

EFFECTOS DEL DEFICIT DE YODO DURANTE LA VIDA INTRAUTERINA Y POSTNATAL PRECOZ EN LA SINTESIS DE ADN EN HIGADO Y ENCEFALO DE RATAS

*Isabel Fábrega,¹ María Mánquez,² Laura Leiva,³
Abraham Zvaigbaft⁴ y Santiago Muzzo⁵*

**Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA),
Santiago, Chile, y
Departamento de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de
Antofagasta, Universidad de Chile**

RESUMEN

El déficit de yodo durante la vida pre y postnatal temprana de la rata, produce un descenso transitorio en el contenido de ADN en cerebro y cerebelo. Este se recupera espontáneamente, sin que medie una terapia de reemplazo, debido a una prolongación del período crítico de multiplicación celular. Los resultados del estudio revelaron un aumento transitorio de la captación de timidina radiactiva al 21o día en el hígado, cerebro y cerebelo, indicativo de una mayor actividad de síntesis y desplazamiento del período crítico. Estos hallazgos sugieren, por lo tanto, un daño del sistema nervioso por déficit precoz de yodo durante el embarazo.

INTRODUCCION

Si bien es cierto que el bocio endémico puede considerarse como la enfermedad de más fácil prevención y control, éste continúa prevaleciendo en la mayor parte de los países subdesarrollados, a pesar de que la mayoría de los países afectados han emitido legislaciones referentes a la yodación de la sal para consumo humano (1-5).

Manuscrito modificado recibido: 9-5-84.

- 1 **Nutricionista del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Santiago, Chile.**
- 2 **Nutricionista, Departamento de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Antofagasta, Chile.**
- 3 **Tecnólogo Médico, Unidad de Endocrinología del INTA.**
- 4 **Ayudante de investigación en la citada Unidad.**
- 5 **Médico, Jefe de la Unidad de Endocrinología del INTA, Universidad de Chile, Casilla 15138, Santiago 11, Chile.**

La profilaxis con yodo se considera como el tratamiento preventivo ideal del bocio endémico. Este debería estar dirigido especialmente a las mujeres embarazadas que habitan zonas donde la prevalencia de bocio endémico es severa, a fin de prevenir el cretinismo endémico (6, 7).

Sin lugar a dudas, el cretinismo endémico es la más seria consecuencia del bocio endémico, ya que produce retardo mental irreversible, diplejia espástica, sordomudez, estrabismo, bocio y mixedema. Se reconocen dos formas de cretinismo endémico: el mixedematoso, en cuyo caso prevalecen los síntomas de hipofunción tiroidea, encontrándose especialmente en países africanos (8), y la forma nerviosa, en la que prevalece la sintomatología neurológica, presentándose en algunas regiones de la cordillera de los Andes (9).

El déficit de yodo es de fundamental importancia en la etiología de este síndrome, ya que el tratamiento preventivo con yodo durante el embarazo evita su aparición. Sin pasar por alto la importancia del déficit de yodo en su etiología, se piensa que factores genéticos y algunos bocígenos también han de jugar un rol importante en su producción.

El cretinismo endémico ha sido estudiado en modelos experimentales en animales, usando dietas severamente deficitarias en yodo (30 ng/g de dieta), las que no sólo producen déficit de este micronutriente, sino también de otros nutrientes. Utilizando estos modelos se han descrito alteraciones en las curvas de crecimiento postnatal y una disminución de las hormonas tiroideas plasmáticas (10).

En Ecuador se ha visto que el coeficiente intelectual de la población de una zona de alta endemia bocígena, mejora solamente si la suplementación con yodo se inicia desde el comienzo del embarazo; no así, si se efectúa después del tercer mes (11).

Pretell en Perú, ha demostrado una mejoría del coeficiente psicomotor de niños de poblaciones suplementadas con yodo (12). Estas investigaciones, junto con otras que señalan que las hormonas tiroideas no atraviesan la placenta (13-15) y que su déficit durante la vida intrauterina —si se trata precozmente en la vida postnatal— evita el retardo mental que presentan los cretinos esporádicos (16). Estas investigaciones hablan en favor de que el daño del sistema nervioso en el cretinismo endémico sería consecuencia del déficit precoz de yodo durante el embarazo, más que de una hipofunción tiroidea del feto.

El trabajo aquí descrito fue un intento de estudiar los efectos del déficit moderado de yodo durante la vida prenatal y postnatal temprana de la rata, medido a través de ciertos parámetros bioquímicos de crecimiento y desarrollo del encéfalo e hígado.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron ratas hembras de la cepa Wistar de 90 días de edad, con las que se integraron dos grupos: uno experimental, y otro control. Ambos grupos recibieron una dieta baja en yodo, con un contenido de 77 ng de yodo por gramo de dieta y agua deionizada a beber. El agua de bebida del grupo control se suplementó con 1.3 µg de KI/ml, lo que se considera suficiente para cubrir los requerimientos de yodo de la rata. Tanto la dieta como el agua de bebida fueron ofrecidas *ad libitum* a los

animales.

A diferencia de otras dietas utilizadas en modelos experimentales de déficit de yodo (17), la dieta empleada en nuestro estudio mantuvo un contenido calórico y proteínico normales, con un aporte de yodo de 77 ng/g de dieta. El nivel de yodo fue determinado por espectrofotometría, según la técnica de Lein y Schwartz (18). A esta dieta se le agregó metionina y treonina para lograr un cómputo aminoacídico adecuado (19), y una mezcla completa de vitaminas y minerales, excluyendo el yodo. La caseína se reemplazó por soya como fuente proteínica, en vista del conocido efecto antibocigénico de la caseína (20) (Tablas 1 y 2), así como el bajo contenido de yodo de la soya.

Ambos grupos de ratas fueron sometidos a un período de adaptación a la dieta de siete días. Durante el cruce de las ratas se efectuaron frotis vaginales cada mañana, y el día que se encontraron espermios fue considerado como día cero de embarazo.

TABLA 1

COMPONENTES DE LA DIETA BAJA EN YODO

	o/o
Soya	34.60
Gluten	44.00
Harina de trigo	5.12
Minerales (sin I)	4.20
Mezcla de vitaminas	1.00
Levadura	2.00
Maicena	4.08
Celulosa	5.00
	100.00*

* Se agregaron 36 mg de metionina y 27 mg de treonina por cada 100 g de dieta.

Al nacimiento se dejaron ocho crías por madre en ambos grupos. Las crías fueron destetadas a los 21 días de nacidas, continuando hasta el día 35 de vida postnatal con la dieta baja en yodo. Sólo las ratas control recibieron agua suplementada con yodo.

Semanalmente se realizó un control de ingesta y de peso, tanto en las crías como en las madres. Se mantuvo la temperatura y ciclo de luz-oscuridad de 12 hr a través de todo el experimento.

Las ratas madres se sacrificaron a los 35 días postparto, cuando se extrajeron y pesaron sus glándulas tiroides.

Las crías fueron sacrificadas por decapitación a los 14, 21 y 35 días de vida postnatal; 18 horas antes del sacrificio se les inyectó intraperitonealmente 0.5 μ Ci de Timidina- H_3 por gramo de rata. Se extrajeron los hígados, cerebros, cerebelos y glándulas tiroides, órganos que fueron pesados

TABLA 2

MEZCLA DE MINERALES EN LA DIETA BAJA EN YODO

Minerales	mg
CaCO ₃	167.21
CaCl ₂ ·2H ₂ O	175.62
Na ₂ CO ₃	126.60
K ₂ HPO ₄	308.62
CaHPO ₄ ·2H ₂ O	71.66
MgSO ₄ ·7H ₂ O	97.46
NaCl	20.78
FeC ₆ H ₅ O ₇ ·6H ₂ O	26.75
MnSO ₄ ·4H ₂ O	4.78
ZnCl ₂	0.24
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.29
	1,000.00

y homogeneizados. De este homogeneizado se tomó 1 ml para la extracción de ADN y ARN y proteínas de acuerdo a la técnica de Fleck y Munro (21).

El ADN y ARN fueron leídos a 268 y 260 m μ , respectivamente, en un espectrofotómetro Perkin Elmer, mientras que las proteínas se determinaron por el método de Biuret (22).

La significancia de los resultados entre el grupo control y el experimental se verificó estadísticamente por la prueba de "t" de Student.

RESULTADOS

El peso corporal de ratas deficitarias en yodo no acusó diferencias con respecto al grupo control desde el nacimiento hasta los 35 días de vida postnatal (Tabla 3).

El peso de la glándula tiroidea de crías de 35 días de vida postnatal y de madres a los 35 días postparto del grupo experimental, mostró un aumento significativo en comparación con las del grupo control ($P < 0.0025$ y $P < 0.025$, respectivamente) (Tabla 4).

En el grupo experimental se encontró una disminución en el peso del hígado a los 14 y 21 días, con recuperación al 35o día. Lo mismo sucedió con el cerebelo. En cambio, en el cerebro no se encontraron diferencias durante el período de estudio (Tabla 5).

Según se aprecia en la Tabla 6, el contenido proteínico en los órganos de ratas con déficit de yodo sólo mostró una disminución significativa en el cerebelo del grupo experimental al 35o día.

El contenido de ARN en hígado y cerebro, se encontró significativamente disminuido al 14o día, diferencia que desapareció al 35o día en el

TABLA 3
PESO CORPORAL DE RATAS CON DEFICIT DE YODO
 (Expresado en gramos)

Edad (días)	Dieta	
	Control	Experimental
0	6.3 ± 0.5 24	6.0 ± 0.2 ¹ 26 ² NS ³
14	28 ± 1.9 13	27.2 ± 1.3 12 NS
21	39.8 ± 1.5 10	38.8 ± 3.3 10 NS
35	95.2 ± 7.0 12	93.5 ± 6.8 14 NS

1 Promedio ± DE.

2 Número de casos.

3 Significancia al comparar el grupo experimental con el grupo control de la misma edad.

TABLA 4
PESO DE LA GLANDULA TIROIDES DE CRIAS DE 35 DIAS DE VIDA
POSTNATAL, Y DE MADRES A LOS 35 DIAS POSTPARTO

	Dieta	
	Control mg	Experimental mg
Crías	7.7 ± 1.4 12	11.9 ± 3.8 ¹ 13 ² < 0.0025 ³
Madres	18.3 ± 3.5 9	26.4 ± 7.3 9 < 0.025

1 Promedio ± DE.

2 Número de casos.

3. Significancia al comparar el grupo experimental con el grupo control de la misma edad.

TABLA 5

PESO DE ORGANOS DE RATAS CON DEFICIT DE YODO
(Expresado en gramos)

Edad (días)	Grupo	Hígado	Cerebro	Cerebelo
14	Control	992 ± 45 14	935 ± 256 14	273 ± 13 7
	Experimental	843 ± 133 ¹ 16 ² <0.025 ³	1,005 ± 38 16 NS	245 ± 12 8 <0.025
21	Control	1,660 ± 67 10	1,205 ± 18 10	188 ± 10 10
	Experimental	1,546 ± 161 10 <0.05	1,228 ± 30 10 NS	196 ± 30 10 NS
35	Control	4,381 ± 430 12	1,402 ± 73 11	227 ± 22 12
	Experimental	4,220 ± 540 14 NS	1,338 ± 123 14 NS	224 ± 22 14 NS

1 Promedio ± DE.

2 Número de casos.

3 Significancia al comparar el grupo experimental con el grupo control de la misma edad.

hígado, pero no en el cerebro, que continuó reducido al 35o. día. Como lo muestra la Tabla 7, el ARN del cerebelo no fue afectado por el déficit de yodo en ninguna de las etapas estudiadas.

Se encontró una reducción significativa del contenido de ADN en el grupo experimental en los tres órganos sometidos a investigación, pero esta disminución desapareció al 35o. día (Tabla 8).

Según se aprecia en la Tabla 9, la incorporación de Timidina-H₃ al ADN en el hígado, cerebro y cerebelo de las ratas experimentales, se encontró significativamente aumentada al 21o día. No sucedió así al 35o día en que la incorporación de timidina se igualó con el grupo control.

TABLA 6
CONTENIDO TOTAL DE PROTEINAS EN ORGANOS DE RATA
CON DEFICIT DE YODO
(Expresado en miligramos)

Edad (días)	Grupo	Hígado	Cerebro	Cerebelo
14	Control	78.4 ± 22 13	49.0 ± 3.4 12	6.0 ± 1.2 7
	Experimental	77.0 ± 17.7 ¹ 12 ² NS ³	45.0 ± 5.2 13 <0.025	6.0 ± 0.3 8 NS
21	Control	209.0 ± 10.8 10	71.0 ± 3.2 10	11.0 ± 2.0 10
	Experimental	179.0 ± 20.6 10 <0.005	72.0 ± 2.8 10 NS	10.0 ± 1.7 10 NS
35	Control	487.0 ± 82.8 12	94.0 ± 7.9 10	15.0 ± 1.5 11
	Experimental	459.0 ± 122.5 14 NS	93.5 ± 6.5 14 NS	13.0 ± 2.1 14 0.01

1 Promedio ± DE.

2 Número de casos.

3 Significancia al comparar el grupo experimental con el grupo control de la misma edad.

DISCUSION

Se han descrito variaciones en la función tiroidea de ratas sometidas a dietas deficientes en yodo, y se ha postulado que estas variaciones pueden deberse al contenido de yodo de las dietas, a su bajo valor nutricional y, en algunos casos, a la presencia de algún factor bocígeno en la dieta empleada en el estudio. La mayoría de los investigadores han usado la dieta Remington, con cantidades de yodo que fluctúan entre 10 y 70 ng/g de dieta (17). Esta sólo contiene proteínas de origen vegetal, y es deficiente en algunos aminoácidos esenciales, vitaminas y sales minerales. Por este motivo, es imposible afirmar que la alteración en el crecimiento de las ratas alimentadas con esta dieta se deba exclusivamente al déficit de yodo.

TABLA 7

CONTENIDO TOTAL DE ARN EN ORGANOS DE RATAS
CON DEFICIT DE YODO
(Expresado en microgramos)

Edad (días)	Grupo	Hígado	Cerebro	Cerebelo
14	Control	11,320 ± 2,018 13	2,896 ± 229 12	481 ± 71 7
	Experimental	9,646 ± 1,180 ¹ 12 ² < 0.0125 ³	2,687 ± 252 13 < 0.05	502 ± 46 8 NS
21	Control	17,451 ± 1,353 10	3,095 ± 166 10	615 ± 89 10
	Experimental	16,228 ± 1,969 10 NS	3,128 ± 133 10 NS	615 ± 54 10 NS
35	Control	39,616 ± 5,230 12	3,066 ± 481 10	522 ± 123 12
	Experimental	37,402 ± 5,426 14 NS	2,665 ± 265 14 < 0.025	488 ± 83 14 NS

1 Promedio ± DE.

2 Número de casos.

3. Significancia al comparar el grupo experimental con el grupo control de la misma edad.

La dieta deficitaria en yodo que se preparó para uso en el presente estudio tenía las características de ser adecuada en proteínas, calorías, aminoácidos, vitaminas y minerales a excepción del yodo, que se encontró en un rango de deficiencia moderada (77 ng/g).

Según se describe en la literatura, las dietas con un contenido de yodo hasta de 90 ng/g de dieta, son deficitarias en este micronutriente, y producen en el animal de experimentación un aumento de tamaño de la glándula tiroidea.

Es un hecho conocido que la hipofunción tiroidea durante el período crítico de maduración cerebral produce alteraciones que son irreversibles.

TABLA 8
 CONTENIDO TOTAL DE ADN EN ORGANOS DE RATAS
 CON DEFICIT DE YODO
 (Expresado en microgramos)

Edad (días)	Grupo	Hígado	Cerebro	Cerebelo
14	Control	3,443 ± 699 13	1,351 ± 289 12	835 ± 84 7
	Experimental	3,069 ± 430 ¹ 12 ² < 0.05 ³	1,154 ± 226 13 < 0.05	762 ± 33 8 < 0.05
21	Control	5,802 ± 336 10	1,364 ± 134 10	1,049 ± 168 10
	Experimental	5,405 ± 781 10 < 0.05	1,400 ± 131 10 NS	1,028 ± 179 10 NS
35	Control	10,930 ± 1,910 12	1,315 ± 133 12	1,010 ± 197 12
	Experimental	10,354 ± 1,938 14 NS	1,341 ± 183 14 NS	979 ± 156 14 NS

1 Promedio ± DE.

2 Número de casos.

3 Significancia al comparar el grupo experimental con el grupo control de la misma edad.

El cretinismo esporádico y endémico es para muchos la enfermedad mejor documentada respecto al severo daño que induce en el sistema nervioso de no mediar un tratamiento en los primeros meses de vida.

Se ha señalado, asimismo, que el cretinismo endémico acusa una hipofunción tiroidea *in utero* que a veces continúa en la etapa postnatal (23). El daño que ocasiona en el sistema nervioso produce un agudo retardo mental y otras consecuencias de tipo neurológico. Sin embargo, es poco probable que este daño se produjera *in utero* por déficit de la hormona tiroidea, pero bien podría ser producto del déficit de yodo, directo o indirecto, causado a través de mecanismos desconocidos. Se sabe que a partir de la segunda mitad del embarazo el feto humano produce progresivamente sus propias hormonas tiroideas, con funcionamiento independiente de

TABLA 9

INCORPORACION DE TIMIDINA AL ADN EN ORGANOS DE RATA
CON DEFICIT DE YODO
(Expresado en CPM/mg/ADN)

Edad (días)	Grupo	Hígado	Cerebro	Cerebelo
14	Control	32,606 ± 4,157 8	11,017 ± 2,297 11	8,735 ± 1,453 8
	Experimental	30,203 ± 4,223 ¹ 10 ² NS ³	11,337 ± 1,658 13 NS	13,484 ± 1,808 8 < 0.005
21	Control	20,194 ± 8,353 10	3,702 ± 417 10	1,957 ± 513 10
	Experimental	39,748 ± 10,384 10 < 0.0005	4,420 ± 867 10 < 0.025	2,524 ± 799 10 < 0.05
35	Control	25,553 ± 7,800 10	1,481 ± 406 10	473 ± 229 10
	Experimental	25,531 ± 8,972 12 NS	1,346 ± 577 14 NS	344 ± 139 14 NS

1 Promedio ± DE.

2 Número de casos.

3 Significancia al comparar el grupo experimental con el grupo control de la misma edad.

la madre (24). Además, se ha demostrado que en patologías como la atireosis del feto —el que ha sido expuesto durante todo el embarazo a un déficit de hormonas tiroideas— su peso y talla al nacer son normales y, si media un tratamiento de reemplazo hormonal inmediatamente después del nacimiento, lo más probable es que su coeficiente intelectual futuro sea normal (25).

El presente trabajo aquí comentado demostró que el déficit de yodo prenatal y postnatal precoz produce una disminución transitoria del contenido de ADN en el cerebelo, cerebro e hígado de la rata, con una recuperación al 35o día, sin mediar una terapia de reemplazo con yodo. La síntesis de ADN estuvo aumentada al 21o día en los tres órganos estudiados, normalizándose al 35o día, lo que sugiere una prolongación del período

crítico de multiplicación celular. Iguales alteraciones han sido observadas en un modelo de hipotiroidismo en ratas tratadas con propiltiouracilo desde cuatro días antes del nacimiento hasta el 35o día de vida postnatal (26).

Nuestra investigación demuestra que un déficit moderado de yodo durante la vida intrauterina y postnatal precoz, alteraría la secuencia normal del desarrollo del sistema nervioso central. Este se expresa por una variación en los tiempos normales de los procesos de síntesis de ADN observados en el encéfalo de ratas con déficit moderado de yodo, lo que sugiere un posible daño de dicho órgano. Sería interesante, pues, estudiar si este déficit moderado de yodo también puede inducir una menor capacidad de aprendizaje, lo que serviría para incentivar una rápida solución al problema del bocio endémico en diferentes grados de severidad.

SUMMARY

EFFECT OF IODINE DEFICIT DURING INTRAUTERINE AND POSTNATAL LIFE ON LIVER AND BRAIN DNA SYNTHESIS, IN RATS

Iodine deficiency during intrauterine and early postnatal life of the rat produces a transient decrease in the DNA content of brain and cerebellum, which is spontaneously recovered without replacement therapy. Results of the study revealed that DNA synthesis measured through thymidine- H_3 incorporation to DNA, was increased at 21 days of life in liver, brain and cerebellum, indicative of a higher activity of DNA synthesis. This prolongation of the critical period of brain cell multiplication in iodine deficient rats, suggests, therefore, an alteration of brain maturation.

BIBLIOGRAFIA

1. Sooch, S. S. Prevention of endemic goiter with iodized salt. *Bull. WHO*, **49**: 307-312, 1973.
2. Ramalingaswami, U. Endemic goiter in Southeast Asia. *Ann. Int. Med.*, **78**: 277-284, 1973.
3. Stevenson, C. Investigación en bocio endémico. *Rev. Med. Chile*, **98**: 786-787, 1979.
4. Medina, E. Bocio endémico en Chile. Aspectos asistenciales y preventivos. *Rev. Med. Chile*, **104**: 670-675, 1976.
5. Koutras, D. A., P. D. Papapetrou & X. Yataganas. Dietary sources of iodine in areas with and without iodine-deficiency goiter. *Am. J. Clin. Nutr.*, **23**: 870-874, 1970.
6. Pharoah, P. O. D., I. H. Butfield & B. S. Hetzel. Defect of iodine prophylaxis on the incidence of endemic cretinism. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **30**: 201-206, 1972.
7. McCullagh, S. F. Goitre control project. *Papua New Guinea Med. J.*, **3**: 43-47, 1959.
8. Bastenie, P. A., A. M. Ermans, O. Thys, C. Beckers, H. G. Van den Schrieck, & M. de Visscher. Endemic goitre in the Uele Region. III. Endemic cretinism. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, **22**: 187-194, 1962.
9. Hornabrook, R. W. Endemic cretinism. *Contemporary Neurol. Series*, **12**: 91-108, 1975.
10. Greer, A., P. Panton & S. Greer. The effects of iodine deficiency on thyroid function in the rat. *Metabolism*, **24**: 1391-1402, 1975.

11. Fierro-Benítez, R., I. Ramírez, E. Estrella & J. Stanbury. The role of iodine in intellectual development in an area of endemic goiter. En: **Report of the IV Meeting of the PAHO Technical Group on Endemic Goiter**. Washington, D.C., Pan American Health Organization, 1974, p. 135-142. (PAHO/WHO, Scientific Publication No. 292).
12. Pretell, E. A. Prophylaxis of endemic goiter with iodized oil in the rural highland of Peru. Preliminary report of the effect on development of newborn children. En: **Human Development and Thyroid Gland**. J. B. Stanbury and R. L. Kroc (Eds.). New York, N. Y., Plenum Press, 1972, p. 249-254.
13. Fisher, D. A., J. H. Dussault & R. W. Lam. Serum and thyroid gland triiodothyronine in the human fetus. **J. Clin. Endocrinol. Metabol.**, **36**: 397-400, 1973.
14. Greenberg, A. H., P. Csernichow, R. C. Reba, J. Tyson & R. M. Blizzard. Observations on the maturation of thyroid function in early fetal life. **J. Clin. Invest.**, **49**: 1790-1803, 1970.
15. Grumbach, M. M. & S. C. Werner. Transfer of thyroid hormone across the human placenta at term. **J. Clin. Endocrinol. Metabol.**, **16**: 1392-1395, 1956.
16. Rosman, N. P. Neurological and muscular aspects of thyroid dysfunction in childhood. **Pediat. Clin. North America**, **23**: 575-594, 1976.
17. Riesco, G., A. Taurog & P. R. Larsen. Variation in the response of thyroid gland of the rat to different low-iodine diets; correlation with iodine content of diet. **Endocrinology**, **99**: 270-280, 1976.
18. Lein, A. & N. Schwartz. Ceric sulfate-arsenious acid reaction in microdetermination of iodine. **Anal. Chem.**, **23**: 1507-1510, 1951.
19. Proteínas: Calidad química y biológica. En: **Nutrición, 1973**. (M. A. Tagle). Santiago de Chile, Impresores Jerba, 1973, p. 28-40.
20. Axelrod, A., C. P. Labland & A. Isler. Role of iodine deficiency in the production of goiter by the Remington diet. **Endocrinology**, **56**: 387-403, 1955.
21. Fleck, A. & H. N. Munro. The precision of ultraviolet absorption measurements in the Schmidt-Thannhauser procedure for nucleic acid estimation. **Biochim. Biophys. Acta**, **55**: 571-583, 1962.
22. Bailey, J. L. **Techniques in Protein Chemistry**. Amsterdam, Elsevier, 1962.
23. Delange, F. M., C. Thilly, M. Camus, H. Berquist, N. Cremer, R. D. Hesch & A. M. Ermans. Evidence for fetal hypothyroidism in severe endemic goitre. En: **Thyroid Research**, J. Robbins and L. E. Barverman (Eds.). Amsterdam, Excerpta Medica, 1976, p. 493-503.
24. Delbert, A. & D. A. Fisher. Thyroid function in the fetus. En: **Perinatal Thyroid Physiology and Disease**. D. A. Fisher and G. N. Burrow (Eds.). New York, N. Y., Raven Press, 1975, p. 21-39.
25. Anderson, H. J. Nongoitrous hypothyroidism. En: **Endocrine and Genetic Diseases of Childhood**. L. I. Gardner (Ed.). Philadelphia, PA, Sanders Co., 1969, p. 216-234.
26. Muzzo, S., A. Zvaighaft & J. A. Brasel. Effects of thyroid function in DNA synthesis of rat cerebellum. **J. Pediat.**, **89**: 321-322, 1976.