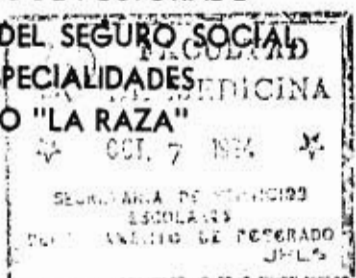


11227
86
201



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
CENTRO MEDICO "LA RAZA"



EFFECTO HIPOLIPEMIANTE DEL AGUACATE TIPO HASS EN PACIENTES CON HIPERLIPIDEMIA ADQUIRIDA



TESIS DE POSTGRADO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

DIVISION DE EDUCACION MEDICA Y DE INVESTIGACION MEDICA MEDICO ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA

P R E S E N T A :

DR. LUIS FELIPE RAMIREZ MUÑOZ

Asesor: Dr. Raúl López Ledesma



MEXICO

1995

FALLA DEL ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO MÉDICO "LA RAZA"

EFFECTO HIPOLIPEMIANTE DEL AGUACATE TIPO HASS
EN PACIENTES CON HIPERLIPIDEMIA ADQUIRIDA

TESIS DE POSTGRADO QUE
PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA,

PRESENTA:

DR. LUIS FELIPE RAMÍREZ MUÑOZ
MÉDICO RESIDENTE DE TERCER AÑO
DE LA ESPECIALIDAD DE MEDICINA
INTERNA.

ASESOR:

DR. RAÚL LÓPEZ LEDESMA
MÉDICO ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA
SUBJEFE DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DEL
CENTRO MÉDICO "LA RAZA"

AGRADECIMIENTOS

A MIS PADRES POR SU AMOR

A MIS MAESTROS POR SUS ENSEÑANZAS

INDICE

| | |
|--------------------------------------|----|
| INTRODUCCION..... | 1 |
| HIPOTESIS..... | 5 |
| MATERIAL Y METODOS..... | 6 |
| ESCALA DE MEDICION DE VARIABLES..... | 8 |
| GRAFICAS COMPOSICION DIETARIA..... | 9 |
| DIETA | 11 |
| RESULTADOS..... | 12 |
| GRAFICAS..... | 15 |
| DISCUSION DE RESULTADOS..... | 18 |
| BIBLIOGRAFIA..... | 22 |

INTRODUCCION.

Es relativamente raro que la enfermedad coronaria cardiaca y la trombosis en la población de esquimales este presente, y esto probablemente es atribuido a los hábitos dietéticos. (1,2)

Los animales marinos de regiones árticas contienen grandes cantidades de ácidos grasos (omega-3). El principal ácido graso omega-3 del aceite de pescado es el ácido graso eicosapentaenoico (C20:5) y el docosahexaenoico (C22:6). Estos ácidos son raramente contenidos en las dietas ordinarias que usualmente contiene ácidos grasos saturados y monoinsaturados.

Desde hace más de 20 años, se ha fundamentado que las grasas poliinsaturadas tienen un efecto hipocolesterolémico cuando es sustituido por grasas saturadas en la dieta. (3,4).

Desde que el aceite de pescado poliinsaturado parecía que no era más efectivo que el aceite de vegetales en la disminución de los niveles plasmáticos de colesterol, (5) además las exploraciones de efectos hipolipidémicos no fueron puestos en práctica.

Los recientes descubrimientos de que los derivados de las prostaglandinas de ácidos eicosapentaenoico tienen efectos biológicos diferentes que de los derivados del ácido araquidónico (C20:4 omega 6) han generado aún más interés en los aceites de pescado. (6)

En un estudio que comparo aceite vegetal (girasol y aceite de maíz) , con aceite de salmón y un grupo control con dieta típica americana, las dietas sólo difirieron en la composición de ácidos grasos por 4 semanas; cada dieta proveía 40% de calorías como grasa, 15% como proteínas y 45% como carbohidratos. La dieta de aceite vegetal fue idéntica a la del grupo control excepto por la mezcla de girasol y aceite de maíz (diferente para reducir la cantidad de los esteroides de la planta de 1,000 a 300mg/dl) provistos de la dieta grasa. (7)

Ya desde estudios previos en 1950 se conocía el efecto hipocolesterémico de los aceites marinos pero sin haberse apreciado el efecto hipotriglicéridémico (3). En estudios más recientes en la alimentación con aceite de pescado ha invariablemente permitido obtener niveles de triglicéridos más bajos. Siendo los omega-3 hipotriglicérimiantes que los omega-6 probablemente porque los omega-3 proveen alrededor de 2.75 veces más "insaturación" que los omega-6. (7)

La dieta de aceite vegetal ofrecio un ratio de 2.7 a 1.0 de ácidos grasos omega-3 provenientes de aceites de salmón, pero ambos ofrecieron el mismo efecto hipocolesterolemico. (7)

Sin embargo hay otros estudios que sí han mostrado disminución de los niveles plasmáticos de triglicéridos (9).

Acorda a este reporte del efecto hipotrigliceridémico en un estudio comparativo de sujetos normales y pacientes hipertrigliceridémicos examinados por un período dietético de 10 días.(9)

La reducción similar de los triglicéridos plasmáticos y de las VLDL niveles de colesterol (-38%) después de la dieta de aceite con salmón sugieren que la caída en los niveles de triglicéridos ocurre de la reducción del total de VLDL en el rango sanguíneo que en el cambio en la composición del lípido de VLDL. Siendo los omega-3 los que tienen una disminución en la síntesis o secreción de VLDL. Otros posibles mecanismos incluyen: (1) las alteraciones estructurales en las lipoproteínas tienden a cambiar en sus interacciones con enzimas lipolíticas. (2) cambios en la composición de la membrana plasmática de los lípidos alterándose la afinidad de los receptores de membrana para las lipoproteínas(10). (3). Una influencia inhibitoria de los ácidos omega-3 en la biosíntesis hepática de cada ácido graso(11), triglicéridos o apolipoproteínas B o en el ensamble o secreción de VLDL.

El aguacate es un fruto rico en grasas y particularmente en ácido oleico, un ácido graso monoinsaturado que ha mostrado tener un efecto benéfico sobre el perfil de lípidos realizándose un estudio sobre 10 pacientes sanos voluntarios

5 hombres y 5 mujeres con edad promedio de 24 +/- 7 años a los que se administró una dieta que contenía el 30% del total de calorías como grasas de la cual el 75% provenía del aguacate variedad HABB dicha dieta duró cuatro semanas se midió colesterol total (CT), triglicéridos (TG), colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL), y se calculó el colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (LDL).

El colesterol total disminuyó de 162.9 +/- 31.5 (control) a 140 +/- 19.6 mg/dl a las 4 semanas (p<0.05) las HDL se incrementaron de 56 +/- 4.5 (control) a 63.4 +/- 7.3 mg/dl (4 semanas) (p<0.01). Las LDL sufrieron un decremento de 70.8 +/- 23.6 (control) a 42.7 +/- 14.9 mg/dl al término del estudio (p<0.01). Los TG no cambiaron en forma significativa. Estos datos muestran el efecto que el aguacate tiene sobre el perfil de lípidos, en la población sana.

Dentro de la literatura actual no se encuentran reportes acerca del efecto hipolipemiante del aguacate, en estados de hipertrigliceridemia o hipercolesterolemia.

HIPOTESIS

SI EL AGUACATE TIPO HASS TIENE EFECTO HIPOLIPEMIANTE,
LOS SUJETOS CON HIPERLIPIDEMIA ADQUIRIDA, SOMETIDOS A UNA
DIETA RICA EN AGUACATE, TENDRAN DESCENSO DE LOS NIVELES
SERICOS DE LIPIDOS.

MATERIAL Y METODOS.

Se incluyeron 30 sujetos divididos en dos grupos: grupo 1 control, 15 pacientes sanos; grupo 2, quince pacientes con hiperlipidemia adquirida, seleccionados de la consulta externa del Hospital de Especialidades del Centro Médico "La Raza", durante el periodo comprendido de noviembre 1993 a enero 1994. Edades comprendidas entre los 18 y 80 años de edad, que reunieran los siguientes criterios de inclusión:

- Pacientes de ambos sexos.
- Con diagnóstico previo de hiperlipidemia.
- Sin tratamiento hipolipemiante 7 días antes del estudio.
- Que participaran voluntariamente en el estudio

Se consideraron criterios de No inclusión, el ser diabético, HIV positivos serologicamente, paciente con cáncer metastásico o terminal, portador de colagenopatías, síndromes nefróticos de cualquier etiología, condiciones que contraindicaran la vía oral y pacientes críticamente enfermos. Fueron excluidos de este estudio, pacientes que durante el mismo desarrollaran descontrol metabólico y aquellos que presentaran intolerancia a la dieta a base de aguacate tipo Hass.

A todos ellos se les realizó historia clínica completa; orientándose sobre las consecuencias agudas y crónicas de las hiperlipidemias no tratadas. Posteriormente los pacientes fueron valorados por el servicio de Nutrición y Dietética, otorgándoseles dieta impresa y características de consumo de la misma. (Anexo 1). La composición de la dieta se muestra en las gráficas 1 y 2.

Se realizaron dos tomas de muestras sanguíneas, la primera antes de iniciar el manejo dietético, la segunda 7 días después; ambas a las 7:00 a.m. posterior a un ayuno de 8 horas aproximadamente. Se determinaron niveles de: colesterol total, triglicéridos, HDL y LDL, los valores de referencia de los mismos se muestran en la tabla 2.

Los resultados obtenidos se procesaron en base al método estadístico de T de student. $p > 0.0001$.

ESCALA DE MEDICION DE VARIABLES

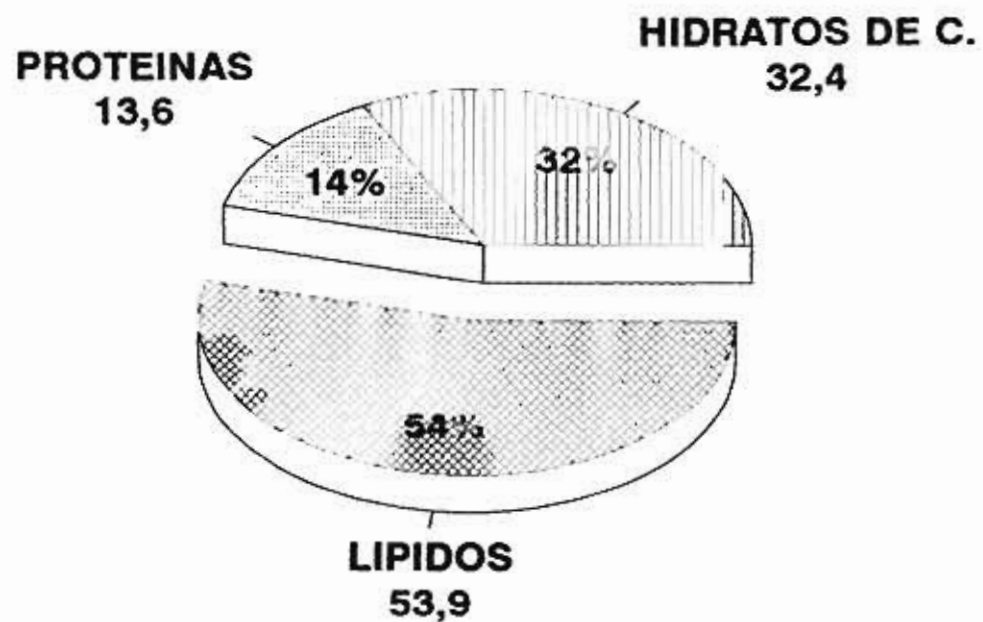
(TABLA 2)

| | |
|---|-------------------|
| TRIGLICERIDOS TOTALES..... | MENOS DE 200mg/dl |
| COLESTEROL..... | HASTA 200 mg/dl |
| LIPOPROTEINAS DE ALTA DENSIDAD (HDL)..... | MAS DE 35 mg/dl |
| LIPOPROTEINAS DE BAJA DENSIDAD (LDL)..... | 80 A 100 mg/dl |

AGUACATE E HIPERLIPIDEMIA

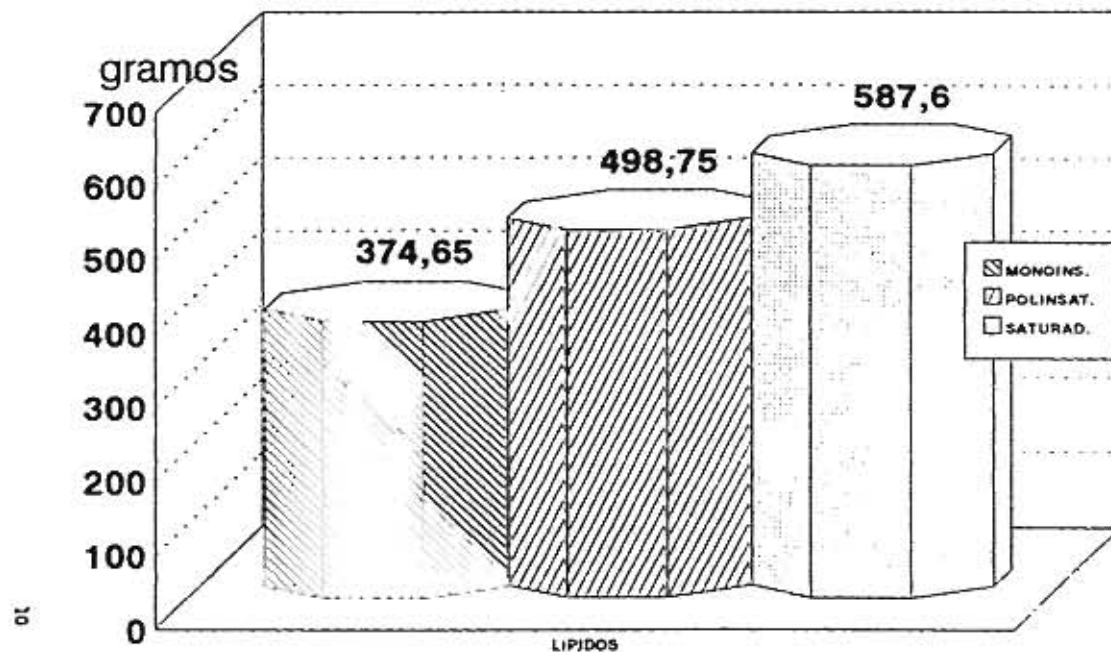
DIETA PROTOCOLIZADA : RELACION P/S .84/1.17

TOTAL DE CALORIAS: 2048
FIBRA : 30.32 g. s/incluir
aguacate



AGUACATE E HIPERLIPIDEMIA

PORCENTAJE DE GRASAS EN LA DIETA PROTOCOLIZADA
RELACION P/S .84/1.17



HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO MEDICO LA RAZA
DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y DIETETICA

ANEXO 1

PLAN DE ALIMENTOS PARA PROTOCOLO (EFECTO HIPOLIPEMIANTE)

| DESAYUNO | CANTIDAD | |
|----------------------|----------|--------------------|
| ALIMENTO | | |
| LECHE | 200 ML | 1 VASO |
| HUEVO* | 100 GR | 1 RACION |
| FRUTA | 150 GR | 1 RACION GRANDE |
| PAN BIMBO | 40 GR | 2 REB. |
| AGUACATE (HASS) | 100 GR | FAVOR DE PESAR |
| COMIDA | | |
| ARROZ** | 200 GR | 1 RACION |
| CARNE GUIBADA | 60 GR | 1 " " |
| VEGETALES | 100 GR | 1 TABA |
| FRUTA | 100 GR | 1 RACION |
| BOLILLO | 40 GR | |
| AGUACATE (TIPO HASS) | 200 GR | FAVOR DE PESAR |
| AGUA DE SABOR | | SUFICIENTE |
| CENA | | |
| LECHE | 200 ML | 1 VASO |
| QUESO FRESCO | 60 GR | 1 RACION |
| FRUTA | 150 GR | 1 RACION |
| PAN BIMBO | 40 GR | 2 REB. |
| MANTEQUILLA | 5 GR | 1 CUCHARADA |

* NO ES OBLIGATORIO DIARIAMENTE

**PUEDE SUPLIRSE POR _____

FECHA DE INICIO DE DIETA _____ PESO _____, EDAD, _____

FECHA DE TERMINO DE DIETA _____ " _____.

NOMBRE _____

RESULTADOS

El grupo estuvo constituido por 15 pacientes dislipidémicos, seis hombres y nueve mujeres (Gráfica 1). Sus edades comprendidas entre los 21 y 70 años, $x=43.2$ años.

Todos los pacientes aceptaron llevar a cabo el tratamiento dietético y así mismo todos concluyeron el estudio.

Los niveles promedio de colesterol previos a dieta fueron de 307.9393 mg, con una desviación estándar (DE) de 42.88. Los registrados al término de la misma fueron de 265.8667 mg, con una desviación estándar de 31.73296, $p = 0.00001$. Cuadro 1.

| COMPARACION COLESTEROL BASAL VS COLESTEROL POSTDIETA | | | |
|--|-----|----------|---------------------|
| VARIABLE | OBS | MEDIA | DESVIACION ESTANDAR |
| BASAL | 15 | 307.9333 | 33.89597 |
| POSTDIETA | 15 | 265.8667 | 31.73296 |
| DIFF. | 15 | 42.06667 | 22.62573 |

$H_0: dif = 0$ (datos pareados)

$t=7.20$ con 14 d.f.

$Pr > t=0.00001$

Los niveles de triglicéridos en la toma inicial fueron de 174.9333 mg con una DE = 19.31863, posterior al manejo dietético se situaron en 129.9333 mg, DE=8.353499.

Con una p 0.00001. Cuadro 2.

| Variable | Obs | Media | Desviación Estándar |
|-----------|-----|----------|---------------------|
| Basal | 15 | 174.9333 | 19.31863 |
| Postdieta | 15 | 129.9333 | 8.353499 |
| Diff. | 15 | 45 | 16.96214 |

H₀: dif = 0 (datos pareados)

t = 10.27 con 14 d.f.

Pr >t = 0.00001

Los niveles de HDL, previos al tratamiento dietético fueron de 49.26667 mg con una DE=16.59805, posterior al tratamiento los niveles se ubicaron en una media de 56.4 mg con una DE =16.9513. con una p 0.00001. Cuadro 3.

| Variabls | Obs. | Media | Desviación Estándar |
|-----------|------|-----------|---------------------|
| Basal | 15 | 42.26667 | 16.59805 |
| Postdieta | 15 | 56.4 | 16.9613 |
| Dif. | 15 | -7.133333 | 3.461351 |

H₀: dif =0 (datos pareados)

t =-7.98 14 d.f.

Pr>t = 0.00001

Todos los pacientes refirieron disminución de peso, al término del periodo de dieta rica en aguacate, no obstante las diferencias basal y postdieta, no fueron estadísticamente significativas.

Los resultados finales promedio de los niveles de triglicéridos, colesterol, DHL y LDL, se muestran en la gráfica 2. Así mismo los valores para el grupo control, sanos se muestran en la gráfica 3.

PACIENTES CON DISLIPIDEMIA DIETA HIPOLIPEMIANTE CON AGUACATE

MUJERES 60%



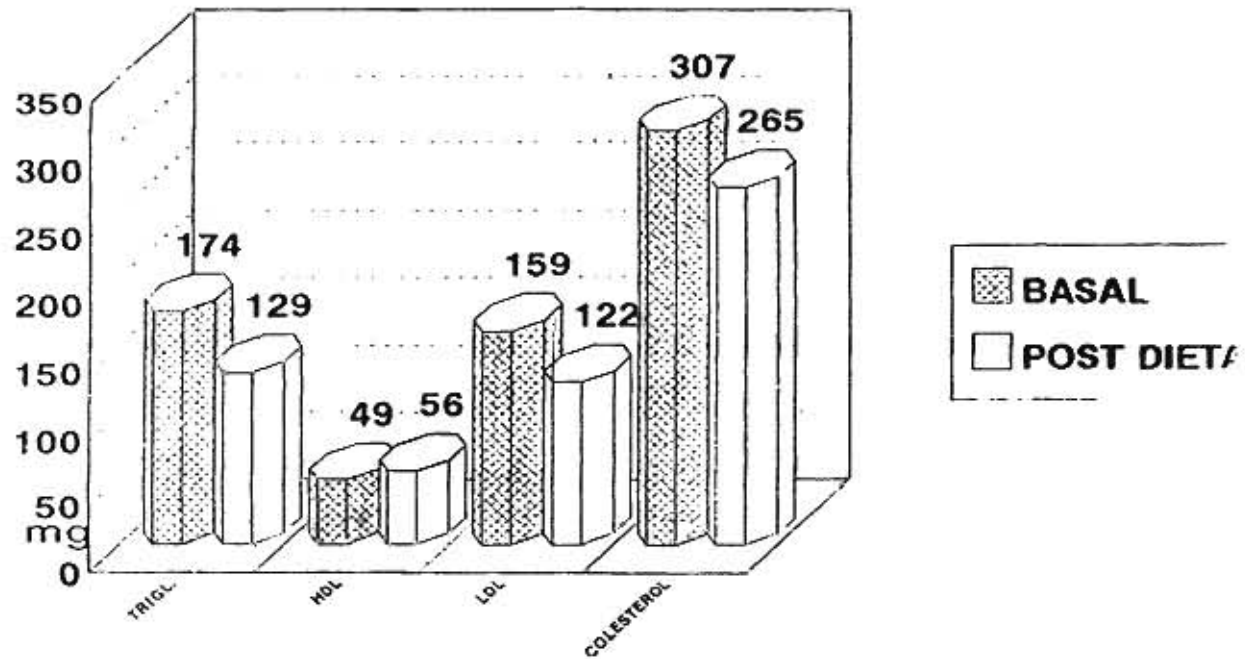
HOMBRES 40%

GRAFICA 1

FUENTE:HOJA CONTROL PROTOCOLO rmlf

AGUACATE E HIPERLIPIDEMIA

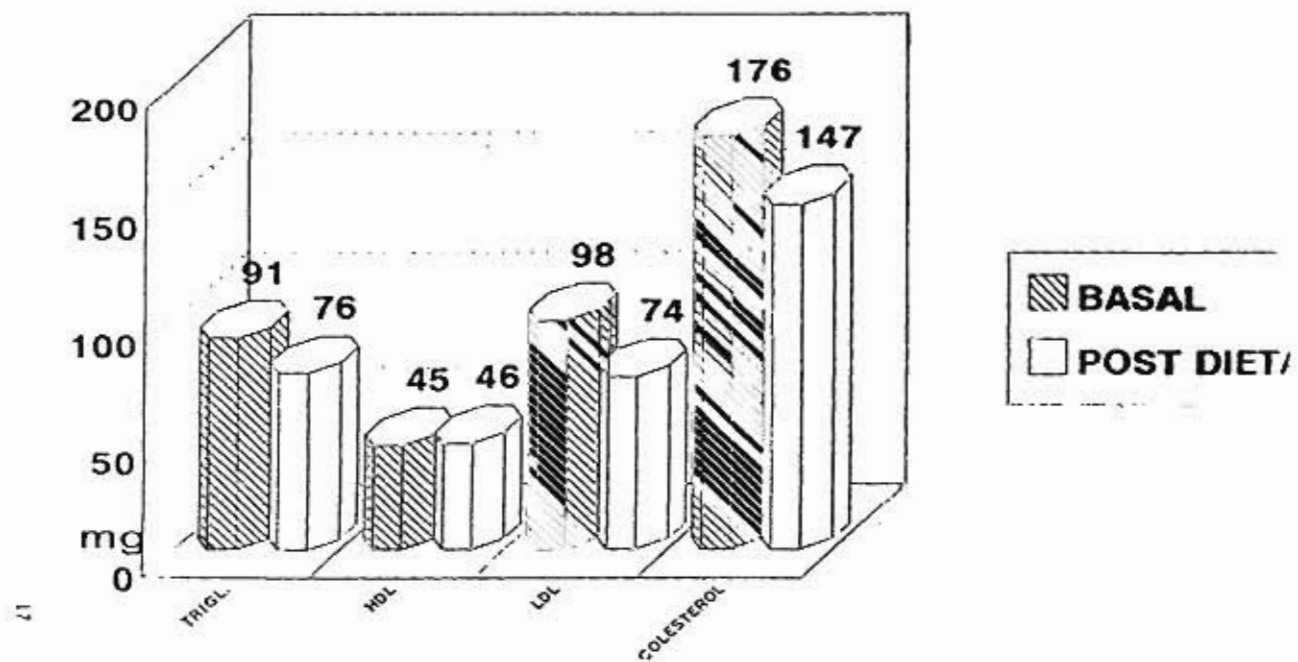
RESULTADOS PRE Y POST DIETA
GRUPO DE DISLIPIDEMICOS



AGUACATE E HIPERLIPIDEMIA

RÉSULTADOS PRE Y POST DIETA

GRUPO DE CONTROLES SANOS



DISCUSION DE RESULTADOS

Los hallazgos registrados en este estudio, confirman la hipótesis planteada, demostrando que existe un efecto hipolipemiante del aguacate en la hiperlipidemia adquirida, tanto en niveles séricos de colesterol y triglicéridos, así como sus respectivas lipoproteínas (LDL y VDL), tanto en el grupo estudio, como en el grupo control. Es de suma importancia recalcar, que no se esperaba reducción de los niveles séricos de lípidos en individuos sanos y la disminución de estos, no obstante no tener diferencias estadísticamente significativas entre los registro basal y postdieta, son dignos de tomarse en cuenta para futuras investigaciones.

Por estudios previos de W-3, en la década de los cincuentas, se observó un efecto hipocolesterolémico, pero no se apreció una acción hipotrigliceridémica. (3-5). En estudios más recientes se aprecia una invariable disminución del nivel de triglicéridos. (1).

Este mismo efecto ha sido demostrado en W-6, contenido en aceite de maíz, oliva y girasol básicamente. (4). Ningún otro estudio, hasta el momento, ha comparado el uso de aceite de pescado y de aceites vegetales poliinsaturados, en el mismo tipo de individuos con dietas controladas.

La dieta utilizada, se consideró en base a un consumo total de 2.048 calorías con 3032 gramos de fibra. Todos los individuos se refirieron con sensación de plenitud ante el consumo de la misma, así como de consumo placentero, considerando este hecho importante para la nula deserción observada en el presente estudio.

El motivo del uso del aguacate se planteó con el fin de investigar nuevos alimentos, que sean económicos y agradables a la dieta mexicana y a su vez que pudieran ser benéficos al paciente con dislipidemia. Por otra parte el paciente puede llevar a cabo el tratamiento sin necesidad de vigilancia intrahospitalaria, por lo que los costos totales de atención, se reducen en forma importantes.

No obstante no se contó con un grupo alterno, en que se considera el manejo exclusivo de dieta ordinaria controlada (sin aguacate), ya que son conocidos los resultados previos de otros estudios, en los hay diferencia significativa de reducción benéfica de lípidos con el consumo de w-3 y w-6.

Es conveniente estadificar el tiempo de consumo de la dieta, la mayoría de los estudios varían en el periodo del mismo, ofreciendo rangos de una hasta 4 semanas. Se ha demostrado un efecto hipotriglicéridémico en dietas ricas en aceite vegetal en sujetos examinados por un periodo de 10

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

días (9). En un estudio que involucró periodos dietéticos más prolongados (7 a 9 semanas por periodo), el aceite vegetal no tuvo ningún efecto en los niveles plasmáticos de triglicéridos (13). En nuestro estudio se evaluó el efecto agudo de la dieta sobre la hiperlipidemia, registrándose un efecto importante como ya se ha mencionado, no obstante se requiere continuar el control de estos pacientes, a fin de determinar el tiempo de duración de estos efectos.

Hay referencias contradictorias acerca del uso de aceites poliinsaturados de origen vegetal, refiriéndose a disminución de los niveles de HDL-colesterol en algunos estudios (13-14). Estos hallazgos previos, no concuerdan con nuestro estudio, en el que encontramos una elevación significativa de HDL colesterol.

El o los mecanismos exactos por los cuales el aguacate tipo Hass, influye en los lípidos plasmáticos, no se determinó en este estudio, muy probablemente sea por un efecto similar que en el aceite de pescado, resultado de una hidrólisis más rápida y la remoción de partículas VLDL, enriquecidas por ácidos grasos W-3, o por una inhibición en la síntesis o secreción de VLDL. Otros potenciales mecanismos que deben ser considerados incluyen: 1) alteraciones estructurales inducidas en las lipoproteínas a un cambio en

sus interacciones con las enzimas lipolíticas, 2) cambios en la composición de los lípidos de la membrana plasmática, alterando la actividad interenzimática de las membranas para las lipoproteínas (10). Y 3), una influencia inhibitoria de los ácidos grasos libres del tejido adiposo y una disminución en la síntesis de triglicéridos hepáticos. Las prostaglandinas derivadas de los ácidos eicosapentaenoico o del araquidónico inhiben levemente la liberación de ácidos grasos del tejido adiposo, así mismo la acción de las prostaglandinas en la lipólisis, es poco claro. (15).

Se han informado del efecto de la dieta de aceite salmón en la composición lipídica de las plaquetas y su función. Las plaqueta enriquecidas en ácidos grasos W-3, resultan con una prolongación en el tiempo de sangrado y reducción de su adhesividad; este mismo efecto se ha buscado como apoyo nutricional en patología del tejido conectivo, aterosclerosis y recientemente en SIRS Y SIDA. (16).

Se requieren nuevos estudios que consideren periodos de consumo y de mantenimiento de efectos por mayor tiempo, así como de manejo de variedades distintas al aguacate tipo Hass, a fin de determinar los mecanismo englobados en sus efectos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Bang, H.O., Dyerberg J., Hyorne N., "The composition of food consumed by Greenlandic Eskimos". Act Med Scand 220:69-73, 1976.
- 2.- Dyerberg J, Bang H.O., Antonis A., Eales L., et. al. Effects of unsaturation and effects of corn (maize) oil on the serum cholesterol level in man. Lancet 11:66-68; 1967.
- 3.- Bronte-Stewart B., Antonis A., Eales L., et al. "Effects of feeding different fats on serum cholesterol levels"; Lancet 1: 521-526, 1956.
- 4.- Keys A., Anderson JT, Grande F: "Essential" fatty acids degree of unsaturation and effects of corn (maize) oil on the serum cholesterol level in man. Lancet 1:66-68, 1957.
- 5.- Ahrens EH, Insull W, Hirs J. et al. "The effect on human serum lipids of a dietary fat, highly unsaturated, but poor in essential fatty acids. Lancet 1: 115-119, 1959.
- 6.- Needleman P, Raz A, Minkes MS, Ferrandelli JA, Sprecher H: "Triene prostaglandins: prostacyclin and thromboxane biosynthesis and unique biological properties". Proc Natl Acad Sci USA 76: 944-948, 1979.
- 7.- W.B. Harris, W. E. Connor and M.P. McMurry. "The Comparative Reduction of the Plasma lipids and Lipoproteins by Dietary Polyunsaturated Fats: Salmon Oil Versus Vegetable Oil". Metabolism 32(2). Feb. 1983.

- 8.- Nestle PJ, Havenstein N, Scott TW, et al: "Polyunsaturated, ruminant fats and cholesterol metabolism in man". Aust NZ J Med 4:497-501, 1974.
- 9.- Chait A, Onitoria A, Nicoll A, et al: Reduction of serum triglyceride levels by polyunsaturated fat. Studies on the mode of action and very density lipoprotein composition. Atherosclerosis 20:347-364, 1974.
- 10.- Gavigan SJP, Knight BL: "Catabolism of low density lipoprotein by fibroblasts culture in medium supplemented with saturated or unsaturated free fatty acids". Biochem Biophys Acta 665:632-635, 1981.
- 11.- Iritani N, Inoguchi K, Endo M, et al "Identification of shell fish fatty acids and their effects on lipogenic enzymes". Biochem Biophys Acta 618: 318-382, 1980.
- 12.-Shepherd J, Packard CJ, Taunton D, et al: Effects of dietary fat saturation on the composition of very low density lipoproteins and on the metabolism of their major apoprotein, apolipoprotein B. Biochem Soc Trans 6:779-81, 1978.
- 13.-Turner JD, Le N-A, Brown WV:Effect of changing dietary fat saturation on low density lipoprotein metabolism in man. Am J Physiol 241:E57-E63 1981.

14.-Sherperd J, Packard CJ, Grundy SM et al: Effect of saturated and polyunsaturated fat diets on the chemical composition and metabolism of low density lipoproteins in man J Lipid Res 21:91-99 1980.

15.-Lipinski BA, Mathias MM: Prostaglandin production and lipolysis in isolated rat adipocytes as effected by dietary fat. Prostaglandins 16:957-963, 1978.

16.-Bel AL, Cerre FB, 271(3). 226-233. 1994.