

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

**EFFECTOS DE CANTIDADES FISIOLÓGICAS Y TOXICAS  
DE L-TRIYODOTIRONINA SOBRE LA ACTIVIDAD  
RIBONUCLEASICA DE HOMOGENEIZADOS TOTALES,  
MITOCONDRIAS Y MICROSOMAS DEL HIGADO  
DEL RATON NORMAL**

ROBERTO LLAMAS \* ‡ e IRMA VICHIDO ‡

*La actividad de las ribonucleasas ácida y alcalina no se modifica, en forma estadísticamente significativa, en los homogeneizados totales de hígado, en las mitocondrias y microsomas del mismo, de ratones blancos machos, normales, de 20 a 30 gramos de peso que recibieron, por vía intraperitoneal, 3, 24 ó 48 horas antes de ser estudiados, una dosis fisiológica (50 microgramos) de L-triyodotironina. Las dosis tóxicas (500 microgramos) aplicadas en igual forma, elevan la actividad de la ribonucleasa alcalina en los homogeneizados totales y en los microsomas y no se observa, en ambos, modificación de la actividad ácida. En las mitocondrias no se aprecia ningún cambio de actividad, ni ácida ni alcalina. Es factible que el aumento de actividad de la ribonucleasa alcalina, a expensas de los microsomas, se relacione con los efectos catabólicos de las dosis tóxicas de la hormona.*

Las hormonas tiroideas, L-triyodotironina (T3) y L-

\* Académico titular.

‡ Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.

tiroxina (T4) son, en concentraciones fisiológicas, eminentemente anabólicas. Una revisión de los principales hallazgos experimentales a este respecto permite considerar como enteramente válida la afirmación de que la biosíntesis de proteínas mitocondriales se deprime en animales hipotiroideos.<sup>1</sup> Tanto *in vivo* como *in vitro*, esta hormona estimula la incorporación de aminoácidos en proteínas en el hígado; la presencia de mitocondrias es necesaria y su papel es el de acelerar la incorporación debida principalmente a los microsomas. La tiroidectomía inhibe dicha incorporación.<sup>2</sup> La incorporación de aminoácidos es estimulada por T4 en microsomas de hígado, siempre y cuando se encuentren presentes mitocondrias o ribosomas.<sup>3</sup> Los ribosomas de hígado de animales hipotiroideos muestran deficiente síntesis de proteínas *in vitro* y la anomalía se corrige previo tratamiento con T3.<sup>4, 5</sup> La síntesis de proteínas mitocondriales se deprime en animales hipotiroideos y la administración de 24 a 48 microgramos de T3 por cien gramos de peso la duplica a las 48 horas, y se estimula también la síntesis de proteínas microsomales.<sup>6</sup> En animales normales, la aplicación de dosis fisiológicas de T3 estimula la síntesis de proteínas en ribosomas y en mitocondrias de hígado a las 48 horas.<sup>7</sup> Sesenta microgramos de T3 en ratas intactas con peso de 100 a 160 g., estimulan la síntesis microsomal de proteínas en menos de dos horas, siempre y cuando se encuentren presentes las mitocondrias.<sup>8</sup> En ratones normales de 25 a 30 g. de peso, se observa que la administración de 50 microgramos de T3, eleva, a las tres horas, la incorporación mitocondrial de leucina, la que se duplica 24 y 48 horas después.<sup>9</sup>

Según Buchanan y col.,<sup>10</sup> dosis de 10 a 50 microgramos de T4 producen turgencia mitocondrial en el tejido hepático de la rata y estimulan la síntesis de proteínas en estas partículas subcelulares. Cantidades mayores (100 microgramos), que se consideran tóxicas, producen turgencia pero inhiben dicha síntesis, otro de tantos ejemplos de la acción bifásica de las hormonas tiroideas. Por otra parte, algunos agentes que producen turgencia, como son los iones de hierro, calcio, zinc, plata y mercurio, no estimulan la síntesis de proteínas, y hormonas como la progesterona y desoxicorticosterona, que causan turgencia, la inhiben. Los autores llegan a la conclusión de que las hormonas tiroideas originan cambios estructurales peculiares en las mitocondrias, indispensables para dicha síntesis.

Según Sokoloff y col.,<sup>11</sup> la rápida biosíntesis de proteínas ribosomales y citoplásmicas, estimulada por la tiroxina, es originada por una sustancia termoestable, soluble en agua, que no es proteína ni ácido nucleico y que se libera de las mitocondrias inmediatamente después de añadir la hormona *in vitro*. Para Carter y col.,<sup>12</sup> sin embargo, la presencia de mitocondrias no es necesaria y la síntesis de proteínas microsomales estimulada por la tiroxina, se lleva a cabo normalmente cuando las mitocondrias son reemplazadas por algún sistema fisiológico capaz de generar trifosfato de adenosina (ATP) función ésta peculiar de las mitocondrias.

Por lo contrario, cantidades mayores de T3 o de T4, consideradas como tóxicas, exhiben efectos inhibitorios sobre la biosíntesis de proteínas: en el hipertiroidismo humano, así como en el experimental, disminuye la capacidad para la biosíntesis de proteínas.<sup>13</sup> La administra-

ción de T3 normaliza la incorporación de glicina, abatida en personas hipotiroideas, al propio tiempo que cantidades iguales aplicadas a sujetos normales, deprimen la síntesis de proteínas.<sup>14</sup> La tiroidectomía y las dosis tóxicas de tiroxina originan las modificaciones de actividad proteolítica en el hígado características de los estados de predominio catabólico. Las cantidades consideradas como fisiológicas, por lo contrario, determinan los cambios propios del metabolismo de predominio anabólico.<sup>15</sup>

El mecanismo de acción de las hormonas tiroideas, en lo que a la biosíntesis de proteínas se refiere, se liga a modificaciones en la biosíntesis de los ácidos nucleicos producidas por aquellas. Se ha señalado que 10 microgramos de T3 aplicados a ratas tiroidectomizadas de 100 g. de peso aumentan la incorporación de timidina en el hígado, mientras que en ratas eutiroideas la aplicación de la hormona no modifica la síntesis de ácido ribonucleico (RNA) en dicho órgano.<sup>16</sup> El efecto estimulante de T3 sobre la síntesis de proteínas microsomales, señalado por Sokoloff y col.,<sup>8</sup> posible solamente en presencia de mitocondrias, precede a cualquier cambio en el contenido citoplásmico de RNA. Este efecto inicial es seguido, horas más tarde, por un segundo aumento en dicha síntesis, no dependiente de las mitocondrias y con elevación en el contenido de RNA citoplásmico, sobre todo microsomal. O sea, que la síntesis de proteínas estimulada por las hormonas tiroideas tendría dos componentes: uno inicial citoplásmico dependiente de las mitocondrias, sin cambio en la concentración de RNA y otro de estimulación secundaria, mediado por el núcleo, con aumento de RNA. Por lo tanto, y según lo expresan

Tata y Windell,<sup>17</sup> la regulación en la síntesis de RNA nuclear y ribosomal, así como la formación de nuevos ribosomas, constituyen aspectos esenciales en el mecanismo de la síntesis de proteínas citoplásmicas estimulada por las hormonas tiroideas. Se ha señalado además, que el ácido ribonucleico, cuya síntesis es estimulada por la tiroxina en el hígado del renacuajo, tiene una composición en bases distinta a la del "normal".<sup>18</sup>

Los efectos de la ribonucleasa, como inhibidores o como favorecedores de la síntesis de proteínas, no parecen encontrarse suficientemente aclarados y es factible que intervengan tanto en un sentido como en el otro, de acuerdo con su pH, concentración, presencia o ausencia de cofactores o con momentos metabólicos cambiantes. Es evidente que el efecto inhibidor es el que aparece como más fácilmente comprensible, ya que la despolimerización ejercida sobre su substrato impediría la síntesis de proteínas mediada por él. Pero por otra parte se ha pensado que dicha despolimerización puede proporcionar los elementos para una síntesis ulterior de las variedades de RNA necesarias para la biosíntesis de proteínas. De Kloet y col.,<sup>19</sup> señalan que la ribonucleasa inhibe la síntesis de proteínas en protoplastos de levadura y la inhibición desaparece cuando se impide su acción mediante compuestos polianiónicos.<sup>20</sup> La síntesis de proteínas en un fago de *Bacillus megaterium* es inhibida por la ribonucleasa.<sup>21</sup> Además, el crecimiento de las hojas de maíz, inducido por la giberelina, es inhibido tanto por el cloranfenicol como por la ribonucleasa, lo que permite suponer que ambos agentes actúan impidiendo la síntesis de proteínas.<sup>22</sup> La progesterona inhibe la producción de gonadotropinas

coriónicas al propio tiempo que activa a la ribonucleasa y reduce el contenido de RNA placentario.<sup>23</sup> En la nefrosis producida por aminonucleósido de puromicina, se eleva la síntesis renal de proteínas y disminuye la actividad ribonucleásica total.<sup>24</sup> El descenso de actividad se hace sobre todo a expensas de la alcalina (*pH* 7.8) por aumento del inhibidor natural de esta enzima.<sup>25</sup> La incorporación normal de aminoácidos en proteínas en mitocondrias hepáticas de rata, así como la estimulada por la tiroxina, no es inhibida *in vitro* por la ribonucleasa en concentraciones elevadas, posiblemente por impermeabilidad de la membrana mitocondrial frente a esta enzima. En sistemas submitocondriales sí ha sido demostrado efecto inhibitorio de la ribonucleasa.<sup>26</sup>

Por lo contrario, algunos estudios parecen demostrar que la síntesis de proteínas y la actividad ribonucleásica ascienden en forma paralela.<sup>27</sup> La ribonucleasa ácida (*pH* 5.0) estimula la incorporación de aminoácidos en mitocondrias de hígado de rata en ausencia de jugo celular, pero la disminuye en presencia de éste.<sup>28</sup> Finalmente, se ha logrado la síntesis de oligonucleótidos bajo la influencia catalítica, tanto de la ribonucleasa pancreática cristalina como de la obtenida de *Aspergillus clavatus*.<sup>29</sup>

En el presente trabajo se han estudiado las modificaciones de actividad ribonucleásica, tanto ácida como alcalina, en homogeneizados y en mitocondrias y microsomas de hígado de ratones normales, como de otros que recibieron aplicaciones intraperitoneales de dosis fisiológicas y tóxicas de L-triyodotironina, para tratar de establecer correlaciones entre los posibles cambios de actividad enzimática y las modificaciones demostradas en la biosín-

tesis de proteínas producidos por la hormona.

## Material y métodos

Se utilizaron ratones blancos machos procedentes de la granja del Instituto de Biología (UNAM), con peso de 20 a 30 gramos. Fueron alimentados con Purina y agua natural *ad libitum* y recibieron, por vía intraperitoneal, 50 microgramos (dosis fisiológica) o 500 microgramos (dosis tóxica) de T3 disueltos en 0.1 ml. de agua desionizada, ligeramente alcalinizada con hidróxido de sodio para favorecer la solubilidad de la sustancia. Los animales fueron muertos por fractura cervical a las 3, 24 ó 48 horas después de la aplicación de la hormona. Las determinaciones de actividad enzimática se llevaron a cabo por un procedimiento modificado que se basó en el señalado por Shortman.<sup>30</sup> Los homogeneizados se prepararon con solución de sacarosa 0.25 M. en relación de 1 a 5 peso-volumen en homogeneizadores tipo Potter-Elvehjem de vidrio con émbolo de plástico y antes de ser utilizados se sometieron a congelación y descongelación. El ácido ribonucleico de levadura (Sigma Chemical Co.) se purificó mediante el procedimiento de Schucher y Hokin.<sup>31</sup> Como sustrato se utilizó esta preparación de RNA al 2 por ciento, disuelto en amortiguador de veronal *pH* 7.8 y 0.03 M. Se preparó además amortiguador de acetato a *pH* 5.8 y 0.03 M. y reactivo precipitante formado por HCL N en etanol al 96 por ciento.

*Procedimiento.* En matraces Erlenmeyer de 25 ml. de capacidad se colocaron 0.1 ml. del homogeneizado de hígado, 0.2 ml. de la solución de RNA más 2.0 ml. de *buffer* de veronal o de acetato para las

determinaciones de actividad alcalina y ácida respectivamente. Para cada determinación se utilizaron dos matraces; en uno de ellos, previo enfriamiento a 0°C. durante dos minutos, el contenido se precipitó de inmediato, es decir, sin incubación previa, con 2 ml. de la solución precipitante y el otro se incubó durante 30 minutos a 38°C. en el incubador metabólico de Dubnoff, para ser tratado posteriormente con la solución precipitante en la forma ya señalada. El contenido de los matraces se centrifugó durante 20 minutos a 10 000 rpm y del líquido sobrenadante se tomó 0.5 ml. para diluirlo con 9.5 ml. de agua desionizada y practicar en esta preparación lectura en el espectrofotómetro Zeiss a 260 nanómetros. La diferencia entre la absorbencia encontrada entre la muestra incubada y la no incubada se tomó como expresión de la actividad enzimática. Para expresar esta actividad, no en unidades de absorbencia, sino en unidades de actividad ribonucleásica, se determinó la absorbencia de 0.005 microgramos de la enzima a pH 7.8, lo

que se consideró como una unidad (ribonucleasa cristalina de Nutritional Biochemicals Corp.).

La separación de partículas subcelulares se hizo siguiendo los lineamientos generales señalados por Schneider y Hogeboom<sup>32</sup> en la forma siguiente: los homogeneizados se prepararon con solución de sacarosa 0.25 M en relación 1 a 5 peso-volumen. Volúmenes iguales de cada uno de ellos para todos los experimentos (8.0 ml.) se centrifugaron a 700 x g. durante diez minutos en centrífuga refrigerada Servall. El sedimento, constituido por restos celulares y núcleos, se descartó y el líquido sobrenadante se centrifugó en el mismo instrumento, a 15 000 x g. durante 20 minutos. El paquete de mitocondrias así obtenido se disolvió con 2 ml. de la solución de sacarosa y se conservó en refrigeración a -10°C. El líquido sobrenadante de esta segunda centrifugación se aceleró, a su vez, en la ultracentrífuga Spinco a 105 000 x g. durante 60 minutos y se obtuvo un sedimento formado por microsomas que a su vez fue

Cuadro 1 Actividades ribonucleásicas, ácida y alcalina, en homogeneizados de hígado a las 3, 24 y 48 horas después de la aplicación intraperitoneal de 50 microgramos de L-triyodotironina

	Ribonucleasa ácida			
	Animales testigos (47)	3 horas (8)	24 horas (9)	48 horas (11)
Promedio	1.87 U	2.00 U	1.82 U	2.00 U
Desv. Est.	± 0.47	± 0.45	± 0.41	± 0.59
Error Est.	± 0.07	± 0.22	± 0.14	± 0.17
	Ribonucleasa alcalina			
	(50)	(7)	(9)	(9)
Promedio	1.49 U	1.49 U	1.68 U	1.78 U
Desv. Est.	± 0.31	± 0.38	± 0.43	± 0.50
Error Est.	± 0.04	± 0.14	± 0.14	± 0.16

( ) = No. de animales.

**Cuadro 2** Efectos de la aplicación intraperitoneal de 50 microgramos de L-triyodotironina sobre la actividad de la ribonucleasa ácida en mitocondrias y microsomas hepáticos

	Mitocondrias			
	Animales testigos (26)	3 horas (7)	24 horas (7)	48 horas (7)
Promedio	0.097 U	0.092 U	0.103 U	0.094 U
Desv. Est.	± 0.016	± 0.018	± 0.020	± 0.015
Error Est.	± 0.003	± 0.007	± 0.008	± 0.006

  

	Microsomas			
	(15)	(9)	(7)	(7)
Promedio	0.038 U	0.035 U	0.032 U	0.030 U
Desv. Est.	± 0.008	± 0.010	± 0.012	± 0.012
Error Est.	± 0.002	± 0.003	± 0.005	± 0.005

disuelto en 2 ml. de la solución de sacarosa 0.25 M y sometido también a congelación. Antes de ser utilizadas estas fracciones fueron disgregadas cuidadosamente hasta obtener un líquido homogéneo libre de partes sólidas. De cada una de estas preparaciones se utilizó 0.1 ml. y se procedió igual que con los homogeneizados totales para la determinación de actividades enzimáticas.

### Resultados y discusión

La aplicación intraperitoneal de cantidades consideradas como fisiológicas de T<sub>3</sub> (50 microgramos) a ratones machos normales de 20 a 30 g. de peso, no produce modificaciones de actividad, estadísticamente significativas, de las ribonucleasas ácida y alcalina, ni en los homogeneizados totales de tejido hepático ni en las mito-

**Cuadro 3** Efectos de la aplicación intraperitoneal de 50 microgramos de L-triyodotironina sobre la actividad de la ribonucleasa alcalina en mitocondrias y microsomas hepáticos

	Mitocondrias			
	Animales normales (25)	3 horas (7)	24 horas (7)	48 horas (7)
Promedio	0.088 U	0.090 U	0.093 U	0.100 U
Desv. Est.	± 0.014	± 0.012	± 0.015	± 0.017
Error Est.	± 0.003	± 0.004	± 0.005	± 0.006

  

	Microsomas			
	(16)	(7)	(9)	(9)
Promedio	0.057 U	0.066 U	0.054 U	0.061 U
Desv. Est.	± 0.014	± 0.010	± 0.012	± 0.015
Error Est.	± 0.003	± 0.004	± 0.004	± 0.005

condrias y microsomas del mismo (cuadros 1, 2 y 3). No parece, por lo tanto, demostrarse que esas cantidades originen aumento en la síntesis de nuevas moléculas enzimáticas como expresión del efecto positivo que se les ha atribuido sobre la biosíntesis hepática de proteínas; tampoco puede afirmarse que los cambios de actividad de alguna de ellas se relacione con el estímulo que las cantidades fisiológicas de T3 ejercen sobre la mencionada biosíntesis. A este respecto cabe señalar que la cortisona, cuyo efecto estimulante sobre la síntesis hepática de proteínas ha sido repetidamente demostrado,<sup>33</sup> sí es capaz de elevar la actividad ácida tanto en homogeneizados de tejido hepático<sup>34</sup> como en mitocondrias y lisosomas del mismo, por aumento neto de la cantidad de enzima, más que como efecto de la hormona sobre la permeabilidad de sus membranas.<sup>35</sup>

Las cantidades tóxicas de L-triyodotironina (500 microgramos) produjeron moderada elevación de la actividad alcalina tanto en los homogeneizados totales como en los microsomas (cuadros 4, 5

y 6). No se originó disminución de las actividades ácida ni alcalina en las mitocondrias y no se demostró, por lo tanto, efecto inhibitor de las cantidades tóxicas sobre estas partículas subcelulares, como manifestación de su influencia depresora sobre la síntesis de proteínas. Lo anterior también difiere de lo encontrado en otras enzimas, cuya actividad aumenta en el hígado de ratas con tirotoxicosis, como son la deshidrogenasa succínica, la citocromo oxidasa y la adenosin trifosfatasa,<sup>36</sup> la glucosa-6-fosfatasa<sup>37</sup> y la L-glicerofosfato deshidrogenasa,<sup>38</sup> es decir, enzimas relacionadas fundamentalmente con el metabolismo de los hidratos de carbono. Por lo que se refiere a las enzimas de procedencia microsomal, algunas, como la NADP reductasa, elevan también su actividad en el hígado bajo la influencia de la tiroxina,<sup>39</sup> mientras que otras, microsomales también, como las metabolizantes de drogas (desmetilación de la aminopirina e hidroxilación del hexobarbital), la reducen.<sup>40</sup>

El aumento de actividad alcalina encontrado en los homogeneizados totales

Cuadro 4 Actividades ribonucleásicas, ácida y alcalina, en homogeneizados de hígado a las 3, 24 y 48 horas después de la aplicación intraperitoneal de 500 microgramos de L-triyodotironina

	Ribonucleasa ácida			
	Animales testigos (47)	3 horas (8)	24 horas (9)	48 horas (7)
Promedio	1.87 U	1.76 U	1.73 U	1.76 U
Desv. Est.	± 0.47	± 0.60	± 0.30	± 0.51
Error Est.	± 0.07	± 0.23	± 0.10	± 0.20
	Ribonucleasa alcalina			
	(50)	(7)	(11)	(9)
Promedio	1.49 U	2.07 U	1.96 U	2.00 U
Desv. Est.	± 0.31	± 0.38	± 0.43	± 0.60
Error Est.	± 0.04	± 0.14	± 0.14	± 0.20

Cuadro 5 Efectos de la aplicación intraperitoneal de 500 microgramos de L-triyodotironina sobre la actividad de la ribonucleasa ácida en mitocondrias y microsomas hepáticos

	Mitocondrias			
	Animales testigos (26)	3 horas (9)	24 horas (10)	48 horas (7)
Promedio	0.097 U	0.087 U	0.093 U	0.088 U
Desv. Est.	± 0.016	± 0.015	± 0.018	± 0.014
Error Est.	± 0.003	± 0.005	± 0.006	± 0.005

  

	Microsomas			
	(15)	(8)	(7)	(7)
Promedio	0.038 U	0.042 U	0.031 U	0.027 U
Desv. Est.	± 0.008	± 0.017	± 0.013	± 0.006
Error Est.	± 0.002	± 0.006	± 0.005	± 0.002

se debe a elevaciones de actividad de esta enzima en los microsomas y probablemente en el jugo celular. A este respecto cabe recordar que Brewer y col.,<sup>41</sup> han encontrado que en la fracción sobrenadante postmitocondrial del hígado de ratas hipofisectomizadas se eleva la actividad de la ribonucleasa alcalina, la que se normaliza al administrar somatotropina, o sea una hormona anabólica. Las dosis tóxicas de la hormona tiroidea T<sub>3</sub>, por su

parte, son manifiestamente catabólicas y el aumento de actividad de la ribonucleasa alcalina originado por ella, es factible que confiera a esta enzima alguna participación en esos efectos catabólicos.

#### REFERENCIAS

1. Dutoit, C. En: *Phosphorus metabolism*. Mc Elroy, W. B. (Ed.), 1951, p. 597.
2. Sokoloff, L. y Kaufman, S. J.: *Thyroxine stimulation of amino acid incorporation into protein*. J. Biol. Chem. 236:795, 1961.

Cuadro 6 Efectos de la aplicación intraperitoneal de 500 microgramos de L-triyodotironina sobre la actividad de la ribonucleasa alcalina en mitocondrias y microsomas hepáticos

	Mitocondrias			
	Animales testigos (25)	3 horas (9)	24 horas (8)	48 horas (8)
Promedio	0.88 U	0.082 U	0.097 U	0.097 U
Desv. Est.	± 0.014	± 0.014	± 0.016	± 0.018
Error Est.	± 0.003	± 0.005	± 0.006	± 0.006

  

	Microsomas			
	(16)	(10)	(11)	(7)
Promedio	0.057 U	0.080 U	0.081 U	0.090 U
Desv. Est.	± 0.014	± 0.019	± 0.020	± 0.015
Error Est.	± 0.004	± 0.006	± 0.006	± 0.006

3. Roche, J.; Michel, R. y Kamei, T.: *Action des hormones thyroïdiennes sur l'incorporation de la leucine marquée dans les protéines des microsomes hépatiques in vitro*. Biochim. Biophys. Acta 61:647, 1962.
4. Stein, O. y Gross, J.: *Effect of thyroid hormone on protein biosynthesis by cell-free system of liver*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 109:817, 1962.
5. Sokoloff, L.; Campbell, P. L.; Francis, C. M. y Klee, C. B.: *Thyroxine stimulation of amino acid incorporation into ribosomal protein*. Biochim. Biophys. Acta 76:329, 1963.
6. Freeman, K.; Roodny, D. y Tata, J.: *Stimulation of amino acid incorporation into protein by isolated mitochondria from rats treated with thyroid hormones*. Biochim. Biophys. Acta 72:129, 1963.
7. Tata, J. R.: *Hormonal regulation of growth and protein synthesis*. Nature (London) 219:331, 1968.
8. Sokoloff, L.; Roberts, P. A.; Januska, M. M. y Kline, J. E.: *Mechanisms of stimulation of protein synthesis by thyroid hormones in vivo*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 60:652, 1968.
9. Primack, M. P.; Buchanan, J. L. y Tapley, D. G.: *Early stimulation of mitochondrial protein synthesis in livers from triiodothyronine-injected mice*. Endocrinology 87:1355, 1970.
10. Buchanan, J.; Primack, M. P. y Tapley, D. F.: *Relationship of mitochondrial swelling to thyroxine-stimulated mitochondrial protein synthesis*. Endocrinology 87:993, 1970.
11. Sokoloff, L.; Francis, C. T. y Campbell, P.: *Thyroxine stimulation of amino acid incorporation into protein independent of any action on messenger RNA synthesis*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 52:728, 1964.
12. Carter, W. J.; Faas, F. y Wynn, J.: *Thyroxine stimulation of protein synthesis in vitro in absence of mitochondria*. J. Biol. Chem. 246:4973, 1971.
13. Tata, J. R.; Lindberg, O.; Arrhenius, E.; Pedersen, S. y Hedman, R.: *The action of thyroid hormones at cell level*. Biochem. J. 86:408, 1963.
14. Crispell, K. R.; Parson, W. y Hollifield, G.: *A study of the rate of protein synthesis before and during the administration of L-triiodothyronine to patients with myxedema and healthy volunteers using N15 glycine*. J. Clin. Invest. 35:164, 1956.
15. Llamas, R.; González-Cerezo, H. y Laguna, G.: *Cambios en la actividad proteolítica del hígado producidos por la tiroidectomía y por la aplicación de cantidades fisiológicas y tóxicas de L-tiroxina*. GAC. MÉD. MÉX. 100:1027, 1970.
16. Lee, K. C. L.; Bowers, Y. y Miller, O. N.: *Some studies of the effect of thyroid hormone on the RNA synthesis of the anterior pituitary gland of rats*. Endocrinology 83:763, 1968.
17. Tata, J. R. y Widnell, C. C.: *Ribonucleic acid synthesis during the early action of thyroid hormones*. Biochem. J. 98:604, 1966.
18. Blatt, L. M.; Kim, Ki-Han y Cohen, P. P.: *The effect of thyroxine on ribonucleic acid synthesis by premetamorphic tadpole liver cell suspensions*. J. Biol. Chem. 244:4801, 1969.
19. De Kloet, S. R.; Van Wermeskerken, R. K. A. y Konigsberger, V. V.: *Studies on protein synthesis by protoplasts of Saccharomyces carlsbergensis. I. The effect of ribonuclease on protein synthesis*. Biochem. Biophys. Acta 47:138, 1961.
20. De Kloet, S. R.; Van Wermeskerken, R. K. A. y Konigsberger, V. V.: *Studies on protein synthesis by protoplasts of Saccharomyces carlsbergensis. II. Reversal of the RNase effect on protein synthesis by polymethacrylic acid*. Biochem. Biophys. Acta 32:144, 1961 (b).
21. Jeener, R.: *The action of ribonuclease on pbage protein synthesis by an induced lipogenic Bacillus megaterium culture*. Biochem. Biophys. Acta 32:106, 1959.
22. Stroganova, M. A.: *Vliyane nekotoryykh metabolicheskikh inhibitorov na sposobnost gibberelline induksirovaniya rost osnovaniya list kukurzya*. Dokl. Akad. Nauk. SSSR 183:917, 1968.
23. Nakano, R.: *Experimental study on regulation mechanism of gonadotropin production in human chorionic tissue*. Folia Endocrinol. Jap. 45:917, 1969.
24. Nicholls, D. M.; Ryan, M. P.; Miall, S. H.; Westall, C. G. y Cappon, I. D.: *The regulation of protein synthesis in nephrotic rat kidney ribosome preparations*. Can. J. Biochem. 48:308, 1970.
25. Nicholls, D. M. y Bishay, E. S.: *Alkaline and acid ribonucleases of kidney and spleen of nephrotic rats*. Can. J. Biochem. 49:535, 1971.
26. Buchanan, J. y Tapley, D. F.: *Stimulation by thyroxine of amino acid incorporation into mitochondria*. Endocrinology 81:81, 1966.
27. Majumdar, A. P. y Trachewsky, D.: *Protein synthesis by ribosomes from rat kidney. Effect of aldosterone and bilateral adrenalectomy*. Can. J. Biochem. 49:501, 1970.
28. Greengard, O. y Campbell, P. N.: *Factors influencing the incorporation of amino acids into the protein*. Biochem. J. 72:305, 1959.
29. Zhenodarowa, S. N. y Sedelnikowa, A.: *Stufenweise Synthese von Oligonucleotiden. VI. Enzymatische von 5-0-(a-n Butoxyethyl) Dinucleosidemonophosphaten*. Biochim. Biophys. Acta 195:8, 1969.
30. Shortman, K.: *Studies on cellular inhibitors of ribonuclease. I. The assay of the ribonuclease inhibitor system and the purification of the inhibitor from rat liver*. Biophys. Acta 51:37, 1961.
31. Schucher, R. y Hokin, L. E.: *The synthesis and secretion of lipase and ribonuclease by pigeon pancreas slices*. J. Biol. Chem. 110:551, 1954.

32. Schneider, W. C. y Hogeboom, G. H.: *Cytochemical studies of mammalian tissues: the isolation of cell components by differential centrifugation*. *Cancer Res.* 11:1, 1951.
33. Leon, H. A.; Arrhenius, E. y Hultin, T.: *Effects of glucocorticoids administration on the incorporation of labelled aminoacids into protein by cell free rat liver*. *Biochim. Biophys. Acta* 63:423, 1962.
34. Llamas, R. y Coronas, E.: *Efecto de la cortisona sobre las actividades ribonucleásicas ácida y alcalina y sobre la actividad del inhibidor de ésta en el tejido hepático de la rata*. *An. Inst. Biol. Méx.* 33:3, 1962.
35. Coronas, E. y Llamas, R.: *Efecto de la cortisona sobre la ribonucleasa ácida de lisosomas y mitocondrias del hígado de rata*. *An. Inst. Biol. Méx.* 33:11, 1963.
36. Maley, G. F.: *Comparison of some enzyme systems in normal and thyrotoxic rat livers*. *Amer. J. Physiol.* 188:35, 1957.
37. Harper, A. E. y Young, F. G.: *Hormonal factors affecting glucose-6-phosphatase activity*. I. *Effect of hypophysectomy and replacement therapy in the rat*. *Biochem. J.* 71:696, 1959.
38. Kai-Lin, L. y Miller, O. N.: *Induction of mitochondrial L-glycerophosphatase dehydrogenase by thyroid hormone. Effect of fasting and refeeding*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 123:679, 1959.
39. Suzuki, M.; Katsuyuki, I.; Ito, A.; Omura, T. y Sato, R.: *Effects of thyroidectomy and triiodothyronine administration on oxidative enzymes on rat liver microsomes*. *J. Biochem. (Tokio)* 62:647, 1967.
40. Kato, R. y Takahashi, A.: *Thyroid hormone and activity of drug metabolizing enzymes and electron transport system of rat liver microsomes*. *Mol. Pharmacol.* 4:109, 1968.
41. Brewer, E. N.; Foster, B. y Sells, B. H.: *A possible role for ribonuclease in the regulation of protein synthesis in normal and hypophysectomized rats*. *J. Biol. Chem.* 244:1389, 1969.