

Reimpreso de la Revista del Colegio Médico de Guatemala

VOL. IX

MARZO 1958

NUM. 1

**Investigación de Deficiencia de
Riboflavina en Mujeres Embarazadas
de la Ciudad de Guatemala**

DR. GUILLERMO ARROYAVE
DR. SALVADOR VALENZUELA
LIC. AMALIA FAILLACE

Investigación de Deficiencia de Riboflavina en Mujeres Embarazadas de la Ciudad de Guatemala *

DR. GUILLERMO ARROYAVE, PH. D., ** DR. SALVADOR VALENZUELA, M. D. ***
Y LIC. AMALIA FAILLACE, F. Q. ****

INSTITUTO DE NUTRICION DE CENTRO AMERICA Y PANAMA (INCAP) *****
GUATEMALA, C. A.

INTRODUCCION

Encuestas dietéticas realizadas previamente entre grupos de áreas rurales (1-3) y en niños de edad pre-escolar de áreas urbanas de bajo nivel económico de Guatemala (4), han puesto en evidencia un consumo muy limitado de alimentos de origen animal que como la leche, carne y huevos, son fuentes muy apreciables de riboflavina. Los estudios clínicos realizados sobre tales grupos han demostrado estados de desnutrición en general, pero en contra de lo esperado, no se han encontrado con la frecuencia correlativa a tal deficiencia alimenticia, los signos clínicos específicos de arriboflavinosis (5).

- * El presente estudio se llevó a cabo con la asistencia financiera prestada por la Nutrition Foundation, Inc., Nueva York, N. Y.
- ** Jefe de la División de Bioquímica Clínica, INCAP.
- *** Jefe de la Sección de Nutriología y Dietética del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS).
- **** Esta investigación es parte del trabajo de tesis presentado por la Señorita Amalia Faillace, previo a obtener el título de Farmacéutica Química.
- ***** El Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) es un Instituto cooperativo dedicado al estudio de la nutrición humana, sostenido por los Gobiernos de Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicaragua y Panamá, y administrado por la Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional para las Américas de la Organización Mundial de la Salud. Publicación Científica INCAP E-142.

Los niveles séricos de riboflavina investigados por nosotros en grupos de madres embarazadas y de escasos recursos económicos, tampoco han reflejado la deficiencia que era de esperarse para esta vitamina (6).

Durante el embarazo, los requerimientos de todos los nutrientes esenciales se encuentran aumentados, condición que necesariamente debe de ser contrarrestada mediante un aumento en la ingesta de los mismos. Las deficiencias dietéticas apuntadas asociadas a este aumento de los requerimientos, hacen de las mujeres embarazadas un grupo vulnerable al desarrollo de afecciones de tipo nutricional. La arriboflavinosis es pues de esperarse como manifestación patológica prominente y frecuente, en mujeres pertenecientes a aquellos grupos que presentan ingesta deficiente de alimentos fuentes de riboflavina, durante su estado de gravidez.

Los estudios de Braun y colaboradores (7), efectuados sobre un total de 900 mujeres embarazadas en Palestina y de muy baja condición económica, pusieron de manifiesto que durante el embarazo y principalmente durante el último trimestre, la demanda de riboflavina aumenta en forma verdaderamente notable, circunstancia que llegó a precipitar signos bien definidos de arriboflavinosis en el 20% del grupo de madres estudiadas por ellos. Brzezinski y colaboradores (8), en un estudio que practicaron en 325 embarazadas divididas en cuatro grupos de acuerdo con las cantidades de riboflavina excretada por la orina pudieron comprobar que existía una correlación significativa entre las concentraciones urinarias más bajas y cierto número de complicaciones del parto, embarazo y lactancia, referidas co-

mo: prematuridad, muerte fetal *in utero*, vómitos durante el embarazo, hipogalactea y agalactea. Warkany y Schraffenberger (9), han observado, experimentando con ratas, que las malformaciones congénitas pueden estar asociadas a una dieta materna deficiente en riboflavina. Nelson (10), en una publicación reciente, hace una revisión de los aspectos más importantes de esta interrelación.

Bessey y colaboradores (11), han informado que los niveles séricos de riboflavina, especialmente de riboflavina libre, no son un índice fiel del estado nutricional en relación con esta vitamina, proponiendo la determinación de la riboflavina total en los glóbulos rojos como un dato de mayor exactitud a este respecto. Lossy y colaboradores (12), encontraron que la medida de la excreción urinaria durante un período de 4 horas inmediatamente después de la administración de 5 mg. de riboflavina, es bastante satisfactoria como elemento de prueba para diferenciar entre sujetos que reciben una dieta apropiada y otros que presenten ingesta deficiente de riboflavina, pero que, por el contrario, no tiene valor suficiente para los efectos diferenciales entre sujetos «testigo» y pacientes afectados de signos clínicos característicos de deficiencias del complejo «B». Más recientemente Horwitt y colaboradores (13), han demostrado una relación manifiesta entre la cantidad de riboflavina ingerida y su excreción urinaria en un período de cuatro horas, después de una dosis de 1 mg. de riboflavina administrada por vía parenteral.

Basándonos en lo anteriormente expuesto y considerando la importancia que encierran para la salud pública todos los aspectos nutricionales maternos, hemos iniciado este estudio tomando como sujetos de experimentación un grupo de madres guatemaltecas de escasos recursos económicos, haciendo uso de la prueba de excreción urinaria propuesta por Horwitt y colaboradores (13).

MATERIAL

El material humano seleccionado consistió en un grupo de 33 mujeres embarazadas que asistían a la consulta prenatal del Centro Materno Infantil del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social.

Con el objeto de obtener una homogeneidad aproximada entre los sujetos de nuestro estudio, éstas fueron escogidas entre pacientes con residencia urbana en esta capital, de condición económica mediana y comprendidas dentro de las 27 y 32 semanas de embarazo, por considerar que durante este último período, los requerimientos de riboflavina para el crecimiento fetal alcanzan sus niveles máximos. A pesar de haber tomado muy en consideración el primero de estos requisitos (condición económica),

se encontraron diferencias nutricionales muy notables entre los sujetos escogidos, como se verá más tarde en la sección titulada «Resultados y Discusión».

PROCEDIMIENTO Y METODOS

Todas las pacientes comprendidas en el estudio fueron sometidas al examen obstétrico y clínico no-obstétrico correspondientes. La parte obstétrica del examen estuvo encomendada a los señores médicos especialistas en la materia que prestan servicios en el Centro. El examen clínico no-obstétrico fue efectuado por uno de los autores (S. V.), quien también efectuó las encuestas dietéticas correspondientes y el examen de signos clínicos de carácter patológico no-nutricional y nutricional, principalmente en lo que se refería a signos de arriboflavinosis.

En un registro individual, se anotaron los datos correspondientes a la encuesta dietética y hallazgos clínicos que denotaran alguna deficiencia nutricional, poniéndose especial interés en la información cuantitativa del consumo de alimentos fuentes de riboflavina y en los signos específicos de arriboflavinosis.

Fueron descartadas todas aquellas pacientes que presentaron signos de afecciones patológicas que no siendo de carácter nutricional, pudieran influenciar en alguna forma, la fijación tisular o eliminación urinaria de la dosis de riboflavina inyectada en cada caso. Así también fueron eliminadas del estudio todas aquellas pacientes que hubiesen estado recibiendo suplementos de drogas multivitamínicas.

Después de los estudios clínicos y dietéticos mencionados, cada paciente fue citada al Centro para el día siguiente por la mañana, no en estado de ayuno, para ser inyectadas con una dosis de 1 mg. de riboflavina previo vaciamiento vesical, para luego recolectar cuidadosamente toda la orina eliminada en 4 horas después de la inyección.

Las muestras de orina recolectadas fueron envasadas en frascos ambar usando tolueno como preservativo. Inmediatamente la muestra fue acidificada con ácido acético glacial hasta una concentración del 2% y refrigerada hasta su análisis que en todos los casos se efectuó dentro de los tres días posteriores a su recolección.

La solución de riboflavina empleada se preparó siguiendo el procedimiento siguiente: se disolvieron 33 mg. de la substancia pura previamente desecada sobre pentóxido de fósforo en 100 cc. de solución salina isotónica a la temperatura de ebullición, y se envasó en frascos oscuros de 10 cc. de capacidad que fueron sellados a máquina. Después de esterilización al autoclave durante 15 minutos a 120 libras

de presión, se determinó por fluorometría (14) la concentración final de riboflavina en la solución preparada, encontrándose que 1 mg. de riboflavina estaba contenido en 3.9 cc. de solución.

Las concentraciones urinarias de riboflavina fueron determinadas por métodos fluorométricos siguiendo la técnica de Hodson y Norris (14), con algunas modificaciones. Las sustancias interferentes fueron oxidadas con permanganato de potasio y agua oxigenada. La mezcla así tratada fue sometida a purificación posterior pasándola por una columna de Florisil 60 a 100 «mesh» y eluyendo la riboflavina presente en la orina, con una solución de piridina en ácido acético. La fluorescencia de la muestra se midió haciendo uso del fluorómetro de Bauer y Pfaltz.

A partir de los datos dietéticos registrados en cada caso, se practicó una estimación bastante aproximada de las cantidades de leche, carne y huevos consumidas semanalmente por cada individuo. Se consideró que esta estimación sería de importancia para nuestros propósitos porque, como ya lo hemos indicado, estos alimentos constituyen fuentes muy ricas de riboflavina. No se hicieron estimaciones con respecto a ciertos alimentos de origen vegetal, frijoles, tortillas, verduras, etc., ya que aun cuando algunos de ellos sí pueden contener cantidades apreciables de riboflavina, no todos constituyen fuentes tan importantes como las de origen animal; y también porque de acuerdo con lo referido por el grupo de pacientes estudiado, el consumo de estos últimos mostró variaciones muy pequeñas.

Tomando como base la anterior información, se procedió a establecer los cálculos relativos a la cantidad de riboflavina que cada una de nuestras pacientes obtenía de su ingesta semanal de los alimentos de origen animal indicados. Para establecer estas proporciones, se hizo uso de la «Tabla de Composición de Alimentos de Centro América y Panamá» (15), de la cual se obtuvieron los siguientes valores de riboflavina en mg. por 100 g.: leche de vaca hervida, 0.21; carne cocida con hueso, 0.17; huevos, 0.41; y queso de leche desnatada, 0.60.

Por no contarse con información específica en cada caso de alimento, se consideró que en todos los individuos, la leche consumida fue leche de vaca hervida, la carne fue carne de cocer y de res y que todo el queso fue hecho de leche desnatada.

Para estimar el grado de deficiencia de cada una de nuestras pacientes, en lo que se refería específicamente a riboflavina, procedimos a determinar la relación existente entre la cantidad de riboflavina excretada por la orina de cada una de nuestras pacientes en el término de 4 horas y la dosis de 1 mg. que fue empleada como procedimiento de prueba indicado.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla I presentamos los datos relativos a las cantidades de leche, huevos, carne y quesos, consumidos semanalmente por cada una de las personas incluidas en la investigación.

TABLA I
INGESTA SEMANAL DE PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL

Nº	Pacientes	Leche vasos	Huevos unidades	Carne onzas	Queso onzas
1	E. M.	0	0	9	1/2
2	I. H.	2	0	24	2
3	M. C. de G.	0	3	36	2
4	E. G. de C.	0	2	9	2
5	C. R. de R.	0	2	12	3
6	C. A. A.	0	0	9	2
7	E. S. L.	3	0	8	0
8	E. F. de L.	4	0	24	1 1/2
9	A. L. P.	0	2	24	2
10	L. M. V.	0	2	36	6
11	M. G. de C.	4	3	24	0
12	M. G. M.	0	5	9	3
13	M. G. L. V.	6	0	8	2
14	M. M. H.	0	0	24	0
15	E. V.	2	1	6	2
16	M. C. T. A.	2	0	6	1
17	M. F. A.	6	0	6	3
18	O. N. U.	2	6	12	3
19	G. P. de S.	0	12	24	6
20	J. I. P.	2	2	12	6
21	V. M.	6	0	12	3
22	A. M. R.	4	2	18	3
23	A. de R.	6	0	8	6
24	G. G. S.	12	2	24	2
25	H. V. de V.	6	0	6	3
26	M. R. de R.	6	3	12	1
27	T. G. de C.	6	3	30	6
28	C. O.	24	6	12	6
29	R. de R.	6	6	18	3
30	A. de R.	6	3	24	6
31	B. G. de R.	12	6	24	3
32	A. V. de B.	6	6	24	2
33	E. G. O.	24	6	24	4

En la Tabla II hemos tabulado los siguientes datos: 1) las cantidades de riboflavina derivada de la ingesta de alimentos de origen animal consumidos semanalmente por cada paciente; 2) cantidades de riboflavina excretados por la orina de cada paciente durante las 4 horas de la prueba; y 3) las cantidades de riboflavina expresadas en por ciento de la dosis de 1 mg. retenido por cada paciente durante la prueba.

De la observación de la Tabla I, puede deducirse fácilmente que existió una heterogeneidad nutricional en el grupo estudiado. Esta gran variabilidad es resultante principalmente del consumo de leche, el cual osciló entre 0 vasos por semana hasta la cantidad de 24 vasos en el mismo período. Hubo un total de 10 embarazadas que no consumían ni un solo vaso de leche en la semana y apenas 2 que consumían un total de 24 vasos por semana. El resto de 21 sujetos también mostró una gran variación en este consumo, oscilando entre 2 vasos por semana y una cantidad máxima de 12 en el mismo período.

Por el contrario, el consumo de carne fue bastante similar en todos los casos, aunque deberíamos advertir que los datos proporcionados por los sujetos con respecto al consumo de este alimento, son probablemente los que están sujetos a un mayor margen de error. Ello se debe a la circunstancia de que en dichos datos se considera la cantidad de carne servida, sin tomar en cuenta las proporciones de «desgaste» de la misma, o sea las partes no utilizables (hueso, cartílagos, aponeurosis, grasa superficial), condición que es prácticamente imposible de especificar adecuadamente, en tipos de encuesta dietética como la practicada en el presente estudio.

Del análisis de la Tabla II puede confirmarse claramente que, en términos generales, se demostró una relación consistente entre la cantidad de riboflavina de origen animal consumida y la cantidad de la vitamina retenida por los tejidos de las pacientes en estudio. Indudablemente existen casos aislados en los que esta relación no pudo demostrarse, tal como el caso G.G.S. con una ingesta diaria de 1,196 mcg. de riboflavina de origen animal, quien retuvo un 71.5% de la dosis inyectada, mientras que la que corresponde a las iniciales H.V. de V. con una ingesta de más o menos la mitad de riboflavina de origen animal (571 mcg. al día), retuvo 69.7% de la dosis inyectada, es decir más o menos lo mismo. Sin embargo, debemos de considerar que estos datos han sido deducidos de la información del propio paciente y que, en todo caso, por sutil que sea el investigador al practicar una encuesta, siempre estará sujeto y obligado al registro de datos falsos, que en forma involuntaria

TABLA II

RELACION ENTRE LA INGESTA DE RIBOFLAVINA PROVENIENTE DE ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL Y LA EXCRECION EN LA PRUEBA DE CUATRO HORAS

Nº	Pacientes	Ingesta de riboflavina proveniente de alimentos de origen animal (mcg. diarios)	Excreción de riboflavina en 4 horas (mcg.)	Riboflavina retenida en la prueba de 4 horas (por ciento de la dosis)
1	E. M.	78	56	94.4
2	I. H.	376	62	93.8
3	M. C. de G.	418	68	93.2
4	E. G. de C.	187	80	92.0
5	C. R. de R.	234	80	92.0
6	C. A. A.	121	87	91.3
7	E. S. L.	283	101	89.3
8	E. F. de L.	513	109	89.1
9	A. L. P.	296	114	88.6
10	L. M. V.	487	116	88.4
11	M. G. de C.	580	122	87.8
12	M. G. M.	461	127	87.3
13	M. G. L. V.	553	130	87.0
14	M. M. H.	174	165	83.5
15	E. V.	279	165	83.5
16	M. C. T. A.	219	171	82.9
17	M. F. A.	571	171	82.9
18	O. N. U.	525	174	82.6
19	G. P. de S.	715	177	82.3
20	J. I. P.	462	183	81.7
21	V. M.	614	229	77.1
22	A. M. R.	586	243	75.7
23	A. de R.	663	251	74.9
24	G. G. S.	1196	285	71.5
25	H. V. de V.	571	303	69.7
26	M. R. de R.	668	367	63.3
27	T. G. de C.	928	413	58.7
28	C. O.	2253	557	44.3
29	R. de R.	869	558	44.2
30	A. de R.	885	566	43.4
31	B. G. de R.	1363	591	40.9
32	A. V. de B.	886	694	30.6
33	E. G. O.	2289	758	24.2

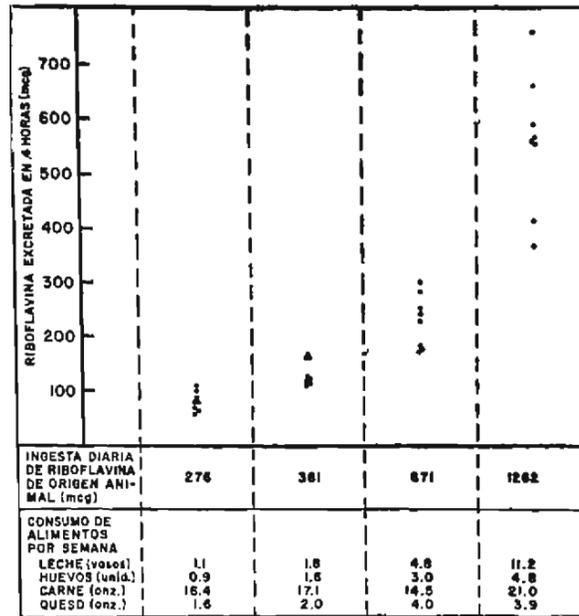
o intencional, pueden ser referidos por el paciente objeto de estudio. Además, debemos hacer hincapié en el hecho de que la riboflavina de alimentos vegetales no fue considerada.

En esta misma Tabla también podemos observar que las excreciones urinarias de la vitamina en cuestión, durante el período de 4 horas de prueba, estuvieron también sujetas a variaciones de gran amplitud, oscilando entre un valor mínimo de 56 mcg. y uno máximo de 758 mcg., resultando la cifra de 171 mcg. como la mediana de excreción urinaria en el grupo de 33 muestras examinadas durante la prueba de 4 horas.

La Gráfica 1 nos muestra los sujetos estudiados agrupados en «cuartiles» alrededor de la mediana de 171 mcg. de riboflavina excretada en las 4 horas de prueba. De este ordenamiento resultan 4 grupos con 8 muestras en cada uno para hacer el total de las 32 muestras restantes. Los valores de los cuartiles respectivos fueron en mcg. por 4 horas: 107, 171, 303 y 758. En el eje horizontal de la gráfica aparecen las cantidades promedio de riboflavina derivada de alimentos de origen animal consumidos diariamente por cada grupo de pacientes. En el eje vertical de la gráfica se encuentran registrados los valores de excreción de la vitamina. Los puntos de la misma gráfica corresponden a los niveles de excreción urinaria de riboflavina de cada individuo en la prueba de 4 horas. En esta gráfica puede observarse claramente que los niveles de las excreciones individuales tienden a ser más divergentes a medida que la ingesta es mayor (ver cuartil N° 4).

Horwitt y colaboradores (13) estudiando la relación entre ingesta y excreta urinaria de riboflavina en sujetos adultos del sexo masculino y haciendo uso de la misma prueba empleada en esta investigación, encontraron que una excreción de 208 mcg. \pm 72 * es compatible con un estado de saturación tisular de esta vitamina. La excreción apuntada se manifestó en los individuos estudiados por ellos, cuando la ingesta de riboflavina era de 1.6 mg. diarios, mientras que las excreciones descendían hasta niveles de 81 mcg. \pm 40, cuando la ingesta de vitamina era únicamente de 1.1 mg. diarios. Las grandes diferencias de excreción con uno y otro nivel de ingesta, sugieren que un nivel de excreción satisfactorio en la prueba de 4 horas, debería de ser alrededor de 200 mcg. Observando nuestros resultados, vemos que del total de casos estudiados, solamente 13 se encuentran dentro de tales límites de excreción satisfactoria, mientras que cuando menos 6 muestras

* Las cifras precedidas del signo \pm representan los límites de variación de los valores.



GRAFICA 1

Excreción urinaria de riboflavina en mujeres embarazadas durante las 4 horas siguientes a la inyección parenteral de 1 mg. de dicha vitamina. Los 33 individuos fueron agrupados en cuartiles de 8 casos cada uno alrededor de la mediana. Tanto las cifras de ingesta de riboflavina como las de consumo de alimentos son valores promedio calculados de la información dietética.

presentaron concentraciones menores de 100 mcg. de riboflavina en 4 horas y que, por lo tanto, las pacientes respectivas deberían ser consideradas en estado de deficiencia de esta vitamina. Esto a su vez nos indica que toda mujer embarazada que muestre excreciones de riboflavina dentro de los niveles de las 6 muestras a que nos hemos referido, debería de ser suplementada con esta vitamina.

Al comparar los promedios de consumo de los 4 alimentos considerados (leche, huevos, carne y queso), de cada grupo de 8 individuos, encontramos que las diferencias más notables son primordialmente consecuencia de la variabilidad del consumo de leche, lo cual viene a confirmar la gran importancia de este alimento como fuente de riboflavina, ya que las variaciones de excreción coinciden con bastante exactitud con las variaciones en el consumo de leche. En nuestra opinión, el tipo dietético, ideal del grupo de mujeres estudiadas, estuvo representado por aquél que ofrecía en su dieta la presencia de un consumo de por lo menos 9.5 vasos de leche, 18.1 onzas de carne, 3.7 onzas de queso, y 3 1/2 huevos por semana como mínimo, además de los alimentos vegetales y cereales que también figura-

ron en tales dietas. Desafortunadamente, este patrón dietético ideal sólo fue encontrado en un grupo de 13 de las madres estudiadas. Esta última circunstancia también pone de manifiesto la urgente necesidad de hacer labor educativa dentro de estos grupos de población, ya que en el criterio de los autores, la variabilidad dietética fue en estos casos de estudio, más bien una consecuencia de ignorancia que de condición económica, puesto que se tuvo especial cuidado en seleccionar nuestros sujetos dentro del tipo económico medio de las pacientes que asistían a la consulta prenatal.

Debemos también hacer mención muy especial de la poca frecuencia de signos clínicos específicos de arriboflavinosis dentro de la población estudiada. Este resultado no es realmente sorprendente, pues de acuerdo con las observaciones de Hills y colaboradores (16), en los sujetos estudiados por ellos, tales signos sólo se hicieron presentes cuando la ingesta diaria de riboflavina no fue superior a los 550 mcg. diarios, por un período de al menos 8 semanas. Es muy probable que aún aquellas embarazadas que mostraron las ingestas de riboflavina más bajas, se encontraban todavía en condiciones mejores que los límites señalados por Hills y colaboradores y que, por lo tanto, no presentaron signos físicos de la deficiencia. Sin embargo, debemos de señalar que los tejidos y órganos de pacientes afectados de una ingesta deficiente de riboflavina, principian a sufrir trastornos metabólicos antes que se manifieste cualquier signo físico visible.

RESUMEN

Se investigó el estado nutricional, con respecto a riboflavina, en 33 mujeres embarazadas que estaban recibiendo atención prenatal en la Clínica del Centro Materno Infantil del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social.

El método empleado consistió en la determinación de la cantidad de riboflavina urinaria excretada en 4 horas, después de la inyección intramuscular de 1 mg. de dicha vitamina.

Seis del total de mujeres estudiadas retuvieron más del 90% de la dosis de riboflavina, indicando un estado de insaturación marcada de sus tejidos. Por otra parte, trece mujeres excretaron 200 mcg. o más, resultado que sugiere suficiencia de ingesta de esta vitamina y, por ende, relativa saturación tisular.

La aparente importancia de la leche como fuente de riboflavina en la dieta se pone en evidencia por los resultados obtenidos en este trabajo, pudiendo observarse una notable relación entre los niveles de consumo de este alimento y la adecuación de los individuos estudiados con relación a la riboflavina.

SUMMARY

The riboflavin nutritional status of 33 pregnant women was investigated by determining the 4-hour excretion of this vitamin after an intramuscular dose of 1 mg.

Six subjects studied retained more than 90% of the injected dose, indicating marked unsaturation of their tissues. On the other hand, thirteen women excreted 200 mcg. or more, suggesting a sufficient intake of the vitamin and hence relative tissue saturation.

The importance of milk as a dietary source of riboflavin is suggested by the results obtained. They demonstrate a relationship between the nutritional adequacy of the subjects with respect to riboflavin, as indicated by the excretion test used and the amount of milk consumed.

REFERENCIAS

1. Flores, M. y E. Reh. Estudios de hábitos dietéticos en poblaciones de Guatemala. II. Santo Domingo Xenacoj. *Suplemento N° 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, «Publicaciones Científicas del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá», p. 129-148, 1955.
2. Flores, M. y E. Reh. Estudios de hábitos dietéticos en poblaciones de Guatemala. III. San Antonio Aguas Calientes y su aldea, San Andrés Ceballos. *Suplemento N° 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, «Publicaciones Científicas del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá», p. 149-162, 1955.
3. Flores, M. y E. Reh. Estudios de hábitos dietéticos en poblaciones de Guatemala. IV. Santa María Cauqué. *Suplemento N° 2 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, «Publicaciones Científicas del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá», p. 163-173, 1955.
4. Carrascosa F., H. R. Estudio clínico nutricional en niños de edad pre-escolar de un barrio pobre de la Ciudad de Guatemala. Tesis. Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas, noviembre de 1956.
5. Scrimshaw, N. S., M. Béhar, C. Pérez y F. Viteri. Problemas nutricionales en los niños de Centro América y Panamá. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 42: 244-264, 1957.
6. Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá. Datos no publicados.
7. Braun, K., Y. M. Bromberg y A. Brzezinski. Riboflavin deficiency in pregnancy. *J. Obst. and Gynaec. British Empire*, 52: 43-47, 1945.

8. Brzezinski, A., Y. M. Bromberg y K. Braun. Riboflavin deficiency in pregnancy; its relationship to course of pregnancy and to condition of foetus. *J. Obst. and Gynaec. British Empire*, 54: 182-186, 1947.
9. Warkany, J. y E. Schraffenberger. Congenital malformations induced in rats by maternal nutritional deficiency. VI. The preventive factor. *J. Nutrition*, 27: 477-484, 1944.
10. Nelson, M. M. Production of congenital anomalies in mammals by maternal dietary deficiencies. *Pediatrics* (Supplement on «Congenital Malformations»), 19: 764-776, 1957.
11. Bessey, O. A., M. K. Horwitt y R. H. Love. Dietary deprivation of riboflavin and blood riboflavin levels in man. *J. Nutrition*, 58: 367-383, 1956.
12. Lossy, F. T., G. A. Goldsmith y H. P. Sarett. A study of test dose excretion of five B complex vitamins in man. *J. Nutrition*, 45, 213-224, 1951.
13. Horwitt, M. K., C. C. Harvey, O. W. Hills y E. Liebert. Correlation of urinary excretion of riboflavin with dietary intake and symptoms of ariboflavinosis. *J. Nutrition*, 41: 247-264, 1950.
14. Hodson, A. Z. y L. C. Norris. A fluorometric method for determining the riboflavin content of foodstuffs. *J. Biol. Chem.*, 131: 621-630, 1939.
15. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. Tercera edición de la tabla de composición de alimentos de Centro América y Panamá. *Suplemento N° 1 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, «Publicaciones Científicas del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá», p. 129-149, 1953.
16. Hills, O. W., E. Liebert, D. L. Steinberg y M. K. Horwitt. Clinical aspects of dietary depletion of riboflavin. *A. M. A. Archives of Int. Medicine*, 87: 682-693, 1951.

8. Brzezinski, A., Y. M. Bromberg y K. Braun. Riboflavin deficiency in pregnancy; its relationship to course of pregnancy and to condition of foetus. *J. Obst. and Gynaec. British Empire*, 54: 182-186, 1947.
9. Warkany, J. y E. Schraffenberger. Congenital malformations induced in rats by maternal nutritional deficiency. VI. The preventive factor. *J. Nutrition*, 27: 477-484, 1944.
10. Nelson, M. M. Production of congenital anomalies in mammals by maternal dietary deficiencies. *Pediatrics* (Supplement on «Congenital Malformations»), 19: 764-776, 1957.
11. Bessey, O. A., M. K. Horwitt y R. H. Love. Dietary deprivation of riboflavin and blood riboflavin levels in man. *J. Nutrition*, 58: 367-383, 1956.
12. Lossy, F. T., G. A. Goldsmith y H. P. Sarett. A study of test dose excretion of five B complex vitamins in man. *J. Nutrition*, 45, 213-224, 1951.
13. Horwitt, M. K., C. C. Harvey, O. W. Hills y E. Liebert. Correlation of urinary excretion of riboflavin with dietary intake and symptoms of ariboflavinosis. *J. Nutrition*, 41: 247-264, 1950.
14. Hodson, A. Z. y L. C. Norris. A fluorometric method for determining the riboflavin content of foodstuffs. *J. Biol. Chem.*, 131: 621-630, 1939.
15. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. Tercera edición de la tabla de composición de alimentos de Centro América y Panamá. *Suplemento N° 1 del Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, «Publicaciones Científicas del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá», p. 129-149, 1953.
16. Hills, O. W., E. Liebert, D. L. Steinberg y M. K. Horwitt. Clinical aspects of dietary depletion of riboflavin. *A. M. A. Archives of Int. Medicine*, 87: 682-693, 1951.