

HISTORIA

# La historia de las enfermedades órgano-específicas. La conexión endocrina

## The history of organ-specific diseases. The endocrine connection

Alfredo Jácome Roca<sup>1</sup>, Heber Sichoque<sup>2</sup>, Efraim Otero Ruiz<sup>3</sup>,  
Alberto Gómez-Gutiérrez<sup>4</sup>, Gerardo Quintana López<sup>5</sup>, Bernardo Pons-Estel<sup>6</sup>,  
José Félix Restrepo Suárez<sup>7</sup>, Melissa Iglesias-Rodríguez<sup>8</sup>, Antonio Iglesias-Gamarrá<sup>9</sup>

*“La concepción de que los anticuerpos pueden proteger contra la enfermedad y ser responsables de la enfermedad indudablemente es un absurdo.”*  
Clemens von Pirquet

*“No basta saber, se debe también aplicar. No es suficiente querer, se debe también hacer.”*  
Wolfgang Goethe

### Introducción

La historia de la autoinmunidad órgano-específica se remonta a las descripciones de la miastenia gravis cuando John Maplet de Bath en 1658, en una carta enviada al doctor Thomas Browne de Norwich (Inglaterra), relata un caso clínico de un niño de siete años con fatiga muscular de las extremidades con posible miastenia gravis. Catorce años después, en 1672, Thomas Willis describe con bastante precisión en su libro *De Anima Brutorum* los síntomas característicos. Thomas Addison, médico inglés, presentó en una reunión once pacientes, uno de ellos con anemia idiopática (posteriormente se demostró que era una deficiencia de la vitamina B12). Algunos de estos casos pudiesen ser de etiología autoinmune,

con anticuerpos contra la suprarrenal y contra las células parietales del estómago<sup>1-8</sup>.

Los primeros estudios experimentales serios sobre autoinmunidad los inició Karl Landsteiner a finales del siglo XIX e inicios del siglo XX<sup>9</sup>. Los estudios previos a los de Landsteiner los realizó en 1895 Jules Bordet<sup>10</sup>, en el Instituto Pasteur de París, donde logró demostrar la aparición de hemolisinas, cuando se inyectaban eritrocitos de un animal a otro de una especie diferente, lo cual fue confirmado en 1898 por Serafino Belfanti y Tito Carbone en Milán, y también en 1900 por Paul Ehrlich y Julius Morgenroth en Berlín, quienes además demostraron la presencia de hemolisinas en el suero de cabras normales, es decir no inmunizadas<sup>11-15</sup>. En 1898 Landsteiner<sup>9</sup>

1 M.D. Miembro de Número, Academia Nacional de Medicina. Miembro Honorario, Asociación Colombiana de Endocrinología.  
2 Estudiante de doctorado de Inmunología, Universidad Nacional. Profesor asociado de la Universidad del Rosario.  
3 M.D. Endocrinólogo, Asociación Médica de los Andes-Presidente, Sociedad Colombiana de Historia de la Medicina. Miembro de Número de la Academia Nacional de Medicina.  
4 Profesor Titular, Instituto de Genética Humana, Pontificia Universidad Javeriana. Miembro Correspondiente, Academia Nacional de Medicina.  
5 Profesor ocasional de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional.

6 M.D. Profesor titular de la Facultad de Medicina de la Universidad del Rosario, Argentina.  
7 M.D. Profesor titular de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional. Bogotá, Colombia.  
8 M.D. Inmunóloga Clínica, Universidad de Chile.  
9 M.D. Profesor titular de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional. Bogotá, Colombia. Miembro de Número de la Academia Nacional de Medicina.

Recibido: Marzo 15 de 2009  
Aceptado: Junio 8 de 2009

experimentó la inmunización de animales contra bacterias saprofitas (no dañinas), observó “que tales reacciones dirigidas contra sustancias aparentemente indiferentes, no pueden ser llamadas con propiedad inmunización, sino deben ser consideradas más bien como casos especiales de una ley general”. Estas observaciones, las de Bordet<sup>10</sup> y las de Landsteiner<sup>9</sup>, inician el lento proceso de cambio de la idea, de que la inmunidad no era solo una reacción protectora o defensiva, sino también una reacción orgánica mucho más general de respuesta a la introducción de sustancias ajenas al organismo. Estas percepciones de Bordet<sup>10</sup> y Landsteiner<sup>9</sup> fueron el inicio de las primeras observaciones experimentales sobre autoinmunidad.

Simultáneamente, en los años 1900 aparecieron los primeros artículos sobre aglutininas contra eritrocitos en varias especies de animales incluyendo al hombre. Se resaltan los trabajos de Paul Ehrlich y Julius Morgenroth<sup>16-17</sup>, quienes inmunizaron cabras con sangre de otras cabras y observaron la aparición de aglutininas anti-eritrocitos. Ellos no profundizaron en estas observaciones, pero Philip Eisenberg de Viena en 1901 y también Landsteiner observaron que “el suero de individuos sanos no solo aglutina los glóbulos rojos de animales, sino a menudo también glóbulos rojos humanos de otros individuos<sup>9</sup>. Landsteiner demostró que la aglutinación de eritrocitos inducida por el suero es un fenómeno frecuente en sujetos normales<sup>10</sup>. Esto generó el descubrimiento de los grupos sanguíneos y por consiguiente el logro del uso racional de la transfusión. Es importante recalcar a la memoria colectiva de los médicos e investigadores el descubrimiento de la hemoglobinuria paroxística nocturna por Donath y Landsteiner y la explicación de las enfermedades por complejos inmunes por Clemens von Pirquet (ya analizada en la primera parte de la historia de la autoinmunidad). Por ello hemos decidido que estas historias deben ser conocidas por todas las generaciones médicas, para evitar la amnesia colectiva de la historia. La descripción de las diferentes enfermedades órgano-específicas genera un nuevo concepto la inmunopatología, ya que en todas ellas se logró

demostrar el papel de los anticuerpos contra los diferentes antígenos tisulares.

### Ehrlich y Landsteiner

Ehrlich explicaba la inmunidad y la citólisis con una teoría según la cual el protoplasma de los cuerpos celulares contiene moléculas orgánicas de gran complejidad, constituidas por un grupo estable en el que se fijan grupos atómicos menos estables o cadenas laterales, por medio de las cuales se efectúan las transformaciones químicas ordinarias del protoplasma<sup>13</sup>. Pero estos procesos “químicos” se realizaban como reacción a la presencia de estructuras ajenas al propio organismo. Contra las propias células, propuso el concepto de **Horror autotoxicus**, que establecía que el sistema inmune carecía de la capacidad de reaccionar ante “antígenos” propios o autoantígenos. Tenía algo de razón en cuanto a que el organismo despliega una serie de mecanismos para evitar un ataque inmune contra lo propio (“self”). Pero –tan respetado como en su momento lo fue Galeno, y haciendo un paralelo con el médico greco-romano– Ehrlich llevó a que se considerase la respuesta inmune como una ciencia química, no médica, y este período de oscuridad tardó medio siglo en resolverse<sup>18</sup>.

Dos años después, en 1904, los austríacos Julius Donath y Karl Landsteiner (patólogo, cofundador de la inmuno-histoquímica y premio Nóbel) demostraron lo contrario al encontrar que en una rara enfermedad, la hemoglobinuria paroxística nocturna, se destruían los eritrocitos en frío a causa de los anticuerpos producidos por el mismo paciente: su sistema inmune generaba una respuesta en contra de sus propias células<sup>19</sup>. Se sabe ahora que el autoanticuerpo frío de Donath-Landsteiner es una inmunoglobulina G dirigida contra el antígeno del grupo P sanguíneo. Con este revolucionario descubrimiento, Landsteiner demostró que el concepto de **Horror autotoxicus** debía replantearse y que había casos en que las respuestas autoinmunes podían ocasionar enfermedades<sup>11</sup>. Por muchos años se evitó el concepto de autoinmunidad acudiendo a la semántica, pues los autoanticuerpos en los hematíes –presentes

en la anemia hemolítica autoinmune— se denominaban “sustancias que cubren los eritrocitos”; se hablaba de los factores antinucleares del lupus, y de las “así llamadas enfermedades autoinmunes”<sup>12,20</sup>. Infortunadamente, los hallazgos de Landsteiner no tuvieron en su día el impacto apropiado.

Sin embargo, este extraordinario investigador recibió el grado de médico de la Universidad de Viena en 1891, una de las mejores del mundo de su época, obtuvo un entrenamiento en química con científicos de la talla de Emil Fisher (premio Nóbel en 1902 por su trabajo sobre las purinas) y por Eugene von Bamberger; en serología y bacteriología con Max von Gruber<sup>9</sup>. En 1887 ingresó al Instituto de Anatomía Patológica de la Universidad de Viena donde investigó las propiedades del suero sanguíneo y la de los grupos sanguíneos. A partir de 1904, Landsteiner centró su interés en otros aspectos básicos de la inmunología como la reacción entre antígenos y anticuerpos, la purificación de los anticuerpos, la sífilis y la poliomielitis<sup>9</sup>. Con Julius Donath en la revista *Muenchener Medizinische Wochenschrift* en 1904 describieron la hemoglobinuria paroxística nocturna, donde identifican un factor sérico que destruía los eritrocitos con el frío y al recalentarse las células, también participa el complemento para incrementar la lisis. Fue claro que Landsteiner entendió las implicaciones de su descubrimiento y lo que significaba el horror autotóxico de

Ehrlich; esta descripción de Landsteiner generó la envidia de Hans Sachs en 1909, quien no aceptó este fenómeno y su interpretación<sup>23</sup>. Donath, el mismo año, había informado acerca de tres pacientes con hemoglobinuria y utilizó la terminología de Ehrlich como “Komplement” y “Ambozeptor”, pero Landsteiner los ignoró en el artículo con Donath. Estos fueron los primeros anticuerpos descritos con una implicación patogénica. Estas observaciones las pudo comprobar William Dameshek en las décadas de los años 1940 y 1960.

En 1926 con Philip Levine descubren el sistema MNP y con Albert Wiener en 1940 el sistema Rh de los grupos sanguíneos. Fue el primero en demostrar que la poliomielitis y la sífilis se podían producir en primates no humanos. En el Rockefeller Institute en Nueva York contribuyó en forma importante al entendimiento de la base química para la interacción antígeno-anticuerpo que lo publicó en su famoso libro *The Specificity of Serological Reactions*. Al ganar el premio Nóbel de medicina en 1930, Landsteiner dijo “que este premio Nóbel se lo dieron por su trabajo de la interacción anticuerpo-hapteno” que lo describe muy bien en su libro. Queremos resaltar que en los comienzos del siglo XX el lenguaje de la inmunología que trató de implementar Ehrlich en sus investigaciones no era aceptado por otros investigadores como Landsteiner. Queremos resaltar que Karl Landsteiner fue uno de los primeros investigadores que se caracterizó por ser muy

*Facsímil de la publicación sobre Hemoglobinuria Paroxística Nocturna hecha por Donath y Landsteiner.*

cuidadoso en la ejecución de sus estudios de laboratorio y por la precisión en la que escribía sus artículos<sup>9,21</sup>.

### Miastenia gravis

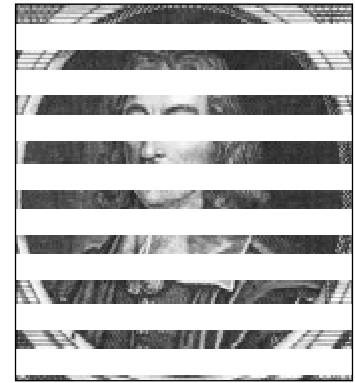
La miastenia gravis (MG) se define como un desorden autoinmune crónico en la transmisión neuromuscular caracterizado por debilidad de la musculatura esquelética y fatiga fácil la cual empeora con el ejercicio pero que recupera con reposo. El término “Myasthenia” deriva del griego (*Mys*: músculo - *Astheneia*: debilidad) y “Gravis” del latín que significa grave o serio.

Los primeros escritos sobre esta enfermedad se remontan hacia la segunda mitad del siglo XVII, donde se describe con bastante precisión sus síntomas característicos. Como vimos, el primero en describirla fue Thomas Willis en 1672. Thomas Willis egresado de la Universidad de Oxford describe con gran precisión en su libro *De anima Brutorum* los síntomas típicos de una miastenia gravis<sup>1</sup>, incluyendo la disartria, disfagia, diplopía y la dificultad respiratoria, anotando el hecho característico de recuperación de la fuerza muscular tras un reposo no muy prolongado. El siguiente es un aparte del texto escrito por Willis:

“En estos momentos tengo bajo mi cargo una mujer honesta y prudente que desde hace muchos años sufre una parálisis espuria, que no solo afecta sus extremidades sino también su lengua, de tal manera que durante un rato puede hablar sin molestias y con una intensidad aceptables, pero después de hablar durante un tiempo, de manera apresurada o con ansiedad y se vuelve muda como un pez, para después recuperar su voz en una hora o dos ..... este tipo de parálisis espuria que parece originarse de un defecto, o más bien, de una debilidad de los espíritus animales que de una obstrucción, puede sospecharse que no solamente los espíritus en sí mismos muestran un error sino que en ocasiones la impotencia del movimiento local depende de un fallo en la unión que existe entre la sangre y las fibras motrices.....”

Thomas Willis<sup>1</sup> hace una descripción de la debilidad progresiva de la enfermedad con tendencia a agravarse cuando aumenta el ejercicio y una resolución del proceso cuando entra en reposo, todo esto típico de la miastenia gravis, con acompañamiento de distribución de los grupos musculares de las extremidades y de los músculos bulbares. Willis denominó a este comportamiento observado en los pacientes “parálisis espuria”. El significado clínico de estas observaciones fue reconocido 200 años después cuando Guthrie resaltó el trabajo de Willis en la revista *The Lancet* en 1903 otorgándole el crédito por la descripción original de la miastenia gravis<sup>3</sup>.

Los primeros comentarios sobre MG fueron publicados en latín por Willis y posteriormente pasados al inglés por Samuel Fordage<sup>2</sup> en el año 1683 en su libro titulado *The London Practice of Physic*<sup>2</sup>.



Thomas Willis (1621-1675)

---

*Carátula del libro Anima brutorum publicado en 1672 por Thomas Willis describiendo la sintomatología de la miastenia gravis.*

En 1877, el inglés Sir Samuel Wilks del "Guy's Hospital" de Londres hace la descripción de una paciente con miastenia gravis generalizada; la definición del síndrome miasténico se le atribuye a Wilks. Dentro del diagnóstico de la paciente señala que en el examen posmortem de la médula oblongada no hay ningún signo patológico, pero incluía síntomas bulbares y oculares (disartria y disfagia); la paciente fallece al mes de insuficiencia respiratoria<sup>4</sup>.

En 1879 el médico alemán Wilhelm Heinrich Erb<sup>5</sup>, de la Clínica Friederich's de Heidelberg realiza un análisis exhaustivo del síndrome miasténico en tres pacientes definiendo la enfermedad como una entidad sindrómica nueva, describiéndola con un origen neurológico central; además señala un evento importante que es el de la muerte súbita. Erb<sup>5</sup> observa en los pacientes dificultad para masticar y deglutir así como debilidad en el cuello.

Por la misma época Oppenheim de la Clínica Westphal de Berlín describe en una paciente de 29 años un caso de ptosis cerebral con dificultad para masticar y dificultad de la musculatura cervical la cual fallece de insuficiencia respiratoria<sup>6</sup>.

*Wilhelm Heinrich Erb*  
(1840-1921)

En 1887 Eisenlorh<sup>7</sup> evalúa un caso de una paciente de 19 años con un cuadro similar al descrito por Oppenheim<sup>6</sup> con oftalmoplejía y parálisis bulbar. En el mismo año Shaw<sup>8</sup> diagnostica una paciente con insuficiencia respiratoria terminal con un aumento en las secreciones mucosas traqueobronquiales como causa de la alteración en la ventilación pulmonar; es el primer caso informado en donde se utiliza respiración artificial como tratamiento en esta patología<sup>8</sup>. En este mismo año Bernhard describe los trastornos de la musculatura ocular en un enfermo con un periodo de remisión ocular de tres años que aparece luego de diez años de haberse iniciado los síntomas.

En el año de 1892 Herman Hoppe, médico norteamericano compañero de Oppenheim en la clínica Westphal, recopila todos los casos de miastenia publicados hasta el momento, haciendo hincapié en la negatividad de los estudios necrópsicos; además, cuestionó la posibilidad de que la debilidad fuera resultado de una toxina<sup>9</sup>.

En 1893 Goldflam de Varsovia publica el artículo de mayor relevancia en la historia de la miastenia gravis, describiendo la sintomatología completa de la MG. La enfermedad de Erb-Goldflam se ha mantenido hasta nuestros días como epónimo de la miastenia gravis<sup>10</sup>.

### La transmisión neuromuscular

En 1904 Eliot propone la liberación de algún tipo de sustancia química descargada en las terminales nerviosas como desencadenante de la contracción muscular<sup>11</sup>.

En 1932 el farmacólogo alemán Otto Loewi ayuda a establecer las bases fisiológicas de la MG demostrando la acción de la acetilcolina (Ach) en la contracción muscular; en estudios realizados con músculo cardíaco logran establecer que la acetilcolina es la responsable de la contracción miocárdica. En los años siguientes los estudios de Felberg y Dale permiten dilucidar la acción de la acetilcolina, la cual es liberada por las terminales motoras siendo inhibida por acción de la acetilcolinesterasa. Felberg y Dale<sup>10</sup> demostraron definitivamente la acción de esta sustancia como mediador químico a nivel de la placa neuromuscular y el efecto de la acetilcolinesterasa, siendo galardonados con el premio Nóbel en el año 1936<sup>9,10</sup>.

En 1935 Lindsley, utilizando electromiografía en pacientes con MG, demuestra cambios anormales en la amplitud de los potenciales motores voluntarios con un rango y ritmo normales; estos hallazgos le permiten deducir que la enfermedad se produce por una alteración o bloqueo de la transmisión neuromuscular a nivel de la placa motora.

En 1941 Harvey y Masland trabajando en el Hospital de John Hopkins aportaron un estudio objetivo para validar el diagnóstico de MG<sup>12</sup>.

### Inmunología de la miastenia gravis

Los primeros estudios que establecen una asociación entre la MG y el timo fueron realizados en el año 1899 por Hermann Oppenheim<sup>6</sup> quien observó la presencia de un tumor del tamaño de una mandarina en un paciente miasténico; dos años más tarde Carl Weigert describe un caso de un paciente joven que falleció de insuficiencia respiratoria y neumonía observando durante la autopsia un aumento exagerado del timo.

En 1960 John Simpson<sup>13</sup> propone asociación entre la respuesta inmune y el desarrollo de la MG como consecuencia de las anomalías observadas en el timo.

En 1973 Jim Patrick y Jon Lindstrom del Instituto Salk de California en un estudio experimental con modelos animales en los que inocularon receptores de acetilcolina purificados observaron debilidad generalizada con disminución de la respuesta a la estimulación repetida y con altos niveles de anticuerpos contra receptores de acetilcolina. La utilización de anticolinérgicos en estos animales corregía la parálisis y la fatiga observada en el electromiograma.

Una confirmación de los hallazgos obtenidos por Patrick y Lindstrom fue realizada por Andrew Angel demostrando la presencia de Anticuerpos IgG y proteínas del complemento en la placa motora de pacientes con MG<sup>14</sup>.

### Enfermedades autoinmunes oculares

En 1903, Paul Uhlenhuth<sup>22-23</sup> demostró la existencia de antígenos órgano-específicos en las proteínas de otros tejidos. De esta manera los oftalmólogos pensaban que la respuesta inmunitaria contra el cristalino desarrollaba la catarata-senil como lo reconocía Römer en 1905<sup>22-23</sup>. Posteriormente Krusius, en 1910, podría inducir una ruptura a nivel experimental en el cristalino en animales de experimentación y generar la inflamación del cristalino y, en forma paralela, la oftalmía simpática. Así, los oftalmólogos fueron los primeros en diseñar los primeros experimentos para explicar la autoinmunidad órgano-específica.

Stephano Santucci, en 1906, planteó por primera vez que la oftalmía simpática pudiese ser

secundaria a la presencia de anticuerpos citotóxicos y que pudiese comprometer el ojo contralateral. Santucci logró demostrar la endoftalmitis en conejos y en cobayos<sup>22-24</sup>. Al parecer S. Golowin en Rusia había planteado esta misma idea en 1904, en una revista que no se leía en occidente, donde demostraba la presencia de anticuerpos ciclo-tóxicos contra el iris y el aparato ciliar<sup>22,23</sup>. Tres oftalmólogos de tres escuelas extraordinarias, como Anton Elschnig<sup>25</sup> oftalmólogo vienés, quien estudió en Graz y Viena y fue profesor en Praga desde 1907 hasta 1933 donde realizó sus trabajos como director de la clínica ocular de la universidad de Praga, Alan Woods en el Johns Hopkins en 1916 y la dinastía de los Friedenwald en Baltimore, demostraron lo mismo que Santucci y Golowin<sup>22,23</sup>. El primer Friedenwald fue Aaron Friedenwald, el primer oftalmólogo en Baltimore y uno de los primeros americanos que estudió en Europa. Trabajó en la clínica de von Graefe en Berlín y Arlt en Viena; retornó a Baltimore en 1862, donde empezó su

*Physicians of the Friedenwald family in waiting room of the 1212 Eutaw place office. Left to right: Jones Friedenwald; Jones uncle Edgar Friedenwald (pediatrician); Jones Euther, Harry Friedenwald (ophthalmologist) Jones uncle Julies Friedenwald (gastroenterologist). Portrait in background is of Jones grandfather, Aaron Friedenwald (ophthalmologist).*

trabajo oftalmológico. Posteriormente surge Harry, quien estudió en Berlín, bajo la dirección de Hirschberg y luego retornó a Baltimore en 1890, para practicar oftalmología y otología. Finalmente Jonas Friedenwald nieto de Aaron. Estos tres grupos desarrollaron sus estudios para entender la oftalmología simpática, como de origen autoinmune. Jonas escribió más de 140 artículos científicos sobre oftalmología y uno de los primeros textos clásicos sobre oftalmología, titulado *Pathology of the Eye*<sup>26,27</sup>.



Jonas S. Friedenwald,  
MA, MD.

Chesney Medical Archives of  
the Johns Hopkins Medical  
Institutions, Baltimore.



### La conexión endocrina

Las teorías auto-inmunitarias modernas comenzaron a tener visibilidad en 1957 con los trabajos de Rose y Witebsky<sup>28,29</sup> y de Roitt y Doniach<sup>30-32</sup> sobre autoinmunidad tiroidea. No era la primera vez que el tema se tocaba, pero sí la documentación de que la teoría de Paul Ehrlich sobre el “Horror autotoxicus” había dejado de tener validez, al menos según interpretaciones de la primera mitad del siglo XX<sup>14</sup>. Aunque Rose<sup>33</sup> hizo mención de que sus experimentos eran una clara violación del paradigma de Ehrlich, otros consideraron que se había interpretado mal la apreciación teórica acerca de las “balas mágicas”. Hace un siglo –dicen Fehervari y Sakaguchi<sup>34</sup>– “el alemán acuñó con acierto esa expresión para describir un ataque del sistema inmunitario contra los propios tejidos del sujeto”, ya que el descubridor de fármacos para la sífilis no pudo encontrar anticuerpos cuando inmunizó cabras con sus propios glóbulos rojos. Este precursor de la inmunología introdujo –y bautizó– el concepto de autoinmunidad; en su opinión, “se trataba

de un mecanismo **potencialmente activo** que en condiciones normales se mantenía bajo control”<sup>14</sup>. Al parecer la comunidad médica no aceptó esa hipótesis que encerraba cierta ambigüedad, pues para 1956, cuando se realizaron los experimentos pioneros de Witebsky y Rose, era ampliamente aceptado que la autoinmunidad tenía que ser intrínsecamente imposible<sup>34</sup>. Después de todo –dice Fehervari– “¿qué oscura senda de la evolución permitiría siquiera la posibilidad de hallarse sometido a una horrenda autodestrucción?” Sin embargo, en 1900, el también Nóbel Mechnikoff –descubridor de la fagocitosis– había observado auto-anticuerpos (ahora llamados auto-anticuerpos naturales o NAA) que son inespecíficos<sup>15,35</sup>.

### La anemia addisoniana y la enfermedad de Addison

A veces se menciona que algunos pacientes entre los originalmente descritos por Thomas Addison pudieran haber padecido la asociación autoinmune de insuficiencia suprarrenal crónica y anemia perniciosa. En 1849, el médico inglés presentó en una reunión, un número de casos poco comprendidos de anemia, entre ellos de uno notable del que dijo que tenía una “anemia primitiva”. Seis años más tarde publicó la monografía sobre “*Los efectos locales y sistémicos de la enfermedad de las glándulas suprarrenales*”<sup>36</sup> donde se describen once pacientes con la enfermedad que lleva su nombre, haciendo la distinción entre la “anemia idiopática” en la que no puede descubrirse una lesión orgánica (más tarde se comprobaría que era debida a una deficiencia de la vitamina B12), y otra, en la que la anemia se asocia a una piel bronceada y a una enfermedad de las suprarrenales (dato curioso, pues es sabido que la anemia NO hace parte del cuadro clínico de la enfermedad de Addison). El diagnóstico original de la anemia addisoniana estaba basado en hallazgos clínicos y de patología, que puede encontrarse asociada a insuficiencia suprarrenal crónica, pues en ambas se observa una etiología autoinmune, con anticuerpos contra la suprarrenal y contra las células parietales del estómago. Una serie de descripciones en el siglo XIX contribuyeron a delinear la clínica de la anemia perniciosa.

Combe publicó varios casos clínicos y sugirió alguna relación con el aparato digestivo; Austin Flint (epónimo del soplo de Flint), clínico neoyorquino, la asoció con una severa atrofia de la mucosa gástrica. La imperfecta descripción de “anemia idiopática” hecha por Addison, fue llamada al fin “perniciosa” en 1872 por el médico alemán Antón Biermer, quien describió mucho mejor este cuadro. La cura se encontró posteriormente con los estudios de George H. Wipple (suministrando hígado como alimento) y por George R. Minot y W. P. Murphy, que recibieron el premio Nóbel en 1934 por sus investigaciones sobre esta enfermedad<sup>37</sup>.



Thomas Addison  
(1793-1860)

Thomás Addison nació en Longbenton, Northumberland, describió la enfermedad que lleva su nombre y la relacionó con una patología de las glándulas suprarrenales; también hizo públicos unos casos de anemia primitiva, más tarde llamada pernicioso; se basó en la clínica y en hallazgos externos como la palidez anémica de la piel y falla cardíaca, o la marcada pigmentación que convertía a sus pacientes anglo-sajones en verdaderos mulatos; complementó su casuística con los hallazgos de autopsia denominados “*Sectio Cadaveris*”. A partir de 1837, ejerció como médico en el *Guy's Hospital* de Londres, asociándose con Richard Bright, con quien escribió un tratado sobre la práctica médica. En 1849 realizó las primeras descripciones de las dos enfermedades que posteriormente recibirían su nombre y en 1855 escribió la monografía “*On the Constitutional and Local Effects of Disease of the Suprarenal Capsules*”. Con John Morgan, otro célebre médico de la época, escribió en 1829 un libro sobre efectos de los agentes tóxicos, el primero escrito sobre este tema en lengua inglesa. La insuficiencia suprarrenal fue cuestionada por varios coterráneos suyos de la época, pero en París, el distinguido clínico y miembro de la academia francesa Armand Trousseau respaldó el

hallazgo y le puso el nombre del inglés, al tiempo que otros colegas aumentaron la casuística. Addison padecía de depresiones, y murió en un hospicio, habiéndose suicidado según algunas hipótesis<sup>12</sup>.

### La *struma linfomatosa* de Hashimoto

Hakaru Hashimoto nació el 5 de mayo de 1881 en Iga-Veno durante el periodo Meiji y Taisho. Se graduó como médico en la Universidad imperial de Kyushu en 1907. Estudió medicina bajo la dirección del profesor Hayari Miyake (1867-1945), el primer neurocirujano japonés. Estudió tres años en Berlín, Göttingen y en Londres. En 1912 publicó su artículo clásico *Koiyosen rinpa-setu sho-tekihenka ni kansuri kenkyu houkoku or Zur kenntnisder limphomatösen Verânderung der Schilddrüse Strumal y limphomatosa ó Report Lymphomatous goiter in Archiu für klinische Chirurgie, Berlin 1912;97:219-248*. Este artículo fue revisado por investigadores americanos e ingleses y se reconoció como una enfermedad independiente. Los libros americanos empezaron a denominarla como tiroiditis de Hashimoto, quien murió el 9 de enero de 1934 por una fiebre tifoidea. Solo escribió un artículo que lo hizo inmortal. El trabajo de Hashimoto apareció en una revista de origen alemán por la influencia de Josef Jacob von Plenck (1738?-1807) y de su discípulo Batei quien viajó a Nagasaki y allí fue maestro de Nimiya Ryotei, uno de los pioneros de la medicina japonés que fundó la escuela médica de Kyoto y para la enseñanza utilizó los libros de Plenck<sup>30,38-40</sup>.

En 1912, el médico japonés Hakaru Hashimoto (1881-1934) –que trabajaba en la facultad de medicina de la Universidad de Kyushu– describió cuatro mujeres mayores de cuarenta años quienes presentaban un bocio difuso de consistencia firme, proclive a causar mixedema, que mostraban aspecto inflamatorio en la patología debido a la infiltración linfoide, por lo que denominó este hallazgo *struma lymphomatosa*<sup>39</sup>. Hashimoto describió la enfermedad como la característica especial de un nuevo tipo de tumor tiroideo linfomatoso presente en el Japón. Publicó su artículo en alemán debido a que era el idioma que usaban los científicos en aquel tiempo,



por lo que pensó que así sería más conocido en el planeta<sup>38,39</sup>. Años después empezó a observarse que una serie de enfermedades –endocrinas o no– estaban asociadas a auto-anticuerpos, y se podían asociar entre sí en relación con un trastorno genético e inmunitario, denominándose a este grupo de enfermedades como el síndrome pluriglandular autoinmune (SPGA). Las primeras descripciones eran simples informes de casos de asociaciones, a veces presentes en dos o más miembros de una misma familia<sup>40-43</sup>.

### Estudios pioneros sobre autoinmunidad tiroidea

En 1951, Boyden había observado que al exponer glóbulos rojos de cordero al ácido tánico, era posible cubrirlos con una proteína (como la tiroglobulina) y causar una hemaglutinación en presencia de suero anti-proteínico<sup>44</sup>. El grupo de Witebsky y Rose en Buffalo fue el primero en experimentar con anticuerpos anti-tiroideos en animales en 1956, para luego aplicar la prueba (mil veces más sensible que la de precipitinas, originalmente disponible en humanos enfermos)<sup>1</sup>. Casi al mismo tiempo, Doniach y Roitt obtuvieron en Londres resultados similares<sup>3</sup> y otros grupos confirmaron y ampliaron las investigaciones<sup>30,31,45</sup>. Cuando las completaron, lograron rebatir la teoría de Paul Ehrlich sobre el “*autotoxicus*”, en la que sostenía que en un paciente no podían existir anticuerpos elaborados por un organismo de un mamífero normal que fueran a reaccionar contra sustancias que pertenecían al mismo organismo. Sí podían en cambio existir iso-anticuerpos, es decir, anticuerpos a sustancias que normalmente se encuentran en una especie determinada pero que entran al individuo provenientes de un ser homólogo, como las aglutininas contra los aglutinógenos de la sangre de un donante. Ambos grupos de investigación confirmaron separadamente la especificidad de órgano de los auto-anticuerpos tiroideos.

Posteriormente se descubriría que los fenómenos de autoinmunidad (producción de autoanticuerpos y/o presencia de linfocitos T que reconocen antígenos propios) se detectan en todos los individuos sanos y que la autoinmunidad es un fenómeno normal; Dighiero lo denominó “*amor autocogni-*

*tus*”<sup>15</sup>. Bajo ciertas condiciones, sin embargo, puede dar lugar a enfermedades. Este hallazgo puso de manifiesto la enorme complejidad del sistema inmune.

Los inmunólogos británicos<sup>3</sup> encontraron que en el suero de los pacientes con enfermedad de Hashimoto había anticuerpos a la tiroglobulina –que eran órgano-específicos– y que no había reacciones cruzadas con extractos tiroideos de seis diferentes especies de mamíferos con los cuales investigaron. Precipitinas positivas se encontraron también en seis pacientes con mixedema espontáneo sin bocio y en cuatro de tiroiditis sub-aguda, aunque los sueros de otros doscientos treinta y ocho pacientes con diferentes tiroidopatías fueron negativos. Al inyectar extractos tiroideos a treinta y cinco conejos, Witebsky y Rose<sup>29</sup> observaron que treinta y dos de los animales presentaron anticuerpos a la tiroglobulina, detectables por el método de glóbulos rojos tanificados de cordero; también logró la detección de dichos anticuerpos por medio de pruebas como las precipitinas y la fijación del complemento. Proporcionalmente a los títulos de anticuerpos se observaron lesiones glandulares compatibles con un cuadro de tiroiditis linfocítica. Los extractos tiroideos de los mismos animales de investigación fueron también capaces de generar anticuerpos; iguales resultados se encontraron en curies y perros en quienes se aplicaron iguales métodos de experimentación; sin embargo, no fue posible la producción de lesiones al inyectar extractos de otros órganos que pertenecían al sistema retículo-endotelial.

### Ernest Witebsky

Nació en Frankfurt (Alemania) en 1901. Estudió medicina en las universidades de Frankfurt y Heidelberg. Durante sus estudios médicos y después de graduado se interesó por la incipiente inmunología y especialmente por la investigación a la que le dedicó toda su vida. En la Universidad de Heidelberg tuvo un extraordinario patrocinador, el profesor Hans Sachs (alumno de Ehrlich), a quien le interesaba el estudio de las estructuras antigénicas específicas de varios tejidos, como tiroides, cerebro, glándula adrenal y la hipófisis. Este investigador y el profesor Sachs se interesaron en las especificidades tisulares, in-

cluyendo los antígenos ABO en tejidos diferentes a los eritrocitos<sup>46</sup>.

Expulsado de Alemania bajo el régimen nazi, Witebsky encontró su nuevo hogar en Buffalo (Nueva York), donde en 1936 se incorporó a la escuela médica de la Universidad de Buffalo. A partir de 1941 hasta el año de 1967 fue profesor y finalmente jefe del departamento de bacteriología e inmunología. Continuó sus estudios sobre los antígenos A y B especialmente en lo relacionado con la utilización de los grupos sanguíneos para la neutralización de los anticuerpos y en la producción de antisueros, de acuerdo a la teoría de la plantilla de los anticuerpos, elaborada por Linus Pauling en 1940<sup>46,47</sup>.

Estos trabajos previos le permitieron a Witebsky analizar la incipiente autoinmunidad y especialmente dirigido a la tiroides. Witebsky desde su época de estudiante se interesó por la órgano-especificidad. Él había sugerido que los tejidos normales y los tejidos neoplásicos tenían algunas estructuras solubles en alcohol denominadas "lipoides"<sup>46,47</sup>. Witebsky y su asistente Ann Heide trabajando en estas estructuras, en extractos de cerebro y de la tiroglobulina como principal antígeno de la tiroides, advirtieron que al caracterizarlas, se podía comprender el tejido normal del neoplásico. Witebsky planteaba que la tiroglobulina era una proteína órgano-específica, y había realizado varios estudios utilizando la tiroglobulina en varias especies de animales y observó algunas reacciones cruzadas. Pero los estudios de precipitación no los realizó Witebsky y la estructura de la tiroglobulina no era pura, por ello los resultados no eran buenos; esto vino a cambiar con la llegada de Noel R. Rose a Buffalo que era, en ese momento, uno de los dos centros de Estados Unidos en donde se podían realizar estudios experimentales en inmunología<sup>44</sup>. Con la llegada de Rose, se pudo clarificar la tiroiditis autoinmune de Hashimoto y se empezó a generar el concepto de enfermedad órgano-específica. De acuerdo a los endocrinólogos de la época esta enfermedad era muy rara y solo en tres años este grupo solo puede coleccionar 12 sueros. Un acontecimiento importante ocurre para clarificar lo que pasaba<sup>48</sup>.

Este grupo visitó a Robin Coombs y a su esposa Ann. Coombs era veterinario inmunólogo del Departamento de Patología de la Universidad de Cambridge, quien concibió la idea de la antiglobulina, entre 1944 y 1945, quienes estaban trabajando un método para distinguir o separar los anticuerpos anti-Rh completos e incompletos<sup>48</sup>. Coombs refiere que la idea se le ocurrió mientras viajaba de Londres a Cambridge en un tren no confortable, en el último año de la segunda guerra mundial en 1945; al llegar a Cambridge ideó la técnica en sus dos formas, directa e indirecta, lo que fue demostrado exitosamente en numerosas pruebas con anticuerpos incompletos<sup>48</sup>. Los resultados se publicaron en una comunicación rápida en *Lancet* y posteriormente en la *Revista Británica de Patología Experimental*. Al parecer, ya a C. Moreschi, en la primera década del siglo XX, se le había ocurrido la idea. La técnica era sensibilizar previamente los eritrocitos pero sin producir aglutinación, pero en la segunda fase con la adición del suero anti-globulina se producía una rápida aglutinación. Rose también visitó a Jules Freund al Public Health Research Institute en Nueva York, donde aprendió la técnica de emulsificar el antígeno tiroideo con el adyuvante de Freund. Así se les administraron a los conejos, mezcla de antígenos con el adyuvante en conejos tiroidectomizados, hemitiroidectomizados y lograron demostrar la lesión tiroidea (tiroiditis). Estas dos técnicas, la precipitación y la prueba de hemaglutinación, lograron demostrar en los 12 sueros, la presencia de anticuerpos específicos contra la tiroglobulina y se logró demostrar experimentalmente y en humanos la enfermedad descrita por Hakaru Hashimoto en 1912<sup>47,48,50</sup>.

Witebsky fue de los primeros investigadores en estimular la importancia del trabajo en equipo. Formó en Buffalo una de las escuelas importantes de inmunología de EUA, y el estado de Nueva York en 1967 creó el *Center for Immunology* en Buffalo, y Witebsky fue su primer director. Los trabajos clásicos en 1956 en el *Journal of Immunology* y el *Journal of the American Medical Association (JAMA)* de 1957 fueron considerados por E. Garfield en el volumen 257 del *JAMA*, como artículos clásicos de la literatura médica.

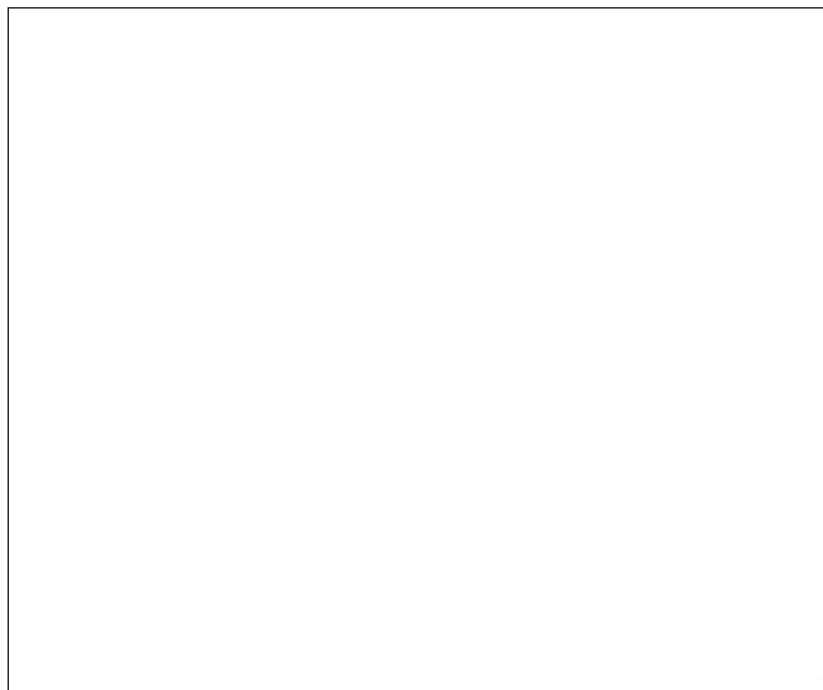
La explicación de la tiroiditis autoinmune por Rose y Witebsky, le permitió a este último autor describir los postulados de Witebsky sobre autoinmunidad<sup>28,29,33,47,48,51,52</sup>.

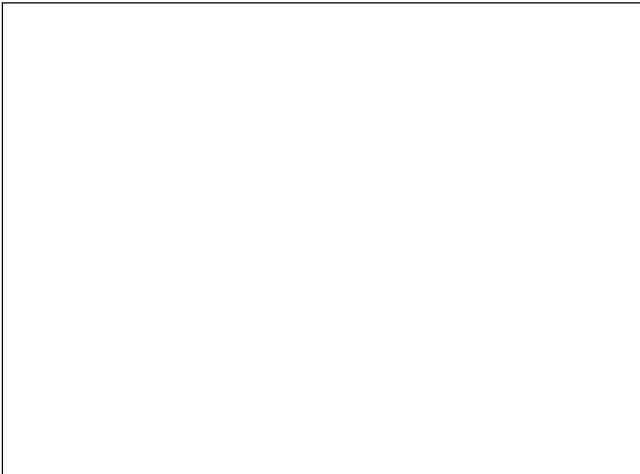
Hasta finales de la década de 1950, no existían criterios para definir el concepto de enfermedad autoinmune para definir una enfermedad. Estos postulados se resumen a continuación y son de una extraordinaria trascendencia<sup>5</sup>:

1. Demostración de un anticuerpo circulante o fijo en las células humanas.
2. El reconocimiento de un antígeno específico contra el cual el anticuerpo está dirigido.

3. La producción de un anticuerpo contra el mismo antígeno en animales de experimentación.
4. La aparición de cambios patológicos similares a los que se observan en la enfermedad humana, en los tejidos correspondientes de un animal sensibilizado activamente.

Fue miembro de varias sociedades nacionales e internacionales en microbiología e inmunología. Fue distinguido con el premio Karl Landsteiner en 1959. Después de 45 años continuos investigando en inmunología, murió súbitamente el 7 de diciembre de 1969.





*Photomicrograph of section of thyroid from rabbit 419, which had been infected intradermally with 0.2 ml of rabbit thyroglobulin and Freund adjuvants on Jan. 6, 1955, showing more marked changes than those in figure 1. Acini of thyroid are small and contain only thin colloid. In the lumens of some are desquamated cells. Interstitial tissue between them and the edematous capsule is densely infiltrated by lymphocytes, plasma cells, and, especially in the periphery of the gland, by numerous eosinophils. There are a few nodular accumulations of lymphocytes, a slight focal fibrosis in the subcapsular portions, the small colloid follicles is also noticeable. Animal was killed on March 14, 1955.*

### **Noel R. Rose**

En 1945 recibió su título de B. Sc. de la Universidad de Yale, A.M. y Ph. D. en 1949 y 1951 de la Universidad de Pensilvania y el título de M.D. de la Universidad del Estado de Nueva York en Buffalo en 1964.

Pionero del estudio de la comprensión de la inmunología relacionada con la autoinmunidad órgano-específico. Ha escrito 600 artículos, es editor y co-editor de 21 libros, es miembro del Consejo Editorial de más de 12 revistas. Es experto en autoinmunidad de la OMS y del instituto de medicina de la Academia Nacional de Ciencia. Actualmente es el director del Centro de Investigación de Enfermedades Autoinmunes de la Escuela de Medicina del Johns Hopkins.

Este extraordinario inmunólogo, patólogo y microbiólogo molecular fue pionero con Witebsky, Ivan Roitt, Deborah Doniach, Peter Campbell y Ralph Vaughan Hudson en el estudio a nivel experimental y establecer la importancia de la tiroglobulina en el origen autoinmune de la tiroiditis de Hashimoto. El estudio de la tiroiditis de Hashimoto en su inicio se realizó casi simultáneamente en Buffalo y en Londres.

El grupo inglés describió en 1956 en el Lancet sus observaciones, posteriormente Roitt y Doniach visitaron a Rose y a Witebsky en Buffalo e intercambiaron las técnicas de precipitación y de hemaglutinación que generaron después de una serie de experimentos en animales una serie de publicaciones, en las que demostraron en forma experimental la tiroiditis de Hashimoto.

## Tiroiditis autoinmune experimental

El doctor **Noel R. Rose**, actualmente director del Centro de Investigación sobre Patologías Autoinmunes de la Escuela de Higiene y Salud Pública de Johns Hopkins University en Baltimore, comentó el trabajo pionero que él mismo y el profesor **Ernest Witebsky**<sup>46</sup> realizaron en 1956 en Búfalo, dando comienzo a una nueva era de la inmunología. Aquí incluimos apartes de su nota.

Dr. Noel R. Rose

“Este trabajo<sup>28</sup> mostró que es posible inmunizar un animal con material antigénico de su propio organismo, de esta manera generando una enfermedad autoinmune. El artículo representó una clara violación del famoso paradigma de Ehrlich el –‘Horror autotoxícus’– que para 1956 era universalmente aceptado con la interpretación de que la autoinmunidad era imposible. Había habido de hecho varios ejemplos anteriores de autoinmunidad, que comprometían al cristalino, al cerebro y al semen, pero estas excepciones a la regla se atribuyeron al aislamiento anatómico de estos tejidos. Era pues difícil extender el concepto de un antígeno inaccesible a un tejido bien vascularizado como la glándula tiroidea. Estos estudios causaron un cambio profundo en el pensamiento inmunológico. Se ajustaron directamente al razonamiento de Burnet cuando él propuso su teoría selectiva de la formación de anticuerpos... y crearon una nueva área de la inmunología clínica”.

“Este trabajo<sup>28</sup> mostró que es posible inmunizar un animal con material antigénico de su propio organismo, de esta manera generando una enfermedad autoinmune. El artículo representó una clara violación del famoso paradigma de Ehrlich el –‘Horror autotoxícus’– que para 1956 era universalmente aceptado con la interpretación de que la autoinmunidad era imposible. Había habido de hecho varios ejemplos anteriores de autoinmunidad, que comprometían al cristalino, al cerebro y al semen, pero estas excepciones a la regla se atribuyeron al aislamiento anatómico de estos tejidos. Era pues difícil extender el concepto de un antígeno inaccesible a un tejido bien vascularizado como la glándula tiroidea. Estos estudios causaron un cambio profundo en el pensamiento inmunológico. Se ajustaron directamente al razonamiento de Burnet cuando él propuso su teoría selectiva de la formación de anticuerpos... y crearon una nueva área de la inmunología clínica”.

“El marcado parecido de los cambios histológicos de los conejos autoinmunizados y los de pacientes con ciertas formas de tiroiditis crónica estimularon a Ernest Witebsky y a mí a estudiar pacientes con esa enfermedad. Pronto pudimos demostrar que los autoanticuerpos a la tiroglobulina estaban presentes en el suero de muchos pacientes con enfermedad inflamatoria crónica tiroidea. Los hallazgos se publicaron en un trabajo separado al año siguiente<sup>29</sup>. Un grupo británico obtuvo resultados similares de manera independiente<sup>30</sup>. Especulamos en nuestro artículo que muchas otras enfermedades del ser humano

podían deberse a una autoinmunización, por lo que establecimos unos criterios –conocidos como postulados de Witebsky\*– para establecer la etiología autoinmune de patologías en el hombre”<sup>51</sup>. “... entre los primeros descubrimientos a partir de este modelo, estuvo la asociación de la enfermedad autoinmune y el complejo mayor de histocompatibilidad (HLA), y de la supresión de la autoinmunidad por grandes dosis de antígeno soluble”.

“Se preguntaría uno el porqué un artículo de inmunización experimental está incluido en una serie de trabajos titulados *Estudios sobre Especificidad de Órganos* (trabajos que sumaron una veintena). La investigación en esta área comenzó cuando yo me uní al Departamento de Bacteriología e Inmunología de la Universidad de Búfalo –dirigido por Witebsky– en el año 1951. Mi llegada fue la oportunidad para reiniciar la investigación, que Witebsky había empezado en Alemania, cuando él debió dejar este país en 1932 (por presión de los nazis); los estudios se centraron en antígenos específicos para determinados tejidos. Witebsky creía fuertemente que dichos antígenos tenían que estar relacionados con las funciones especializadas de células diferenciadas, y que ellos serían útiles para demostrar las diferencias entre células normales y malignas. Nos sucedió más tarde que los antígenos órgano-específicos (tan limitados en su distribución) fueron los constituyentes corporales que más probablemente generarían una respuesta autoinmune. Con un discurso más moderno, estos antígenos son mínimo capaces de inducir supresión clonal en el timo, o de evitar otros mecanismos homeostáticos que normalmente previenen la autodestrucción inmunológica”.

“... entre los primeros descubrimientos a partir de este modelo, estuvo la asociación de la enfermedad autoinmune y el complejo mayor de histocompatibilidad (HLA), y de la supresión de la autoinmunidad por grandes dosis de antígeno soluble”.

“Se preguntaría uno el porqué un artículo de inmunización experimental está incluido en una serie de trabajos titulados *Estudios sobre Especificidad de Órganos* (trabajos que sumaron una veintena). La investigación en esta área comenzó cuando yo me uní al Departamento de Bacteriología e Inmunología de la Universidad de Búfalo –dirigido por Witebsky– en el año 1951. Mi llegada fue la oportunidad para reiniciar la investigación, que Witebsky había empezado en Alemania, cuando él debió dejar este país en 1932 (por presión de los nazis); los estudios se centraron en antígenos específicos para determinados tejidos. Witebsky creía fuertemente que dichos antígenos tenían que estar relacionados con las funciones especializadas de células diferenciadas, y que ellos serían útiles para demostrar las diferencias entre células normales y malignas. Nos sucedió más tarde que los antígenos órgano-específicos (tan limitados en su distribución) fueron los constituyentes corporales que más probablemente generarían una respuesta autoinmune. Con un discurso más moderno, estos antígenos son mínimo capaces de inducir supresión clonal en el timo, o de evitar otros mecanismos homeostáticos que normalmente previenen la autodestrucción inmunológica”.

*Current Contents*, Febrero 11, 1991, No. 6, Sección “**La investigación clásica de la semana**”<sup>33</sup>.



Dr. Ernest Witebsky

\* Los postulados de Witebsky, reconsiderados por Rose<sup>24</sup>, incluyen la evidencia directa de la transferencia de un anticuerpo patógeno o células T patógenas, la evidencia indirecta basada en la reproducibilidad de la enfermedad autoinmune en animales de experimentación y la evidencia y las circunstancias de información clínica.

La base genética de la auto-inmunidad tiroidea fue demostrada por Irvine<sup>53</sup> al encontrar tiroiditis de Hashimoto –comprobada por parámetros clínicos, bioquímicos y serológicos– en los cuatro miembros de dos pares de gemelos univitelinos; Hall, Owen y Smart<sup>26</sup> identificaron auto-anticuerpos en veintidós de treinta y nueve parientes de pacientes con enfermedad de Hashimoto, en la mitad de los cuales no había enfermedad tiroidea a pesar de la seropositividad.

La homeostasis inmunológica se rompía entonces –según Mark McFarlane Burnet– por una falla en las clonas productoras de anticuerpos, que presentan mutaciones somáticas, por lo que responden anormalmente produciendo anticuerpos contra células del propio organismo<sup>54</sup>. Dicha anomalía genética podría manifestarse en un solo órgano blanco o en varios sistemas. Al estudiar quinientos seis pacientes con enfermedad de Hashimoto vistos en la Clínica Mayo, Becker y colaboradores<sup>55</sup> encontraron que un 23,5% tenían síntomas músculo-esqueléticos concomitantes (4% con artritis reumatoide, 7,9% algún síndrome fibrocítico y 10,7%, otras entidades como espondilitis anquilosante, lupus eritematoso sistémico, “*lupus-like*” por hidralazina, síndrome de Sjögren y esclerodermia). En un grupo similar de pacientes con tiroiditis sub-aguda granulomatosa, sólo el 1,2% de los casos presentaban desórdenes del tejido conectivo.

### Doniach y Roitt, destacados pioneros de la auto-inmunología



*Débora (Niswitzki) Doniach*

Débora (Niswitzki) Doniach (1912-2004) fue la mayor de tres hermanas, hijas de un concertista ucraniano de piano y de una profesora bohemia noruega de danza terapéutica; fue persona cultivada, encantadora y música talentosa. En el Colegio Universitario de Londres hizo parte de un equipo pionero que demostró la

autoinmunidad tiroidea (al igual que el grupo de Búfalo, N.Y.) Postuló que siendo la diabetes común a todas estas patologías como la enferme-

dad de Addison, tirotoxicosis, mixedema, anemia perniciosa, hipoparatiroidismo, podrían tener la misma etiología (autoinmune). También describió el origen autoinmune de la cirrosis biliar primaria y la diabetes tipo I. Casó (y tuvo una larga y bien avenida unión) con el patólogo inglés Israel Doniach –descubridor de la carcinogénesis por yodo radiactivo– y tuvo una asociación académica con el conocido inmunólogo Iván Roitt, autor de un popular texto de inmunología.

Un estudio de auto-anticuerpos en pacientes con Hashimoto, con otras patologías tiroideas y voluntarios sanos<sup>45</sup>, mostró positividad de una o más pruebas en el 98% de los enfermos con tiroiditis crónica, y de éstos el 75% fueron positivos para la prueba de TRC recubiertos con tiroglobulina, precipitinas y fijación del complemento, y 10% sólo a fijación del complemento. Títulos menores de anticuerpos fueron observados en mixedema espontáneo (83%), tirotoxicosis (67%), bocio nodular eutiroideo (33%) y carcinoma de tiroides (29%). La mitad de los pacientes con Hashimoto tenían títulos de auto-anticuerpos superiores a 1:1.000.000, con un máximo de títulos hasta de 1:2.500.000. En otras patologías tiroideas con anticuerpos positivos, los títulos nunca alcanzaron tales cifras. El fondo genético de la tiroiditis crónica fue postulado por DeGroot y colaboradores<sup>40</sup>.

### Una experiencia colombiana

En 1964 Jácome y Mesa publicaron su tesis de grado, que trató de la investigación de títulos de anticuerpos a la tiroglobulina por medio de la técnica de glóbulos rojos tanificados, realizada en cuarenta casos con diversas tiroidopatías<sup>56</sup>. Aunque en ninguna de las patologías estudiadas se presentaron títulos realmente altos (1:10.000 en un paciente con enfermedad de Graves y 1:100 en otro Graves, dos carcinomas tiroideos y una tiroiditis subaguda, del total de diez pacientes positivos), la falla del estudio estuvo en que realmente no se incluyeron pacientes con Hashimoto, aunque el Graves hace parte de la enfermedad tiroidea autoinmune. Debido a que en la década del sesenta no existían “kits” comerciales para medir anticuerpos, los investigadores acudieron al labo-

ratorio del profesor César Mendoza, quien personalmente preparó el reactivo sobre la base de la técnica de Boyden, aunque se utilizaron glóbulos rojos humanos al no poder conseguir sangre de cordero, como decía la descripción original. La técnica que se utilizó era algo primitiva pues, además, la tiroglobulina se obtenía de un macerado de tiroides vacuno; no era, por supuesto, cromatográficamente purificada. Dicha experiencia resulta más de tipo anecdótico, ante eventuales deficiencias de carácter tecnológico y de diseño. Las primeras determinaciones de anticuerpos antimicrosomales se realizaron también con la misma tanificación de eritrocitos de cordero<sup>57</sup>.

Por aquellos tiempos se creía que la tiroiditis crónica era esotérica en nuestro medio, pues un estudio de autopsias en hospitales universitarios colombianos –que incluyó gran cantidad de casos– así lo sugería. Años más tarde se comprobaría lo contrario, que –igual a como ocurre en otros países– la tiroiditis crónica (con anticuerpos positivos anti-peroxidasa tiroidea) es la causa más frecuente de hipotiroidismo, cuya incidencia es bastante alta, particularmente en mujeres menopáusicas.

### Hepatitis autoinmune

E. Witebsky fue el primero en inmunizar en animales tejidos heterólogos como cerebro y cristalino en 1929<sup>50</sup>. Estos experimentos generaban la presencia de anticuerpos, pero no tenían efectos patológicos. Cuatro años después, en 1933, Rivers y col.<sup>58</sup>, al inyectar en forma repetitiva emulsiones de tejido cerebral, lograron inducir la encefalomiелitis en los monos. Esto cambió con la introducción del adyuvante de Freund para potenciar la inmunización<sup>49</sup>. Así, de esta forma, al utilizar el adyuvante de Freund, se logró la inducción de la encefalomiелitis por Kabat<sup>47,49</sup>. Estos descubrimientos y la introducción de nuevas tecnologías para la investigación, le permitieron a Witebsky y a Rose describir la tiroiditis autoinmune en conejos y en el humano. Simultáneamente, en el año de 1956, Deborah Doniach e Ivan Roitt, y Peter Campbell y Ralph Vaughan Hudson publicaron los estudios preliminares de la tiroiditis de Hashimoto. En este mismo año Ian

R. Mackay, L.I. Taft y D. C. Cowling<sup>59</sup> describían la hepatitis lupoide como una enfermedad autoinmune.

### Hepatitis lupoide o hepatitis autoinmune

Estos conceptos fueron introducidos en 1956 por Ian R. Mackay de la unidad de investigación clínica en el Walter y Eiza Hall Institute y colaboradores del Royal Melbourne Hospital y de la Universidad de Monash en Victoria (Australia) quienes describieron casos de hepatitis crónica activa asociada a células LE y ocasionalmente con manifestaciones menores de lupus eritematoso sistémico<sup>60</sup>.

El origen histórico de la evolución de los conceptos es narrado por el mismo Mackay, quien informó que el término hepatitis crónica activa fue planteado inicialmente por Barker y cols.<sup>61</sup> en 1943 en la revista JAMA al estudiar una epidemia de hepatitis viral que afectaba soldados en el Mediterráneo. En 1950, el término hepatitis crónica activa se aplicaba para describir un nuevo síndrome que comprometía a mujeres jóvenes que tenían un curso progresivo y a menudo con una hepatitis fatal asociada a alteraciones inmunológicas y endocrinas observado en varios centros del mundo, como en Australia por Wood y cols.<sup>62</sup> en 1948, en los países escandinavos por Waldenstrom<sup>63</sup> en 1950, y en la fundación Rockefeller en Nueva York por Henry Kunkel<sup>64</sup> en 1951. Mackay y cols.<sup>59,65</sup>, en su artículo de Lancet de 1956 titulado “*Lupoid Hepatitis*”, acuñaron el término. Posteriormente en 1958, Mackay y Gajdusek<sup>66</sup> empezaron los estudios experimentales y plantearían el origen de la hepatitis lupoide como una reacción autoinmune al describir los anticuerpos anti-citoplásmicos. En 1955 Joske y King<sup>67</sup> informaron la asociación de la célula LE y las hepatitis virales crónicas. A su vez Mackay, Weiden y Hasken<sup>68</sup> reseñaron en 1965 la naturaleza autoinmune en la patogénesis de la hepatitis activa crónica, que en su artículo denominaron como “Hepatitis autoinmune”. Desde la descripción de los primeros siete casos en 1956 se han incluido los siguientes criterios: rash malar, artritis no erosiva, serositis, compromiso renal, alteraciones hematológicas con citopenias y alteraciones inmunológicas en pruebas de laboratorio.

Casi simultáneamente Bearn, Kunkel y Slater<sup>69</sup> describieron 26 mujeres con sospecha de enfermedad del colágeno y hepatitis crónica activa. Krook<sup>70</sup> describió en 1961, nueve casos de pacientes con cirrosis y síntomas parecidos al del lupus, de los cuales cinco tenían un síndrome de Sjögren. A partir de estas descripciones anteriores, la asociación de enfermedad hepática crónica en pacientes jóvenes con criterios para lupus se informó en varios artículos, tales como los de Robson<sup>71</sup> en 1959, Applebaum y cols.<sup>72</sup> en 1961, Read y cols.<sup>73</sup> en 1963, Miescher y cols.<sup>74</sup> en 1966, Reynold y cols.<sup>75</sup> en 1964, Soloway y cols.<sup>76</sup> en 1975, en los que se confirmaban las descripciones de hepatitis autoinmune como una disglobulinemia que producía la inflamación hepatocelular.

#### Criterios para hepatitis autoinmune

La definición genérica de hepatitis crónica activa se hizo formal cuando se establecieron los criterios de la *International Association for the Study of the Liver (IASL)*, en 1976<sup>77</sup>. Los hepatólogos aceptaron que podía incluirse como hepatitis crónica activa, ya que el mismo Mackay había descrito la heterogeneidad de la enfermedad, además de la naturaleza autoinmune. La descripción del marcador para la hepatitis B o el HBsAg polarizó un poco los conceptos por el origen infeccioso que se empezó a plantear<sup>78,79</sup>. En 1982 Hodges y cols.<sup>80</sup> escribieron en *Lancet* un artículo clásico sobre el "*Spectrum of Disease*" de la hepatitis crónica activa que incluye además del lupus, la hepatitis B, la sensibilidad a medicamentos, la deficiencia del alfa-1 antitripsina, la enfermedad de Wilson, el alcoholismo y la hepatitis C, es decir se definió la hepatitis crónica activa como un síndrome y se le atribuyeron diversos factores etiológicos como sus causales.

En 1980 Mackay<sup>81,82</sup> empezó a definir los criterios clínicos y de laboratorio para la enfermedad, a saber:

1. Frecuencia: mayor en mujeres.
2. Edad desde los 10 a los 30 años, y un segundo pico etario después de los 50 años.
3. Racial: es más frecuente en los eurocaucásicos.

4. Compromiso multisistémico.
5. Histopatología: necrosis periportal gradual y en parches (piecemeal).
6. Seronegatividad para hepatitis B y C y para otras etiologías.
7. Hipergamaglobulinemia durante las recaídas, más de 30 gr/L.
8. Autoanticuerpos (antinucleares, músculo liso y microsomales).
9. Asociación al HLA-B8, DR3.
10. Respuesta al tratamiento con esteroides.
11. Ausencia del carcinoma hepatocelular que se asocia más a las hepatitis virales.

No obstante, en la población japonesa esta patología se observa en pacientes mayores y se asocia al HLA-DR4<sup>82</sup>. En 1990 los comités de criterios y nomenclatura prefirieron denominarlo hepatitis autoinmune que hepatitis crónica activa, y así, en 1992, en Brighton, Reino Unido, en el *International Autoimmune Hepatitis Group*<sup>79</sup>, tras revisar todas las características de la hepatitis autoinmune se determinaron por consenso y a través de criterios de Brighton para el diagnóstico probable y definido para la hepatitis autoinmune a través de criterios clínicos, bioquímicos, histológicos y serológicos; también se determinó un sistema de score, tras el estudio de 145 pacientes con hepatitis autoinmune y compararlo con 250 pacientes con otras patologías hepáticas. Posteriormente este sistema de *score* fue modificado por otro grupo de panelistas.

En efecto, en 1994, la IASL revisó los criterios de 1976 y los de Brighton y definió la hepatitis autoinmune crónica como un tipo de hepatitis crónica por la presencia de anticuerpos circulantes y la ausencia de otras causas de hepatitis crónica, como la secundaria a virus, medicamentos, toxinas y alteraciones metabólicas. Los títulos para los anticuerpos antinucleares y el músculo liso con especificidad para la actina deben ser mayores de 1:40; no se informó nada sobre el substrato, pero adicionaron a los criterios mencionados algunos datos en la histopatología como la plasmocitosis, la necrosis en puente, las rosetas pseudoglandulares de las cé-



lulas hepáticas y la respuesta adecuada a los esteroides<sup>83</sup>.

En 1995 el *International Working Party* estableció la terminología para la hepatitis crónica, recomendó el término de hepatitis autoinmune que definió como una hepatitis periportal predominantemente, generalmente con hipergamaglobulinemia, anticuerpos tisulares y respuesta adecuada a los inmunosupresores<sup>84</sup>. En ella se encuentra un incremento de los niveles de inmunoglobulina G, títulos de anticuerpos antinucleares, anti-músculo liso, anticuerpos a LKM (o contra el antígeno microsomal de hígado y riñón –*Liver, Kidney, Microsome*–) con un título mayor a 1:40. Para los anticuerpos antinucleares los títulos deben ser superiores a 1:160 y con sustrato de células Hep-2. Se asocia al HLA DR3 o DR4; si los pacientes tienen marcadores para hepatitis infecciosa, no se puede considerar como autoinmune. En la histopatología debe observarse plasmocitosis, necrosis en puentes y formación de rosetas en las células hepáticas<sup>60</sup>.

Desde 1974, al caracterizar el antígeno microsomal, Rizzeto y cols.<sup>85</sup> habían planteado la posibilidad de subclases de hepatitis crónica. Posteriormente, al describir el marcador microsomal anti hígado-riñón tipo I, Homberg y cols.<sup>86</sup> establecieron que la hepatitis autoinmune se clasificaba en dos subgrupos: la hepatitis autoinmune tipo I, la clásica, descrita por Mackay<sup>87</sup>, y que se asocia al lupus y la hepatitis autoinmune tipo II que se asocia al antígeno microsomal hígado-riñón (LKM) que se observa más en niños y que se asocia más a tiroiditis, gastritis, diabetes y vitíligo<sup>88-91</sup>.

Ian Mackay y Sir Macfarlane Burnet, investigadores excelsos del *Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research* en Melbourne, Australia, escribieron en 1961 el primer libro sobre autoinmunidad. El texto se denominó: *Autoimmune Diseases: Pathogenesis, Chemistry and Therapy* y se publicó en diciembre de 1963. Mackay contribuyó en el año 2001 en el primer número de *Autoimmunity Review*, con Yehuda Shoenfeld. Así, el año de 1956 se constituye en el inicio del entendimiento de las enfermedades órgano-específicas<sup>47,60</sup>.



## Enfermedades autoinmunes

Estas enfermedades son consecuencia de una respuesta inmune exagerada en contra de algún componente propio. Potencialmente, cualquier estructura del cuerpo puede desencadenar respuestas autoinmunes, pero hay unas que lo hacen con mayor frecuencia que otras. El daño al organismo, y por lo tanto las manifestaciones clínicas, depende del auto-antígeno en cuestión, que puede hallarse sólo en un tipo particular de tejido o bien ser una molécula que se localiza en diferentes órganos. En el primer caso, la enfermedad autoinmune es órgano-específica (como los casos endocrinos –Tabla 1– dermatológicos o hematológicos) o es sistémica (como en las colagenosis).

Numerosas investigaciones asocian a los sistemas regulatorios neuro-psicológicos, endocrinos (eje del estrés) e inmunológicos. Las hormonas tiroideas T3 y T4 se encuentran frecuentemente involucradas y actuarían modulando el número de receptores adrenérgicos post-sinápticos y la concentración de 5-HT cerebral; también modulan la inmunidad mediada por las células T, la que se encuentra negativamente afectada por el estrés crónico, que favorece el crecimiento tumoral<sup>57</sup>.

Está más allá del propósito de este artículo –que se limita a una historia temprana o inicial de la autoinmunidad en general y de los órganos endocrinos en particular– el profundizar en las hipótesis sobre autoinmunidad que tienen amplia aceptación o están en investigación por los inmunólogos. Después de la supresión clonal de Burnet, otras teorías han sido postuladas e investigadas. Como es de amplio conocimiento entre inmunogenetistas y reumatólogos, los genes sospechosos en muchas enfermedades autoinmunes están relacionados con las inmunoglobulinas, receptores de células T y diversos alotipos del complejo mayor de histo-compatibilidad.

**Tabla 1.** Endocrinopatías autoinmunes\*

---

Enfermedad de Addison
Hipoparatiroidismo autoimmune
Hipofisitis autoimmune
Ooforitis autoimmune
Orquitis autoimmune
Enfermedad de Graves (en especial con exoftalmos y mixedema pretibial)
Tiroiditis crónica de Hashimoto
Síndrome poliglandular autoimmune tipos I, II y III
Diabetes mellitus tipo I

---

\* Según el centro de investigación de enfermedades autoinmunes de Johns Hopkins <http://autoimmune.pathology.jhmi.edu/diseases.cfm?systemID=3&DiseaseID=66>, las diez patologías más comunes en orden de frecuencia son la enfermedad de Graves, la artritis reumatoide, la tiroiditis de Hashimoto, el vitíligo, la diabetes tipo I, la anemia perniciosa, la esclerosis múltiple, la glomerulonefritis, el lupus eritematoso sistémico y el síndrome de Sjögren, algunas de estas más frecuentemente observadas en mujeres. Según este centro, existen al menos unas ochenta enfermedades de origen autoimmune primario o secundario, y es frecuente que se incluyan nuevas patologías en la lista.

### Síndromes poliglandulares autoinmunes (SPGA)

Estas patologías inmunogenéticas –en las que las patologías endocrinas están presentes con frecuencia– se han dividido básicamente en dos tipos, dependiendo de la falta de relación con el antígeno de histocompatibilidad (tipo I, autosómico recesivo) o por su asociación con ciertas clases de HLA como el BB y DR3 (tipo II, autosómico dominante). La enfermedad de Addison es común a los dos tipos, particularmente en el II donde se presenta en todos los casos<sup>42</sup>. La tiroiditis crónica y la diabetes tipo I son comunes en el SPGA II<sup>43</sup> mientras que son raras en el SPGA I (síndrome de Whitaker, de muy baja incidencia, también conocido como síndrome de poliendocrinopatía-candidiasis-distrofia ectodérmica o APECED). Este último se ve en la edad pediátrica, primero con candidiasis mucocutánea, luego tetania por

hipoparatiroidismo primario, la insuficiencia suprarrenal crónica y, en algunos casos, alopecia, malabsorción, anemia perniciosa, vitíligo y hepatitis crónica autoimmune. El tipo II –también denominado síndrome de Schmidt– es más que todo tiroiditis crónica, diabetes I y Addison, a veces hipogonadismo y enfermedades no endocrinas como la artritis reumatoide, miastenia gravis, síndrome de Sjögren, púrpura trombocitopénica idiopática y vitíligo<sup>37</sup>.

La primera descripción de la asociación de hipoparatiroidismo y candidiasis fue publicada en 1929 y la asociación de estas dos enfermedades con la insuficiencia suprarrenal crónica vio la luz a mediados de los años cuarenta. Las fechas de las primeras descripciones de algunas de estas patologías autoinmunitarias en los SPGA son las siguientes: hipofisitis linfocitaria (1971), anemia perniciosa (1955), gastritis crónica atrófica (1962), malabsorción y/o esteatorrea (1953), hepatitis crónica activa (1994), vitíligo (1959), alopecia (1946), queratoconjuntivitis (1943), asplenia (1968), colestiasis temprana (1991).

### Autoinmunidad tiroidea: recuerdos personales (1957-1959)

#### Efraim Otero-Ruiz, M.D.

Puede decirse que en la segunda mitad de la década de los años cincuenta se vivió una de las épocas más excitantes en el Departamento de Medicina del Columbia-Presbyterian Medical Center (Presbyterian Hospital o PH) en la calle 168 de la ciudad de Nueva York. El Director (Chairman) del Departamento era el profesor Robert F. Loeb, uno de los internistas más prestigiosos del mundo, co-autor del texto de Medicina Interna de Cecil-Loeb, la biblia médica para los no iniciados. Alrededor de él se congregaba –como podía observarse los martes en las Clínicas Endocrinas Combinadas, celebradas en el enorme torreón o anfiteatro que databa de comienzos del siglo– la élite del conocimiento médico y científico, personas que sacaban tiempo de sus investigaciones para dictar las diversas cátedras: Severo Ochoa, tan adusto como su nombre –el Premio Nóbel español en Genética–, proveniente del New York Hospital, que compartía

con Presbyterian y con Bellevue el triunvirato de la medicina interna y las clínicas combinadas; Sydney Werner y Ken Sterling (tiroides), Dana Atchley (electrolitos, cetoacidosis diabética) y Seymour Lieberman (suparrenal) en Endocrinología; Franklin Hanger en Hepatología; Beatrice Seegal en Inmunología y transplantes; y, por supuesto, como profesores visitantes, Salomon Berson y Rosalyn Yalow (diabetes), procedentes del Hospital de Veteranos del Bronx, sin contar con los innumerables profesores asistentes o visitantes, más jóvenes, que después brillarían con luz propia. Se asistía no sólo a la primera infancia de la nueva genética (nacida con la doble hélice de Watson y Crick en 1953) sino del atrevido concepto de la enfermedad autoinmune. Ambos conceptos venían rompiendo dogmas establecidos por casi más de un siglo y que había definido Ehrlich, el padre de la inmunología, con el término latino del *horror autotoxicus*.

Efectivamente, desde 1951, J. MacFarlane Burnet y Peter Brian Medawar habían lanzado el concepto de la tolerancia inmunológica; las brillantes disquisiciones teóricas de Burnet sobre selección clonal de linfocitos habían sido seguidas de los elegantes experimentos de Medawar y Billingham, primero con transplantes de piel y luego de otros órganos. A partir de 1955 ambos habían sido invitados a dar conferencias en el Columbia-Presbyterian sobre los primeros esbozos de la enfermedad autoinmune y la tolerancia inmunológica, conceptos que les valdrían el Premio Nóbel de 1960.

Por su parte Sidney Werner (Figura 1), autor del libro más importante sobre tiroides editado en esa década<sup>92</sup>, no se perdía ni una línea de lo que se venía diciendo, versación que amplificaba con sus numerosos viajes dentro del país y en el extranjero (ya en lo narrado por el Dr. Alfredo Jácome se relata gran parte de esta historia, con la bibliografía correspondiente). A raíz de las publicaciones de Witebsky y Rose, y después de la Dra. Doniach, esta fue invitada al PH a hablar de autoinmunidad tiroidea, causando gran sensación. Con Witebsky y Rose la relación era mucho más cercana, por hallarse ellos en la ciudad de Buffalo, a solo tres o cuatro horas en automóvil de la ciudad de Nueva York. Incluso algunos

del grupo de Werner (incluyendo a Malinda Getty, a Polland Siegel, a Joan Tierney y al argentino Raúl Grinberg, a quien nunca volví a ver después de ese año) hicimos un viaje en mi viejo Ford a Buffalo para asistir a un seminario dictado por el Dr. Witebsky, con su marcado acento alemán que, 20 años después de llegado al país del norte, no había logrado borrar; y visitar los laboratorios donde vimos emplear la novedosa (para ese entonces) técnica de Ouchterlony de difusión en agar y los primeros intentos—no muy concluyentes—de electroforesis llevada a cabo en geles similares. Allí aprendimos también la técnica de aplicar, bajo el microscopio Leitz de disección, el coadyuvante de Freund, escarificando con aguja No. 27 la cara palmar (rosada) de la pata del ratón, pues aun con esa mínima aguja era imposible inyectarlo. Parte inolvidable para mí de ese viaje fue poder conocer por primera vez y estar al borde de las cataratas del Niágara.

Desde recién descubierta la hormona tiroestimulante (TSH) en los años cuarenta Werner se había interesado en esta glicoproteína de origen hipofisario (“proteína” o fracción proteica, se la denominaba en ese entonces) y había publicado numerosas observaciones clínicas y experimentales sobre la misma. Quizás lo más interesante había sido el artículo publicado con Spooner en 1955, tres años antes de mi llegada a su laboratorio, en que, por primera vez, se describía la no supresibilidad del eje hipófiso-tiroideo en los casos de hipertiroidismo (enfermedad de Basedow-Graves). Werner, que fue uno de los pioneros mundiales en el uso diagnóstico y terapéutico del yodo radioactivo, I-131, había diseñado una prueba, desde entonces conocida como “prueba de Werner”<sup>93</sup>, basada en el hecho de que al individuo normal, cuando se le practican dos pruebas de captación tiroidea de yodo radioactivo separadas por una semana de intervalo, durante la cual se administran por vía oral 100 microgramos diarios de triyodotironina (T-3), la captación desciende muy por debajo de lo normal y se acerca a 0%. En cambio en el hipertiroideo sometido a esta prueba (y que arranca, como es obvio, con captaciones elevadas del radioisótopo) la administración de T-3 no le causa ningún efecto y la segunda captación aparece casi

o tan elevada como la primera. Werner suponía que había algo extraño en la relación entre esa TSH “no supresible” y la glándula del hipertiroidismo. Décadas después vendría a conocerse que es por la formación autoinmune de anticuerpos contra el receptor de TSH que estimulan en forma anormal dicha glándula. Modernamente la prueba de Werner ha sido sustituida por la prueba de estímulo con TRH.

Una primera pista había surgido del laboratorio de Adams y Purves<sup>94</sup> en la Universidad de Otago en Nueva Zelanda; el método había sido perfeccionado por McKenzie el mismo año en que entré a trabajar con Werner<sup>95</sup>. Estos investigadores habían descubierto y descrito un elegante aunque laborioso método de dosificación biológica de TSH en el ratón blanco de cepa C3H. Al ratoncito, al que previamente se había administrado una dosis trazadora de I-131 y se le había inyectado tiroxina para suprimir su propia TSH, se le sangraba de la vena de la cola en tiempo 0 y luego 2 horas después de haber administrado TSH en dosis crecientes (y en volúmenes de microlitros para lo que usábamos jeringas de insulina) por esa misma vena; el aumento de la radioactividad a las dos horas permitía establecer una curva de dosis-respuesta frente a la cual se comparaban los sueros de pacientes purificados e inyectados en microcantidades por esa misma vena. Cuando a Adams y Purves –que no habían notado diferencia en el efecto de TSH en normales o hipertiroides– se les ocurrió volver a sangrar al mismo ratoncito a las seis y a las doce horas, encontraron que con sueros de hipertiroides sí había un aumento de la radioactividad en ese lapso. Su novedoso hallazgo lo describieron como debido a un “estimulador tiroideo de larga acción” (LATS, por sus siglas en inglés) característicamente presente en el hipertiroidismo. Esta, pensó mi profesor, era, por supuesto, la hormona “no supresible” ¡de su prueba clínica! (su casi certeza de que la TSH no estaba elevada en hipertiroides la comprobamos, lo mismo que el LATS, desde los primeros meses de desarrollado el método de ensayo biológico). A pesar de los intentos por purificarlo y analizarlo, el LATS seguiría siendo un misterio durante las dos décadas siguientes, hasta que en los

ochenta advino el desarrollo de la moderna inmunología y el análisis de proteínas.

Para comprobar que la sola supresión tiroidea de la hipófisis del ratón con I-tiroxina no bastaba, Werner decidió que debíamos practicar el ensayo biológico en ratones hipofisectomizados y, para ello, me envió dos semanas al laboratorio del Dr. Jacob Furth (1896-1979) en el llamado entonces *Jimmy Fund Cancer Research Center*, Instituto de Oncología experimental anexo al Peter Bent Brigham Hospital en Boston, que con el tiempo adquiriría el pomposo nombre de *Dana-Farber Cancer Research Institute* y donde trabajarían tanto nuestro insigne inmunogenetista Dr. Edmond Yunis como su alumno y amigo, el autor principal de este artículo. El Dr. Furth, ya pasando sus 60 y algo sordo, así como era de excelente biólogo de cáncer y experimentalista era de malas pulgas y de pocas relaciones amistosas con quienes iban a entrenarse en su laboratorio; a mí me puso bajo el cuidado de la Dra. Chang, una bióloga china que dominaba tal técnica a la perfección. Como lo he relatado en uno de mis libros<sup>96</sup> ella procesaba un ratón por minuto, de piel a piel; lo máximo que yo llegué a lograr fue un ratón por cada cuatro o cinco minutos. En esa corta estadía aprendí también la técnica de producir tumores (adenomas) hipofisarios de células tirotropas en ratones, bello modelo experimental que Furth describiría brillantemente dos años más tarde<sup>97</sup> y que nos servirían después de fuente inagotable de TSH murina. Los dos o tres meses en que empleé los ratones hipofisectomizados fueron un verdadero calvario, pues el panhipopituitarismo causado por la operación los debilita al extremo de que mueren si, extremando los cuidados, no se los manipula “como el pétalo de una rosa”. Pero logramos confirmar que no había mayor diferencia con aquellos en que se suprimía farmacológicamente la TSH.

Yo llegaba muy temprano al laboratorio (estaba soltero, sin obligaciones y vivía muy cerca del Presbyterian) y desde las 7 a.m. tenía que procesar entre 50 y 60 ratones diarios, incluyendo la lectura de la radioactividad de las pequeñísimas muestras de sangre en detectores de centelleo tipo de pozo, manualmente, una por una, pues aún no se habían inventado los que procesan

automáticamente ¡series enormes de muestras! A la hora de los seminarios del medio día, de almuerzo con sandwich (los “*brown bag meetings*” como solían llamarse, por la bolsa de papel en que empacábamos el comiso), llegaba ya medio cansado pero me reanimaba al procesar los datos estadísticos (sin computador, con sólo máquinas de manivela y papel y lápiz) por las tardes, y allí con frecuencia se incorporaban Werner y otros investigadores, a una primera reunión “a puerta cerrada”. Con relativa frecuencia nos visitaba más temprano o más tarde la Dra. Yalow, pues ella también usaba proteínas marcadas con I-131 en sus determinaciones de anticuerpos anti-insulina y le gustaba comparar los resultados obtenidos con nuestros detectores. Una tarde en que me vio tan cansado, con la blusa manchada de sangre y de la “Purina” con que se alimentaban los ratones, me dijo sonriendo, con su típico acento del inglés de Brooklyn que no la abandonaba ni un momento: “—No sufra ni se preocupe, Dr. Otero, que en unos años y confío en que contaremos con un procedimiento de dosificación de hormonas proteicas ‘in vitro’ que nos libre de los trabajos con los ratoncitos!” Era, por supuesto, la idea del radioinmunoanálisis, que comenzaba a bullir en su mente y que le valdría 20 años más tarde, en 1977, el Premio Nóbel en Fisiología y Medicina<sup>96</sup>.

Una característica para mí desagradable de las reuniones con Werner y su grupo era el carácter altamente confidencial que Werner les imprimía. Por la cercanía y la alta competitividad de los laboratorios de investigación tiroidea (el de Ken Sterling, por ejemplo, estaba en el Instituto Neurológico, a una calle de por medio) se nos tenía prohibido comentar ninguno de los hallazgos con personas de fuera, so pena de ser expulsado del laboratorio (como había ocurrido ya con tres o cuatro “fellows”). El único que podía hablar de resultados era el jefe (quien dirigió también las clínicas combinadas endocrinas de 1947 a 1962) y lo hacía con gran propiedad y mucha discreción. Claro que esa era la norma sagrada en los laboratorios que yo visitaba, dentro y fuera de Nueva York, y uno apenas comenzaba a desmenuzar la trama (y tener idea de qué era lo que hacía cada cual) sólo mediante la asistencia

a las reuniones de la *Endocrine Society* o de la *American Thyroid Association*, en que se presentaba la puesta al día de las diversas investigaciones; afortunadamente mi beca, otorgada por el Plan Eisenhower para la Comisión de Energía Atómica, me permitía asistir con todos los gastos pagos a esas reuniones, aún en las ciudades más remotas de los Estados Unidos; gracias a ello pude conocer casi todo el país ¡en menos de cuatro años!

Por la confirmación de los niveles normales de TSH en el suero de pacientes hipertiroideos y por la frecuente presencia del LATS en los mismos, a Werner se le ocurrió que quizás había un factor, hasta entonces desconocido, que reducía los niveles circulantes o prevenía la acción de la TSH sobre la glándula tiroides de esos pacientes. Con la ayuda de sus amigos Beatrice Seegal, Robert W. Bates y más tarde Elliott Osserman, del Departamento de Microbiología, y con la colaboración de los endocrinólogos que habían logrado aislar los más potentes extractos tirotrópicos de hipófisis humanas y animales (entre ellos Furth, Wilhelmi, Ellis, Bakke, Heideman, Faben y el mismo Bates) se dedicó a producir en conejos anticuerpos contra dichos extractos y cada semana venía con los sueros o los extractos sometidos a dichos anticuerpos para que yo les aplicara mi ensayo biológico. De ahí surgió el trabajo publicado en *Nature* sobre neutralización de dichos extractos, en que me hizo el honor de colocarme como segundo coautor<sup>98</sup> (“**Werner SC, Otero-Ruiz E, Seegal B, Bates RW. Neutralization of human serum and pituitary thyrotropic fractions with antisera to bovine thyrotropin. *Nature* 1960;185:472-3**”), y que ha merecido posteriormente, a la luz de los modernos conceptos inmunológicos, el artículo de Alberto Gómez<sup>99</sup> que se transcribe a continuación (en el artículo publicado al año siguiente con Seegal y Osserman<sup>100</sup> también me da el reconocimiento, como puede verse en la Figura 2, aunque para ese entonces yo ya me había trasladado a la Universidad de California, en Berkeley).

He creído importante transcribir estas reminiscencias, pues hacen parte del sudor y esfuerzo que muchos colombianos hemos brindado para

contribuir con nuestro grano de arena a investigaciones que, en la segunda mitad del siglo XX, transformaron y dieron nueva luz al pensamiento inmunológico.

### Agradecimientos

Queremos agradecerle al doctor Antonio Iglesias Rodríguez por el enorme esfuerzo de conseguir la mayoría de los artículos citados y especialmente la información publicada por el Dr. Arthur M. Silverstein, the Wilmer Institute and The Institute of the History of Medicine, The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland, quien nos ayudó a una interpretación de los diferentes hechos históricos y lograr conectarlos como aparece en este informe.

### Referencias

- Willis T. *De Anima Brutorum*. Oxford, England: Theatro Sheldoniano. 1672:404-6.
- Samuel Pordage. En: *The London Practice of Physick*. Ondon, England. 1683.
- Guthrie L. Myasthenia Gravis in the seventeenth century. *Lancet* 1903;1:312-352.
- Wilks S. Cerebritis, hysteria and bulbar paralysis as illustrative of arrest of function of the cerebrospinal centres. *Guy's Hospital Report* 1877;22:7-55.
- Erb W. Zur casuistik der bulbaren lahmungen. (3) Ueber einen neuen, wahrscheinlie bulbaren symptomencomplex. *Archiv fur Psychiatrie und Nerven krankheiten* 1879;9:336-350.
- Openheim H. Ueber einen fall von chrnischer progressive bulbar paralyse ohne anatomischen befund. *Virchows Arch Fur Pathologische Anatomie und Physiologie* 1887;180:522-530.
- Eisen lohr C. Ein fall von ophthalmoplegia externa progresssive und finales bulbarparlyse mit negativen sections-befund. *Neurol Centralbl* 1887;6:337-390.
- Shaw L. A case of bulbar paralysis without structural changes in the medula. *Brain* 1890;13:96-8.
- Burdet FM, Fenner F. *The production of antibodies*. Macmillan (Melbourne) 1949.
- Dale HH, Fedlberg W, Vogt M. Release of acetylcholine at voluntary motor nerendings. *J Physiol* 1936;86:353-380.
- Elliot TK. The inertion of the blader and urethra. *J Physiol* 1907;35:367-445.
- Harvey AM, Masland RL. The electromyogram in Myasthenia gravis. *Bulletin of the Johns Hopkins Hospital* 1941;69:1-13.
- Simpson JA. Myasthenia Gravis: a new hyphotesis. *Scott Med J* 1960;4:419-436.
- Patrick J, Lindstrom J. Autoimmune response to acetylcholina receptor. *Science* 1973;180:871-872.
- Dighiero G. [Apparently opposite postulates of Ehrlich (Horror autotoxicus) and Metchnikoff (physiological autoimmunization) are not irreconcilable]. *Bull Acad Natl Med* 1999;183:1153-1163.
- Ehrlich P, Morgenroth J. III Ueber Haemolysine: Zwerte Mittheilung. *Berl. Klin. Wschr* 1900;36:481-486.
- Ehrlich P, Morgenroth J, Mittheilung F. Ueber Haemolysine: Zweite Mittheilung *Berl. Klin Wschr* 1900;36:481-480.
- Del Guercio P. The self and the nonself: Immunorecognition and immunologic functions. *Immunol Res* 1993;12:168-182.
- Donath J, Lansteiner K. Donath-Lansteiner antibodies. <http://www.whonamedit.com/synd.cfm/3364.html> Landsteiner K. [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1930/landsteiner-bio.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1930/landsteiner-bio.html)
- Schwartz RS. Autoimmune folate deficiency and the rise and fall of "Horror autotoxicus". *N Eng J Med* 2005;352:1948-1950.
- Silverstein AM. Autoimmunity versus horror autotoxicus, the struggle for recognition. *Nat Immunol* 2001;2:279-281.
- Silverstein AM. The dynamics of conceptual change in twentieth century immunology. *Cell Immunol* 1991;132:515-531.
- Silverstein AM. Autoimmunity: A history of the early struggle for recognition in: Rose N, Mackay I. *The autoimmune diseases*. 4th edition, Elsevier INC 2006 Chapter one, pp. 3-11.
- Santucci S. *Cittossine*. *Riv. Ital Oftal Roma* 1906;2:213.
- Elschnig A. Studien zur sympatischen ophtalmie. *Von Graefes. Arch Ophthalmol* 1910;75:459-474.
- Woods AC, Jomas S. Friedenwald: In *Memoriam Bull Johns Hopkins Hosp* 1956;99:23.
- Patz A, Jonas S. Friedenwald, Man of Science. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1980;19:1139-1149.
- Rose NR, Witebsky E. Studies on organ specificity. V. Changes in the thyroid glands of rabbits following active immunization with rabbit thyroid extracts. *J Immunol* 1956;76:417-427.
- Witebsky E, Rose NR, et al. Chronic thyroiditis and autoimmunization. *JAMA* 1957;164:1439.
- Doniach D, Roitt I. Autoimmunity in Hashimoto's disease and its implications. *J Clin Endocrinol Metab* 1957;17:1293.
- Doniach D, et al. Human autoimmune thyroiditis, clinical studies. *BMJ* 1960;1:365.
- Fulthorpe AJ, Roitt IM, Doniach D, Couchman K. A stable sheep cell preparation for detecting thyroglobulin auto-antibodies and its clinical applications. *J Clin Pathol* 1961;14:654.
- Rose NR. *Current Contents*. Febrero 11, 1991.
- Fehervari Z, Sakaguchi S. Regulación de la autoinmunidad. *Invest Ciencia* 2006;363.
- Mechnikov I. On the present stare of the question of immunity in infectious diseases. Nobel lecture, December 11, 1908. [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1908/mechnikov-lecture.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1908/mechnikov-lecture.html).
- Addison T. On the constitutional and local effects of disease of the supra-renal capsules. 1855. En *The real Addison's disease*. [www.wehner.org](http://www.wehner.org).
- Jácome A. *Historia de las Hormonas*. Academia Nacional de Medicina. Prismagraf. 2008.

38. Takami HE, et al. Hashimoto's thyroiditis. *World J Surg* 2008;32(5):688-69.
39. Hashimoto H. Zur Kenntnis der lymphomatösen Veränderung der Schilddrüse (Struma lymphomatosa). *Archiv für klinische Chirurgie*, Berlin, 1912;97:219-248 (citado en [www.en.wikipedia.org/wiki/Hashimoto's\\_thyroiditis](http://www.en.wikipedia.org/wiki/Hashimoto's_thyroiditis)).
40. De Groot L, et al. Hashimoto's thyroiditis, a genetically conditioned disease. *N Eng J Med* 1962;261:267.
41. Hall R, Owen SG, Smart GA. Evidence for genetic predisposition to formation of thyroid autoantibodies. *Lancet* 1960;2:187.
42. Betterle C, Greggio NA, Volpato M. Autoimmune polyglandular syndrome type I. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1049-55.
43. Betterle C, Dal Pra C, Mantero F, Zanchetta R. Autoimmune adrenal insufficiency and autoimmune polyendocrine syndromes: autoantibodies, autoantigens, and their applicability in diagnosis and disease prediction. *Endocr Rev* 2002;23:327-364.
44. Boyden SV. Adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera. *J Exper Med* 1951;93:107.
45. Doniach D, Hudson RV, Roitt IM. Human autoimmune thyroiditis, clinical studies. *BMJ* 1960;1:365.
46. Milgrom F. Obituary, Ernest Witebsky (1901-1969). *Blood* 1970;35:869-870.
47. Mackay IR. The "Autoimmune diseases" 4th anniversary. *Autoimmunity Reviews* 2002;1:5-11.
48. Rose NR. The discovery of thyroid autoimmunity. *Immunology Today* 1991;12:167-169.
49. Freund J, Stern ER, Pisani TM. Isoallergic encephalomyelitis and radiculitis in guinea pigs after one injection of brain and mycobacteria in water in oil emulsion. *J Immunology* 1947;57:179-194.
50. Witebsky E. Die serologische analyse von zellen und gewebe. *Die naturwissenschaften* 1929;40:771-776.
51. Rose NR, Bona C. Defining criteria for autoimmune diseases (Witebsky's postulates revisited) *Immunol Today*. 1993;14:426-430.
52. Witebsky E, Rose NR, Terplan K, Paine JR, Egan RW. Chronic thyroiditis and autoimmunization. *JAMA* 1957;164:1439-1447.
53. Irvine WJ, McGregor AG, Stuart AE, Hall GH. Hashimoto's disease in uniovular twins. *Lancet* 1961;2:850.
54. Burnet FM. Immunological recognition of self. Nobel Lecture, December 1960. [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1960/burnet-lecture.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1960/burnet-lecture.html)
55. Becker KL, Fergusson RH, McConahey WM. The connective-tissue diseases and symptoms associated with Hashimoto's thyroiditis. *N Eng J Med* 1963;263: 277.
56. Jácome-Roca A, Mesa Arévalo A. Autoanticuerpos a la tiroglobulina en tiroidopatías. *Univ Med* 1964;6:43-50.
57. Bazzichi L, Rossi A, et al. Association between thyroid autoimmunity and fibromyalgic disease severity. *Clin Rheumatol*. 2007;26:2115-2120.
58. Rivers TM, Sprunt DH, Berry GP. Observations on attempts to produce acute disseminated encephalomyelitis in monkeys. *J Exp Med* 1933;58:39-54.
59. Mackay IR, Taft LI, Cowling DC. Lupoid hepatitis *Lancet* 1956;2:1323-1326.
60. Iglesias-Gamarra A. Historia del Lupus. 1era Edición Bogotá, 2003, Panamericana Formas e impresos, pp. 405-407.
61. Barker MH, Capps FB, Allen FW. Chronic hepatitis in the Mediterranean theatre. *JAMA* 1943;129:653.
62. Wood IJ, King WE, Parsons PJ, et al. Non-suppurative hepatitis: A study of acute and chronic forms with special reference to biochemical and histological changes. *Med J Aust* 1948;11:249.
63. Waldenstrom J. Leber. Blutproteine und Nahrungseiweiss. *Dtsch Gesellschaft Verdauungs Stoffwechselkrankheiten* 1950;15:113.
64. Kunkel HG, Ahrens JR, Eisenmenger WJ, Bongiovanni AM, Slater RJ. Extreme hypergammaglobulinemia in young women with liver disease of unknown etiology. *J Clin Invest* 1951;30:654.
65. Mackay IR, Tait BD. The history of autoimmune hepatitis pp 3-23. In Nishioka M, Toda G, Zeniya M (eds): *Autoimmune hepatitis*. Elsevier, Amsterdam, 1994.
66. Mackay IR, Gajdusek DC. An "autoimmune" reaction against human tissue antigens in certain acute and chronic diseases. II. Clinical correlations. *Arch Intern Med* 1958;101:30.
67. Joske RA, King WE. The LE cell phenomenon in active chronic viral hepatitis *LANCET* 1955;2:477.
68. Mackay IR, Weiden S, Hasker J. Autoimmune hepatitis. *Ann Ny Acad Sci* 1965;124:767.
69. Bearn AG, Kunkel HG, Slater RJ. The problem of chronic liver disease in young women. *Am J Med* 1956;21:3.
70. Krook H. Liver cirrhosis in patients with a lupus erythematosus-like syndrome. *Acta Med Scand* 1961;169:713.
71. Robson MD. Systemic lupus erythematosus complicating chronic liver disease. *Guy's Hosp Rep* 1959; 108:438.
72. Applebaum JJ, Job H, Kern F. Hepatitis associated with disseminated lupus erythematosus. *Gastroenterology* 1961;40:766.
73. Read AE, Sherlock S, Harrison CV. Active juvenile cirrhosis as part of a systemic disease and the effect of corticosteroid therapy. *Gut* 1963;4:478.
74. Miescher PA, Braveman A, Amorosi E. Progressive hypergammaglobulinaemic hepatitis. *Dtsch Med Wrschr* 1966;91:1525.
75. Reynolds TB, Edmondson HA, Peters RL, Fedeker A. Lupoid hepatitis. *Ann Intern Med* 1964;61:650.
76. Soloway RD, Summerskill DM, Baggenstoss AH, Shoenfeld LJ. "Lupoid" hepatitis, a non-entity in the spectrum of chronic active liver disease. *Gastroenterology* 1975;63:458.
77. Leevy CM, Popper H, Sherlock S. Diseases of the liver and biliary tract. Standardization of nomenclature, diagnostic criteria and diagnostic methodology. Fogarty International Centre Proceedings No. 22, DHEW Publication No. (NIH) 76-725. U.S. Government Printing Office, Washington DC.

78. Mackay IR. Pathogenesis of autoimmune chronic hepatitis. In Krawitt EL, Wiesner R (eds): Autoimmune liver diseases. Raven Press, New York, 1991;21-42.
79. Johnson PJ, McFarlane IG. Meeting report: International Autoimmune Hepatitis Group. *Hepatology* 1993;18:998.
80. Hodges JR, Millward Sadler GH, Wright R. Chronic active hepatitis: the spectrum of disease. *Lancet* 1982;1:550.
81. Mackay IR. Autoimmune diseases of the liver. In Rose NR, Mackay IR (eds): The autoimmune diseases. Academic Press, Orlando FL, 1985;291-337.
82. Mackay IR. Hepatic disease and systemic lupus erythematosus: coincidence or convergence. In systemic lupus erythematosus. Edited by Robert G Lahita, third Edition. Academic Press 1999;747-763.
83. International Hepatology Informatics Group. Diseases of the liver and biliary tract. In Leevy CM, Sherlock S, Tygstrup N, Zetterman R (eds). Standardization of Nomenclature, Diagnostic Criteria and Prognosis. Raven Press, New York, 1994;57-58.
84. International Working Party. Terminology of chronic hepatitis. *Am J Gastroenterol* 1995;90:181.
85. Rizzeto M, Swana G, Doniach D. Characterization of the microsomal antigen related to a subclass of active chronic hepatitis. *Immunology* 1974;26:589.
86. Homberg JC, Abuaf N, Bernard O, et al. Chronic active hepatitis with antiliver / kidney microsome antibody type 1: A second type of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1987;7:1333.
87. Mackay IR. Towards diagnostic criteria for autoimmune hepatitis. *Hepatology* 1993;18:1006.
88. Tonaka E, Kiyosawa K, Seki T, et al. Low prevalence of hepatitis C infection in patients with autoimmune hepatitis type I. *J Gastroenterol Hepatol* 1993;8:443.
89. Gregorio GV, Portman B, Reid F, et al. Autoimmune hepatitis in childhood: a 20 years experience. *Hepatology* 1997;25:541.
90. Waxman DJ, Lapenson DP, Krishnan M, et al. Antibodies to liver / kidney microsome in chronic active hepatitis recognize specific forms of hepatic cytochrome p-450. *Gastroenterology* 1988;95:1326.
91. Manns MP, Johnson EF, Griffen KJ, Tan EM, Sullivan KF. Major antigen of liver kidney microsomal autoantibodies in idiopathic autoimmune hepatitis is cytochrome p.450db. *J Clin Invest* 1989;83:1066.
92. Werner SC. The Thyroid, a fundamental and clinical text. Harper Publ. New York, 1955.
93. Werner SC, Spooner M. A new and simple test for hyperthyroidism employing L-triiodothyronine and the twenty-four hour I-131 uptake method. *Bull. NY Acad Med* 1955;31:137-145.
94. Adams DD, Purves HD. A new method of assay for thyrotropic hormone. *Endocrinology* 1955;57:17-24.
95. McKenzie JM. The bioassay of thyrotropin in serum. *Endocrinology* 1958;63:372-381.
96. Otero-Ruiz E. La medicina nuclear. Temprana historia y reminiscencias personales. Ed. Kimpres, Bogotá, 2002.
97. Furth J, Haran-Ghera N, Oullar P. Induction of thyrotropin dependent thyroid tumors by thyrotropes. *Endocrinology* 1960;66:694-701.
98. Werner SC, Otero-Ruiz E, Seegal B, Bates RW. Neutralization of human serum and pituitary thyrotropic fractions with antisera to bovine thyrotropin. *Nature* 1960;185:472-473.
99. Gómez-Gutiérrez A. Investigación médica colombiana. *Acta Med Col* 2002; 27(6):441-443.
100. Werner SC, Seegal BC, Osserman EF. Immunologic and biologic characterization of antisera to beef thyrotropin preparations. *J Clin Invest* 1961;40(1):92-104.