

Tesis de Posgrado

El laboratorio en las afecciones tiroideas con especial referencia a la determinación del yodo proteico

Enriori, Carlos Luis

1964

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Enriori, Carlos Luis. (1964). El laboratorio en las afecciones tiroideas con especial referencia a la determinación del yodo proteico. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1208_Enriori.pdf

Cita tipo Chicago:

Enriori, Carlos Luis. "El laboratorio en las afecciones tiroideas con especial referencia a la determinación del yodo proteico". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1964. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1208_Enriori.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

1208

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

El laboratorio en las afecciones
tiroideas con especial referencia
a la determinación del yodo proteico

Carlos L. Enriori

Resumen

Año 1964

R. de Tiss: 1489

El laboratorio en las afecciones tiroideas con
especial referencia a la determinación del yodo
proteico
RESUMEN

Este trabajo consta de tres partes:

1.- Se estudia la bioquímica y fisiología de las hormonas tiroideas incluyendo la distribución del yodo en la tiroides, su metabolismo intratiroideo, la liberación de las hormonas tiroideas, la naturaleza y estado físico-químico del yodo circulante, el metabolismo general de las hormonas yodadas y la actividad biológica comparativa de las mismas y de sus análogos. Al final de esta parte y a la luz de los conocimientos actuales sobre el tema se pretende representar en un diagrama los distintos caminos de la biosíntesis, el metabolismo y la eliminación de las hormonas tiroideas.

2.- Se analizan las cuatro pruebas fundamentales para el estudio de las enfermedades tiroideas a saber: el metabolismo basal, el colesterol sérico, las pruebas de captación y excreción del yodo radioactivo y la determinación del yodo proteico (yodo ligado a las proteínas).-
Se hace una reseña comparativa de las distintas técnicas para la determinación del yodo proteico y las críticas correspondientes de acuerdo a nuestra experiencia.

Se transcribe detalladamente la técnica propuesta: preparación de los reactivos, cuidados especiales para evitar contaminaciones, material de vidrio y aparatos empleados y el procedimiento utilizado para este trabajo.- Se enumeran también los factores que pueden perturbar la determinación del yodo proteico como la ingestión por parte del paciente de medicamentos yodados, sustancias de contraste para exploraciones con Rayos X, alimentos ricos en yodo, etc. etc., aconsejándose la necesidad

de analizar exhaustivamente los antecedentes del enfermo antes de realizar o interpretar los resultados obtenidos con este procedimiento.-

3.- Se agrupan las determinaciones realizadas en pacientes enviados y estudiados en nuestra clínica durante más de ocho años para establecer la significación clínica de la determinación del yodo proteico.-

a) En personas normales (eutiroidismo). Se realiza la determinación en 542 casos (la estadística más alta hasta ahora publicada) obteniéndose valores comprendidos entre 3.7 y 8.3 microgramos por 100 ml de suero con un 97,6 % de los casos con valores entre 4.0 y 8.0 microgramos por 100 ml.- Se consignan además los resultados de otros autores para establecer la comparación con los determinados con la técnica propuesta.

b) En hipertiroidismo. Se estudiaron 116 casos de hipertiroidismo clínicamente diagnosticados y confirmados con las pruebas de captación de I^{131} , colesterol y metabolismo basal los valores obtenidos oscilaron entre 7.6 y 21,8 microgramos por 100 ml de suero con un 83.2 % entre 8 y 16 microgramos.-

c) Hipotiroidismo.- Se agruparon 118 casos de hipotiroidismo con valores del yodo proteico entre 0.1 y 4.3 microgramos por 100 ml de suero con un 89.0 % de los resultados inferiores a 4.0 microgramos.-

Entre 5 y 6 microgramos por 100 ml. de suero se encontró el mayor porcentaje de eutiroides; entre 2 y 3 microgramos el de los hipotiroideos y entre 9 y 10 microgramos a de los hipertiroideos.-

d) Bocio difuso simple.- 25 casos con un 76 % dentro de los límites comprendidos entre 4.0 y 8.0 microgramos y un 16 % inferiores a 4.0 microgramos.-

e) Bocio modular simple.- 25 casos de los cuales el 96 % presentó valores dentro de los límites normales.-

f) Insuficiencia anterohipofisaria.- 16 casos con valores inferiores a 4 microgramos en el 88 % de los mismos y un valor medio de 2.4 microgramos

g) Deficit de talla esencial.- 19 casos con un 69 % de los valores entre 4 y 8 microgramos.-

En un 26 % de los pacientes estudiados se encontraron valores inferiores a 4.0 microgramos y estos fueron los que mejor respondieron al tratamiento con triyodotironina.-


h) Síndrome de Turner.- 15 casos con un 40 % de los valores superiores a 8.0 microgramos pero sin síntomas clínicos de hipertiroidismo. La explicación de este hecho, que no hemos encontrado en la literatura médica revisada, resulta por ahora oscura y dentro del terreno de las suposiciones.-

i) Diabetes.- 24 casos con un 92 % de los valores dentro de límites normales.-

j) Embarazo normal.- 19 casos, en los cuales el yodo proteico sobrepasa los 6.5 microgramos por 100 ml de suero con 47.7 % de los valores superiores a 8.0 microgramos.-

k) Amenaza de aborto.- 8 casos. En todos ellos los valores del yodo proteico resultaron inferiores a 6 microgramos por 100 ml de suero.-

Se plantean las causas que podrían explicar esta anomalía, el posible valor diagnóstico de la determinación del yodo proteico en la amenaza de aborto de origen endócrino y la perspectiva de agregar hormonas tiroideas al tratamiento hormonal clásico que se establece en estas circunstancias.-



Carlos Placencia

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

El laboratorio en las afecciones
tiroideas con especial referencia
a la determinación del yodo proteico

Carlos L. Enriori

Tesis presentada para optar al

Título de Doctor en Química

Año 1964

TFV. 1208

✓

PADRINO DE ESTA TESIS:

Prof.Dra. ROSA FERRO

A mi madre, a los míos

a mis colaboradores

Antonio Luis R.

BIOQUÍMICA Y FISIOLÓGICA DE LAS HORMONAS TIROIDEAS

Cada glándula de secreción interna produce sustancias hormonales con una característica química definida. Así, las hormonas hipofisarias son de naturaleza proteica, las de la corteza suprarrenal, ovario y testículo son esteroideas y las hormonas tiroideas son aminoácidos que contienen yodo en su molécula.-

En los últimos tiempos y gracias a la incorporación de nuevos métodos de investigación (empleo de radioisótopos y técnicas cromatográficas) los esfuerzos de fisiólogos, clínicos, bioquímicos y biofísicos han permitido profundizar considerablemente en el conocimiento de la fisiología normal y patológica de la glándula tiroidea, descubrir nuevos compuestos yodados activos y sus metabolitos y conocer mejor la distribución, biosíntesis y propiedades de estas sustancias.-

Dos son las fuentes fundamentales de las que la tiroidea obtiene su provisión de yodo: una exógena, el agua y los alimentos y otra endógena, degradación metabólica de aminoácidos yodados previamente sintetizados. Se puede agregar a éstas una fuente menos importante como sería la ingestión de yodo en los medicamentos y en las preparaciones para visualizaciones roentgenológicas.-

La mayor parte del yodo ingerido está presente como yoduro y en esta forma es absorbido a lo largo de todo el tracto gastrointestinal hacia el torrente circulatorio para formar lo que se ha dado en llamar el "pool" de yoduro. De este "pool" se provee la tiroidea del yodo necesario para la hormonogénesis y el resto es eliminado por los riñones, aunque pequeñas cantidades también se pierden por las heces, el sudor y la leche.-

El yoduro absorbido se distribuye rápidamente en el espacio extracelular y en algunas áreas de concentración como son las glándulas salivares y gástricas y en el tejido conectivo denso. La tiroidea tiene una gran afinidad por el yoduro pero, como inmediatamente lo utiliza en la síntesis hormonal, en condiciones nor-

las el espacio del yoduro tiroideo contribuye en muy pequeña proporción en el aumento de "pool" de yoduro.-

La cantidad de yoduro plasmático extraído por la tiroides puede ser expresado como "clearance" tiroideo que en condiciones normales es del orden de 17 ml por minuto (3 a 45 ml por minuto) ; el valor medio del "clearance" renal alcanza a 35 ml por minuto. El "clearance" total es por ísto de alrededor de 50 ml por minuto o 3 litros por hora del cual las dos terceras partes corresponden a los riñones y un tercio a la glándula tiroidea.-

En condiciones patológicas, como la enfermedad de Graves- Basedow, el "clearance" tiroideo alcanza valores entre 80 y 1000 ml por minuto; el "clearance" renal, en cambio, se mantiene más o menos constante e independiente de las variaciones de yoduro plasmático. Cuando el aporte endógeno al "pool" de yoduro es pequeño, como ocurre en las zonas de hocio endémico, el "clearance" tiroideo aumenta para asegurar la cantidad de yodo necesaria en la síntesis orgánica.-

DISTRIBUCIÓN DEL YODO EN LA TIROIDES

E. Bammann (1896) fué el primero en demostrar la presencia de yodo en la tiroides y la relación que existe entre este elemento y la actividad de la glándula (1). En 1899 A. Oswald (2) aisló de la tiroides una proteína precipitable por sulfato de amonio a media saturación, muy rica en yodo y con las propiedades del palvo de tiroides: la tiroglobulina.- En 1915 E.C. Kendall (3), después de numerosas investigaciones, por hidrólisis alcalina de la tiroglobulina, consiguió aislar un compuesto yodado que llamó Tiroxina pensando que era un derivado del triptófano. Tiempo después C.R. Harrington (1926) demostró que la tiroxina era un derivado yodado de la tiroxina y consiguió obtener la hormona por síntesis (4). G.L. Foster (1929) aisló de la tiroglobulina la 3,5-diyodotiroxina (5) y R.H. Fink y K. Fink (1947) la 3-monoyodotiroxina (6). J. Gross y R. Pitt-Rivers (1952) identifican y sintetizan la 3,5,3'-triyodotironina (7) y el grupo de J. Roche, R. Michel, J. Mifles y W. Wolf en

1955 anuncian la presencia de dos nuevos compuestos yodados de la glándula tiroidea: la 3,3'-diyodotironina y la 3,3',5'-triyodotironina (8).-

La tiroides, que representa al 0.03 por ciento del peso corporal contiene aproximadamente y en condiciones normales al 20 por ciento del yodo total del organismo. Una pequeña parte como yodo inorgánico al estado de yoduro y el resto como yodo en combinación orgánica (aminoácidos yodados). Estos aminoácidos se encuentran en muy pequeña proporción al estado libre puesto que prácticamente todo el yodo orgánico se halla ligado por uniones peptídicas a la tiroglobulina. En otras palabras los aminoácidos yodados (tirocinas y tironinas) son constituyentes normales de la estructura molecular de la tiroglobulina. La tiroglobulina pura es una proteína que se comporta como homogénea en la electroforesis y en la ultracentrífuga. Su punto isoelectrónico se halla a pH 4.5 y su peso molecular ha sido calculado entre 650.000 y 700.000. Su contenido en yodo varía si ha sido preparada de tiroides normales o anormales.-

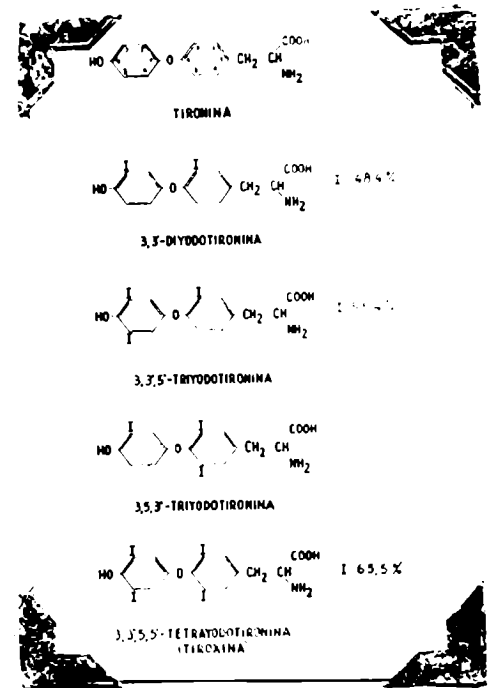
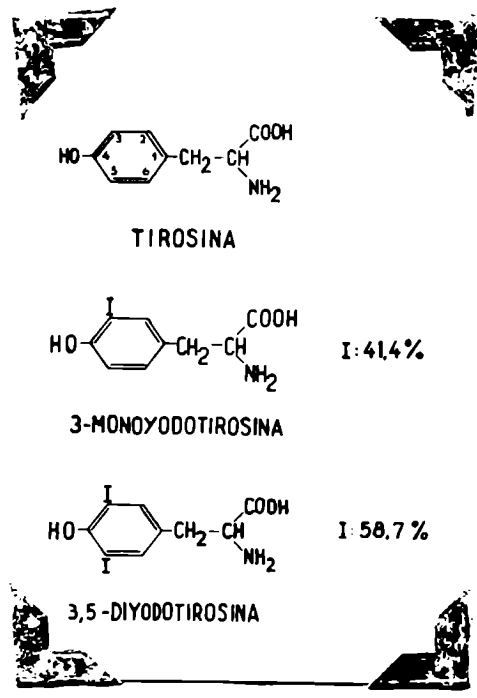
Por análisis químico se han podido señalar 19 aminoácidos de la tiroglobulina. La concentración relativa de algunos de ellos todavía no se ha determinado con precisión.-

aminoácido	concentración/ciento
1. Leucina.....	12.8
2. Arginina.....	12.7
3. Serina.....	10.8
4. Alanina.....	7.4
5. Fenilalanina.....	6.7
6. Glicocola.....	3.7
7. Cistina.....	3.6
8. Lisina.....	3.4
9. Tirocina.....	3.1
10. Histidina.....	2.2
11. Triptófano.....	2.1
12. Valina.....	1.5
13. Metionina.....	1.3
14. Monoyodotirosina.....	-
15. 3,5-diyodotirosina.....	0.5
16. 3,3'-diyodotironina.....	-
17. 3,5,3'-triyodotirosina.....	-

aminoácido	concentración/ciento
18.3,3',5'-triyodotirosina.....	7
19.Tirosina.....	0.2
TOTAL : 19 aminoácidos	72

Faltan identificar algunos aminoácidos o los ya obtenidos, por error en la determinación cuantitativa, deben encontrarse en mayor proporción, puesto que así sólo se llega al 72 % de la molécula total de tiroglobulina. Llamo la atención al elevado contenido de leucina, arginina y serina cada uno de los cuales sobrepasa el 10 %.

La fórmula estructural de los aminoácidos yodados y su porcentaje de yodo se indican a continuación:



Metabolismo intratiroideo del yodo.— Desde el momento en que el yoduro plasmático (I⁻) es captado por la tiroidea se desencadena una complicada serie de reaccio-

nes como resultado de las cuales es incorporado como yodo orgánico. Algunos de los pasos intermedios quedan aún sin aclarar a pesar del gran avance que significó en estos estudios el empleo de I^{131} , los análisis cromatográficos y las drogas antitiroideas que pueden interrumpir la cadena de reacciones en diferentes etapas.-

El mecanismo de la biosíntesis de las hormonas tiroideas puede resumirse, aunque sea teóricamente, en la forma siguiente:

- a) Captación de yoduro plasmático por la tiroides
- b) Oxidación del yoduro a yodo
- c) Yoduración de la tiroxina a mono y diyodotirosina
- d) Copulación de yodotirosinas a yodotironinas

a) Captación de yoduro plasmático por la tiroides.- Aunque la naturaleza funcional de la captación del yoduro plasmático es hasta hoy desconocida, se cree que está controlada por un sistema de enzimas y por la presencia de grupos sulfidrilo en concentración adecuada (9).

La tiroides, bloqueada con tioracilo para impedir la organificación del yodo, es capaz de concentrar yoduro en cantidades ciento de veces superior a la del plasma. Empleando estos agentes bloqueantes y I^{131} se puede demostrar una rápida acumulación de radioactividad en la tiroides alcanzando un máximo que luego disminuye hasta quedar en equilibrio con la radioactividad del plasma. Administrando I^{131} por vía oral en ratos se comprueba que ya a las 5 horas, más del 50 % del I^{131} ha sido captado por la tiroides mientras que su eliminación se hace lentamente necesitándose más de 400 horas para alcanzar los valores basales de la experiencia. El "espacio de yoduro tiroideo" en el hombre normal con tiroides bloqueada no excede de 400 - 500 ml de plasma. En sujetos con tirotoxicosis el "espacio" puede contener tanto yoduro como 30 - 35 litros de plasma.-

Como en la tiroides no bloqueada, el yoduro captado se incorpora inme-

diamente a la forma orgánica sólo una pequeña cantidad vuelve a la circulación manteniéndose un equilibrio entre el yoduro plasmático y el yoduro tiroideo.

Ciertos aniones como el sulfocianuro (SCN^-) y el perclorato (ClO_4^-), además de los derivados de la tiourea, inhiben la captación tiroidea del yoduro plasmático. El sulfocianuro de potasio provoca también la descarga del yoduro tiroideo, antes de que entre en combinación orgánica, efectuando un verdadero "lavado" de la glándula. La tirotrófina, en cambio, aumenta la captación y estimula todas las fases intermedias de la biosíntesis hormonal.-

b) Oxidación del yoduro a yodo.- El anión yoduro (I^-) tal cual circula en el plasma no reacciona con las proteínas. En cambio, el yodo elemental (I_2) forma fácilmente compuestos de sustitución, aún in vitro, con la tiroxina y otros aminoácidos constituyentes de una molécula proteica. Es por esto que la oxidación del yoduro a yodo elemental ($2\text{I}^- \rightarrow \text{I}_2$) debe preceder a la incorporación de éste como forma orgánica.- R.Pitt-Rivers (10) y C.R.Harington (11) sostienen que el ácido hipoyodoso, en equilibrio con el yodo elemental, es la forma reactiva del yodo que entra en combinación orgánica en la glándula



Es lógico pensar que esta oxidación debe ser catalizada por una enzima o sistema de enzimas (oxidases y peroxidases) aunque todavía no se ha podido aislar de la tiroidea sustancias con estas características. E.W.Dempsey (1949) demostró por métodos histoquímicos, actividad peroxidásica en las células foliculares(12). En cambio J.Boche y R.Michel (1955) sostienen que la presencia de una oxidasa específica no es fisiológicamente necesaria, puesto que el yoduro puede oxidarse a yodo elemental en un sistema potencial redox adecuado. Estos mismos investigadores demuestran también que en el folículo tiroideo existe un potencial redox disminuido después del tratamiento con tioracilo (13).-

c) Yoduración de la tiroxina a mono y diiodotiroxinas.- Una vez oxidado el yoduro a

yodo elemental su incorporación a la molécula de tirosina ocurre en forma instantánea. Los más cuidadosos trabajos realizados por C.P. Leblond y J. Gross (1948) con radiocentografías de delgados cortes de taje de tiroides de ratas, demuestran que la primera localización de radioactividad atribuible al yodo orgánico se encuentran en el borde apical de las células epiteliales adyacentes al folículo tiroideo (14). Inmediatamente la radioactividad se corre hacia la luz del folículo hasta llenar completamente el área folicular. Trabajando con tiroides estimuladas la velocidad es aún mayor y la más temprana radiocentografía sólo muestra radioactividad en el colcoide.-

No está suficientemente probado si los aminoácidos yodados se producen normalmente en las células y luego éstas los segregan rápidamente al colcoide o si se producen en el colcoide adyacente a la superficie celular. Teniendo en cuenta que si la oxidación del yodo se produjera dentro de las células las proteínas celulares competirían con la tiroglobulina en la incorporación del yodo elemental y que es necesaria la presencia de células intactas para la yoduración eficiente de la tiroglobulina (M.E. Morton e I.L. Chaikoff, 1953 (15)) se ha elaborado la hipótesis de que las células segregan independientemente tiroglobulina y yodo dentro del folículo necesitándose la actividad del borde apical de las células para la oxidación del yodo y yoduración de la tiroglobulina adyacente.-

A. Tausrog e I.L. Chaikoff (1949) usando I^{131} demostraron que la radioactividad se manifiesta en más alta proporción unida a la monoyodotirosina que a la diyodotirosina de donde se puede concluir que primero se incorporaría un átomo de yodo para formar monoyodotirosina la que gracias a una nueva incorporación de yodo produciría luego diyodotirosina (16). La primera sería un precursor estable de la diyodotirosina. A pesar de que este tipo de reacción está en el terreno de la discusión, y teniendo en cuenta la rapidez y facilidad con que el yodo elemental reacciona espontáneamente con la tirosina no parecería necesaria la actividad de sistemas

enzimáticos específicos en la yoduración de este aminoácido. La yoduración de la tiroxina seguiría entonces en forma artesanal a la oxidación del yoduro elemental que posee una elevada capacidad de reacción se incorporaría inmediatamente a la forma orgánica.-

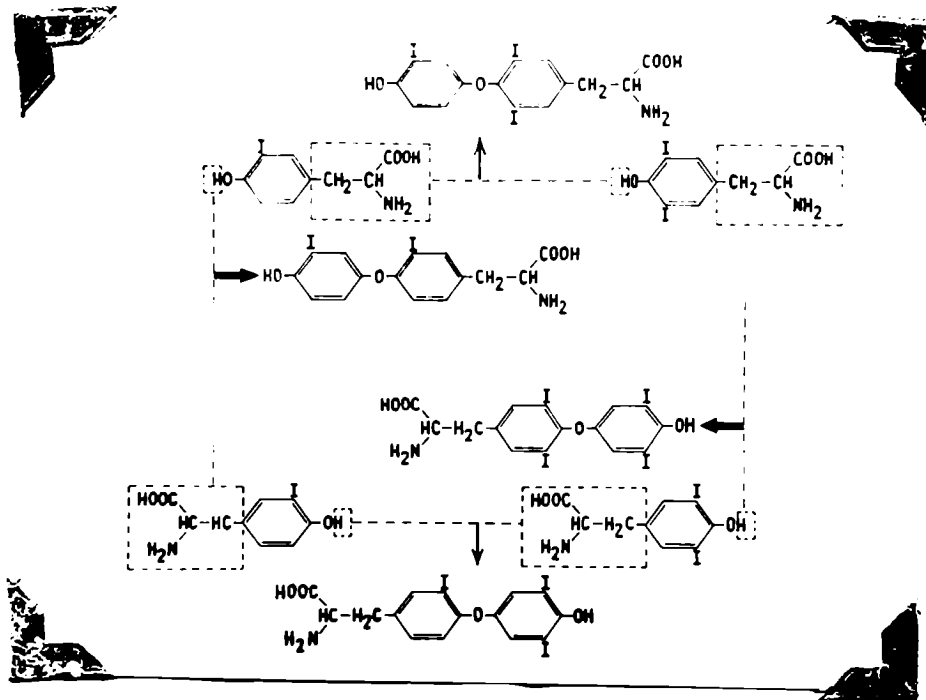
d) Condensación de yodotirosinas a yodotirosinas.- De acuerdo a la hipótesis de G.R. Harington (1944) la tiroxina se originaría por condensación oxidativa de dos moléculas de diyodotirosina con pérdida de una molécula de alanina.- (17).-

En experimentos en ratas con I^{131} , realizados por A. Imurog e I.L. Galkoff (1947) se probó que a medida que la radioactividad de la diyodotirosina disminuye la de la tiroxina aumenta lo que demostraría que el derivado diyodado es el precursor de la tiroxina.- (18).-

La copulación de dos moles de diyodotirosina implica un proceso oxidativo. Si es o no necesaria la presencia de una o más enzimas que catalizarían la reacción no está probado hasta el presente (19).-

En experiencias realizadas por B. DeGus (1954), utilizando cortes de tireoides y tiroxina marcada con C^{14} se pudo demostrar la presencia de tiroxina marcada pero no diyodotirosina lo que podría explicarse si se admite la condensación de dos moles de monoyodotirosina para formar diyodotirosina de la que se originaría tiroxina por la incorporación de dos nuevos átomos de yodo.- (20).-

En cuanto a la síntesis de la 3,5,3'-triyodotirosina que tampoco está suficientemente aclarada se formaría: a) por conjugación de un mol de monoyodotirosina con un mol de diyodotirosina; b) por yoduración de la diyodotirosina y c) por deshalogenación de la tiroxina (pérdida de un átomo de yodo). Cual de estas hipótesis es la verdadera no se conoce todavía con seguridad y como existen experimentos que abonan en favor de una u otra, tampoco se desecha la posibilidad de que la tiroxina pueda seguir cualquiera de estos caminos o más de uno a la vez para elaborar sus productos hormonales característicos.-



LIBERACION DE LAS HORMONAS TIROIDICAS

Las hormonas tiroideas están ligadas por uniones peptídicas a la tiroglobulina de la cual pueden ser liberadas por hidrólisis alcalina o enzimática. Como el peso molecular de la tiroglobulina es muy elevado no puede, en condiciones normales atravesar la pared de los capilares. Por lo tanto esta proteína debe considerarse como la sustancia que hace posible el almacenamiento de los aminoácidos yodados en el folículo tiroideo.

En algunos casos, sin embargo, se ha podido demostrar la presencia de tiroglobulina en la sangre circulante cuando la glándula ha sufrido cambios transitorios que implicarían destrucción celular. En 1954 J. Robbins, M.L. Peterson y J.E. Hall (21) trabajando con sueros de pacientes con carcinoma tiroideo, que habían recibido

altas dosis de I^{131} encuentran en la sangre una proteína que por sus propiedades fisicoquímicas no pueden distinguir de la tiroglobulina. A las mismas conclusiones llegan C.A.Owen y W.M.Me Conahy (1956) estudiando sueros de pacientes con tiroiditis de Hashimoto después de pequeñas dosis de I^{131} , lo que podría explicarse por la destrucción glandular que implica siempre esta enfermedad (22). I.M.Raitt y colaboradores (1956) demostraron también la presencia en el suero de anticuerpos de la tiroglobulina humana en la enfermedad de Hashimoto (23)

En condiciones normales, por lo tanto, es necesario degradar la molécula de tiroglobulina para liberar los yodotirosidos que pueden difundir con relativa facilidad. E.De Robertis (1941) señaló la presencia en la tiroides de rata de una enzima proteolítica que recientemente ha sido aislada y purificada por H.T.Me Quillan, P.G.Stanley y V.M.Trikojus (1953) (24 - 25) -

No se tiene la seguridad si se trata de una o varias enzimas proteolíticas pero si se sabe que son capaces de liberar tirocinas yodadas activas y yodotirocinas fisiológicamente inactivas (26) -

En este momento entra en juego otro sistema enzimático que posee una selectividad fisiológica para deshalogenar las yodotirocinas dejando intactas las yodotirocinas (27). Esta deshalogenasa tiroidea actúa directamente sobre la 3,5-diyodotirosina para transformarla en monoyodotirosina la que a su turno pierde otro átomo de yodo obteniéndose tirocina como producto final. El yodo liberado por la deshalogenasa se incorpora nuevamente a la tiroglobulina -

En conclusión, gracias a estos sistemas enzimáticos, las yodotirocinas son deshalogenadas y las yodotirocinas quedan libres para difundir al torrente circulatorio. Se comprende así que en la vena tiroidea de animales a los que se les administra I^{131} se aisle fundamentalmente tirocina y pequeñas cantidades de 3,5,3'-triyodotirosina pero no yodotirocinas (28) -

En experimentos realizados por S.A.Berson y R.S.Yalow (1954) se demostró que la tiroides en condiciones normales, segrega aproximadamente de 110 a 120 micro-

gramos de yodo orgánico por día mientras que en la tiroxicosis los valores alcanzan hasta 1000 microgramos por día. (29).-

NATURALEZA Y ESTADO FISICO - QUIMICO DEL YODO CIRCULANTE

Los compuestos yodados que pasan a la sangre son distribuidos a todos los tejidos por la circulación general. Los eritrocitos contienen sólo yoduro inorgánico puesto que la membrana es impermeable a las yodotiroxinas (30). El yodo plasmático está representado en un 10 a 20 % por yoduro inorgánico, en un 70 % por tiroxina y en pequeña proporción por la 3,5,3'-triyodotiroxina. Recientemente, J. Roche, R. Michel y J. Nunes (1959) trabajando con ratas tratadas con I^{131} identifican en el plasma pequeñas cantidades de 3,3'-diyodotiroxina y 3,3',5'-triyodotiroxina aportando suficientes datos como para considerarlas componentes normales del plasma circulante.-(31).-

La naturaleza química del yodo orgánico restante no se conoce aún aunque una parte de él debe estar constituida por los metabolitos tisulares de las hormonas tiroideas activas. En condiciones normales la tiroglobulina, la monoyodotiroxina y la diyodotiroxina no se encuentran en la sangre circulante.-

El yodo hormonal está unido a las proteínas plasmáticas en tal forma que no puede ser separado por diálisis y coprecipita con ellas al agregar ácido tricloroacético. La tiroxina está ligada más firmemente a las proteínas que la 3,5,3'-triyodotiroxina (32). La unión más débil de la triyodotiroxina permitiría que ésta difundiera a los tejidos con mayor facilidad y explicaría algunas de las diferencias metabólicas observadas entre las dos hormonas.-

En 1952, A.H.Gorden y colaboradores (33) y posteriormente J. Robbins y J.E. Ball (34), W.P.Deiss, E.C.Albright y F.C.Larson (35) y W.Horst y H.Häbler (36) demostraron con el empleo de técnicas electroforéticas y tiroxina marcada que la mayor parte de la tiroxina del suero está unida a una proteína que se desplaza con una velocidad intermedia entre la 1 y 2 - globulinas, y una pequeña cantidad unida a la al-

albúmina. La alfa globulina a la que está unida la tiroxina ha sido designada TBP (thyroxine - binding protein). Esta proteína existe en el plasma en muy pequeña proporción (alrededor de 1.5 mg por 100 ml de plasma) y se trataría de una glucoproteína de un peso molecular estimado en 50.000 .-

El plasma humano normal contiene suficiente cantidad de TBP como para unir 0.2 microgramos de tiroxina por ml y si la cantidad de ésta aumenta, el exceso de tiroxina se asocia directamente con la albúmina. F.C.Larson, W.P.Deins y E. C.Albright (1954) demostraron que la tiroxina unida a la TBP puede ser extraída con butanol mientras que la ligada a la albúmina es insoluble en este disolvente (37). G.Derome, J.Mahaux y J.A.Henry (1958) encuentran, en un niño portador de un bocio congénito la presencia en el plasma de una sustancia iodada que se desplaza con la albúmina en la electroforesis e insoluble en alcohol metílico (38). A.Di George y K.B.Paschalis (1957) y J.B.Stanbury y colaboradores (1958) describen casos similares (39 - 40) .-

El complejo tiroxina - TBP del plasma está en equilibrio con una pequeña proporción de tiroxina libre y como lo sugieren J.Robbins y J.R.Rall (1957) la principal función de la T.B.P. es la de retener en el plasma la tiroxina, pero en forma inactiva, mientras que la tiroxina libre sería responsable de la actividad hormonal (41) .-

La cantidad de tiroxina metabolizada sería entonces directamente proporcional a la cantidad de tiroxina plasmática libre. J.T.Douling, N.Frankel y S.H. Ingbar (1960) demuestran que los estrógenos (diétilstilbestrol y benzoato de estradiol) en sujetos eutiroides, aumentan la avidas de fijación de la TBP a la tiroxina, lo que está acompañado por un aumento suficiente del yodo proteico para asegurar la disponibilidad de yodo hormonal activo (tiroxina libre) dentro de valores normales (42) .-

Esto trae a colación el hecho ya señalado por M.Heinemann, C.E.Johnson y

E.B.Man en 1948 (43) de que en el embarazo normal el yodo proteico plasmático se eleva a valores comprendidos entre 6.2 a 11.2 $\mu\text{g}/100$ ml sin estar acompañado del aumento correspondiente en el metabolismo basal, y desciende a niveles entre 2.8 y 5.8 $\mu\text{g}/100$ ml en las amenazas de aborto. Podría entonces establecerse una correlación entre el nivel plasmático elevado de estrógenos que se observa en el embarazo, el yodo proteico alto y la capacidad aumentada de la TBP para ligar la tiroxina. La circunstancia especial de un nivel de yodo proteico superior a 9 $\mu\text{g}/100$ ml sin estar acompañado de signos de hipertiroidismo no puede explicarse porque el aumento de TBP contribuye a la no utilización de la tiroxina por los tejidos (44).

La triyodotironina también está unida a la TBP pero en forma mucho más débil. L.Korsgaard Christensen (1960) demuestra que la unión de la triyodotironina es 15 veces más débil que la de la tiroxina (45). Esto explicaría el efecto terapéutico rápido de la triyodotironina, puesto que a los pocos horas después de la administración de esta droga ya se pueden observar cambios en el pulso y la temperatura, mientras que deben pasar varios días antes de conseguir el mismo efecto con la tiroxina.-

METABOLISMO GENERAL DE LAS HORMONAS TIROIDEAS

El destino de las sustancias yodadas producidas por la tiroides una vez que han ingresado en el torrente circulatorio, no está aún suficientemente aclarado, pero la enorme serie de experimentos realizados para dilucidar esta cuestión permiten conocer el metabolismo y las formas de eliminación de estas sustancias.-

Como ya se ha dicho la mayor parte de las hormonas tiroideas del plasma están unidas a las proteínas y una pequeña proporción al estado libre, existiendo un equilibrio entre estos dos estados físico-químicos de la misma hormona. La parte libre sería la que puede pasar a través de los capilares para ejercer su acción en los tejidos y, por lo tanto, su actividad dependerá, entre otras, de la constante de disociación del complejo proteína-hormona.-

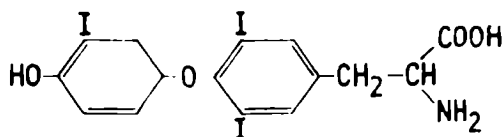
Cuál es en última instancia la o las hormonas tiroideas que actúan en la célula tampoco está totalmente aclarado. Se sabe que la tiroxina sufre una deshalogenación en los tejidos periféricos como lo demostraron R. Pitt-Rivers, J. B. Stanbury y B. Rapp (1955) inyectando tiroxina marcada en sujetos atiroideos y demostrando luego la presencia de triyodotironina marcada (46).-

A la misma conclusión llegan E. C. Albright, F. C. Larson y R. H. Tust (1954) trabajando, in vitro, con cortes de riñón de ratas y con cortes de músculo cardíaco (47). La cantidad de hormona deshalogenada depende del nivel metabólico del tejido usado siendo mayor en los experimentos con cortes de tejido de animales hipertiroides y mucho menor en cortes provenientes de hipotiroides (48). Herviendo durante 5 minutos los cortes de tejido se inhibe la capacidad de deshalogenar tiroxina de donde se deduce que una enzima o sistema de enzimas serían los responsables de esta actividad. La 3,5,3'-triyodotironina es también susceptible a la deshalogenación periférica aunque todavía su mecanismo no está claramente establecido, pero si se inyecta en ratas dosis fisiológicas de 3,5,3'-triyodotironina marcada en la posición 3' es posible aislar cromatográficamente pequeñas cantidades de 3,3'-diodotironina radiactiva.-

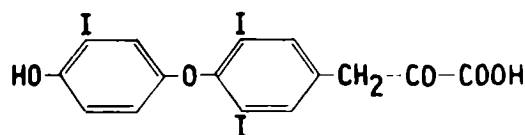
Con respecto a la 3,3',5'-triyodotironina y la 3,3'-diodotironina se sabe que son rápidamente degradadas (30 minutos de vida biológica media) eliminándose casi totalmente por la orina al estado yoduro. Ningún producto yodado proveniente de estas sustancias fué encontrado en sangre o en orina, de lo que se deduce que, igual que las yodotirosinas, o son deshalogenadas en la glándula o son utilizadas como precursores de compuestos más yodados (49).-

Otro camino en la metabolización de las hormonas tiroideas fué demostrado por W. Tong, A. Tanrog e I. L. Chaikoff (1954) trabajando, in vitro, con cortes con tejido hepático y renal en presencia de radiodiodotironina (50). Consiguieron aislar al correspondiente derivado yodado del ácido pirúvico y J. Roche, O. Michal, R. Michal y J. Tata (1954) utilizando triyodotironina marcada identifican ácido tri-

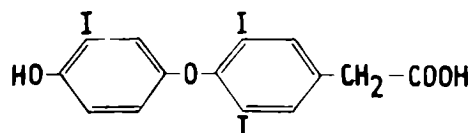
yodotiropirúvico marcado en la bilis y en la orina (51). Estos mismos autores demuestran la presencia del ácido triyodotiroacético marcado después de la administración de radiotriyodotironina en cortes de riñón de rata. La fórmula estructural de estas sustancias es la que se demuestra a continuación:



3,5,3'-TRİYODOTIRONINA



ACIDO 3,5,3'-TRİYODOTIROPIRUVICO



ACIDO 3,5,3'-TRİYODOTIROACETICO

Para poder explicar este camino metabólico tenemos que admitir que la triyodotironina por desaminación oxidativa se transforma en el ácido triyodotiropirúvico el que a su vez por descarboxilación oxidativa produciría el ácido triyodotiroacético. Los derivados correspondientes a la tiroxina también han sido aislados.-

En el año 1947 J.Gross y C.F.Lehland (52) demostraron que el hígado de la rata es capaz de concentrar grandes cantidades de radiotiroxina después de la administración de tiroxina marcada y en 1952 A.Taurog, F.H.Briggs e I.L.Chaikoff

(53) aislan de la bilis una sustancia identificada como el producto de condensación del ácido glucurónico con el hidroxilo fenólico de la tiroxina. La formación hepática de estos glucurónidos sería en mecanismo de "detoxificación" que influiría en la regulación del nivel de yodo hormonal circulante. Los glucurónidos pasan por vía biliar al intestino de donde una pequeña proporción es excretada en las heces y el resto reabsorbido por la circulación enterohepática (A. Albert y F.R. Keating (1952)(54)). Como los glucurónidos de las hormonas tiroideas no han podido ser identificados en el plasma, se puede concluir que en el intestino, antes de ser reabsorbidas, se hidrolisan al estado libre por la acción de la β -glucuronidasa bacteriana.-

T.Fris (1958) trabajando con tiroxina marcada por vía endovenosa demuestra que el 25 - 30 % se localiza en el hígado, el 10 % se excreta en las heces y el 20 - 30 % se elimina por la orina en el curso de 10 días (55). En la orina de todos los casos tratados sólo pueden identificar yoduro radiactivo pero no tiroxina marcada. También determina que el tiempo necesario para que la cantidad de tiroxina inyectada se reduzca a la mitad (vida biológica media) es de 7 a 9 días en personas eutiroides. En el hipertiroidismo este período se acorta a 2 - 5 días y en hipotiroidismo alcanza a 7 - 12 días. En pacientes con hepatitis infecciosa es menor la cantidad acumulada por el hígado y mayor la excretada por las heces. H.Ramussen y B.Rapp (1956) establecen que en la nefrosis la vida biológica media de la tiroxina inyectada está muy acortada y que apreciables cantidades de esta hormona sin metabolizar se pierden por la orina (56).-

En resumen, las hormonas tiroideas se pueden metabolizar siguiendo tres caminos distintos : a) deshalogenación a compuestos menos yodados y liberación de yoduro; b) detoxificación por conjugación con el ácido glucurónico y c) desaminación y descarboxidación oxidativa que produce derivados yodados del ácido pirúvico, acético y tal vez del propiónico por analogía con la metabolización de otros aminoácidos.-

Recientemente R.Gröbeck, B.A.Lamberg y F.Björkstén (1960) demuestran que cultivando cepas de *Escherichia coli* en presencia de tiroxina se obtiene ácido tetrayodotiroacético y otros derivados todavía no bien identificados, quedando el interrogante de la participación de este mecanismo en la metabolización y circulación enterohéptica de la tiroxina (57).-

MECANISMO DE LA ACTIVIDAD PERIFÉRICA DE LAS HORMONAS TIROIDAS

Las hormonas tiroideas, en vivo, producen aumento de la actividad de un grupo de enzimas, como las citocromoxidasas, succinoxidasas, citocromo C, etc., todas ellas estrechamente relacionadas con los procesos de combustión celular. La magnitud de esta respiración celular está automáticamente regulada por el consumo de energía lo que a su vez está conectado con los procesos de fosforilación oxidativa.-

En las células está siempre disponible el trifosfato de adenosina (ATP) cuya riqueza de energía proviene de la unión del fosfato inorgánico con el difosfato de adenosina (ADP).-

Ciertas sustancias químicas (como el 2,4-dinitrofenol) pueden disminuir la "conexión" entre la respiración celular y la producción de ATP y entonces la energía de las reacciones de combustión es parcialmente liberada como calor en lugar de ser absorbida por el ATP.-

La tiroxina y otras hormonas tiroideas pertenecen al grupo de sustancias cuyo efecto metabólico puede ser explicado sobre la base de una "desconexión" entre la respiración y la fosforilación. Con cuidadosos experimentos se puede demostrar que las hormonas tiroideas activas disminuyen el cociente entre el ATP formado y el oxígeno consumido lo que trae como consecuencia una elevación en el metabolismo basal. Después del tratamiento con tiouracilo se observa un aumento del cociente ATP/oxígeno por encima de los niveles normales con descenso en el metabolismo basal (C. Martins, 1958 (58)). El papel que juegan los sistemas enzimáticos en estos procesos está por ahora en un terreno puramente especulativo. Todo esto no es más que una hi-

pétesis que podrá ajustarse o no a la realidad.-

ACTIVIDAD BIOLÓGICA COMPARATIVA DE LAS HORMONAS TIROIDAS Y DE SUS ANALÓGOS

Durante mucho tiempo se consideró a la tiroxina como la única hormona tiroidea puesto que tenía todas las propiedades biológicas del polvo de tiroidos. En los últimos años con el aislamiento de nuevos compuestos activos y la sintetización de sus análogos se ha abierto un nuevo campo de investigación al que se dedican actualmente numerosos esfuerzos.-

Para la valoración de la actividad biológica de estas sustancias se debe considerar muy especialmente el tipo de ensayo que se utiliza. En general se admite que la monoyodo y diyodotirosina son muy poco activas o inactivas; que la 3,3'-diodotironina tiene el 80 % de la actividad antibiógena de la tiroxina; que la 3,3',5'-triyodotironina presenta solamente un vigésimo de esa actividad y que la 3,5,3'-triyodotironina es 5 a 10 veces más activa que la tiroxina.-

Trabajando con lotes de ratas tiroidectomizadas E.S.Evens, L.L.Rosenberg y M.Simons (1960) demuestran que son necesarias dosis de 0.5 microgramos de L-tiroxina por día para mantener el crecimiento corporal normal; 1 microgramo para conservar la estructura y peso normal de los ovarios; entre 1 y 5 microgramos para mantener los niveles metabólicos normales y para prevenir la anemia que sigue a la tiroidectomía y cantidades un poco mayores para prevenir la hipofunción de las adrenales (59).-

Con respecto a la actividad biológica de los análogos de la tiroxina, se han probado más de 100 compuestos para determinar si la molécula intacta es necesaria para su acción hormonal o si solamente ciertas estructuras elementales son indispensables.-

C.Thibault y R.Pitt-Rivers (1955) sintetizan y estudian los ácidos triyodotiroacético y tetrayodotiroacético demostrando que tienen propiedades semejantes a la tiroxina (60).-

al tratamiento del mixedema (61). Con dosis inferiores a 1 mg por día obtienen mejoría clínica y disminución del colesterol plasmático sin modificaciones apreciables en el metabolismo basal.-

Esta dicotomía en la actividad terapéutica es aprovechada por H.G.Bauer, T.R.Me Gavaek y L.Swall (1959) para tratar pacientes con arteriosclerosis y consiguen significativos descensos del colesterol total sin síntomas clínicos de tirotoxicosis utilizando el ácido triyodotiropropiónico en dosis orales de 6 mg por día (62) -

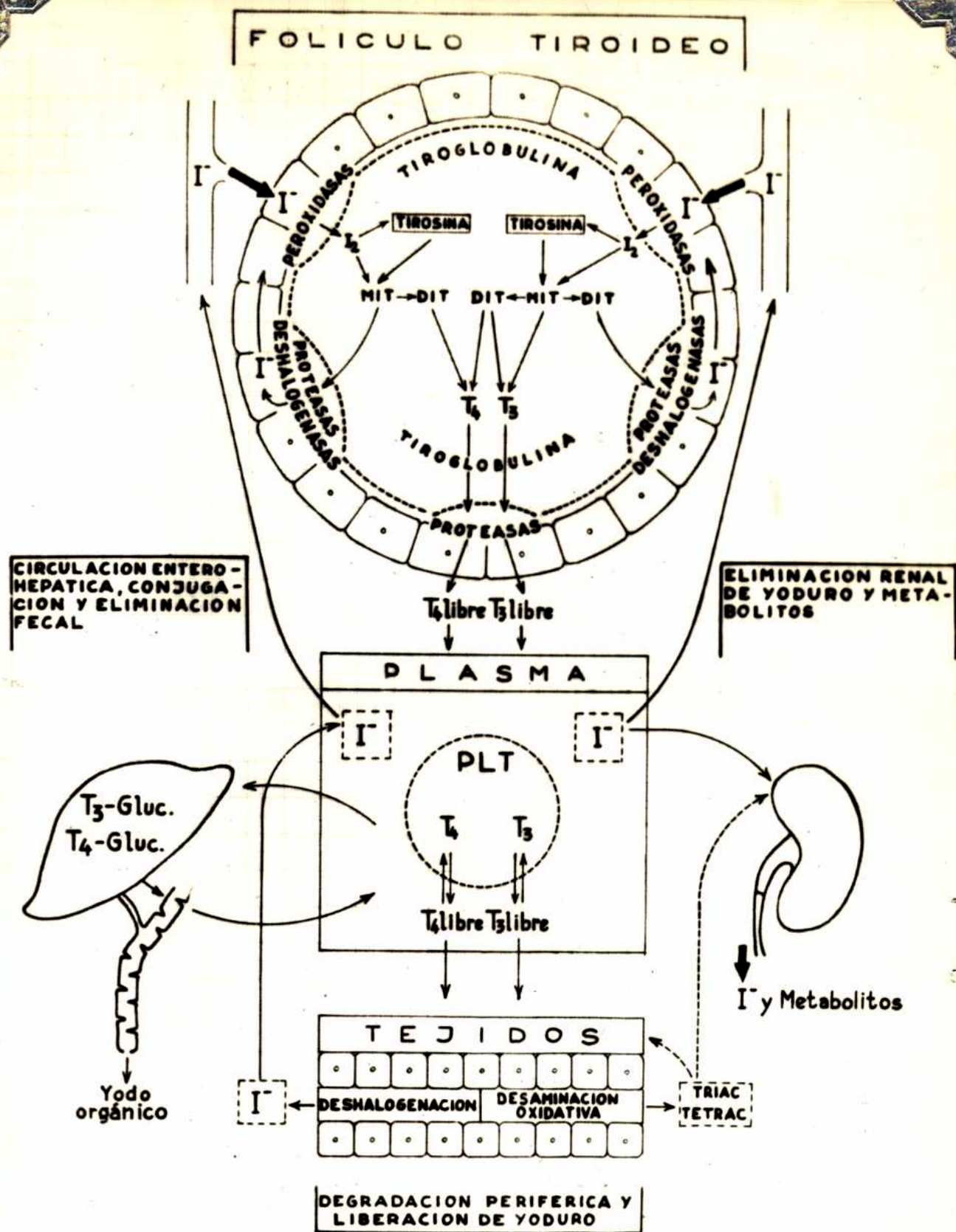
Este ácido y el tetrayodotiropropiónico resultan 120 y 290 veces más activos respectivamente que la tiroxina en su actividad sobre la metamorfosis de los renacuajos.-

Recientemente W.R.Ruegger, M.E.Alpert y F.R.Silverman (1960) encuentran que los análogos más activos para disminuir el colesterol sanguíneo y hepático sin afectar al metabolismo basal son los ácidos 3,5-diyodotiroacético (DIAC) y 3,5-diyodotirofórmico (63) -

J.C.Malby, R.H.Egdahl, J.L.Story y W.W.Spink (1960) demuestran en perros con la vena adrenal cauterizada que 4 mg de ácido triyodotiroacético producen un aumento en la producción de hidrocortisona semejante a la que se consigue con 25 u. de ACTH siendo en cambio la tiroxina inactiva en este aspecto (64) -

De todo lo dicho hasta aquí se puede concluir que el efecto metabólico de las hormonas tiroideas depende de su propia actividad y de su transformación periférica en análogos activos que serían en última instancia, los verdaderos responsables de la actividad biológica de estas sustancias.-

En la figura siguiente se pretende representar esquemáticamente la biosíntesis y los distintos caminos de metabolización de las hormonas tiroideas.-



MIT: monoyodotirosina; DIT: diyodotirosina; T₃: 3,5,3'-triyodotironina; T₄: tiroxina; TRIAC: triyodotiroacético; TETRAC: tetrayodotiroacético; T₃-Gluc: triyodotironina glucurónido; T₄-Gluc: tiroxina glucurónido; PLT: proteína ligada a la tiroxina (TBP)

EL LABORATORIO EN EL DIAGNOSTICO DE LAS ENFERMEDADES TIROIDEAS

Conviene antes que nada afirmar que ninguna de las técnicas de laboratorio utilizadas para el diagnóstico de estas enfermedades es infalible. Todas están sujetas a causas de error más o menos importantes, son relativamente inespecíficas y algunas de muy difícil realización. Como ocurre en otras especialidades médicas, las determinaciones del laboratorio sólo confirmarán o harán reвер las conclusiones obtenidas después de un cuidadoso y exhaustivo estudio clínico del paciente.

Las pruebas más corrientemente usadas son:

- 1) La medida del metabolismo basal;
- 2) La determinación del colesterol sérico;
- 3) La medida de la captación y excreción del yodo radioactivo;
- 4) La determinación del yodo ligado a las proteínas.

1) Metabolismo basal.— Expresa la producción calórica estimada por el consumo de oxígeno medido en un individuo en reposo absoluto 12 a 16 horas después de la última ingestión de alimentos.

El metabolismo basal varía, en condiciones normales, con la edad, el sexo y la superficie corporal. Por esto los resultados se deben informar como porcentaje "standard" calculado empíricamente con fórmulas o índices adecuados (65, 66, 67, 68, 69).

Normalmente los valores oscilan entre menos de 10 y más de 10 por ciento. Cifras mayores se encuentran en el hipertiroidismo y menores en el hipotiroidismo aunque no siempre los datos obtenidos se correlacionan con la severidad del proceso y la sintomatología del enfermo porque existen otros estados que pueden alterar el gasto calórico basal.

En el niño recién nacido los resultados son más altos que en el adulto

observándose luego una declinación progresiva entre los 2 y 70 años de edad. En las mujeres el metabolismo basal es ligeramente más bajo que en el hombre con las mismas variaciones respecto de la edad.

En el embarazo, ya en el primer trimestre, se produce un significativo aumento en la concentración del yodo pretaico no acompañado por una elevación concomitante en los valores del metabolismo basal al que sólo aumenta ligeramente en el último trimestre (70). Esto confirma que el metabolismo basal no mide la producción hormonal de la tiroides sino, más bien, la utilización periférica de esas hormonas.

Es la prueba más simple, más rápida y tal vez más criticada para el estudio de la función tiroidea (71, 72). Las causas de error más comunes por las que pueden obtenerse falsos resultados son: disturbios emocionales en el paciente durante la realización de la prueba, fallas técnicas en el manejo del aparato y sus accesorios y la existencia de ciertos estados clínicos que producen variaciones en el metabolismo basal sin alteración demostrable de la función tiroidea. En la hipertensión arterial, cardiopatías crónicas, leucemia crónica, linfomas malignos, policitemia vera, feocromocitoma, acromegalia, diabetes y parkinsonismo, frecuentemente se encuentra el metabolismo basal aumentado. En cambio, la enfermedad de Addison, la anorexia nerviosa, el hipometabolismo constitucional y los estados clínicos por desnutrición prolongada, están asociados con un descenso en el metabolismo basal (73).

Con el objeto de excluir los disturbios emocionales y la tensión nerviosa de los pacientes se ha propuesto la realización del metabolismo basal bajo los efectos de los barbitúricos y derivados hasta llevarlos a un estado de somnolencia (74, 75, 76) o directamente durante el sueño inducido (77, 78, 79). En estas condiciones los trasados son mucho más regulares y los valores permanecen normales en los eutiroides y altos en los hipertiroides confirmados. En cambio, en los pacientes

en los que la ansiedad o emoción constituyen la única causa de su hipermetabolismo, los resultados son normales cuando la prueba se realiza en las condiciones anestésicas.

2) Coolesterol.— Las hormonas tiroideas actúan sobre el metabolismo intermedio de los lípidos, carbohidratos, proteínas y ciertas vitaminas.

La hipofunción tiroidea trae aparejada un aumento en la concentración de los lípidos séricos, excepto las grasas neutras (80, 81]. El coolesterol y los fosfolípidos se elevan proporcionalmente, manteniéndose constante el cociente entre el coolesterol libre y el esterificado. Estas variaciones ocurren fundamentalmente en el suero, con muy escasa notificación en los lípidos intracelulares (82).

La asociación del síndrome con la elevación del coolesterol plasmático es suficientemente constante como para ser considerado de cierto valor diagnóstico. En el hipotiroidismo juvenil el coolesterol es de mucha importancia especialmente por las dificultades para la correcta determinación del metabolismo basal en los niños.

En el hipertiroidismo, en cambio, las variaciones son menos pronunciadas por lo que su determinación tiene poca importancia clínica.

Según P. Handler (83) la tiroidea regula específicamente el metabolismo del coolesterol a través de su síntesis y utilización o de su transporte y distribución. S.J. Thannhauser y G. Schmidt (84), después de una minuciosa revisión del metabolismo de los lípidos, concluyen que la verdadera causa del aumento del coolesterol en el hipotiroidismo es aún desconocida.

La determinación del coolesterol en el laboratorio no ofrece mayores dificultades y los resultados son suficientemente seguros y reproducibles.

Cabe sólo agregar a los inconvenientes ya apuntados la posibilidad de coexistencia de una disfunción tiroidea con ciertas enfermedades en las cuales está también modificado el metabolismo intermedio del coolesterol y de los lípidos. Este

es particularmente importante en la diabetes mellitus, en la nefrosis lipóidica y en algunas hepatopatías.

3) Captación del yodo radiactivo.- La utilización del yodo radiactivo dió un enorme impulso al estudio de la fisiología y patología tiroidea, facilitando a través de distintas técnicas, el diagnóstico de las disfunciones de dicha glándula y el tratamiento de algunas de sus enfermedades.

De acuerdo a la teoría atómica Bohr- Rutherford se sabe que existen átomos con idénticas propiedades químicas, la misma carga nuclear y estructura electrónica pero con diferentes pesos atómicos, llamados isótopos.

La radioactividad natural es una consecuencia de la inestabilidad del núcleo atómico, que involucra la desintegración del mismo en un tiempo que varía desde una fracción de segundo hasta millones de años. La radioactividad artificial o inducida, descubierta por Joliot y Curie (85) en 1934, por el bombardeo de ciertos elementos químicos como el aluminio y el magnesio con partículas alfa, permitió obtener isótopos radiactivos que continúan desintegrándose durante un tiempo variable después que el bombardeo ha cesado.

La mayoría de los elementos radiactivos artificiales se desintegran por emisión de electrones (negativos) o positrones (positivos) acompañados por rayos gamma. Estas radiaciones pueden ser medidas por su capacidad de ionizar aire u otro gas enrarecido entre dos placas cargadas. Los rayos gamma, altamente penetrantes, pueden así ser detectados por un contador de Geiger- Miller colocado a una distancia adecuada. Desde el año 1950 se ha generalizado el empleo del contador de centelleo (scintillation Counter) que consiste fundamentalmente en un cristal especial capaz de emitir luz por transformación de la energía radiante (86, 87). Con un tubo fotomultiplicador y un amplificador se consigue aumentar el cuanto de luz emitido por el cristal con lo que se sensibiliza apreciablemente la medida indirecta de la radiación producida. El contador de centelleo resulta así unas 30 a 50 veces más sensible que

el de Geiger- Miller lo que permite disminuir la dosis del radioisótopo empleado.

El yodo normal es un átomo eléctricamente neutro que posee 53 electrones y 74 neutrones con un peso atómico de 127. Bombardeando telurio metálico con deuterones (núcleos de hidrógeno pesado) en el ciclotrón se obtienen varios isótopos radiactivos del I^{127} que se diferencia por su peso atómico y por su período de semi-desintegración.

El I^{131} (8 días de vida media) es el isótopo radioactivo del I^{127} que alcanza difusión universal en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades tiroideas. Se comporta fisiológicamente como el I^{127} con la ventaja de que es posible seguir las distintas etapas de su metabolización por las radiaciones captables que emite en su trayectoria.

S.Hertz, A.Roberts y R.D.Evans (88) fueron los primeros investigadores que utilizaron el I^{131} para estudiar la función tiroidea en animales. J.G.Hamilton y M.H.Saley (89, 90) extendieron su empleo al hombre.

W.M.McConahay, F.R.Keating y M.H.Power (91) demostraron que el I^{131} aparece en la sangre a los pocos minutos de haber sido ingerido por vía oral y que su concentración alcanza un máximo entre los 30 y 90 minutos para luego caer a valores que pueden ser representados en una curva cuya forma depende del estado funcional de la tiroides. El radioyodo circulante, una vez alcanzado el equilibrio, es selectivamente captado por la tiroides o excretado por los riñones. Normalmente, 24 horas después de la ingestión del I^{131} el 85 al 90 % del radioisótopo se encuentra en la glándula o en la orina y el resto en los demás tejidos.

Con un contador de Geiger- Miller o de centelleo colocado directamente frente al cuello del paciente se consigue medir la captación tiroidea después de las 24 horas de la ingestión de una dosis pequeña de I^{131} . Realizando las medidas a las 1, 6, 24, y 48 horas se puede construir una curva de captación de I^{131} , fácil de realizar, sin peligro para el paciente debido a la pequeña cantidad de radioyodo utilizado y de mucho valor diagnóstico. La glándula hiperfuncionante capta más rá-

pidamente el I^{131} si se compara con la captación tiroidea de un individuo normal o hipotiroideo, y también con mayor rapidez lo vuelve a la sangre circulante como yodo orgánico. Por esta razón, en el hipertiroidismo, las curvas de captación de I^{131} alcanzan precozmente un máximo para luego caer con una pendiente muy pronunciada comparada con la curva obtenida en un sujeto eutiroideo. En el hipotiroidismo el trazado resulta más plano con un máximo de captación menor y una caída más lenta.

También se ha propuesto la administración endovenosa del I^{131} realizando la captación a la hora (93) o a los 10 minutos (94). Con esta última técnica es posible una medida más precisa del elevado "trapping" tiroideo especialmente observado en el hipertiroidismo, que permite evitar en estos casos, el error que se comete en la captación a la 24 horas por la rápida descarga del radioisótopo a la sangre. En casos de hipertiroidismo incipiente la captación a los 10 minutos resulta claramente anormal comparada con la captación a las 24 horas. La vía endovenosa tiene también la ventaja de evitar los resultados falsos obtenidos por defectos en la absorción como ocurre en las esteatorreas. Permite además, efectuar las pruebas de captación con I^{132} (vida media: 2-3 horas) sobre todo en los niños y en el embarazo (95, 96) en los que el empleo del I^{131} (vida media: 8 días) se considera peligroso.

Según A.S.Freedberg, D.L.Chamovita y G.S.Kurland (97) los valores de la captación de I^{131} a las 24 horas oscilan entre 16 y 45 % para los individuos normales, de 41 a 95 % para los hipertiroideos y de 0 a 25 % para los hipotiroideos.

Sin embargo, pacientes eutiroideos con bocios de distintos tipos, con hiperplasia por drogas antitiroideas o sujetos normotiroideos de zonas pobre en yodo, presentan una captación elevada de I^{131} que no corresponde al estado clínico del enfermo. O. Eichhorn (98) investigando las pruebas con I^{131} en ciertas zonas de Austria donde la deficiencia de yodo es endémica, encuentra valores altos de captación en personas clínicamente eutiroideas debido a la gran avides de la glándula en estas condiciones. M.A.Roche y colaboradores (99) en Venezuela, J.B.Stanbury y colaboradores (100) en Mendoza, Argentina y A.Oñativia y H.M.Forcher (101) en la

provincia de Salta, Argentina, llegan a conclusiones similares.

En la enfermedad de Addison, en la tiroiditis difusa aguda y en la tiroiditis de Riedel es frecuente encontrar valores anormalmente bajos.

Efectuando las captaciones de I^{131} en distintos lugares de una misma glándula (captaciones localizadas) o actualmente con el contador de centelleo "diseccional" automático es posible trazar un verdadero "mapa" funcional de la tiroides (gammagrama). Con este método se puede detectar la presencia de "nódulos calientes" o hiperfuncionantes que acumulan mayor radioactividad que el tejido tiroideo normal y "nódulos fríos" o hipofuncionantes cuya captación es muy baja (102, 103).

La determinación en sangre del radioyodo proteico (yodo radioactivo ligado a las proteínas) es también de mucho valor diagnóstico. A las 24 horas de haber ingerido una dosis adecuada de I^{131} se encontrará, en la fracción plasmática precipitable con ácido tricloroacético, un 75 % en el hipertiroidismo, un 20 % en los sujetos normales y un 5 % o menos en el hipotiroidismo. Por lo tanto, la medida de la concentración plasmática del radioyodo proteico es un índice importante para el estudio de la función tiroidea. La técnica consiste en administrar una dosis relativamente alta de I^{131} y a las 24, 48 ó 72 horas extraer sangre y precipitar las proteínas con ácido tricloroacético. Empleando un contador de pozo (well-Counter) es posible medir la radioactividad del precipitado proteico (radioyodo proteico) y la radioactividad total del plasma con lo que se puede calcular la "relación de conversión" otro dato que permite establecer niveles de actividad tiroidea con suficiente precisión (104, 105). Van Middlesworth y col. (106) encuentran valores comprendidos entre 10 y 30 % para la "relación de conversión" en personas normales y datos superiores al 50 % los consideran de gran importancia para el diagnóstico del hipertiroidismo.

La determinación del radioyodo proteico y de la "relación de Conversión" se facilita con el uso de "resinas intercambiadoras de iones" capaces de fijar el

yodo inorgánico dejando inalterado el yodo fijado a las proteínas. El método consiste en mezclar la suspensión de la resina con el plasma, centrifugar o filtrar y luego medir la radioactividad de las dos fracciones (107, 108, 109, 110).

Otra prueba funcional interesante es la determinación del "clearance" tiroideo. Como se dijo anteriormente el I^{131} , fácilmente difusible, se distribuye inmediatamente en todos los tejidos. El equilibrio se alcanza a los 10-15 minutos si se inyecta por vía endovenosa y a las 2 horas después de la ingestión oral. A las 24 horas los tejidos están prácticamente libres del radioisótopo, la tiroides ha alcanzado una meseta en su acumulación y muy poco se ya lo que se continúa excretando por los riñones. Durante este tiempo el yoduro captado por la tiroides es rápidamente utilizado para la síntesis hormonal y acumulado por incorporación a la tiroglobulina, de donde será descargado al torrente circulatorio. En condiciones normales todo este proceso se realiza en unas 72 horas puesto que a este tiempo es posible detectar en el plasma cantidades significativas de I^{131} ligado a las proteínas. En el hipertiroidismo, en cambio, se puede identificar el radioyodo proteico antes de las 24 horas de haber sido administrado. Este comportamiento diferencial se manifiesta claramente con la determinación del "clearance" tiroideo que en definitiva no es más que la cantidad de plasma que es "clarificado" ó "depurado" de I^{131} en un minuto por la glándula.

Normalmente el "clearance" tiroideo oscila entre 3 y 45 ml por minuto, mientras que en el hipertiroidismo los valores varían entre 80 y 1000 ml por minuto (111, 112, 113).

Simultáneamente se puede determinar la excreción urinaria de I^{131} (114, 115, 116) que también permite conocer indirectamente el estado funcional de la tiroides. Es una prueba menos específica y está sujeta a los errores inherentes a la recolección de las orinas por lo que se considera de menor utilidad clínica.

H.G.Thode y colaboradores (117) estudiaron la excreción salival del I^{131} demostrando que alcanza un máximo a las 4 horas y que los hipertiroides excretan

menor cantidad del radioyodo que las personas normales, mientras que en el hipotiroidismo el contenido de I^{131} en la saliva es muy alto. Estableciendo la relación entre el contenido salival de I^{131} y la concentración plasmática del radioyodo proteico se obtiene un índice muy sensible y útil para el diagnóstico de las disfunciones tiroideas (118, 119, 120).

Una prueba funcional que permite diferenciar un bocio tóxico de otro en tiroideo, ambos con elevada captación de I^{131} , es la propuesta por M.A.Greer y G.E. Smith (121) que consiste en administrar 180 mg diarios de polvo de tiroides durante 1 a 2 semanas y repetir luego la captación de I^{131} . Si el paciente es eutiroides la caída de la captación a las 24 horas es siempre inferior al 20 % lo que no ocurre en las tirototoxicosis. S.C.Werner y M.Spencer (122) aplican el mismo principio fisiológico pero usando 75 microgramos de l- triyodotironina por vía bucal durante 8 días y consiguen resultados de mucho valor en el estudio de estos casos.

Para el diagnóstico diferencial entre el mixedema primitivamente tiroideo del mixedema hipofisario se puede utilizar la prueba de A.Querido y J.B.Stanbury (123) que consiste en inyectar 10 unidades de tirotrófina por vía intramuscular y repetir luego la captación de I^{131} . Si el hipotiroidismo es primario no se observa respuesta a la inyección de tirotrófina. Si la captación alcanza valores normales o superiores se confirma la existencia de un hipotiroidismo hipofisario. Los datos de la segunda captación deben ser 1.5 veces más altos que la primera para asegurar el diagnóstico de mixedema secundario (124, 125).

M.W.Hemolaky, M.Stein y A.S.Freedberg (126) proponen una prueba basada en la captación in vitro de la l- triyodotironina marcada con I^{131} por parte de los hematíes del paciente a estudiar. El ensayo consiste en mezclar 3 ml de sangre oxalata da con 0.1 ml de una solución "standard" de l- triyodotironina marcada y agitar uniforme y continuamente durante dos horas a $37^{\circ}C$. La radioactividad de 1 ml de sangre se mide luego en un contador de pozo, se centrifuga, se lava 5 veces con solución isotónica, se vuelve a medir la radioactividad de los eritrocitos y se calcula el por-

centaje de captación de estos últimos. Los valores obtenidos en personas normales oscilan entre 10.3 y 17.0 por ciento; de 16.4 a 34.2 por ciento en los hipertiroideos y entre 5.0 a 11.0 para los hipotiroideos. A. Ureless y M. Murray (127) confirman estos datos y demuestran que la captación de los hematíes in vitro no se modifica por la ingestión por parte del paciente de yodo orgánico e inorgánico lo que permite conocer el estado funcional de la tiroides, justamente cuando con otras pruebas se obtienen resultados falsos. En el embarazo la captación de los eritrocitos se encuentra muy disminuida, descenso que también se obtiene en mujeres normales después del tratamiento con estrógenos. Si esta caída durante el curso de la gestación no se mantiene, aumentan las probabilidades de una amenaza de aborto. Valores altos se observan después del tratamiento con anticoagulantes (dicumarol), en las nefrosis, hepatitis y cáncer metastásico avanzado. Resulta además una prueba eficiente para seguir la evolución del tratamiento del hiper e hipotiroidismo (128, 129, 130].

En todas las pruebas enumeradas en las que se utiliza el yodo radioactivo y sobre todo en las de captación por la glándula tiroides, que es la más corrientemente usada con fines diagnósticos, es de fundamental importancia conocer la influencia de ciertos factores que pueden perturbar la determinación y que recientemente han sido resumidos por R. R. Grayson (131). El exceso en la ingestión de yodo, por ej., modifica el tamaño del "pool" de yoduro y posiblemente inactiva el o los sistemas enzimáticos proteolíticos que liberan las hormonas tiroideas de la tiroglobulina (132), o ejerce una acción química directa sobre la tirotrófina (133, 134), propiedades estas que se aprovecharon desde tiempo atrás en el tratamiento del hipertiroidismo.

Entre las fuentes más comunes de un exceso en la ingestión de yodo se puede citar: los medicamentos yodados, la sal yodada, las sustancias de contraste para exploraciones con rayos X y ciertos alimentos de origen marino. El yoduro de potasio es un componente muy común en preparados palivitaminicos (135) y en expectoran-

tes. Ciertos paracitocidas intestinales e vaginales (como el Flaraguin para Trichomonas) contienen dihidrocloruro de quinoleína a veces en elevada proporción. Algunas tinturas para el caballo y bronceadores para la piel poseen un alto contenido de yodo orgánico o inorgánico. El aceite de hígado de bacalao, la merluza, langostas de mar, langostinos y camarones contienen también yodo en cantidad suficiente como para disminuir la captación del radioyodo en aquellas zonas donde con la base de la alimentación. Lo mismo que ciertos vegetales como el repollo, nabo, cebollines, etc., que poseen sustancias bociógenas que interfieren en el metabolismo del yodo (136). La mayoría de los medios de contraste para visualizaciones roentgenológicas poseen un elevado porcentaje de yodo que prácticamente puede anular la captación. El Priodax^(R) influye durante unas cuatro semanas en sujetos eutiroideos y menos de siete días en hipertiroideos (137), el Telepaque^(R) durante dos meses (138, 139) y otros hasta tres meses o más (140). Los aceites yodados (como el lipiodol) que se emplean en las mielografías y broncografías pueden falsear los resultados durante años porque son de muy lenta eliminación (141, 142).

Los aniones monovalentes como el tiocianato, perclorato, peryodato e hipoclorito disminuyen marcadamente la captación tiroidea del radioyodo hasta dos semanas después de suprimida la medicación (143, 144, 145).

Los derivados de la tiocrea, como el tioracilo y el propiltioracilo poseen una acción similar, pero a los dos o tres días de haber suspendido la droga se produce un período de captación elevada (fenómeno de rebote) seguida de una nueva caída a los cinco o seis días para alcanzar, después de una semana, los valores presentados antes de la medicación (146).

Disminuyen también la captación del I^{131} las sulfonilureas como la tolbutamida y la carbutamida (147) utilizados en el tratamiento oral de la diabetes; el ácido p-aminosalicílico (PAS) empleado en la tuberculosis (148, 149); la butasquidina (150) y los salicilatos (151) usados en reumatología y los ungüentos de resorcinol para las úlceras (152).

Los sedativos, que muchas veces mejoran los síntomas clínicos de la tirototoxicosis, en general no modifican la captación del radioyodo (153) y sólo para el tiopental (154) y el meprobamato (155) se ha podido demostrar un efecto anti-tiroides.

El cobalto, incluido en las preparaciones anti-tiroides, posee un efecto inhibitor a veces muy potente (156, 157), lo mismo que ciertos metales pesados como el plomo, el mercurio y el cobre, aunque para estos últimos su acción se ha demostrado solamente in vitro (158).

Las hormonas tiroideas como la tiroxina, la triyodotironina y el polvo de tiroides disminuyen la captación del I^{131} porque inhiben la liberación de la tiroglobulina hipofisaria (159) y los resultados vuelven a los valores iniciales dentro de los quince días después de haber suspendido la medicación (160). La corticotrofina y la cortisona, esta última en dosis superiores a los 100 mg diarios (161) disminuyen también las medidas de la captación y en ciertas condiciones, la adrenalina, posiblemente por la vasoconstricción de la irrigación tiroidea que disminuiría la disponibilidad del yoduro circulante (162).

Entre las causas que pueden producir un aumento en la fijación del I^{131} deben citarse las dietas pobres en yodo, los fenómenos de rebote por la supresión aguda de anti-tiroides, la administración de estrógenos (163, 164), la disminución del cloro plasmático (165) y la ingestión de harina de soja (166, 167), esta última por aumentar la excreción fecal de la tiroxina (168).

Estos factores que se acaban de mencionar no influyen en forma similar y por igual tiempo en todos los individuos y dependen además, del estado clínico del paciente. Por esta razón resulta necesario analizar exhaustivamente los antecedentes del enfermo, su alimentación, drogas ingeridas, tratamientos médicos, etc., para tenerlos en cuenta al interpretar cualquier prueba de la función tiroidea en la que se emplee la captación del I^{131} .

DETERMINACION DEL YODO LIGADO A LAS PROTEINAS

La determinación química del yodo proteico o yodo ligado a las proteínas (PBI: protein-bound iodine o SPI: serum precipitable iodine) es posiblemente la técnica más precisa para la exploración funcional de la glándula tiroides y también la de más difícil realización.

El yodo proteico del plasma engloba los compuestos yodados responsables de su actividad hormonal. El ión yoduro difunde libremente del plasma a los glóbulos y vísceras (169). El yodo proteico, en cambio, está prácticamente excluido de los eritrocitos circulantes (170), no dialisa, no pasa a través del ultrafiltro y puede ser precipitado cuantitativamente con las proteínas plasmáticas (171, 172, 173).

En condiciones normales, la mayor parte del yodo proteico está constituido por la tiroxina y la 3,5,3'-triyodotironina, esta última en muy pequeña proporción. Las yodotirosinas y las otras yodotironinas están ausentes o se presentan en cantidades insignificantes por ser rápidamente depuradas del plasma circulante (174, 175). Esto explica el fracaso de las tentativas de varios investigadores para poner de manifiesto la presencia de tirosinas yodadas plasmáticas después de la administración de I^{131} (176, 177).

Existen condiciones patológicas, sin embargo, como lo demostrara en 1953 A.Costa y col. en un caso de cretinismo endémico, donde es posible encontrar diyodotirosina plasmática en cantidades determinables por métodos de laboratorio (178). J. B.Stanbury y col. (179), estudiando un conjunto de pacientes hipotiroideos con bocio congénito, demuestran en ellos una captación alta de I^{131} seguida de una rápida declinación de la radioactividad glandular y de un radioyodo proteico elevado. Gracias al empleo de técnicas cromatográficas fue posible revelar, en tales pacientes, la presencia de monoyodo y diyodotirosinas además de tiroxina y triyodotironina. La patogénesis de estos bocios que han permitido delinear un nuevo tipo de enfermedad tiroidea, se puede explicar aceptando en ellos una disminución, genéticamente condicionada, de la actividad de las enzimas capaces de deshalogenar las yodotirosinas en la

glándula, las que en lugar de quedar asociadas a la tireoglobulina son volcadas a la sangre. S.C.Werner y col. (180,181) presentaron otro tipo de alteración semejante pero con un defecto intratiroideo en la cepulación de las yodotirosinas para la producción de yodotironinas.

En otros estados patológicos, como la enfermedad de Hashimoto, se ha demostrado la presencia en el plasma de una proteína yodada similar a la tireoglobulina en su comportamiento fisicoquímico. En el carcinoma de tiroides J.Rebbins y col.(182) y J.R.Tata y col. (183) encuentran una yodeproteína distinta a las conocidas hasta ese momento y que se denominó compuesto X. Por hidrólisis del compuesto X se pudo demostrar que su principal aminoácido yodado es la metoyodotirosina y que posiblemente contenga la 3,3'-diyodotironina.

Posteriormente se han publicado varios casos en los que se hallaron yodeproteínas plasmáticas o polipéptidos yodados cuya naturaleza química no está aún suficientemente aclarada (184, 185, 186, 187, 188, 189).

Como pueda apreciarse, cada vez es mayor el número de estados clínicos en los que se consigue demostrar la presencia de compuestos yodados plasmáticos anormales y como la valoración química del yodo proteico involucra una serie de etapas que varían según la técnica empleada, es necesario conocer el comportamiento de esas sustancias ante los distintos reactivos utilizados y poder tener así una idea aproximada de cual será su influencia en los resultados finales de la determinación que el laboratorio envía a la interpretación del médico.

Pues bien, la precipitación de las proteínas con ácido tricloroacético permite recuperar el 95 % de la tiroxina y triyodotironina y solo el 10 % de la metoyodo y diyodotirosina. La precipitación con hidróxido de Zinc (Semogyi) recupera el 90 % de la tiroxina y triyodotironina y el 50 % de la metoyodo y diyodotirosina (190). Es decir que en sueros e plasmas normales en los que la cantidad de tirosinas es insignificante, la valoración final del yodo proteico será prácticamente la misma si las proteínas son precipitadas con ácido tricloroacético o con hidróxido de Zinc. En cambio, en

un bocio congénito con yodotirosinas elevadas, el yodo proteico determinado por precipitación alcalina será más alto que el obtenido utilizando ácido tricloroacético. La tiroglobulina, el compuesto X. y las otras yodoproteínas son cuantitativamente precipitadas por cualquiera de los dos métodos.

Las tirosinas y tironinas yodadas también pueden ser extraídas del plasma o suero con alcohol butílico primario (n-butanol) previa acidificación (191). Si a este extracto se lo trata con el reactivo alcalino de Blau (192) es posible separar las tirosinas dejando en el butanol sólo las yodotironinas (193). La tiroglobulina y las otras yodoproteínas son insolubles en el alcohol butílico.

Las primeras tentativas para la determinación del yodo total en líquidos biológicos se remontan al año 1914 cuando E.C.Kendall (194) publica una técnica aplicable sólo cuando la concentración del yodo es relativamente alta. En 1924 von Fallenberg presenta ya un micrométodo (195) y en la década 1930-1940 numerosas publicaciones revelan que el yodo total de la sangre está frecuentemente elevado en el hipertiroidismo y disminuido en el hipotiroidismo (196.. a..225). Sin embargo muchas discrepancias aparecen en esa época entre las determinaciones del yodo total del plasma o suero y los valores del metabolismo basal, del colesterol y del estado clínico del paciente.

En el año 1941, W.T.Salter y col. (226, 227, 228, 229) miden la fracción del yodo plasmático unido a las proteínas (P.B.I.: protein-bound iodine) demostrando que esta determinación era de gran valor para la apreciación del estado funcional de la tiroides y desde esa época hasta la actualidad han aparecido numerosos métodos analíticos que permitieron conocer mejor su naturaleza, su significado y su aplicación clínica (230.. a ..312).

La determinación química del yodo proteico comprende tres etapas:

- a) Precipitación de las proteínas: puede realizarse en medio alcalino con el reactivo de Somogyi (313) o con ácido tricloroacético. J.S.Acland llama la atención sobre la posibilidad de que trazas de Zinc incluídas en el material precipitado

con el reactivo de Somogyi disminuyan el efecto catalítico del ión yoduro sobre el sistema cérico-arsenito (297).

La precipitación de las proteínas con cualquiera de los dos métodos, seguida de los lavados correspondientes, permite separar el yodo orgánico del inorgánico. J.P. Vilkki (305) recomienda la diálisis del plasma e suero para obtener los mismos resultados.

- b) Destrucción de la materia orgánica (mineralización): la incineración alcalina (237, 262), la oxidación con permanganato de potasio (221), con ácido crómico (243, 273) y con ácido cérico (272) son las técnicas más corrientemente utilizadas. A veces es necesaria la destilación del yodo antes de su titulación empleándose aparatos de vidrio contruidos especialmente para evitar pérdidas por volatilización.
- c) Reacción colorimétrica: El método más empleado en la actualidad es casi exclusivamente el de E.B. Sandell o I.M. Kolthoff (314, 315, 316) basado en el efecto catalítico del yoduro sobre el sistema de óxido-reducción formado con una sal cérica y el ácido arsenioso.



El sulfato cérico-arsénico es de color amarillo-naranja y las concentraciones decrecientes, leídas en el espectrofotómetro en una longitud de onda de 415 $m\mu$, cumplen satisfactoriamente la ley de Beer.

El ión cérico (Ce^{++++}), en presencia de un arsenito, se reduce a ión ceroso (Ce^{+++}) incoloro con una velocidad de reacción muy lenta. El ión yoduro acelera notablemente la reacción (catalisis) y si se conserva la temperatura constante, la aceleración es proporcional a la cantidad de yoduro presente. Cuando mayor es la cantidad de I^- en el sistema, menor será la intensidad del color a un tiempo determinado. La reacción depende de muchas variables: concentración de los reactivos, acidos, cantidad de cloruros en la solución, tiempo y temperatura las que deben ser

controladas estrictamente si se desean obtener resultados comparables.

El método catalítico original (315) fué aplicado exitosamente a la determinación del yodo sanguíneo por A.L.Chaney (224).

B.Regina y M.Dubravčić (317, 318), con el objeto de excluir la influencia de las variaciones de la temperatura, inhiben la reacción catalítica por el agregado de un exceso de ión ferroso (Fe^{++}) que inmediatamente reduce al Ce^{++++} remanente. El ión férrico formado (Fe^{+++}) se trata entonces con sulfocianuro (SCN^-) midiéndose la intensidad del color rojo a los 45 minutos del agregado de los reactivos.

A.Grossman y G.F.Grossman (290), utilizando una modificación de la técnica de F.M.Shenyakin y V.A.Volkova (319), agregan sulfato de brucina al sistema cérico-arsenito después de un tiempo determinado, con lo que se consigue la decoloración inmediata del ión Ce^{++++} y la oxidación de la brucina. La intensidad del color producido resulta 4 ó 5 veces más sensible que la del ión cérico original. La reacción no se debe a la formación de un cerato estable (290) sino al compuesto orgánico oxidado. La bencidina y la morfina se comportan de una manera similar.

K.R.Meyer y col. (320) "envenenan" la reacción final agregando acetato de mercurio y efectúan las lecturas a temperatura ambiente dentro de las dos horas de agregado el reactivo. El efecto inhibitor del ión mercuríco lo utilizan también R. D.Strickland y C.M.Maloney (296) y con el mismo fin emplean el nitrato de plata N.E.Kontaxis y D.E.Pickering (336) que demuestran que el color se mantiene estable durante dos horas después del agregado del ión Ag^+ .

En nuestra experiencia, cualquiera de estas modificaciones compliean la titulación final por lo que preferimos las lecturas fotométricas directas a un tiempo determinado y controlando correctamente la temperatura.

La técnica más usada para la determinación del yodo proteico, si se tiene en cuenta la literatura médica universal, es la de S.B.Barker y colaboradores (262,

264) en la que se emplea la incineración alcalina, aunque ultimamente se está utilizando en numerosos laboratorios en método de oxidación con ácido clórico de B.Zak y col. (271, 272).

Hasta el año 1952, en experimentos personales, hemos empleado la técnica de S.B.Barker y col. con buenos resultados. Sin embargo, en algunas ocasiones obteníamos valores falsos cuando, realizando determinaciones simultáneas, alguna de las muestras contenía una cantidad elevada de yodo (pacientes a los que se les había administrado sustancias para contraste radiográfico) que contaminaba los otros tubos durante la incineración alcalina en la mufa a 600°C. Este hecho fue confirmado en 1955 por M.Sanson y col. (321), por H.M.Malkin (322), por M.Barker y E.Man (323) y otros (324, 325, 326) quienes para evitar el inconveniente, proponen efectuar ensayos preliminares, fáciles de realizar, que permitan detectar la presencia de concentraciones de yodo anormalmente elevadas.

Con la técnica de A.Tsurug e I.L.Chaikoff (245) hemos podido comprobar pérdidas de alrededor del 15 % durante la destilación, muy difíciles de evitar cualquiera sea el aparato utilizado en la misma.

Desde el año 1952 en adelante utilizamos la técnica de oxidación con ácido clórico, reactivo empleado ya en 1943 por B.K.Shahrokh (327, 328) y modificada por B.Zak y col. (272). Al principio, este método presentaba la dificultad del enturbiamiento de la solución final después del agregado del ácido arsenioso lo que puede evitarse por centrifugación. Con el empleo de tubos Pirax especiales marcados en 15 ml que permiten precipitar las proteínas, centrifugar y efectuar la digestión en el mismo recipiente hemos obtenido muy buenos resultados en más de 6000 determinaciones durante 8 años de labor. La técnica empleada es la que se detalla a continuación.

REACTIVOS.-

1.- Ácido crómico.- Disolver 1,515 g de ácido crómico (CrO₃- Mallinckrodt

A.R.) en agua bidestilada (libre de yodo) y diluir luego a 500 ml en un matras aforado. Guardar en frasco oscuro bien tapado. Es de conservación indefinida.

2.- Ácido arsenioso 0.2 N.- En una probeta de 1000 ml disolver 9,89 g de ácido arsenioso (As_2O_3 - Merck A.C.S.) y 7 g de hidróxido de sodio ($NaOH$ - J.T.Baker C.P.) en 100 ml de agua bidestilada. Diluir a 400 ml, agrega^a 2 gotas de fenolftaleína al 1 % como indicador y neutralizar con ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4 - Merck Darmstadt), previamente hervido para expulsar el yodo. Agregar 42 ml más de ácido sulfúrico concentrado, enfriar y llevar a 1000 ml con agua bidestilada. Ácido final 1.5 N. Guardar en frasco de vidrio neutro, bien tapado. Muy buena conservación.

3.- Ácido clórico.- En un vaso de precipitación de 1000 ml calentar 200 g de clorato de potasio ($KClO_3$ - Riedel de Hön- A.G.) y 350 ml de agua bidestilada. Calentar sobre tela de amianto, con agitación ocasional, hasta disolver (20 a 30 minutos). Retirar el vaso de la llama y enseguida agregar lentamente y agitando 166 ml de ácido perclórico al 70-72 % ($HClO_4$ - Mallinckrodt A.R.). El calor de reacción puede originar una ebullición violenta con el consiguiente peligro para el operador. Esto se evita si el ácido perclórico se agrega gota a gota con una pipeta de 50 ml agitando cuidadosa y constantemente con una varilla de vidrio. Se obtendrá un precipitado blanco de perchlorato de potasio y una solución ligeramente verdosa por el cloro desprendido. Enfriar y dejar en la baladera durante 24 horas. Filtrar en frío con papel Whatman N° 2 en un Buchner de tamaño conveniente, con succión suave. Si se prefiere puede centrifugarse en lugar de filtrar, utilizando frascos de 250 ml previamente lavados con mezcla sulfocromica, agua destilada y bidestilada. El ácido clórico así obtenido (alrededor de 300 ml con una concentración aproximada del 28 %) se guarda en un frasco oscuro de vidrio neutro bien tapado. Es de muy buena conservación.

4.- Sulfato cérico-amoníaco 0.04 N.- Disolver 12,655 g de sulfato cérico-amoníaco [$Ce(SO_4)_2 \cdot 2(NH_4)_2 SO_4 \cdot 4H_2O$ - Kimer and Amend] en 350 ml de agua bidestilada.

lada colocados en un matras aforado de 500 ml. Se obtiene una solución amarillo-naranja, turbia, que se aclara agregando, lentamente y agitando, 51.5 ml de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4 - Merck Darmstadt) previamente hervido. Dejar toda la noche en reposo a temperatura ambiente y llevar a 500 ml con agua bidestilada. La solución tiene una acidez final aproximada de 3,7 N y es de conservación indefinida.

5.- Acido sulfúrico-cloruro de sodio.- Pesar 100 g de cloruro de sodio ($NaCl$ - Merck Darmstadt) y disolver en agua bidestilada. Agregar lentamente y agitando 276 ml de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4 -Merck Darmstadt). Enfriar y llevar a 1000 ml con agua bidestilada. Se obtiene una solución 10 N de ácido sulfúrico con 100 mg de cloruro de sodio por ml. Es de conservación indefinida.

6.- Acido tricloroacético al 15 % .- Pesar 75 g de ácido tricloroacético (CCl_3COOH - J.T.Baker C.P.) disolver y llevar a 500 ml con agua bidestilada.

Para favorecer la conservación de este reactivo conviene preparar una solución al 100 % para lo cual se pesan 1000 g de ácido tricloroacético y se disuelven en agua bidestilada llevando el volumen a 1000 ml en un matras aforado. La solución al 15 % se prepara periódicamente a partir de la solución concentrada.

7.- Solución concentrada de yodato de potasio.- Pesar exactamente 168,5 kg de yodato de potasio (KIO_3 - J.T.Baker C.P.), previamente secado en un desecador de vacío hasta peso constante, disolver en agua bidestilada y llevar a 1000 ml en un matras aforado controlado.

Esta solución que contiene 100 microgramos de yodo por ml se guardará en frasco oscuro, bien tapado y al abrigo de la luz. Es de muy buena conservación.

Cada vez que se necesite, preparar la solución tipo diluida midiendo exactamente 0,5 ml de la solución anterior y llevando a 250 ml con agua bidestilada en un matras aforado controlado. La solución diluida que contiene 0.2 microgramos por ml es de conservación precaria.

8.- Agua bidestilada libre de yodo.- Se obtiene por redestilación previo agregado de hidróxido de sodio (2 g por cada 10 litros) en un aparato de vidrio Pyrex

con juntas esmeriladas descartando la primer parte hasta que el destilado sea neutro al rojo de metilo. Es necesario evitar la contaminación del agua con tramas de cobre que prácticamente inhiben el efecto catalítico del yoduro (329).

Nota importante.- En el laboratorio dedicado a la determinación del yodo proteico no deben existir frascos con yodo en cualquiera de sus formas volátiles.

Como las tramas de yodo siempre presentes en el aire, tienen gran afinidad por las superficies de vidrio, todo el material usado en esta determinación (jeriugas, pipetas, tubos, probetas, etc.) se colocará en mezcla sulfocrómica durante 24-48 horas, lavándolo luego con abundante agua corriente, agua destilada y agua bidestilada.

Para las extracciones de sangre no se debe usar merciclate como desinfectante porque el mercurio es también un potente inhibidor del efecto catalítico del yoduro. Conviene además tener equipos de extracción individuales con un tubo con tapón de goma y jeringa guardados en bolsas de celofán o plástico bien cerradas.

Los tapones de goma nuevos se deben hervir durante 10 minutos con una solución de hidróxido de sodio al 5 %.

Las drogas empleadas en la preparación de los reactivos, a pesar de ser las consignadas en la técnica descrita, suelen estar contaminadas con sales de yodo por lo que se recomienda realizar ensayos en blanco cada vez que se comience un nuevo lote o se cambie la marca de las mismas.

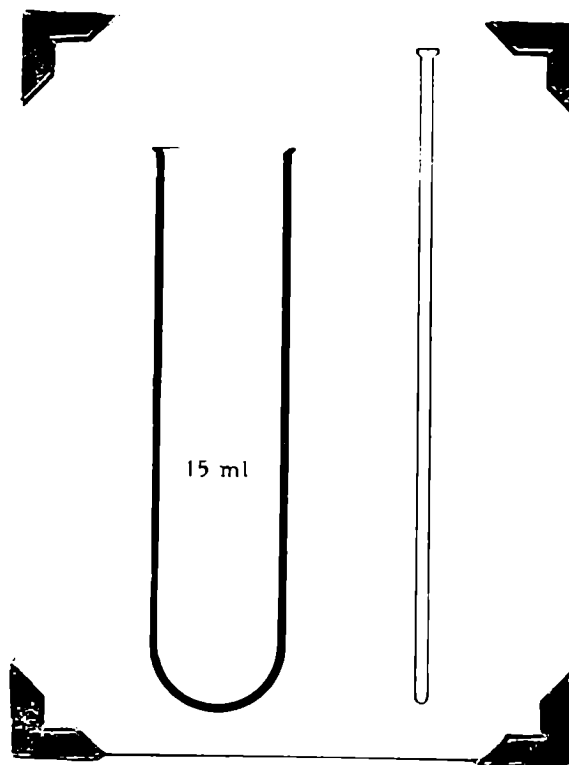
PROCEDIMIENTO.

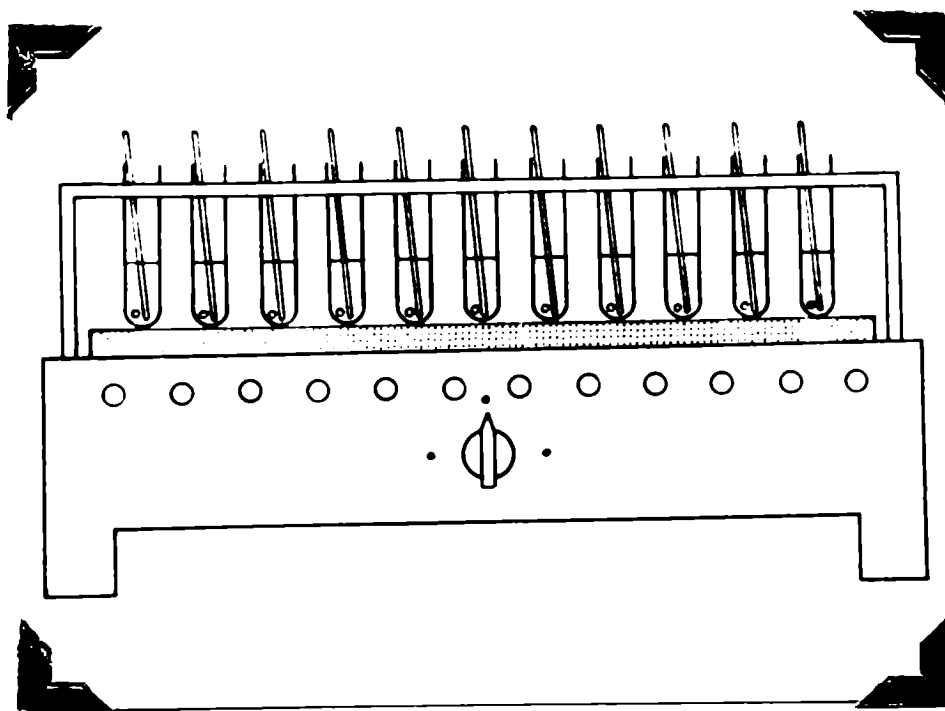
En el fondo de un tubo de digestión como el que se indica en la figura , medir exactamente 2 ml de suero y agregar lentamente y agitando 15 ml de ácido tricloroacético al 15 %. Agitar cuidadosamente con una varilla de vidrio rotulada rompiendo los grumos que pudieran haberse formado y dejar en reposo durante 20 minutos. Centrifugar 15 minutos a 2000 r.p.m., decantar el sobrenadante límpido invirtiendo

el tubo con cuidado y colócalo sobre un papel de filtro. Secar la boca del tubo con un trozo de tela limpia y suspender el precipitado en 15 ml de ácido tricloroacético al 15 % con la ayuda de la varilla de vidrio. Centrifugar, decantar, colocar la varilla dentro del tubo y tapar la boca del mismo con un tapachina de goma o plástico. En estas condiciones el precipitado puede estacionarse en la heladera e utilizarse inmediatamente para seguir con la determinación.

En cuatro tubos de digestión medir exactamente 0,0; 0,5; 1,0 y 1,5 ml de la solución tipo diluida de yodo-te (0,2 microgramos de yodo por ml) que corresponden, de acuerdo a las diluciones empleadas a 0; 5; 10 y 15 microgramos de yodo por 100 ml de suero.

En cada uno de estos cuatro tubos y en el desconocido colocar una bolilla de vidrio pequeña, agregar 1 ml de la solución de ácido crómico, homogeneizar cuidadosamente el precipitado con la varilla y añadir 10 ml de la solución de ácido clórico lavando las paredes del tubo para arrastrar toda partícula proteica adherida a las paredes del mismo. Sin retirar las varillas poner todos los tubos (4 testigos y 16 muestras) sobre una plancha eléctrica de baja temperatura como la que se indica en la figura , colocada en una campana extractora puesto que los vapores desprendidos son prácticamente irrespirables.





Durante todo el proceso de la digestión, la superficie de la plancha sobre la que se apoyan los tubos, deberá mantenerse a una temperatura inferior a 150° C, lo que se puede comprobar colocando sobre la misma, durante 15 - 20 minutos, un trozo de papel blanco de escribir. Si el papel toma una coloración parda sin quemarse, la temperatura es la adecuada.

En la primera parte del calentamiento conviene, para evitar salpicaduras, agitar suavemente con la varilla hasta que se regularice la ebullición. Una vez que el volumen se haya reducido a la tercera parte y aparezcan humos blancos y densos, agregar cada 5 - 10 minutos una gota de ácido clórico a cada tubo para impedir la reducción del cromo hexavalente (anaranjado) a cromo trivalente (verde). La aparición del color verde en cualquier momento de la digestión significa una pérdida posible de yodo por volatilización y debe considerarse anulada la determinación.

Mantener la ebullición lenta hasta que precipiten pequeños cristales rojos de trióxido de cromo y el volumen del líquido se reduzca a 1 ml o menos sin llegar

a sequedad. Retirar los tubos de la plancha y enfriar a temperatura ambiente. El proceso de digestión dura en total de 3 a 4 horas.

Lavar las varillas con agua bidestilada, completar el volumen a 15 ml y calentar suavemente sobre la plancha hasta disolución del precipitado. Enfriar, agregar 4 ml de la solución de ácido arsenioso 0.2 N. y 1 ml de la solución de ácido sulfúrico-cloruro de sodio. Agitar, dejar reposar 30 minutos y centrifugar a 2000 r.p.m. durante 15 minutos.

Para la determinación colorimétrica medir con precisión 10 ml del sobrenadante lípido en un tubo de fotocolorímetro calibrado (tipo Evelyn) o similar, de suficiente diámetro como para facilitar la agitación una vez agregado el sulfato cérico. Colocar los tubos durante 30 minutos en un baño de agua a temperatura constante. El baño estará provisto de un termorregulador y un termómetro sensibles para mantener la temperatura a $30^{\circ}\text{C} \pm 0.2$ y un agitador eléctrico para "uniformar el ambiente". El nivel del agua deberá sobrepasar en 2 - 3 cm el nivel del líquido de los tubos.

Con una pipeta de contenido y de escurrimiento rápido, agregar a cada tubo 0.5 ml de la solución de sulfato cérico-amónico 0.04 N con el siguiente esquema de tiempo: a la hora cero (medida con cronómetro) agregar sulfato cérico-amónico, agitar e inmediatamente colocar el tubo en el baño. Exactamente a los 30 segundos agregar 0.5 ml al segundo tubo y así sucesivamente, tratando de realizar la operación de tal manera que el tiempo de permanencia de cada uno de los tubos fuera del baño (agregado del reactivo y agitación) sea lo más uniforme posible.

Quince segundos antes de cumplirse los 10 minutos desde el primer agregado del sulfato cérico-amónico, retirar del baño el primer tubo, secarlo con un trozo de tela limpio y leer en el fotocolorímetro o espectrofotómetro cuando se cumplen exactamente los 10 minutos. A los 30 segundos se lee el siguiente en las mismas condiciones y así sucesivamente, con treinta segundos de intervalo, hasta leer todos los tubos. Previamente el aparato de lectura se llevará al 100 % de transmisión con agua

destilada utilizando el filtro azul (420) o una longitud de onda de 415 milimicro-
res.

Repetir las lecturas al cumplirse los 20 minutos después del agregado del sulfato órico al primer tubo, procediendo en la misma forma y con iguales precau-
ciones.

De esta manera cada tubo se lee exactamente después de 10 y de 20 minutos de reacción. Las lecturas a los 10 minutos se utilizan en el cálculo cuando las con-
centraciones de yodo son altas y las lecturas a los 20 minutos para todos los demás
casos.

En un papel milimetrado representar en las ordenadas los valores de las densidades ópticas correspondientes a los tubos testigos y en las abscisas los valo-
res de las concentraciones de yodo que corresponden a 0; 5; 10 y 15 microgramos por
100 ml de suero. Trazar la línea resultante y obtener a partir de ella la concentra-
ción del yodo de los ensayos desconocidos.

EL YODO PROTEICO EXTRAIBLE POR BUTANOL (BEI)

J.P.Leland y G.L.Foster (191) en el año 1932 y N.F.Blan en 1933 (192) fue-
ron los primeros investigadores que emplearon el n-butanol para la extracción de yodo-
nucleidos yodados en líquidos biológicos. En el año 1951 E.B.Man y col. (330) presen-
tan una técnica para la determinación en plasma o suero del yodo proteico extraible
por butanol (BEI: butanol-extractable iodine) considerándola como una prueba más es-
pecífica que el yodo proteico como criterio diagnóstico para la evaluación de la fun-
ción tiroidea (331, 332, 333, 334, 335). La técnica original fue luego modificada por
H.E.Kontaxis y D.E.Pickering (336), por J.P.Ambert y col. (337) y recientemente por
I.Peener (338).

Como ya ha sido expresado anteriormente el alcohol butílico extrae las yodo-
tirocinas, las yodotironinas y el yoduro del plasma acidificado. Si el solvente or-
gánico se lo trata luego con el reactivo de Blau ($\text{NaOH} + \text{Na}_2\text{CO}_3$) se consigue separar

las yodotirocinas y el yoduro quedando disueltas en el butanol sólo las yodotironinas (T_3 y T_4).

En experimentos de extracción cromatográfica realizados en colaboración con H. Altschuler (339) hemos podido demostrar que el alcohol butílico a pH 2-3 extrae también la 3,3'-diyodotironina (T_2) agregada al suero, la que permanece en el solvente orgánico después del lavado alcalino. Si la extracción se realiza a pH 5-6 la cantidad de monoyodo y diyodotironina recuperada es insignificante.

Para resumir todo lo dicho hasta ahora se intenta representar, en la figura , la distribución y fraccionamiento químico del yodo plasmático.

Una de las ventajas del yodo proteico extraíble con butanol es la de permitir la determinación de las hormonas tiroideas circulantes en los pacientes tratados con lugol, puesto que el lavado alcalino elimina el yodo inorgánico presente.

T.S. Danowski y col. (340) demuestran que aunque se aumente el número de lavados del material precipitado en la técnica del yodo proteico no se consigue mejorar el resultado anormalmente elevado de la determinación en pacientes a los que se les había administrado I₂. En cambio, si el I₂ se agrega al suero, *in vitro*, no se produce la elevación del yodo proteico. Precisamente, una de las ventajas del yodo proteico extraíble con butanol es la de permitir la determinación de las hormonas tiroideas (tironinas) en los pacientes tratados con yodo inorgánico pues éste es eliminado en el lavado alcalino. Con el mismo objeto Ch. I. Slade (341) determina el yodo proteico en presencia de un alto contenido de yoduros pasando primeramente el suero por una columna con resina de intercambio iónico (tipo Dowex 1 e Dowex 2).

El butanol no elimina la contaminación de los compuestos orgánicos del yodo administrado con fines diagnósticos o terapéuticos (335). Recientemente R. Kotamrek y col. (342) demuestran que el Urografía^(R) no modifica el yodo proteico ni el yodo extraíble con butanol mientras que el yodo inorgánico se eleva considerablemente. El Biligrafía^(R) en cambio, modifica el yodo proteico permaneciendo normal al

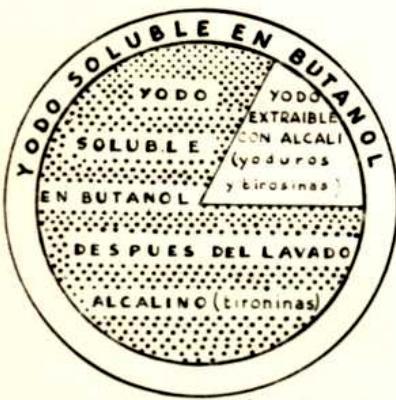


Fig: DISTRIBUCION Y FRACCIONAMIENTO QUIMICO DEL YODO PLASMATICO

III. Esta aparente discordancia puede explicarse si aceptamos que el Urografin no se une a las proteínas del plasma, mientras que sí lo hace el Biligrufin, permaneciendo insoluble en el butanol.

El yodo proteico extraíble con butanol puede también ser de utilidad en los pacientes que han recibido altas dosis terapéuticas de I^{131} en los que se común encontrar monoyodo y diyodotirosinas plasmáticas y a veces tiroglobulina (343); en la enfermedad de Hashimoto (344) y en aquellos casos en los que se puede demostrar perturbaciones en la biosíntesis de las hormonas tiroideas (179, 180, 181, 182, 183, 186, 188, 189, 345).

La técnica seguida en nuestro laboratorio para la preparación de los extractos butanólicos puede resumirse así: a 2 ml de suero se le agrega 0.4 ml de ácido sulfúrico N. (pH 2-3) y se extrae tres veces con 8 ml de alcohol butílico primario agitando vigorosamente y centrifugando a 2000 r.p.m. cada vez. Los sobrenadantes mezclados en una ampolla de decantación se lavan con 15 ml de hidróxido de sodio 4N que contiene 5 % de carbonato de sodio. Después de repetir este lavado el extracto butanólico se centrifuga, se decanta y se evapora en baño de agua a 70 - 80° bajo presión reducida. Si se omiten los lavados alcalinos, de manera que permanezcan en solución todos los aminoácidos yodados, (tirosinas y tirocinas) el extracto butanólico puede emplearse para la separación cromatográfica de estas sustancias.

Los valores obtenidos con esta técnica en personas eutiroideas, son inferiores en 0,5 - 1,2 microgramos por ciento a los resultados del yodo proteico determinados en los mismos individuos. E.B.Men y col. (331, 332) encuentran, en personas normales, valores que oscilan entre 3,2 y 6,4 microgramos por 100 ml de suero (4,7 ± 0,7 D.S.). En el recién nacido el término medio del yodo proteico extraíble con butanol es de 5,5 microgramos por 100 ml; se eleva a 9,9 microgramos al 5º día para luego caer nuevamente a 4,6 microgramos a los 25 - 27 días (346). En los niños de 6 semanas a 10 años los resultados son ligeramente superiores a los encontrados en

los adultos y oscilan entre 4.5 y 7.3 microgramos por 100 ml de suero (333, 347) y en el embarazo suelen encontrarse valores superiores a los 10,0 microgramos por ciento (348).

A.L.Schultz y col. (349) y S.H.Ingbar y col. (350) determinan con buenos resultados el radioyodo proteico extraible con butanol, midiendo la radioactividad de los extractos butanólicos con un contador de contalles después de lavados alcalinos.

En la actualidad las extracciones del suero con butanol se aplican preferentemente para los estudios cromatográficos de las hormonas tiroideas que a no dudarse, cuando se perfeccionen los métodos, nos permitirán conocer con más precisión la calidad y cantidad de los aminoácidos yodados circulantes.

SIGNIFICACION CLINICA DE LA DETERMINACION DEL YODO PROTEICO

Como ya ha sido establecido, la medida del yodo proteico es de gran valor para el estudio y diagnóstico de las afecciones tiroideas pues provee una información muy valiosa sobre la concentración de los aminoácidos yodados circulantes. Nos concretaremos a estudiar los resultados de esta determinación presentados por otros autores, analizándolos y comparándolos a la luz de nuestra propia experiencia.

1.- Valores normales.- Se agruparon 542 adultos normales, de ambos sexos, después que un riguroso estudio clínico permitió eliminar en ellos la presencia de cualquier afección tiroidea. La mayor parte de los casos fue clínicamente examinada por el Prof.Dr. J.Reforso Membrives y colaboradores en el Instituto Nacional de Endocrinología, Godoy Cruz 1221 y en la Clínica de Endocrinología y Metabolismo, Salta 990, Buenos Aires, Argentina.

En la tabla figuran los valores hallados con la técnica propuesta en este trabajo y la dispersión porcentual de los mismos.

$\mu\text{e}/100 \text{ ml}$	Nº de casos	Porcentaje
3 - 4	6	1.1
4 - 5	167	30.8
5 - 6	202	37.3
6 - 7	115	21.2
7 - 8	45	8.3
8 - 9	7	1.3
3.7 - 8.3	542	100 %

El 37.3 % de los plasmas de personas eutiroides contienen entre 5 y 6 mi-

crogramas por 100 ml y al 97.6 entre 4 y 8 microgramos por 100 ml.

En la tabla se consiguan los resultados de otros autores para su comparación con los determinados en nuestro laboratorio.

Autores	Año	Nº de casos	Media	Desviación
Talbot y col. (238)	1944	11	7.0	6.0 - 8.4
Connor y col. (251)	1949	-	-	3.7 - 6.7
Kydd y col. (259)	1950	80	5.4	3.8 - 8.6
Starr y col. (263)	1950	100	5.57	4.0 - 8.5
Barker y col. (264)	1951	68	5.1	3.4 - 8.0
Tucker y col. (265)	1951	402	5.83	2.6 - 11.1
Hallman y col. (267)	1951	37	5.4	3.2 - 8.0
DeMottroy y col. (269)	1952	30	5.0	4.0 - 8.0
Zek y col. (272)	1952	50	7.2	3.5 - 10.4
O'Neal y col. (279)	1953	10	5.2	4.0 - 7.3
Brown y col. (281)	1953	-	-	3.5 - 7.0
Sunderman y col. (285)	1954	65	5.0	2.9 - 7.9
Zieve y col. (286)	1954	42	5.3	3.1 - 11.7
Blackburn y col. (291)	1955	530	5.2	2.5 - 8.3
Meyer y col. (320)	1955	70	-	3.4 - 10
Lamberg y col. (295)	1956	25	5.2	3.0 - 7.5
Nuestros valores	1961	542	5.6	3.7 - 8.3

2.- Hipertiroidismo.- En la tabla están agrupados 116 casos de hipertiroidismo clínicamente diagnosticados y confirmados con las pruebas de captación y curvas de captación de I^{131} , colesterol y metabolismo basal.

$\mu\text{g}/100 \text{ ml}$	Nº de casos	Porcentaje
7 - 8	8	6.9
8 - 9	22	19.0
9 - 10	27	23.3
10 - 11	11	9.4
11 - 12	11	9.4
12 - 13	12	10.4
13 - 14	9	7.7
14 - 15	2	1.8
15 - 16	6	5.2
16 - 17	2	1.8
17 - 18	1	0.9
18 - 19	3	2.4
19 - 20	0	0.0
20 - 21	1	0.9
21 - 22	1	0.9
<i>46-218</i>	116	100 %

El 25.9 % de los hipertiroideos estudiados poseen valores entre 7 y 9 microgramos por 100 ml de suero y el 83.2 % entre 8 y 16 microgramos.

3.- Hipotiroidismo.- Se clasificaron 118 casos de hipotiroidismo que figuran en la tabla . El diagnóstico fue establecido clínicamente y por las demás pruebas de la función tiroidea.

$\mu\text{g}/100 \text{ ml}$	Nº de casos	Porcentaje
0 - 1	18	15.2
1 - 2	30	25.4
2 - 3	41	34.9
3 - 4	16	13.5
4 - 5	13	11.0
0.1 - 4.3	118	100 %

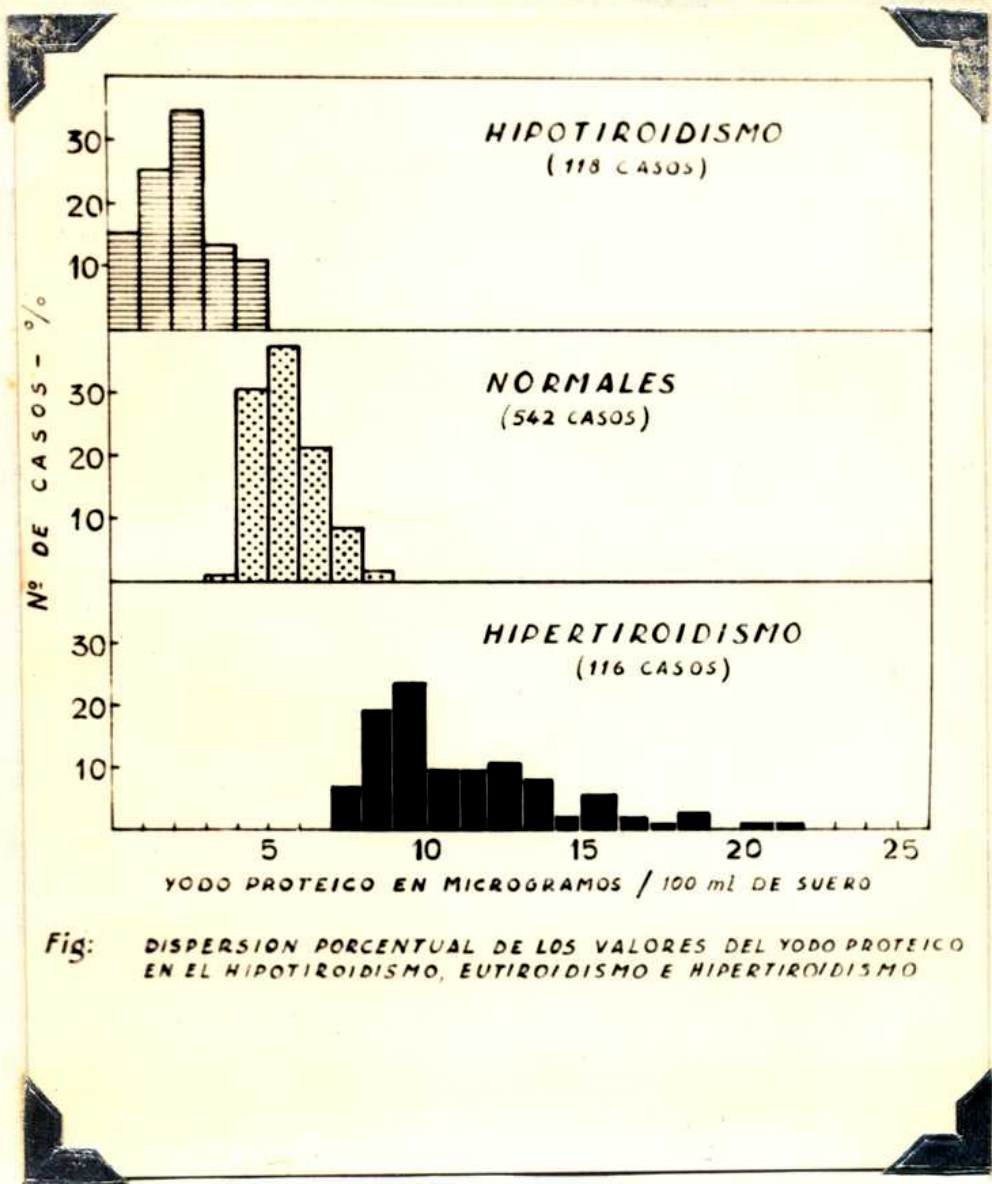
El 11.0 % de los hipotiroides reunidos presentan valores del yodo proteico comprendidos entre 4 y 5 microgramos por 100 ml de suero y el 89.0 % resultados inferiores a 4 microgramos.

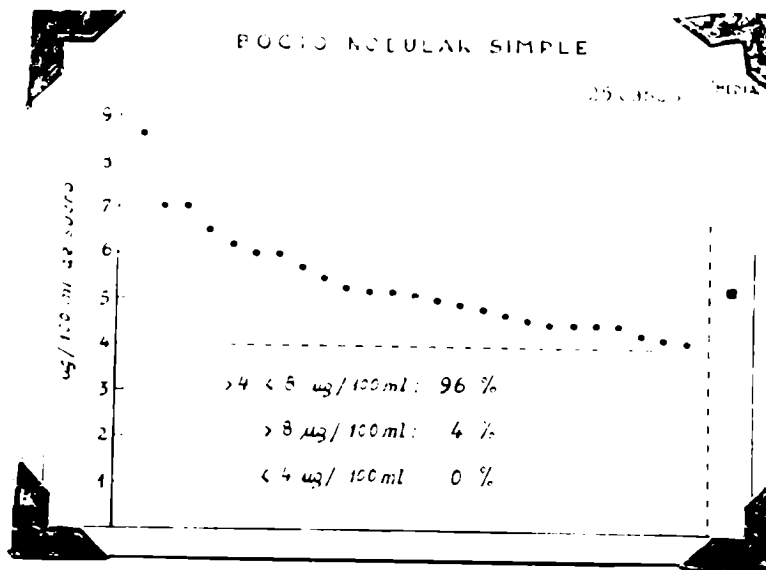
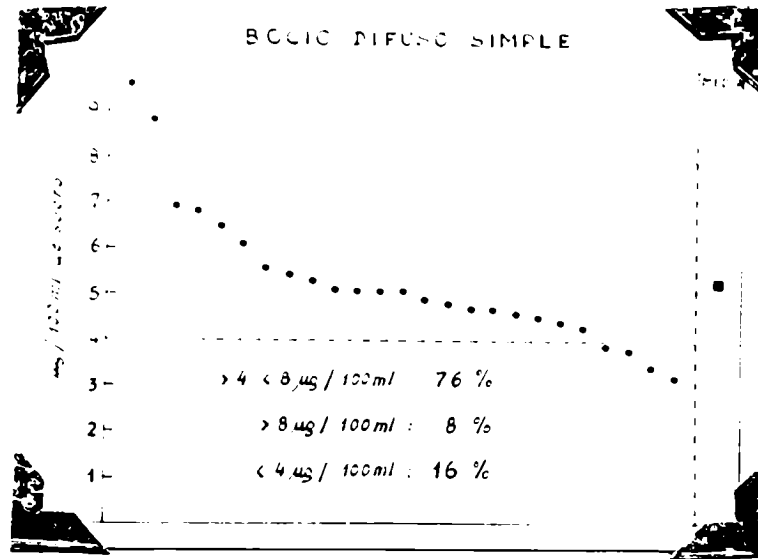
En el gráfico están representados todos los valores del yodo proteico y su dispersión porcentual en los casos estudiados de eutiroidismo, hipotiroidismo o hipertiroidismo.

Entre 5 y 6 microgramos por 100 ml de suero se agrupa el mayor porcentaje de eutiroides; entre 2 y 3 microgramos el de los hipotiroides y entre 9 y 10 microgramos el de los hipertiroideos.

4.- Bocio difuso y bocio nodular simple (no tóxicos)..- Se estudiaron 25 casos de bocio difuso y 25 casos de bocio nodular sin ningún signo clínico de tirotoxicosis. En la mayoría de los casos la captación de I^{131} era elevada con valores de metabolismo basal y colesterol dentro de límites normales o con variaciones no significativas.

Los valores de la determinación de yodo proteico están representados en el gráfico .





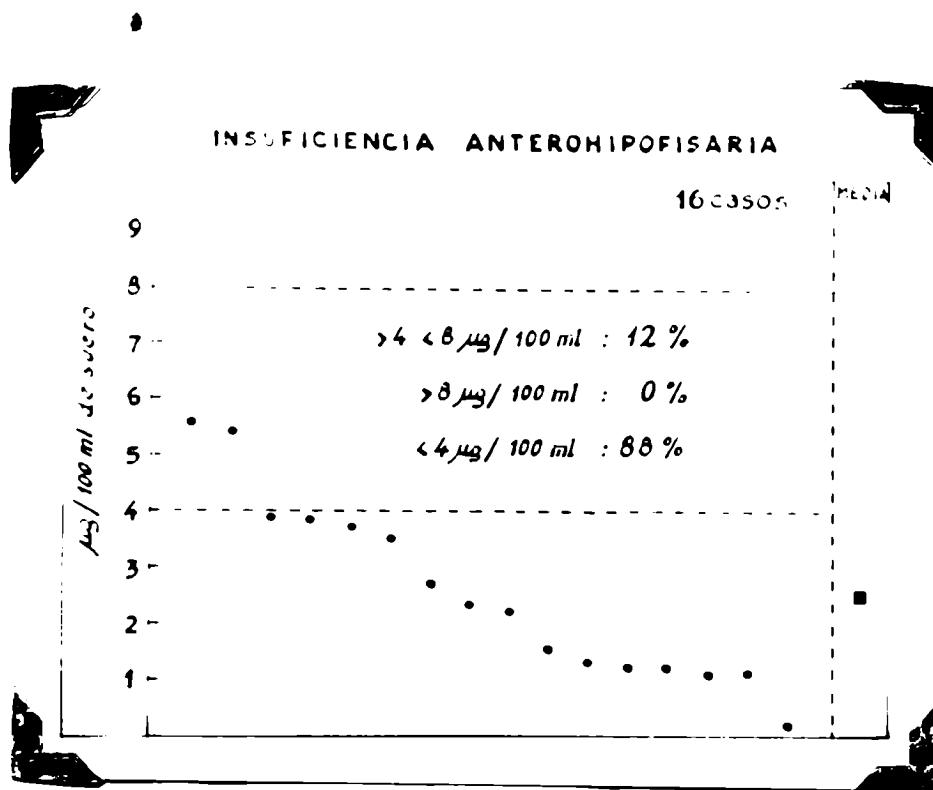
En el bocio difuso simple el 76 % de los casos están dentro de los límites de 4 y 8 microgramos por 100 ml de suero con un 16 % inferior a 4 microgramos . En el bocio nodular no tóxico el 96 % de los casos presentan valores dentro de los límites normales.

En conclusión, la determinación del yodo proteico parece el método de elección para el estudio funcional de la tiroides en los bocios simples o nodulares no tóxicos, incluso si se compara con las mediciones de la captación del yodo radiactivo. En los bocios difusos se observa una mayor dispersión de los resultados con

una tendencia a presentar mayor porcentaje de valores inferiores a $4 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ que en los bocio nodulares .

5.- Insuficiencia anterohipofisaria.- Se relacionaron 16 casos de insuficiencia anterohipofisaria con su sintomatología clínica característica, determinaciones de gonadotrofinas urinarias negativas para 6 u.r. y valores de 17esterosteroides y 17estégenosteroides correspondientes a la insuficiencia cortico suprarenal concomitante.

Los valores del yodo proteico están representados en el gráfico .



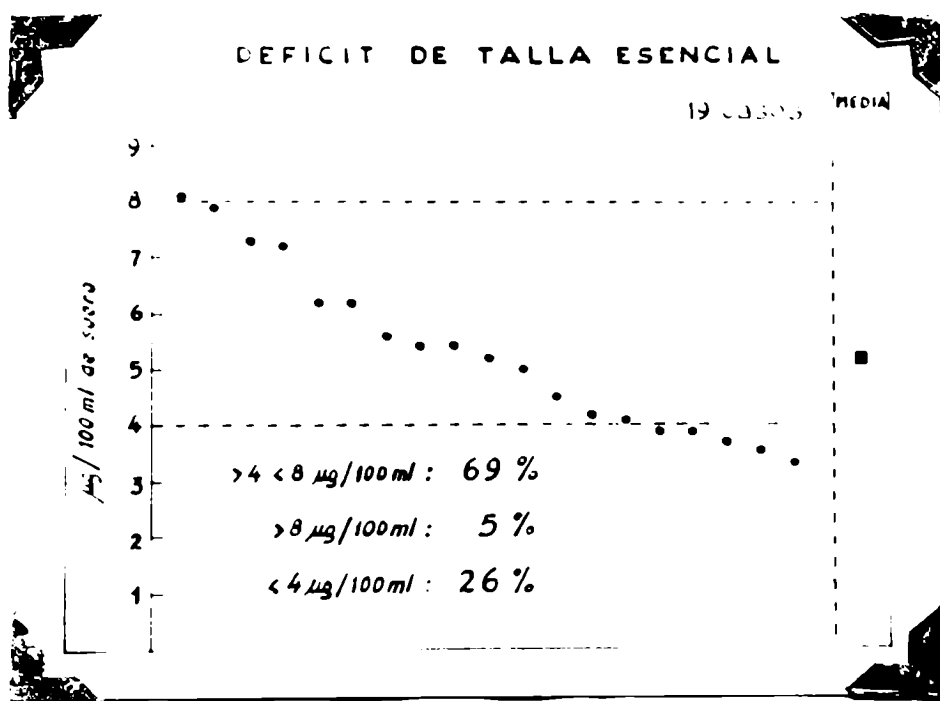
Se encuentran valores inferiores a $4 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ de suero en el 88 % de los casos estudiados con un valor promedio de 2.5 microgramos.

E. Astwood y col. (351) en 6 casos de hipopituitarismo, encuentran valores del yodo proteico que pueden considerarse no tan bajos como los hallados en el mismo. En nuestra serie, en cambio, los resultados obtenidos en la insuficiencia anterohipofisaria son comparables a los del hipotiroidismo e con diferencia estadística-

mente no significativas.

6.- Deficit de talla (esencial).- Se seleccionaron 19 niños de 8 a 14 años de edad que concurrieron a la consulta médica por su talla baja y en los que clínicamente y por los exámenes de laboratorio no se pudo probar alguna participación endocrina.

Los valores del yodo proteico figuran en el gráfico .

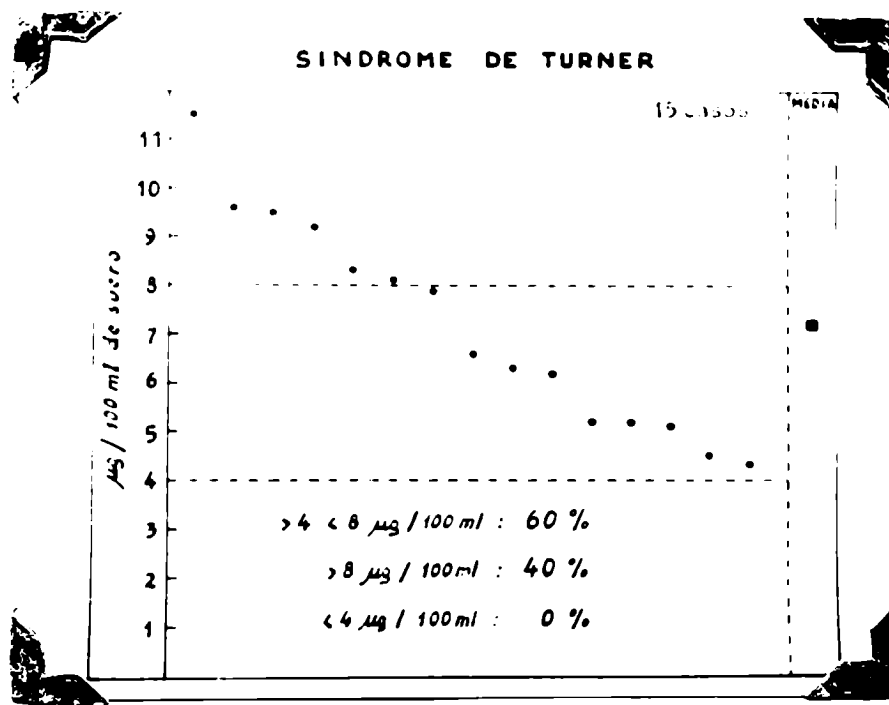


El 69 % de los casos presentan valores comprendidos entre 4 y 8 microgramos por 100 ml de suero con un 26 % de resultados inferiores a 4 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Precisamente estos casos son los que respondieron más favorablemente al tratamiento con triyodotironina como si realmente estos niños hubieran estado soportando un hipotiroidismo subclínico.

7.- Síndrome de Turner.- Se estudiaron 15 casos del síndrome de Turner confirmados con la laparotomía e histología de las gonadas. Presentaban además los signos clínicos característicos: talla baja, tórax en escasa, cuello en esfinje (reflejos

cutáneos acromiostóicos bilaterales), hipertriosis discreta, hipotrofia genital y mamaria y déficit mental (352). En el 80 % de los casos se encontraron valores de gonaotropinas urinarias superiores a 48 o 96 u.r. que con el método utilizado (353) significa una eliminación aumentada de las mismas.

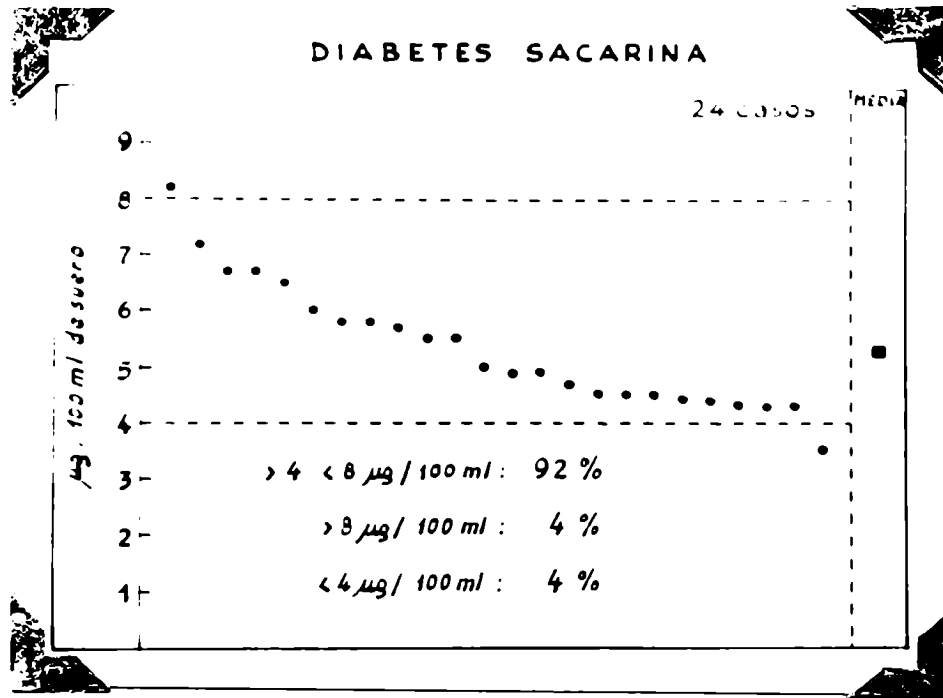
Las cifras del yodo proteico figuran en el gráfico .



Como puede observarse en el 40 % de los casos se encontraron valores superiores a 8 microgramos por 100 ml de suero. Sin embargo esos 6 pacientes no presentaban síntomas clínicos de hipertiroidismo. La explicación de este hallazgo resulta, por ahora, oscura y dentro del terreno de las suposiciones. De Mowbray y col. (269) encuentran valores normales de yodo proteico en dos casos de agenesia ovárica. A.E. Luzzaro (354) estudiando la captación de I^{131} en afecciones no tiroideas halla cifras altas en el síndrome de Turner.

8.- Diabetes.— Se realizó la determinación del yodo proteico en 24 casos de Diabetes Mellitus algunos todavía sin ningún tratamiento y otros con terapia insulínica o con

drogas hipoglucemiantes orales. Los resultados están representados en la figura .-



El 92 % de las determinaciones se encontraron dentro de los límites normales a pesar de que los valores del colesterol sérico fueron en general elevados de manera semejante a lo que ocurre en la mayoría de los casos de hipotiroidismo.

9.- **Embarazo.**- El hallazgo de un nivel elevado de yodo proteico durante la gestación fue primeramente documentado por H. Heinonen y col. (355 y 356) en el año 1946 quienes además encuentran que este ascenso se produce ya después de la tercer semana para volver a los valores normales inmediatamente después del parto (357). Un descenso en el valor del yodo proteico puede estar asociado a una amenaza de aborto (358).

Los valores corrientemente encontrados en el embarazo oscilan entre 6.2 y 11.2 microgramos por 100 ml comparados con los normales de 4.0 a 8.0 microgramos (267, 356, 359, 360).

El yodo proteico extraíble por butanol está también aumentado lo que permi-

te deducir que la tiroxina sería la responsable de esta elevación (361). R.C.Benson y col. (362) sostienen que durante el embarazo el yodo butanol extraíble no debe bajar de 6 $\mu\text{g}/100$ ml puesto que el aborto espontáneo, la muerte fetal uterina y los partos prematuros son más frecuentes en el hipotiroidismo clínico o subclínico. Si los valores son inferiores a 6 $\mu\text{g}/100$ ml recomiendan administrar levotiroxina sódica (362).

W.W.Engstrom y col. (363) sostienen que pacientes embarazadas tratadas con drogas antitiroideas por desórdenes asociados disminuyen el requerimiento de las mismas durante el curso de la gestación y aumentan después del parto. Observan también que el yodo proteico tiende a aumentar aún más en los casos de embarazo complicados con hipotiroidismo.

K.E.Nalmen (364) encuentra que la captación de I^{131} se halla significativamente aumentada durante el embarazo volviendo a sus valores normales a las seis semanas después del parto (365).

En conclusión, en el embarazo se presentan valores de la captación de I^{131} y del yodo proteico semejantes a los observados en el hipertiroidismo, pero sin la sintomatología clínica característica de esta enfermedad.

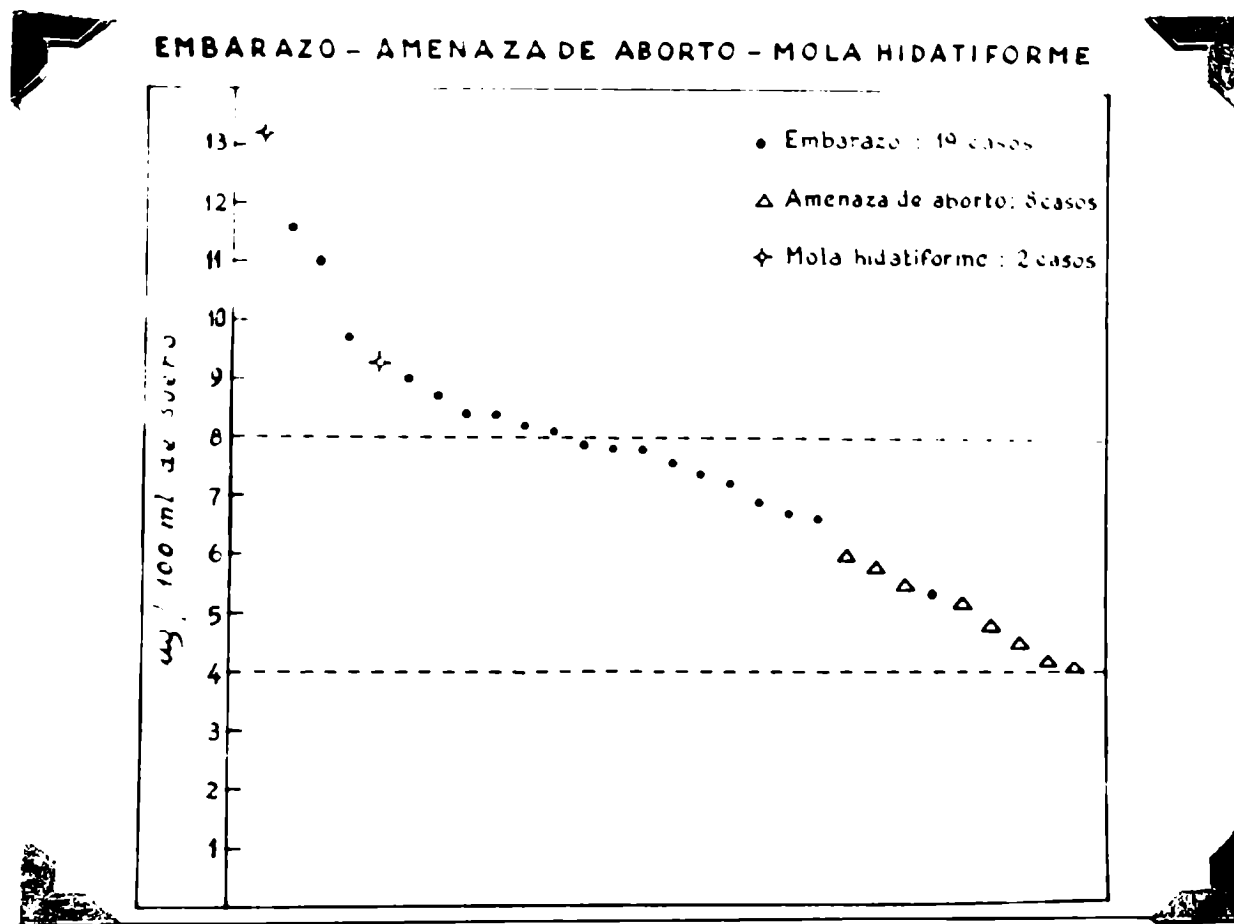
La explicación que más parece ajustarse a la realidad es la de J.T.Dowling y col. (366) quienes demuestran en el embarazo un aumento de la capacidad de fijación de la "proteína plasmática que liga la tiroxina" (PLT: proteína ligada a la tiroxina o TBP: thyroxine-binding protein) circulante impidiendo su libre utilización periférica.

F.Akasa y col. (367) extraen tirotrófina de la placenta lo que hace pensar en su probable influencia sobre la producción de tiroxina por la tiroides durante la gestación, sugerencia puesta en duda por S.C.Werner (368).

La administración de estrógenos a mujeres no embarazadas produce un aumento en la capacidad de fijación de la "PLT" y en el yodo proteico comparable al observado durante la gestación (369, 366, 370, 371, 372).

R.W.Alexander y J.Marmorsten (373) comprueban una elevación de los niveles plasmáticos del yodo proteico en mujeres cardíacas con arteriosclerosis después del tratamiento con etinilestradiol y también en hombres en las mismas condiciones. Demuestran además que a igualdad de dosis, el etinilestradiol resulta 5 ó 6 veces más efectivo en mujeres que en hombres, posiblemente por la actividad competitiva de los andrógenos en estos últimos (372, 374). En tres casos de mola hidatiforme estudiados por J.T.Dowling y col. (375) se encuentran valores elevados del yodo proteico que vuelven a los niveles normales después del tratamiento quirúrgico correspondiente.

Los resultados obtenidos en 19 casos de embarazos normales, 5 casos de amenazas de aborto y 2 casos de mola hidatiforme están representados en la figura .



Como ^{puede} observarse, en el embarazo normal (menos en un caso) los valores del yodo proteico sobrepasan los 6.5 $\mu\text{g}/100$ ml de suero con un 47.7 % superiores a 8.0 $\mu\text{g}/100$ ml. En los dos casos de mola hidatiforme los niveles del yodo proteico fueron altos (9.3 y 13.2 $\mu\text{g}/100$ ml).

En cambio, todos los casos de amenaza de aborto resultaron inferiores a 6.5 $\mu\text{g}/100$ ml. Si la causa de este descenso se debe a una disminuci3n de los estr3genos o mujer, a un desequilibrio entre la relaci3n de estr3genos-progesterona, es una suposici3n que todav3a necesita ser demostrada. Sin embargo, conviene dejar sentado el posible valor diagn3stico de esta determinaci3n en los casos de amenaza de aborto y la perspectiva de agregar hormonas tiroideas (tiroxina, polvo de tiroidas, etc.) al tratamiento cl3sico que se establece en estas circunstancias.

Rosa M. Ferrer

W. Douglas

BIBLIOGRAPHIA

- 1.- Baumann, E.: Über das normale Vorkommen von Iod in Thierkörper.
Z. physiol. Chem., 1896, 21, 119.
- 2.- Oswald, A.: Die Eiweis Körper der Schilddrüse. Z. physiol. Chem., 1899, 21, 14.
- 3.- Kendall, E.C.: The isolation in crystalline form of the compound containing iodine which occurs in the thyroid: Its chemical nature and physiological activity. Trans. Am. Phys., 1913, 20, 420.
- 4.- Harington, G.R.: Chemistry of thyroxin. I: Isolation of thyroxin from the thyroid gland. Biochem. J., 1926, 20, 293.
- 5.- Foster, G.L.: The isolation of 3,5-diodothyronine from the thyroid. J. Biol. Chem., 1929, 93, 345.
- 6.- Fink, R.N.; Fink, K.: The formation of moniodothyronine from radiiodine in the thyroid of rat and man. Science., 1948, 102, 398.
- 7.- Gross, J.; Pitt-Rivers, R.: The identification of 3: 5: 3'-I-triiodothyronine in human plasma., Lancet, 1952, 262, 439.
- 8.- Roche, J.; Michal, R.; Hanes, J.; Wolf, W.: Sur deux constituants hormonaux nouveaux du corp thyroïde: la 3:3'-diodothyronine et la 3:3':5'-triiodothyronine. Biochim. et biophys. acta., 1955, 12, 149.
- 9.- Slingerland, D.W.: The influence of various factors on the uptake of iodine by the thyroid gland. J. Clin. Endocrinol. Metab., 1958, 18, 131.
- 10.- Pitt-Rivers, R.: Mode of action of antithyroid compound. Physiol. Rev., 1930, 10, 194.
- 11.- Harington, G.R.: Twenty-five years of research on the biochemistry of the thyroid gland. Endocrinology., 1951, 49, 401.
- 12.- Dunsay, E.W.: Chemical cytology of thyroid gland. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1949, 50, 336.
- 13.- Roche, J.; Michal, R.: Nature, biosynthesis and metabolism of thyroid hormones. Physiol. Rev., 1955, 35, 983.

- 14.- Leblond, C.P.; Gross, J.: Thyroglobulin formation in thyroid follicles visualized by "coated autograph" technique. *J. clin. Endocrinol.*, 1948, 11, 306.
- 15.- Norton, M.E.; Chaikoff, I.L.: The formation in vitro of thyroxine and diiodothyroxine by thyroid tissue radioactive iodine as an indicator. *J. Biol. Chem.*, 1953, 167, 1.
- 16.- Turog, A.; Chaikoff, I.L.: On the occurrence of monoiodothyroxine in the thyroid gland., 1947, 171, 997
- 17.- Harington, C.R.: Newer knowledge of the biochemistry of the thyroid gland. *J. Chem. Soc. (London).*, 1944, 193 (pag.).
- 18.- Turog, A.; Chaikoff, I.L.: The metabolic interrelations of thyroxine and diiodothyroxine in the thyroid gland as shown by a study of their specific activity-time relations in rats infected with radioactive iodine. *J. Biol. Chem.*, 1947, 169, 49.
- 19.- Elissard, R.M.: Inherited defects of thyroid hormone synthesis and metabolism. *Metabolism.*, 1960, 9, 232.
- 20.- Dohy, B.: *See, Progr. Hormone Res., Academic Press Inc. New York. 1954, pag.109*
- 21.- Robbins, J.; Petersmann, M.L.; Rall, J.E.: Thyroglobulin in serum after I^{131} therapy II. Sedimentation in the ultracentrifuge. *J. Biol. Chem.*, 1954, 208, 377.
- 22.- Owen, C.A.Jr.; McCoskey, W.M.: An unusual iodinated protein of the serum in Hashimoto's thyroiditis. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1956, 16, 1970.
- 23.- Reit, I.M.; Doniach, D.; Campbell, P.N.; Vaughan Hudson, R.: Autoantibodies in Hashimoto's disease (Lymphadenoid goitre). *Lancet.*, 1956, 2, 820.
- 24.- De Robertis, E.: Proteolytic enzyme activity of colloid extracted from single follicles of the rat thyroid. *Anat. Rec.*, 1941, 80, 219.
- 25.- McQuillan, M.T.; Stanley, P.G.; Trikofus, V.M.: A study of the action of purified thyroid protease on I^{131} labeled thyroglobulin. *Australian J. Biol. Sci.*, 1953, 6, 319.

- 26.- Alpers, J.B.; Robbins, J.; Rall, J.E.: The hydrolysis of rat thyroglobulin by thyroidal enzymes. *Endocrinology.*, 1955, 56, 110.
- 27.- Roche, J.; Michel, R.; Michel, O.; Lissitzky, S.: Sur la déglucosylation enzymatique des iodotyrosines par le corps thyroïde et sur son rôle physiologique. *Biochim. Biophys. Acta*, 1952, 9, 161.
- 28.- Tanrog, A.; West, J.D.; Chaikoff, I.L.: *Am Goiter Assoc., Annual Meeting*, 1955.
- 29.- Bersson, S.A.; Yalow, R.S.: Quantitative aspects of iodine metabolism. The exchangeable organic iodine pool, and the rates of thyroidal secretion, peripheral degradation and fecal excretion of endogenously synthesized organically bound iodine. *J. clin. Invest.*, 1954, 33, 1539.
- 30.- Tata, J.: *Thèse Docteur Sc. Paris.*, 1954.
- 31.- Roche, J.; Michel, R.; Hanes, J.: Sur les 3: 3'-5'-triiodothyronine (T₃) et 3: 3'-diiodothyronine (T₂) considérées comme constituants de l'hormone thyroïdienne circulante. *J. Acta endocr.*, 1959, 32, 142.
- 32.- Robbins, J.; Rall, J.E.: Studies on the thyronine-protein complex of serum. *J. clin. Endocrinol.*, 1954, 14, 772.
- 33.- Gordon, M.H.; Gross, J.; O'Connor, D.; Pitt-Rivers, R.: The nature of the circulating thyroid hormone-plasma protein complex. *Nature*, 1952, 169, 19.
- 34.- Robbins, J.; Rall, J.E.: Zone electrophoresis on filter paper of serum I¹³¹ after radiiodide administration. *Proc. Soc. exp. Biol., N.Y.*, 1952, 81, 330.
- 35.- Deiss, W.P.; Albright, E.C.; Larson, F.C.: A study of the nature of the circulating thyroid hormone in euthyroid and hyperthyroid subjects by use of paper electrophoresis. *J. clin. Invest.*, 1952, 31, 1000.
- 36.- Horst, W.; Hålar, S.R.: Der transport des hormonjods in menschlichen serum untersucht mit papieralektrophorese und radiojod (Zugleich ein beitrag zur frage der existenz von sog. Zwischenfraktionen). *Klin, Wochr.*, 1953, 31, 13.
- 37.- Larson, F.C.; Deiss, W.P.; Albright, E.C.: Radiochromatographic identification

- of thyroxin on alpha globulin fraction of serum separated by starch zone electrophoresis. *J. clin. Invest.*, 1954, 33, 230.
- 38.- Derome, G.; Mahaux, J.; Henry, J.A.: Iodoprotéidémie anormale chez un enfant porteur d'un goitre congénital. *Ann. Endocrinol.*, 1958, 19, 873.
- 39.- DiGeorge, A.; Paschke, K.E.: Sporadic hypothyroidism associated with goiter. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1957, 17, 645.
- 40.- De Groot, L.; Pestal, S.; Litwak, Y.; Stanbury, J.B.: Peptidyl-linked iodothyroxines and iodothyrenines in the blood of a patient with congenital goiter. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1958, 18, 158.
- 41.- Robbins, J.; Hall, J.E.: The interaction of thyroid hormones and proteins in biological fluids. *Recent Progr. Hormone Res.*, 1957, 11, 161.
- 42.- Dowling, J.T.; Freinkel, N.; Ingbar, S.H.: The effect of estrogens upon the peripheral metabolism of thyroxine. *J. clin. Invest.*, 1960, 39, 1119.
- 43.- Heinemann, M.; Johnson, C.E.; Man, E.B.: The serum-precipitable iodine concentrations during pregnancy. *J. clin. Invest.*, 1948, 27, 91.
- 44.- Dowling, J.T.; Ingbar, S.H.; Freinkel, N.: Iodine metabolism in hydatiform mole and choriocarcinoma. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1960, 20, 1.
- 45.- Korngard Christensen, L.: The binding of 1-triiodothyroxine to plasma proteins. *Acta endocrinol.*, 1960, 33, 293.
- 46.- Pitt-Rivers, R.; Stanbury, J.B.; Rapp, B.: Conversion of thyroxine to 3, 5, 3'-triiodothyroxine "in vivo". *J. clin. Endocrinol.*, 1953, 15, 616.
- 47.- Albright, E.C.; Larson, F.C.; Tust, R.H.: "In vitro" conversion of thyroxin to triiodothyroxine by kidney slices. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1954, 86, 137.
- 48.- Larson, F.C.; Tomita, K.; Albright, E.C.: The deiodination of thyroxine to triiodothyroxine by kidney slices of rats with varying thyroid function. *Endocrinology.*, 1955, 57, 338.
- 49.- Dunn, J.T.; Stanbury, J.B.: The metabolism of 3:3' :5'-triiodothyroxine in man. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1958, 18, 713.

- 50.- Tong, W.; Tsurug, A.; Chaikoff, I.L.: The metabolism of I^{131} labeled diiodo-tyrosine. *J. Biol. Chem.*, 1954, 207, 59.
- 51.- Roche, J.; Michel, O.; Michel, H.; Tate, J.: On the Products of Hepatic and Renal Elimination of Thyroxine and Triiodothyroxine Labelled with Iodine 131 . *Proceedings of the 2nd Conference, Oxford, 1954*, 1, 325.
- 52.- Gross, J.; Lohland, C.P.: Distribution of a large dose of thyroxine labeled with radioiodine in the organs and of the rat. *J. Biol. Chem.*, 1947, 171, 309.
- 53.- Tsurug, M.; Briggs, F.N.; Chaikoff, I.L.: I^{131} -labeled L-thyroxine II Nature of the excretion product in bile. *J. Biol. Chem.* 1952, 194, 655.
- 54.- Albert, A.; Keating, F.R.Jr.: The role of the gastro-intestinal tract, including the liver, in the metabolism of radiothyroxine. *Endocrinology.*, 1952, 51, 427.
- 55.- Friis, T.: Thyroxine metabolism in man estimated by means of I^{131} -labelled L-thyroxine. *Acta endocrinol.*, 1958, 22, 587.
- 56.- Rasmussen, H.; Rapp, B.: Thyroxine metabolism in the nephrotic syndrome. *J. clin. Invest.*, 1956, 35, 792.
- 57.- Gräsbeck, R.; Lemberg, B.A.; Björkstén, F.: The formation of thyroxine metabolites by *Escherichia coli*. *Acta Endocrinol.*, 1960, 34, 113.
- 58.- Martins, C.: The mechanism of action of thyroid hormones. *Acta endocrinol.* (Supp. 38), 1958, pag. 27.
- 59.- Evans, E.S.; Rosenberg, L.L.; Simpson, M.E.: Relative sensitivity of different biological responses to thyroxine. *Endocrinology.*, 1960, 66, 433.
- 60.- Thibault, O.; Pitt-Rivers, R.: Immediate effects of thyroxine analogues on biological oxidations in vitro. *Lancet.*, 1955, 266, 285.
- 61.- Lerman, J.; Pitt-Rivers, R.: Physiologic activity of triiodothyronoic acid. *J. clin. Endocrinol.*, 1955, 15, 653.
- 62.- Bauer, H.G.; McGavack; Swall, L.: Depression of the serum cholesterol level by

- triiodothyronine acid. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1959, 19, 490.
- 63.- Magner, W.R.; Alpert, H.E.; Silverman, F.R.: Thyroxine analogues and cholesterol metabolism: the relative effects of various thyroxine derivatives on growth, oxygen consumption and tissue cholesterol concentrations. *Endocrinology*, 1960, 66, 140.
- 64.- Melby, J.O.; Egdahl, R.H.; Story, J.L.; Spink, W.W.: Production and catabolism of cortisol following the administration of thyroxine analogs. *Endocrinology.*, 1960, 67, 389.
- 65.- DuBois, E.F.: Basal metabolism in health and disease, 3rd. ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1936.
- 66.- Boothby, W.M.; Sandiford, I.: Normal values of basal or standard metabolism: a modification of the DuBois standards. *Amer. J. Physiol.*, 1929, 20, 290.
- 67.- Kleiber, M.: Body size and metabolic rate. *Physiol. Rev.*, 1947, 27, 511.
- 68.- Bana, E.: Clinical estimation of basal metabolic rate: the R.P. index, *Lancet*. 1949, 1, 147.
- 69.- Greene, R.; Robertson, J.D.: Estimation of basal metabolic rate. *Lancet*. 1949, 1, 323.
- 70.- Sandiford, I.; Wheeler, T.: The basal metabolism before, during and after pregnancy. *J. Biol. Chem.*, 1924, 62, 379.
- 71.- Fowles, H.S.; Blackburn, G.M.; Mahholz, H.F.Jr.: Determination of basal rate of oxygen consumption by open closed-circuit methods. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1957, 17, 786.
- 72.- Keating, F.R.Jr.: In defence of basal metabolic rate. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1957, 17, 797.
- 73.- Gargill, S.L.; Lessor, M.F.: Diseases of the thyroid gland. New York, Oxford Univ. Press, 1955.
- 74.- Bartals, E.C.: Basal metabolic rate and plasma cholesterol as aids in clinical study of thyroid disease, *J. clin. Endocrinol.*, 1950, 10, 1126.

- 75.- Rappert, R.L.; Curtis, G.M.; Simons, S.J.: The somnolent metabolic rate (SMR) as an aid in the differential diagnosis of thyroid dysfunction. *Tr. Am. Goiter Ass.*, 1951, pag. 124.
- 76.- Neekstroth, C.V.; Rappert, R.L.; Curtis, G.M.; Simons, S.J.: Laboratory diagnosis of extrathyroidal hypermetabolism. *J. clin. Endocrine. Metab.*, 1952, 12, 1373.
- 77.- Fraser, R.; Mordin, B.E.C.: Basal metabolic rate during sleep. *Lancet*, 1955, 2, 532.
- 78.- Hortling, H.; Misch-Brunner, L.: Basal metabolic rate as aid in study of thyroid function. *Scandinav. J. clin. Lab. Invest.*, 1957, 9, 1.
- 79.- Riser, M.; Gérard, J.; Bassol, A.; Riser, A.; Chaillet, P.: Basal metabolism during induced sleep. *Semaine heb. Paris.*, 1957, 11, 635.
- 80.- Peters, J.P.; Man, E.B.: Interrelations of serum lipids in patients with thyroid disease. *J. clin. Invest.*, 1943, 22, 715.
- 81.- Peters, J.P.; Man, E.B.: Significance of serum cholesterol in thyroid disease. *J. clin. Invest.*, 1950, 29, 1.
- 82.- Foldes, F.F.; Murphy, A.J.: Distribution of cholesterol, cholesterol esters and phospholipid phosphorus in blood in thyroid diseases. *Proc. Sci. exp. Biol. Med.*, 1946, 62, 218.
- 83.- Handler, P.: The influence of thyroid activity on the liver and plasma lipids of choline- and cystine-deficient rats. *J. Biol. Chem.*, 1948, 71, 295.
- 84.- Thannhauser, S.J.; Schmidt, G.: Lipids and lipases. *Physiol. Rev.*, 1946, 26, 275.
- 85.- Joliet, F.; Curie, I.: Artificial production of a new kind of radio-element. *Nature (London)*, 1934, 133, 201.
- 86.- MacIntyre, W.J.: A scintillation counter for measurement of I^{131} uptake in the thyroid gland. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1950, 15, 561.
- 87.- Allen, H.C.Jr.; Libby, R.L.; Cassen, B.: The scintillation counter in clinical

- studies of human thyroid physiology using I^{131} . *J. clin. Endocrinol.* 1951, 11, 492.
- 88.- Herts, S.; Roberts, A.; Evans, H.D.: Radioactive iodine as an indicator in the study of thyroid physiology. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1938, 31, 510.
- 89.- Hamilton, J.G.; Soley, M.H.: Studies in iodine metabolism by the use of a new radioactive isotope of iodine. *Amer. J. Physiol.*, 1939, 127, 557.
- 90.- Hamilton, J.G.; Soley, M.H.: Studies in iodine metabolism of the thyroid gland in situ by the use of radio-iodine in normal subjects and in patients with various types of goiter. *Amer. J. Physiol.*, 1940, 131, 135.
- 91.- McCoskey, W.M.; Keating, F.R.Jr.; Power, M.H.: The behavior of radiiodine in the blood. *J. clin. Invest.*, 1949, 28, 191.
- 92.- Greer, M.A.: Correlation of the 24-hour radiiodine uptake of the human thyroid gland with the 6- and 8- hour uptakes and the "accumulation gradient". *J. clin. Invest.*, 1951, 30, 301.
- 93.- Kris, J.P.: Uptake of I^{131} after intravenous tracer doses, *J. clin. Endocrinol.* 1951, 11, 289.
- 94.- Higgins, H.P.: Ten-minute uptake of I^{131} ; clinical study and comparison with other tests of thyroid function. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1959, 19, 557.
- 95.- Balcan, K.E.: Radiiodine uptake of thyroid in pregnancy. *Clin. Sci.*, 1958, 17, 281.
- 96.- Gealden, A.W.G.; Mallard, J.R.: Use of I^{132} in studies of thyroid function. *Brit. J. Radiol.*, 1958, 31, 589.
- 97.- Freedberg, A.S.; Chancvitz, D.L.; Kurland, G.S.: Thyroid function in normal and pathological states as revealed by radioactive iodine studies. *Metabolism.* 1952, 1, 26.
- 98.- Eichhorn, O.: Questionable value of thyroid function tests with radioactive iodine in iodine-deficient geographic areas. *Schweiz. Med. Wochr.*, 1955, 85, 879.

- 99.- Rocha, H.A.; DeVenansi, F.; Vera, J.; Oehl, E.; Spinetti-Berti, M.; Méndez-Martínez, J.; Gerardi, A.; Ferrero, J.: Endemic goiter in Venezuela studies with I^{131} , *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1957, 17, 99.
- 100.- Stanbury, J.B.; Bromell, G.L.; Riggs, D.S.; Perinetti, H.; Itzin, J.; Del Castillo, E.B.: Endemic goiter: The adaptation of man to iodine deficiency. Cambridge 1954. Harvard University Press.
- 101.- Glatvia, A.; Fischer, H.M.: Comunicación personal.
- 102.- Taylor, S.; Steward, F.S.: Distribution of radio-iodine in human thyroid gland. *Lancet*. 1951, 2, 232.
- 103.- Bauer, F.K.; Goodwin, W.E.; Libby, R.L.; Cassen, R.: Visual delineation of thyroid gland in vivo. *J. Lab. clin. Med.*, 1952, 22, 153.
- 104.- Sheline, G.E.; Clark, D.E.: Index of thyroid function: estimation by rate of organic binding of I^{131} . *J. Lab. clin. Med.*, 1950, 20, 450.
- 105.- Silver, S.; Fieber, M.H.; Yohalem, S.B.: Blood levels after tracer doses of radioactive iodine in the diagnosis of thyroid disorders. *Amer. J. Med.*, 1952, 11, 725.
- 106.- Van Middlesworth, L.; Harburger, C.E.; Lipscomb, A.: Simplified sensitive test for thyroid function, using protein-bound I^{131} . *J. clin. Endocrinol. Metab.* 1954, 14, 1086.
- 107.- Scott, K.G.; Reddy, W.: Use of anionic exchange resin for determination of protein-bound I^{131} in human plasma. *Metabolism.*, 1954, 3, 506.
- 108.- Zieve, L.; Vogel, W.C.; Schultz, A.L.: Determination of protein-bound radio-iodine with an anion exchange resin. *J. clin. Lab. Med.*, 1956, 47, 663.
- 109.- Fields, T.; Kinross, D.S.; Kaplan, E.; Oester, Y.T.; Bauer, E.N.: The determination of protein-bound I^{131} with anion exchange resin column. *J. Lab. clin. Med.*, 1956, 47, 339.
- 110.- Deaton, R.M.: modified resin method for determination of radioiodine conversion ratio. *J. Lab. clin. Med.*, 1960, 51, 132.

- 111.- Berson, S. A.; Yalow, R.S.; Sorrentino, J.; Roswith, B.: The determination of thyroidal and renal plasma I^{131} clearance rate as a routine diagnostic test of thyroid dysfunction. *J.clin.Invest.*, 1952, 31, 141.
- 112.- Myant, N.S.; Pochin, E.E.; Goldie, E.A.G.: Plasma iodine clearance rate of human thyroid gland. *Clin.Sci.*, 1949, 8, 109.
- 113.- Owen, Ch.A.; McCants, R.S.; McConahay, W.M.: Abbreviation of Berson technic for estimation of thyroidal clearance of plasma radioiodine: use of Berson test to recognise thyroidal protein-binding defects. *J.clin.Invest.*, 1960, 39, 790.
- 114.- Keating, F.R.; Power, M.H.; Barkson, J.; Haines, S.F.: The urinary excretion of radioiodine in various thyroid states. *J.clin.Invest.*, 1947, 26, 1138.
- 115.- McArthur, J.W.; Dawson, R.W.; Flaherty, R.G.; Means, J.H.: The urinary excretion of radioactive iodine as an aid in the diagnosis of hyperthyroidism. *Ann. intern. Med.*, 1948, 29, 299.
- 116.- Russell Fraser, T.; Robson, J.G.; Arnott, D.G.; Ebery, E.W.: Urinary excretion of radioiodine as clinical test of thyroid function. *Quart. J. Med.*, 1953, 22, 99.
- 117.- Thode, H.G.; Jainst, C.H.; Kirkwood, S.: Studies and diagnostic tests of salivary gland and thyroid gland function with radioiodine. *New. Engl.J. Med.*, 1954, 251, 129.
- 118.- Stein, J.A.; Faigs, Y.; Hockman, A.: The salivary excretion of I^{131} in various thyroid states. *J. Lab. clin.Med.*, 1957, 49, 842.
- 119.- Freinkel, N.; Ingbar, S.H.: Further observations concerning the salivary transport of iodide. *New Engl. J. Med.*, 1955, 252, 125.
- 120.- Gabrielsen, Z.; Kretschmar, A.L.: Studies on the salivary secretion of iodide. *J.clin.Endocrinol.Metab.*, 1956, 16, 1347.
- 121.- Greer, M.; Smith, G.E.: Method for increasing the accuracy of the radioiodine uptake as a test for thyroid function by use of desiccated thyroid. *J.*

- Clin.Endocrinol. Metab., 1954, 14, 1372.
- 122.- Warner, S.C.; Spooner, M.: New and simple test for hyperthyroidism employing l-triiodothyronine and twenty-four hour I^{131} uptake methods. Bull. N. Y. Acad. Med., 1955, 31, 137.
- 123.- Garrido, A.; Stanbury, J.B.: The response of the thyroid gland to thyrotrophic hormone as an aid in the differential diagnosis of primary and secondary hypothyroidism. J.clin.Endocrinol., 1950, 10, 1192.
- 124.- Fletcher, R.P.; Benford, H.: Test of thyroid and pituitary function using thyrotrophin, Clin. Sci., 1953, 17, 113.
- 125.- Jefferies, W.M.; Levy, R.P.; Palmer, W.C.; Storacali, J.P.; Kelly, L.W.Jr.: Value of single injection of thyrotrophin in diagnosis of obscure hypothyroidism. New, Engl.J.Med., 1953, 249, 576.
- 126.- Hamolsky, M.W.; Stein, M.; Freedberg, S.: The thyroid hormone-plasma protein complex in man. II. A new in vitro method for study of "uptake" of labelled hormonal components by human erythrocytes. J.clin.Endocrinol.Metab., 1957, 17, 33.
- 127.- Urales, A.L.; Murray, M.: The erythrocyte uptake of I^{131} -labeled l-triiodothyronine as a measure of thyroid function. J. Lab.clin.Med., 1959, 54, 176.
- 128.- Hamolsky, M.W.; Colodets, A.; Freedberg, S.: The plasma protein-thyroid hormone complex in man. III. Further studies on the use of the in vitro red blood cell uptake of I^{131} -l-triiodothyronine as a diagnostic test of thyroid function. J.clin.Endocrinol.Metab., 1957, 17, 33.
- 129.- Christensen, L.E.: Triiodothyronine uptake by erythrocytes. Endocrinology. 1960, 66, 138.
- 130.- Nende, R.C.: Possible errors in the determination of red blood cell uptake of I^{131} -triiodothyronine. J.clin.Endocrinol.Metab., 1960, 20, 480.
- 131.- Grayson, H.R.: Factors which influence the radioactive iodine thyroidal uptake test. Amer. J.Med., 1960, 28, 397.

- 132.- DeRobertis, E.; Mendicki, W.W.: The proteolytic activity of normal and pathological human thyroid tissue. *J. clin. Endocrinol.*, 1946, 8, 235.
- 133.- Albert, A.; Ranson, R.W.; Merrill, P.; Lannon, B.; Kiddell, C.: Reversible inactivation of thyrotropic hormone by elemental iodine. *J. Biol. Chem.*, 1946, 166, 637.
- 134.- Goldsmith, R.; Herbert, C.; Lutsch, G.: The effect of iodide on the release of thyroid hormone in hyperthyroidism: further observations. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1958, 18, 367.
- 135.- Kahn, L.A.; Nichols, E.B.: Interference with uptake of radiiodine tracer during administration of vitamin-mineral mixtures. *New Engl. J. Med.*, 1955, 253, 286.
- 136.- Greer, M.A.: Goitrogenic substances in food. *Amer. J. Clin. Nutrition*. 1957, 5, 440.
- 137.- Slingerland, D.W.: Effects of an organic iodine compound (Priedax) on tests of thyroid function. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1957, 17, 82.
- 138.- Clark, H.E.; Shipley, R.A.: Thyroidal uptake of I^{131} after iopanoic acid (telepaque) in 74 subjects. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1957, 17, 1008.
- 139.- Ogden, H.S.; Sheline, G.E.: The effect of Hypaque and Telepaque on thyroid uptake of I^{131} and plasma protein-bound iodine. *J. Lab. clin. Med.*, 1959, 54, 53.
- 140.- Rogers, W.R.; Robbins, L.R.: Iodipamide (cholegrafin) administration, its effect on the thyroid uptake of I^{131} and the serum precipitable iodine in euthyroid persons. *New Engl. J. Med.*, 1955, 253, 424.
- 141.- Klem, P.S.: Radioactive iodine studies in thyroid disease. *Acta endocrinol.* (supp. 21), 1954, 16, 1.
- 142.- Carter, A.C.; Weissenfeld, S.; Wallace, E.E.: Effect of oral lipidol on thyroidal I^{131} uptake and serum protein-bound iodine concentration. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1959, 19, 234.

- 143.- Blackburn, C.M.; Keating, F.R. Jr.; Haines, S.F.: Radiative tracer studies in thiocyanate myxedema. *J.clin.Endocrinol.*, 1951, 11, 1503.
- 144.- Godley, A.F.; Stanbury, J.B.: Preliminary experience in the treatment of hyperthyroidism with potassium perchlorate. *J.clin.Endocrinol.Metab.*, 1954, 14, 70.
- 145.- Wyngaarden, J.B.; Wright, B.M.; Wajs, R.: The effect of cart.in anions upon the accumulation and retention of iodide by the thyroid gland. *Endocrinology*. 1952, 50, 537.
- 146.- Eisentraut, H.H.; Johnson, P.C.; Solari, A.J.: Clinical use of radioisotopes. Philadelphia, 1957. W.B.Saunders Ed.
- 147.- Brown, J.; Salomon, D.H.: Effects of tolbutamide and carbutamide in thyroid function. *Metabolis*. 1958, 5, 813.
- 148.- Balint, J.H.; Fraser, R.; Hanno, M.G.W.: Radioiodine measurements of thyroid function during and after P.A.S. treatment of tuberculosis. *Brit.med.J.*, 1954, 1, 115.
- 149.- Hangren, A.: Determination of antithyroid action of paraminosalicylic acid using radioactive iodine. *Lancet*. 1952, 263, 117.
- 150.- Link, J.A.; Paton, B.C.; Persky, M.; Isaacs, M.; Kupperman, H.S.: The effect of phenylbutazone and a related analogue (G 2567L) upon thyroid function. *J.clin.Endocrinol.Metab.*, 1957, 17, 416.
- 151.- Austen, F.K.; Bahini, H.E.; Maroney, W.H.; Wolff, Jg: Salicylates and thyroid function. *J.clin.Invest.*, 1958, 37, 1131.
- 152.- Bull, G.M.; Fraser, R.: Myxedema from resorcinol ointment applied to leg ulcers. *Lancet*. 1950, 1, 851.
- 153.- Newman, S.; Fish, V.J.: The influence of tranquilizing drugs results of thyroid function studies. *J.clin.Endocrinol.Metab.*, 1958, 18, 1296.
- 154.- Wass, A.W.; Reppinger, E.; Foster, W.C.: The effect of anesthetic agents on

- the thyroid activity of the rat. *Endocrinology*. 1953, 51, 630.
- 155.- Friedall, M.T.: Effect of tranquilizing agents on the radioactive iodine uptake in the thyroid gland. *J.A.M.A.*, 1958, 167, 983.
- 156.- Roche, M.; Layrissa, M.: Effect of cobalt on thyroidal uptake of I^{131} . *J. clin.Endocrinol.Metab.*, 1956, 16, 831.
- 157.- Little, J.A.; Sunice, R.: Cobalt-induced goiter with cardiomegaly and congestive failure. *J.Pediat.*, 1958, 52, 284.
- 158.- Slingerland, D.W.: Influence of various factors on uptake of iodine by thyroid. *J.clin.Endocrinol.Metab.*, 1955, 15, 131.
- 159.- Danowsky, T.S.; Ruff, S.L.; Tarail, R.; Wirth, P.; Peters, J.H.; Nettles, R. F.M.; Garver, K.: Serum protein-bound iodine during ingestion of desiccated thyroid. *J.clin.Endocrinol.Metab.*, 1952, 12, 1572.
- 160.- Greer, M.A.: The effect on endogenous thyroid activity of feeding desiccated thyroid to normal human subjects. *New Engl.J.Med.*, 1951, 244, 385.
- 161.- Barsen, S.A.; Yalow, R.S.: The effect of cortisone on the iodine accumulating function of the thyroid gland in euthyroid subjects. *J.clin.Endocrinol.Metab.*, 1952, 12, 407.
- 162.- Brew-Grant, K.; Gibson, J.G.: The effect of exogenous and endogenous adrenaline on the uptake of radiiodine by the thyroid gland of the rabbit, *J.Physiol.*, 1956, 111, 85.
- 163.- Engstrom, W.N.; Markardt, B.: Influence of estrogen on thyroid function. *J. clin.Endocrinol.Metab.*, 1954, 14, 1954.
- 164.- Feldman, J.D.: Effect of estrogen on thyroid uptake of I^{131} in adrenalectomized rat. *Amer.J.Physiol.*, 1956, 184, 369.
- 165.- Cassidy, C.E.; Vanderlaan, W.P.: Laboratory aids to diagnosis in thyroid disease. *New Engl. J.Med.*, 1958, 258, 828.
- 166.- Van Middlenorth, L.: Thyroid excretion, a possible cause of goiter, *Endocrinology*. 1957, 61, 570.

167.- Shepard, T.H.; Pyens, G.E.; Kirschvink, J.F.; McLean, J.: Soybean goiter. Acta endocrinol. Supp. 51, pag. 1163, 1960.

168.- Beck, R.H.: Soy Flour and fecal thyroxine loss in rats. *Endocrinology*. 1958, 62, 587.

169.- Wallace, G.B.; Brodie, B.B.: The distribution of administered Iodide and thiocyanate in comparison with chloride in pathological tissues, and their relation to body fluids. *J. Pharmacol. Exp.therap.* 1937, 61, 412.

170.- Riggs, D.S.; Lavietes, P.H.; Man, E.B.: Investigations on the nature of blood iodine. *J.Biol. Chem.* 1942, 143, 363.

171.- Breverrow, V.: Studies on the nature of the iodine in blood. *J.Biol.Chem.*, 1939, 127, 737.

172.- Man, E.B.; Smirnow, A.E.; gilden, E.F.; Peters, J.P.: Serum iodine fractions in hyperthyroidism. *J.clin. Invest.*, 1942, 21, 773.

173.- Teurog, A.; Chaikoff, I.L.: The nature of the circulating thyroid hormone. *J.Biol.Chem.*, 1948, 176, 699.

174.- Albert, A.; Keating, F.R.Jr.: Metabolic studies with ¹³¹I-labeled thyroid compounds: distribution and excretion of radiiodiiodotyrosine in human beings. *J.clin.Endocrinol.Metab.*, 1951, 11, 996.

175.- Stanbury, J.B.; Kaasmanar, A.A.H.; Meijer, J.W.A.: The metabolism of iodotyrosines.I.The fate of mono- and di-iodotyrosine in normal subjects and in patients with various diseases.*J.clin.EndocrinolMetabolis.*, 1956, 16, 735.

176.- Rosenberg, I.M.: The nature of the circulating thyroid hormone in Graves'disease. *J.clin. Invest.*, 1951, 30, 1.

177.- Dinglefine, W.S.; Pitt-Rivers, R.; Stanbury, J.B.: Nature and transport of the iodinated substances of the blood of normal subjects and transport of thyroid disease. *J.clin.Endocrinol. Metab.*, 1956, 15, 724.

178.- Costa, A.; Cottino, F.; Ferraris, G.M.; Marchis, E.; Marocco F.; Mortara, M; Pietra, R.: Ricerche sulla Patogenesi di cretinismo endemico. *Medicina (Pisa)*

na). 1953, 2, 455.

- 179.- Stanbury, J.B.; Kassenaar, A.A.H.; Meijer, J.W.A.; Terpstra, .: The occurrence of mono- and di-iodotyrosine in the blood of patient with the congenital goiter. *J.clin Endocrinol. Metab.*, 1955, 15, 1216.
- 180.- Werner, S.C.; Block, R.J.; Mandl, R.H.: Circulating iodoproteins in a non-goitrous adult with primary amenorrhoea, bony deformities and normal levels of serum levels of serum precipitable iodine and thyroidal I^{131} uptake. *J.clin. Endocrinol. Metab.*, 1957, 17, 1141.
- 181.- Werner. S.C.; Block, R.J., Mandl, R.H.; Kassenaar, A.A.H.: Pathogenesis of a case of congenital goiter with abnormally high levels of SPI and with mono- and diiodotyrosine in the serum. *J.clin. Endocrinol.Metab.*, 1957, 17, 817.
- 182.- Robbins, J.; Rall, J.E.; Rauson, R.W.: A new serum iodine component in patients with functional carcinomas of the thyroid. *J.clin. Endocrinol. Metab.*, 1955, 15, 1315.
- 183.- Tata, J.R.; Rall, J.E.; Rauson, R.W.: Studies of an iodinated protein in the serum of subjects with cancer of thyroid. *J.clin.Endocrinol.Metab.*, 1956, 16, 1554.
- 184.- Whitelaw, J.J.; Thomas, S.; Reilly, W.A.: A non-goitrous cretin with a high level of serum PBI and thyroidal I^{131} uptake, *J.clin.Endocrinol.Metab.*, 1956, 16, 983.
- 185.- Di George, A.M; Paschke, K.E.: Sporadic Hypothyroidism associated with goiter. *J.clin.Endocrinol.Metab*, 1957, 17, 842.
- 186.- DeGroot, L.J.; Stanbury, J.B.: The syndrome of congenital goiter with butanol-insoluble serum iodine. *Amer.J.Med.*, 1959, 27, 842.
- 187.- Gardner, J.V.; Hayles, A.B.; Woolner, L.B.; Owen, C.A.Jr.: Iodine metabolism in goitrous cretins. *J.clin.Endocrinol.Metab*, 1959, 19, 638.
- 188.- Chavarria, C.; Mañes-Barreyra, G.; Casvava, G.; Rupp, J.J.; paschke, K.E.: Butanol-insoluble iodinated compound in the plasma of a goitrous cretin.*J.*

- clin. Endocrinol. Metab., 1960, 20, 894.
- 189.- Owen, G.A.Jr.; McConahay, W.M.; Childs, D.S.Jr.; McKensie, B.F.: Serum "thyroglobulin" in thyroidal carcinoma. J. clin. Endocrinol. Metab., 1960, 20, 187.
- 190.- Aaland, J.D.: The nature, determination and clinical importance of blood iodine: A review. J. clin. Pathol., 1958, 11, 195.
- 191.- Leland, J.P.; Foster, G.L.: A method for the determination of thyroxine in the thyroid. J. Biol. Chem., 1932, 91, 165.
- 192.- Blum, H.F.: The determination of thyroxine in the thyroid gland. J. Biol. Chem. 1933, 102, 269.
- 193.- Man, K.M.; Kydd, D.M.; Peters, J.P.: Butanol-extractable iodine of serum. J. clin. Invest., 1931, 30, 531.
- 194.- Kendall, E.C.: The determination of iodine in connection with studies in thyroid activity. J. Biol. Chem., 1914, 19, 251.
- 195.- von Fallenberg, F.: Untersuchungen ueber das Vorkommen von Jod in der Natur. II. Bestimmung kleinster Jodmengen. Biochem. Ztschr., 1924, 152, 116.
- 196.- DeQuervain, F.; Smith, W.E.: The iodine content of blood in ordinary goiters and cretinism. Endocrinology. 1928, 12, 177.
- 197.- Aitken, H.A.A.: An improved method for determination of iodine in blood. Biochem. J., 1930, 24, 1456.
- 198.- Turner, R.C.: Micro colorimetric method for the quantitative estimation of iodine in blood. J. Biol. Chem., 1930, 88, 497.
- 199.- Remington, R.E.; McClendon, J.F.; Von Kelnitz, H.: The determination of traces of iodine. V. Further refinements in technique. J. Amer. Chem. Soc., 1931, 53, 1245.
- 200.- Schwaibald, J.; Harder, B.: Die Bestimmung des Jods in biochemischen Materialien. Biochem. Ztschr., 1931, 240, 441.
- 201.- Allot, E.N.; Dauphinee, J.A.; Hurthey, W.H.: The determination of small quanti-

- ties of iodine in blood. *Biochem. J.*, 1932, 26, 1665.
- 202.- Elmer, A.W.: Zur Vereinfachung der Mikrojodbestimmung., *Biochem. Ztschr.*: 1932 248, 163.
- 203.- Widmann, E.: Zur Methodik der Blutjodbestimmung. *Biochem. Ztschr.*, 1932, 256, 223.
- 204.- Leipert, T.: Die Bestimmung kleinster Jodmengen in organischem Material. *Biochem. Ztschr.*, 1933, 261, 436.
- 205.- Curtis, G.M.; Davis, G.B.; Phillips, F.J.: Significance of the iodine content of the human blood. *J.A.M.A.*, 1933, 101, 901.
- 206.- Elmer, A.W. Scheps, M.: The iodine content of blood and urine, and the basal Metabolic rate; their value in the diagnostic of the function of the thyroid gland. *Acta med. scand.*, 1934, 82, 126.
- 207.- Trevorrow, V.; Faschena, G.J.: The determination of iodine in biological material. *J. Biol. Chem.*, 1935, 110, 29.
- 208.- McCallagh, D.R.: Studies in blood iodine By use of a new chemical method. *Cleveland Clin. Quart.*, 1935, 2, 15.
- 209.- Faschena, G.J.; Trevorrow, V.: A note on the determination of iodine in biological material. *J. Biol. Chem.*, 1936, 114, 351.
- 210.- Stimell, B.F.; McCallagh, D.R.: A note concerning the determination of iodine. *J. Biol. Chem.*, 1936, 116, 21.
- 211.- Wilmanns, H.: Zur Methodik der Mikrojodbestimmung in biologischem Material. *Biochem. Ztschr.*, 1936, 289, 41.
- 212.- Perkin, H.J.; Lohy, F.H.; Cattell, R.B.: Blood iodine studies in relation to thyroid disease; Basic concept of the relation of iodine to the thyroid gland; iodine tolerance test. *New England J. Med.*, 1936, 214, 45.
- 213.- Perkin, H.J.; Cattell, R.B.: The practicability and significance of blood iodine estimations. *New York State J. Med.*, 1936, 36, 1033.

- 214.- Baumann, E.J.; Metzger, N.: On the amount of iodine in blood. *J. Biol. Chem.*, 1937, 121, 231.
- 215.- Stevens, C.D.: Determination of iodine in biological materials; simplified technique. *J. Lab. Clin. Med.*, 1937, 22, 1076.
- 216.- Matthews, N.L.; Curtis, G.M.; Brode, W.R.: Determination of iodine in biological materials. *Indust. Engin. Chem., Anal. Ed.*, 1938, 10, 612.
- 217.- Fashena, G.J.: A study of blood iodine in childhood. *J. Clin. Invest.*, 1938, 17, 174.
- 218.- Trevorrow, V.: Studies on the nature of the iodine blood. *J. Biol. Chem.*, 1939, 127, 737.
- 219.- Grauer, R.C.; Saier, E.: A comparison of the distilling and dry ashing methods for the determination of the blood iodine. *Endocrinology.*, 1939, 24, 553.
- 220.- Turner, K.B.; DeLamater, A.; Province, W.B.: Observations on the blood iodine. I. The blood iodine in health, in thyroid and cardiorenal disease and in leukemia. *J. Clin. Invest.*, 1940, 19, 515.
- 221.- Riggs, D.S.; Man, E.B.: A permanganate acid ashing micro-method for iodine determinations; values in the blood of normal subjects. *J. Biol. Chem.*, 1940, 134, 193.
- 222.- Klassen, K.P.; Bierbaum, R.L.; Curtis, G.M.: Comparative iodine content of whole blood and serum. *J. Lab. Clin. Med.*, 1940, 26, 365.
- 223.- Perkin, H.J.; Lahey, F.H.: The level of iodine in the blood. *Arch. Intern. Med.*, 1940, 65, 882.
- 224.- Chaney, A.L.: Improvements in determination of iodine in blood. *Indust. Engin. Chem., Anal. Ed.*, 1940, 12, 179.
- 225.- Perkin, H.J.; Cattell, R.B.: The value of blood iodine estimations in diagnosis of borderline hyperthyroidism. *West. J. Surg.*, 1940, 48, 50.
- 226.- Salter, W.T.; Bassett, A.M.: A physiological interpretation of blood iodine

- fractions in terms of thyroid function (in 100 cases). *Tr.A.M.Physicians.*, 1941, 16, 77.
- 227.- Salter, W.T.; Bassett, A.M.; Coons, A.H.: Protein-bound iodine in blood plasma. *J. clin.Invest.*, 1941, 20, 445.
- 228.- Bassett, A.M.; Coons, A.H.; Salter, W.T.: protein-bound iodine in blood. V. Naturally occurring iodine fractions and their chemical behavior. *Amer.J.med.Sci.*, 1941, 202, 516.
- 229.- Salter, W.T.; Bassett, A.M.; Sappington, T.S.: Protein-bound iodine in blood. VI. Its relation to thyroid function in 100 clinical cases. *Amer.J.med.Sci.*, 1941, 202, 527.
- 230.- Riggs, D.S.; Gildea, E.F.; Man, E.B.: The clinical interpretation of blood iodine levels. *Connecticut.M.J.*, 1941, 1, 309.
- 231.- Davison, R.A.; Zellinger, R.W.; Curtis, G.M.: The fractionation of the blood iodine; finding in patients with normal thyroid function and with hypothyroidism. *J.Lab.clin.Med.*, 1942, 27, 643.
- 232.- Riggs, D.S.; Lavietes, P.H.; Man, E.B.: Investigations on the nature of blood iodine. *J.biol.Chem.*, 1942, 27, 363.
- 233.- Man, E.B.; Smirnov, A.E. Gildea, E.F.; Futera, J.P.: Serum iodine fractions in hyperthyroidism. *J.clin.Invest.*, 1942, 21, 773.
- 234.- Silver, S.: Nature of blood iodine and its determination. *J.Lab. clin.Me.*, 1942, 28, 389.
- 235.- Wilmanns, H.: Bestimmung und Bedeutung verschiedener Jodfraktionen in biologischem Material. *Zeitschr. f.d.ges.exper.Med.*, 1943, 112, 1.
- 236.- Bruger, M.; Mumber, S.: On the fractionation of iodine in blood. *J.biol.Chem.*, 1943, 148, 77.
- 237.- Salter, W.T.; McKay, E.A.: Iodine in blood and thyroid of man and small animals. *Endocrinology*, 1944, 35, 380.

- 238.- Talbot, H.B.; Butler, AgH.; Saltman, A.H.; Rodriguez, P.M.: The colorimetric estimation of protein-bound serum iodine. *J.biol.Chem.*, 1944, 153, 479.
- 239.- Lowenstwin, B.E.; Bruger, M.; Hinton, J.W.: The protein-bound plasma iodine in patients with thyroid disease.I.Correlation with basal heat production. *J.clin. Endocrinol.*, 1944, 4, 268.
- 240.- Sappington, T.S.; Halperin, H.; Salter, w.F.: Iodine in blood and thyroid. *J. Pharmacol.Exper,Therap.*, 1944, 81, 331.
- 241.- Curtis, G.M.; Fertman, M.B.: Blood iodine studies. VII. The relation of the basal metabolic rate to the blood iodine in thyroid disease. *AnnSurg.*, 1945, 122, 963.
- 242.- Lowenstein, B.E.; Bruger, M.; Hinton, J.W.; Lough, W.G.: Protein- bound plasma iodine in patients with thyroid disease. II. The effect of thiouracil. *J.clin. Endocrinol.*, 1945, 5, 181.
- 243.- Man, E.B.; Kahn, E.: Thyroid function of manic-depressive patients evaluated by determinations of serum iodine. *Arch.Neurol.Psychiat.*, 1945, 54, 51.
- 244.- Uronius, E.: Iodine determination and diagnosis in hiper-and hypothyrosis. *Acta Chir.Scandinav. XCIII (Supp.106)*: 1, 1946.
- 245.- Imrog, A.; Chaikoff, I.L.: Onthe determination of plasma iodine. *J.biol. Chem.* 1946, 163, 313.
- 246.- Curtis, G.M.; Fertman, M.B.: Blood iodine studies. VIII. The blood iodine in nonthyroid disease. *Arch.Surg.*, 1947, 54, 541.
- 247.- Riggs, D.S.: Serum protein-bound iodine as a diagnostic aid. *Tr.AMBGoiter A.* pp. 137, 1947.
- 248.- Barker, S.B.: Determination of protein-bound iodine. *J.biol.Chem.*, 1948, 173, 715.
- 249.- Willismd, R.H.: Relation of obesity to the function of the thyroid gland, especially as indicated by protein-bound iodine concentration in the plasma. *J. clin.Endocrinol.*, 1948, 8, 257.

- 250.- Connor, A.G.; Swanson, R.E.; Park, Ch.W.; Gangleff, E.G.; Lieberman, R.; Curtis, G.M.: The determination of the blood iodine. A Useful method for the clinical laboratory. *Surgery*, 1949, 25, 510.
- 251.- Connor, A.G.; Curtis, G.M.; Swanson, R.E.: A simplified method for the determination of the protein-bound iodine and its clinical application. *J.clin.Endocrinol.*, 1949, 9, 768.
- 252.- Danowski, T.S.; Hedeburg, S.; Greenman, J.H.: The constancy of the serum precipitable or protein-bound iodine in healthy adults. *J.clin.Endocrinol.*, 1949, 9, 768.
- 253.- Perry, W.F.; Coogrove, J.B.R.: Protein bound plasma iodine as an aid in the diagnosis of thyroid disease. *Canad. M.A.J.*, 1949, 60, 602.
- 254.- Petit, K.W.; Starr, P.; Chaney, A.L.: Clinical and laboratory reliability of protein bound blood iodine determination. *Amer.J.Med.*, 1949, 6, 391.
- 255.- Albéaux-Fernet, M.; Bréant, P.; Corteville et M.Qad.: Intérêt clinique du dosage de l'iodémie protéique. *Ann.Endocrinol.*, 1950, 11, 242.
- 256.- Brody, E.B.; Man, E.B.: Thyroid functions measured by serum precipitable iodine determinations in schizophrenic patients. *Amer.J.Psychiat.*, 1950, 107, 357.
- 257.- Chaney, A.L.: instrumental improvements for microdetermination of protein-bound iodine in blood. *Anal.Chem.*, 1950, 22, 939.
- 258.- Hardy, J.D.; Riegel, C.; Krisman, E.P.: Experiences with protein-bound iodine (P.B.I.): the effect of ACTH and cortisone on thyroid function. *Amer.J.Med.Sci.* 1950, 220, 290.
- 259.- Kydd, D.M.; Man, E.B.; Peters, J.P.: Concentration of precipitable iodine in the serum. *J.clin.Invest.*, 1950, 29, 1033.
- 260.- Man, E.B.; Peters, J.P.: Artefactual values of serum precipitable iodine. *J. Lab.clin.Med.*, 1950, 35, 280.
- 261.- Rappert, R.L.; Curtis, J.M.: The clinical significance of the blood iodine: a review. *J.clin.Endocrinol.*, 1950, 10, 735.

- 262.- Barker, S.B.; Humphrey, M.J.: Clinical determination of protein-bound iodine in plasma. *J.clin.Endocrinol.*, 1950, 10, 1136.
- 263.- Starr, P.; Pettit, D.W.; Cheney, A.L.; Rollman, H.; Alken, J.; Jamieson, B.; King, I.: Clinical experience with the blood protein-bound iodine determination as a routine procedure. *J.clin.Endocrinol.*, 1950, 10, 1237.
- 264.- Barker, S.B.; Humphrey, M.J.; Soley, M.H.: The clinical determination of protein-bound iodine. *J.clin.Invest.*, 1951, 20, 55.
- 265.- Tucker, R.O.; Keys, A.: Concentration of serum protein-bound iodine in normal man. *J.clin.Invest.*, 1951, 20, 869.
- 266.- Davison, T.C.; Letton, A.H.: The evaluation of protein-bound iodine determination in thyroid disease. *Am.Surgeon*. 1951, 17, 893.
- 267.- Hallman, B.L.; Bundy, P.K.; Haggood, M.A.: Determination of serum protein-bound iodine as a routine clinical procedure. *Arch.intern.Med.*, 1951, 87, 817.
- 268.- Lain, A.; Schwartz, N.: Ceric sulfate-arsenous acid reaction in the micro-determination of iodine. *Anal.Chem.*, 1951, 23, 1507.
- 269.- DeMezray, R.R.; Tickner, A.: The diagnostic value of estimations of protein-bound iodine in serum. *Lancet*, 1952, 2, 511.
- 270.- Moran, J.J.: Factors affecting the determination of protein-bound iodine in serum. *Anal.Chem.*, 1952, 24, 378.
- 271.- Zak, B.; Boyle, A.J.: A simple method for the determination of organic bound iodine. *A Pharm. Ass., 3d.Ed.*, 1952, 41, 260.
- 272.- Boyle, A.J.: Chloric acid method for determination of protein-bound iodine. *Anal. Chem.*, 1952, 24, 1345.
- 273.- Sebel, H.; Bapsen, S.: Modified procedure for determination of protein-bound iodine in serum. *Anal.Chem.*, 1952, 24, 1829.
- 274.- Garaway, W.T.: Calculation of protein-bound iodine from kinetic data. *J.clin. Endocrinol.*, 1952, 12, 1215.

- 275.- Klein, E.: Die Bestimmung kleinster Jodmengen in Blut. *Bioche, Ztschr.*, 1952, 322, 388.
- 276.- Danowski, T.S.; Raff, S.J.; Erhard, L.H.; Price, M.; Brown, M.; Wirth, P.; Stevenson, S.S.: Protein-bound iodine levels in normal and in diabetic children. *A.M.A.Am.J.Dis.Child.*, 1952, 84, 5.
- 277.- Allison, H.W.; Eliss, T.L.: Protein-bound blood iodine in cardiovascular disease. *Ann. intern.Med.*, 1953, 39, 326.
- 278.- Chaney, A.L.: Review of techniques for protein-bound iodine. *Clin.Chemist.*, 1953, 5, 6.
- 279.- O'Neal, L.W.; Simms, E.S.: Determination of protein-bound iodine in plasma or serum. *Amer.J.clin.Path.*, 1953, 21, 493.
- 280.- Rak, B.; Keen, A.M.; Boyle, A.J.: Normal and abnormal values of protein-bound iodine. *Amer.J.clin.Path.*, 1953, 21, 603.
- 281.- Brown, H.; Reingold, A.M.; Samson, M.: The determination of protein-bound iodine by dry ashing. *J.clin.Endocrinol.Metab.*, 1953, 13, 444.
- 282.- Kalthoff, I.M.; Jordan, J.: Amperometric titration and voltammetric determination of iodide, with rotated platinum wire indicator electrode. *Anal.Chem.*, 1953, 25, 1833.
- 283.- Leffler, H.H.: Determination of protein-bound iodine. *Amer.J.clin.Path.*, 1954, 24, 483.
- 284.- Klingerman, M.R.: A simple and rapid calculation in Barker's method for blood protein-bound iodine. *Amer.J.clin.Path.*, 1954, 24, 490.
- 285.- Sunderman, F.W.; Sunderman, F.W.Jr.: The clinical significance of measurements of protein-bound iodine. *Amer.J.clin.Path.*, 1954, 24, 490.
- 286.- Zieve, L.; Dahle, M.; Schmits, A.L.: Comparison of incineration and chloric acid methods for determination of chemical protein-bound iodine. *J.Lab.clin.Med.* 1954, 44, 378.

- 287.- Wilson, H.T.; Maier, E.G.: The protein-bound iodine as a guide in thyroid therapy. *J. Lab. Clin. Med.*, 1954, 43, 422.
- 288.- Revello, F.; Serra, U.: Il valore fisiologico della protidemia nella valutazione diagnostica e prognostica degli stati ipermetabolici. *Folia Endocrinol.*, 1952, 7, 225.
- 289.- Winikoff, D.: Thyroid Symposium II: Proteinbound iodine as diagnostic aid in thyroid dysfunction. *M. J. Australia*, 1954, 1, 859.
- 290.- Grossmann, A.; Grossmann, G.^{F.}: Protein-bound iodine by alkaline incineration and a method for producing a stable cerate color. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1955, 15, 354.
- 291.- Blackburn, G.M.; Power, M.H.: Diagnostic accuracy of serum protein bound iodine determination in thyroid disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1955, 15, 1379.
- 292.- Zieve, L.; Skene, B.; Schultz, A.L.: Comparative value of the basal metabolic rate, chemical protein-bound iodine, and radioactive iodine excretion or uptake in the diagnosis of border-line hyperthyroidism when used individually or in combination. *J. Lab. Clin. Med.*, 1955, 45, 281.
- 293.- Buser, R.E.: The present status of the diagnosis of hyperthyroidism. *Ann. Intern. Med.*, 1956, 44, 207.
- 294.- Thompson, H.L.; Hingerman, M.R.; Trumper, J.: A method for protein-bound iodine: the use of control in the ashing technique. *J. Lab. Clin. Med.*, 1956, 47, 149.
- 295.- Lemberg, B.A.; Wahlberg, P.; Forsius, P.I.: The serum protein-bound iodine as a diagnostic aid. *Acta Med. Scandinav.*, 1956, 154, 201.
- 296.- Strickland, R.D.; Maloney, G.M.: Determining serum protein-bound iodine. *Analyt. Chem.*, 1957, 29, 1870.
- 297.- Island, J.D.: The estimation of serum protein-bound iodine by alkaline incineration. *Biochem. J.*, 1957, 66, 177.
- 298.- Todd, W.R.: Preparation of ceric sulphate reagent for use in the determination

- 299.- Means, J.H.: Our growing understanding of thyroid function and its clinical application. *Ann.intern.Med.*, 1957, 47, 853.
- 300.- Margolies, S.M.; Galab, O.J.: Daily fluctuation of the serum protein-bound iodine level. *J.clin.Endocrinol.Metab.*, 1957, 17, 849.
- 301.- Grossmann, A.; Grossmann, G.J.: Rapid test for detection of certain iodine-containing contaminants in serum. *Clin.Chem.*, 1958, 4, 296.
- 302.- Bodansky, O.; Berna, R.S.; Pennock, G.: A rapid procedure for determination of total and protein-bound iodine in serum. *Amer.J.clin.Path.*, 1958, 20, 375.
- 303.- Robinson, G.A.; Deluca, H.A.: The determination of protein-bound iodine. *Canada J.Biochem.*, 1958, 36, 701.
- 304.- Hitzberger, G.; Honets, H.; Kotsurek, R.: Über die Brauchbarkeit der Jodbestimmung im Blutserum nach Spitzzy-Rosco-Schube klinische Routinemethode. *Wien.Klin.Wochr.*, 1958, 70, 995.
- 305.- Vilkki, P.: A modification of the alkaline combustion method for the determination of protein-bound iodine in serum. *Scand.J.clin.Lab.Invest.*, 1958, 10, 272.
- 306.- Rodgers, K.; Poole, D.B.: Estimation of iodine in biological materials. *Biochem.J.*, 1959, 70, 463.
- 307.- Schatz, D.L.; Voló, R.: Lack of diurnal variation in level of serum PBI. *J.clin.Endocrinol.Metab.*, 1959, 19, 1495.
- 308.- Carter, A.G.; Feldman, E.B.: Levels of serum PBI in patients with metastatic carcinoma of the breast. *J.clin.Endocrinol.Metab.*, 1960, 20, 477.
- 309.- Hakila, R.; Lemberg, B.A.; Hernberg, C.A.: Changes in serum Protein-bound iodine, serum cholesterol and the radioactive iodine excretion test in thyrotoxicosis treated with radioactive iodine. *Acta Endocrinol.*, 1960, 31, 593.
- 310.- Schneberg, N.G.: Normal protein-bound iodine values in hyperthyroidism and cretinism. *Amer.J.Med.Sci.*, 1960, 240, 552.
- 311.- Bérard, Th.: Etudes biochimiques des hormones thyroïdiennes en pathologie hu-

- maine. *Acta endocrinol. Supp.* 55, 1960.
- 112.- Valpé, R.; Vale, J.; Johnston, M.W.; The effects of certain physical and emotional tensions and strains on fluctuation in the level of serum protein-bound iodine. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1960, 20, 415.
- 113.- Szogy, M.: A method for the preparation of blood filtrates for the determination of sugar. *J. Biol. Chem.*, 1930, 94, 655.
- 114.- Sandell, E.B.; Kolthoff, I.M.: Chemometric catalytic method for the determination of minute quantities of iodine. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1934, 56, 1426.
- 115.- Sandell, E.B.; Kolthoff, I.M.: Microdetermination of iodine by a catalytic method. *Mikrochim. Acta.* 1937, 1, 9.
- 116.- Sandell, E.B.: Colorimetric determination of traces of metals: Chemical analysis. Vol. 3, Ed. 2, Interscience Publ., Inc., New York, 1950.
- 117.- Regina, B.; Dubravčić, M.: Microdetermination of iodides by arresting the catalytic reduction of ceric ions. *Analyst.* 1953, 78, 594.
- 118.- Dubravčić, M.: Determination of iodine in common salt by catalytic reduction of ceric ions. *Analyst.* 1955, 80, 146.
- 119.- Shenyakin, F.M.; Volkova, V.A.: Reactions of rare earths and allied elements with polyphenols and alkaloids. VII. The colorimetric determination of cerium by means of brucine and the reaction of persulfate with brucine. *J. Gen. Chem. (U.R.S.S.)*. 1939, 9, 698.
- 120.- Meyer, K.R.; Dickenson, R.C.; White, E.B.; Sak, B.: Study of inhibition of ceric-arsenite reaction and application to analysis of protein-bound iodine. *Amer. J. Clin. Path.*, 1955, 25, 1160.
- 121.- Samson, M.; Brown, H.; Eichen, S.: cross-contaminator exclusion test for dry-ashing determination of protein-bound iodine. *Clin. Chem.* 1955, 1, 269.
- 122.- Malkin, H.M.: A simple screening test for elimination of artifactually high valued protein-bound iodine samples. *J. Lab. Clin. Med.*, 1956, 48, 124.
- 123.- Barber, M.; Man, E.B.: A modification of Malkin's screening test for the detec-

- tion of artifactually high organic iodine compounds in sera. *J.Lab.clin.Med.*, 1958, 52, 659.
- 324.- Logovoy, J.K.: Prevention of cross-contamination in the dry-ash method for P.B.I. *Clin.Chem.*, 1959, 5, 445.
- 325.- Ackerman, J.A.; Myers, J.T.: A rapid screening method for the elimination of cross-contamination in the determination of protein-bound iodine. *Clin.Chem.*, 1959, 5, 615.
- 326.- Mason, G.C.; Shepherd, H.G.: A simplified procedure for the prevention of cross-contamination in the dry-ash determination of protein-bound iodine. *Amer. J. clin.Path.*, 1960, 34, 40.
- 327.- Shahrekh, B.K.: A new method for the microdetermination of iodine in certain biological materials. *J.biol.Che.*, 1943, 147, 109.
- 328.- Shahrekh, B.K.: Modification of the chlorate digestion method for microdetermination of iodine in biological materials. *J.Biol.Chem.*, 1944, 151, 517.
- 329.- Paterson, R.A.; Man, E.B.: Interference by copper in the determination of serum butanol-extractable iodine. *J.Clin.Endocrinol.Metab.*, 1959, 19, 380.
- 330.- Man, E.B.; Kydd, D.M.; Peters, J.P.: Butanol-extractable iodine of serum. *J. clin.Invest.*, 1951, 30, 531.
- 331.- Man, E.B.; Bondy, P.K.; Weeks, E.A.; Peters, J.P.: Normal range of serum butanol-extractable iodine of human adults. *Yale J.Biol.and.Med.*, 1954, 27, 90.
- 332.- Mead, J.J.; Ewell, J.W.; Rogers, O.F.; Man, E.B.: Serum butanol-extractable iodine of male University students. *Yale J.Biol.Med.*, 1954, 27, 97.
- 333.- Durham, J.R.; Cooke, R.E.; Lancaster, J.W.; Man, E.B.: Serum butanol-extractable iodine values of children under ten years of age. *A.M.A. Amer.J.dis. Child.*, 1954, 87, 468.
- 334.- Escobar del Rey, F.; Morreale de Castro, G.; Kassenaar, A.A.: The efficiency of butanol extractions of serum organic iodine compounds. *Scandinav.J.clin. Lab. Invest.*, 1956, 8, 243.

335.- Han, E.B.; Bondy, P.K.: Clinical significance of serum butanol-extractable iodine. *J.clin.Endocrinol.Metab.*, 1957, 17, 1373.

336.- Kontanis, N.E.; Pickering, D.E.: A micro-method for the determination of butyl-alcohol extractable hormonal iodine in serum. *J.clin.Endocrinol.Metab.*, 1958, 18, 774.

337.- Aubert, J.P.; Muller, L.; Bessen, R.: Modification de la technique du dosage de l'iode hormonal sérique butanol-extractible. *Rev.Franc.Clin.Biol.*, 1959, 4, 846.

338.- Posner, I.: A simplified procedure for the determination of butanol extractable iodide in serum or plasma. *J.Lab.clin.Med.*, 1961, 57, 314.

339.- Baricri, G.L.; Altshuler, N.: Experimentos no publicados. 1959.

340.- Danowski, T.S.; Metcalf, F.; Wiegand, F.A.; Peters, J.H.; Greenman, J.H.: Serum iodine fractions in subjects receiving potassium iodide in small dosage. *J.clin.Endocrinol.*, 1950, 10, 532.

341.- Slade, Ch.I.: Application of a simple ion exchange resin technique to determination of serum or plasma protein-bound I^{127} or protein-bound I^{131} . *J.clin.Endocrinol.Metab.*, 1956, 16, 1122.

342.- Kotsurek, R.; Frischmuf, H.; Henets, N.: Beeinflussung des chemisch bestimmbaren Serumjod und der Radiojodtests durch jodhaltige, hormonal unwirksame Medikamente. *Acta endocrinol. Supp.* 51, 1191, 1960.

343.- Hall, J.E.: The role of radioactive iodine in the diagnosis of thyroid disease. *Amer.J.Med.*, 1956, 20, 719.

344.- Gribets, D.; Talbot, H.B.; Crawford, J.D.: Cretin due to lymphocytic thyroiditis (Hashimoto's struma). Its occurrence in pre-adolescent and adolescent girls. *New England, J.Med.*, 1954, 250, 555.

345.- Werner, S.C.; Block, R.J.; Mandl, R.H.: Probable genetic basis for abnormal circulating iodoproteins (butanol-insoluble serum iodine). Study of a family with several hypothyroid members with and without goiter. *J.clin.Endocrinol.*

1960, 20, 205.

- 346.- Pickering, D.E.; Kontaxis, N.E.; Bensen, R.G.; Meehan, R.J.: Thyroid function in the perinatal period. *A.M.A.Amer. J. Dis. Child.*, 1958, 95, 616.
- 347.- Man, E.B.; Pickering, D.E.; Walker, J.; Cooke, R.E.: Butanol-extractable iodine in the serum of infants. *Pediatrics*. 1952, 9, 32.
- 348.- Lum, J.; Man, E.B.: Serum butanol-extractable iodine in abortions. *Yale J.Biol. Med.*, 1955, 28, 105.
- 349.- Schmits, A.L.; Sanhans, S.; Demorets, H.L.; Zieve, L.: Clinical value of the plasma butanol-extractable (thyroxine) I^{131} in the diagnosis of by hyperthyroidism and myxedema. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1954, 14, 1062.
- 350.- Ingbar, S.H.; Freinkel, N.; Hoepflich, P.D.; Athens, J.W.: The concentration and significance of the butanol-extractable radioiodine of serum in patients with diverse state of thyroidal function. *J. clin. Invest.*, 1954, 33, 388.
- 351.- Astwood, E.; Cassidy, C.; Raben, M.; Astwood, S.: Iodine in blood. *Ciba Foundation Colloquia on Endocrinology*, 1957, 11, 95. London: Churchill.
- 352.- Reforzo Membrives, J.; de Forteza, I.E.; Rocca, D.Z.: Escala sexual en el síndrome de Turner. *Rev. argent. Endocrinol. Metab.*, 1957, 3, 36.
- 353.- Enrici, C.L.: A publicarse.
- 354.- Lanaro, A.E.: Resultados obtenidos en la captación de I^{131} en afecciones no tiroideas. Trabajo de adscripción a la cátedra de Física Biológica. Facultad de Medicina de Buenos Aires. 1957.
- 355.- Heineman, M.; Johnson, C.E.; Man, E.B.: Elevation of serum precipitable iodine during pregnancy. *J. clin. Invest.*, 1946, 25, 926.
- 356.- Heineman, M.; Johnson, C.E.; Man, E.B.: Serum precipitable iodine concentrations during pregnancy. *J. clin. Invest.*, 1948, 27, 91.
- 357.- Peters, J.P.; Man, E.B.; Heineman, M.: Pregnancy and the thyroid gland. *Yale J. Biol. Med.*, 1948, 20, 449.
- 358.- Man, E.B.; Heineman, M.; Johnson, C.E.; Leary, D.C.; Peters, J.P.: The precipitable iodine of serum in normal pregnancy and its relation to abortions. *J. clin.*

- Invest., 1951, 30, 137.
- 359.- Danowski, T.S.; Gow, R.G.; Matar, F.M.; Everhart, W.C.; Johnston, S.Y.; Greenman, J.M.: Increases in serum thyroxin during uncomplicated pregnancy. Proc.Soc. Exper. Biol. Med., 1950, 74, 323.
- 360.- Pitt-Rivers, R.: Thyroid hormones in the blood. Ciba Foundation Colloquia on Endocrinology, 1957, 11, 82.
- 361.- Lun, J.; Man, E.B.: Serum butanol-extractable iodines in abortions. Yale J.Biol. Med., 1955, 28, 105.
- 362.- Bensen, R.C.; Pickering, D.E.; Kontaxis, M.E.; Fisher, D.A.: Thyroid function in pregnancy. An assessment Obstet. and Gynec., 1959, 14, 11.
- 363.- Engstrom, W.W.; Kydd, D.M.; Peters, J.P.; Man, E.B.: Precipitable iodine of serum in pregnancy complicated by disorders of thyroid. J.clin. Invest., 1951, 30, 151.
- 364.- Halman, K.E.: The radioiodine uptake of the human thyroid in pregnancy. Clin. Sci., 1954, 17, 281.
- 365.- Ferraris G.M.; Scorta, A.: Compartimenti di alcuni tests di funzione tiroidea in gravidanza o in puerperio. Minerva ginec., 1955, 7, 308.
- 366.- Dowling, J.T.; Freinkel, N.; Ingbar, S.H.: Thyroxine-binding by sera of pregnant women, new-born infants and women with spontaneous abortion. J. clin. Invest., 1956, 35, 1263.
- 367.- Akasu, F.; Kambara, S.; Shiki, H.; Hayano, M.; Tejima, Y.: Endocrinol. Japan. 1955, 2, 297.
- 368.- Werner, S.C.: The effect of triiodothyronine administration on the elevated protein-bound iodine level in human pregnancy. Am. J.Obstet. Gynec., 1958, 71, 1193.
- 369.- Engstrom, W.W.; Markardt, B.: Influence of estrogen on thyroid function. J. clin. Endocrinol. Metab., 1954, 14, 215.
- 370.- Dowling, J.T.; Freinkel, N.; Ingbar, S.H.: Effect of diethylstilbestrol on the binding of thyroxine in serum. J.clin.Endocrinol.Metab., 1956, 16, 1491.

- 371.- Bartolomei, G.; Turchetti, G.; Zanetti, A.: La funzione tiroidea nell'iperfollicolismo. *Folia Endocr. (Pisa)*, 1958, 11, 363.
- 372.- Engbring, N.H.; Engstrom, W.W.: Effects of estrogen and testosterone on circulating thyroid hormone. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1959, 19, 783.
- 373.- Alexander, R.W.; Marmorsten, J.: Effect of two synthetic estrogens on the level of FBI in men and women with atherosclerotic heart disease. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1961, 21, 243.
- 374.- Federman, D.D.; Robbins, J.; Ball, J.E.: Effects of methyl testosterone on thyroid function, thyroxine metabolism and thyroxine binding protein. *J. clin. Invest.*, 1958, 37, 1024.
- 375.- Dowling, J.T.; Ingbar, S.H.; Freinkel, N.: Iodine metabolism in hydatidiform mole and chorionicarcinoma. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1960, 20, 1.