in the British Caribbean. Kingston, Jamaica, 1970, p. 9.
- 28.—*Flores H., Seakins A. and Monckeberg F.* Mechanism of Fatty Liver in Infantile Malnutrition. En Galli G., Jacini C. and Pecile A., editors: *Dietary Lipids and Postnatal Development*, New York: Raven Press, c. 1973.