



**CONCEITO CORRENTE DE IMUNOPATOLOGIA NAS  
DOENÇAS ENDÓCRINAS**

*LÍCIO MARQUES DE ASSIS, WILIAN NICOLAU, RÔMULO RIBEIRO  
PIERONI e ANTONIO BARROS DE ULHÔA CINTRA*

**INFORMAÇÕES IEA N.º**  
Dezembro — 1969

**16**

**INSTITUTO DE ENERGIA ATÔMICA**  
Caixa Postal 11049 (Pinheiros)  
CIDADE UNIVERSITÁRIA "ARMANDO DE SALLES OLIVEIRA"  
SÃO PAULO — BRASIL

CONCEITO CORRENTE DE IMUNOPATOLOGIA NAS DOENÇAS ENDÓCRINAS\*

Lício Marques de Assis,  
Wiliam Nicolau  
Rômulo Ribeiro Pieroni  
Antonio Barros de Ulhôa Cintra

Divisão de Radiobiologia  
Instituto de Energia Atômica  
São Paulo - Brasil

Informações IEA Nº 16  
dezembro 1969

Comissão Nacional de Energia Nuclear

Presidente: Prof.Dr.Hervásio Guimarães de Carvalho

Universidade de São Paulo

Reitor: Prof.Dr. Miguel Reale

Instituto de Energia Atômica

Diretor: Prof.Dr. Rômulo Ribeiro Pieroni

Conselho Técnico-Científico do IEA

Prof.Dr. José Moura Gonçalves	}	pela USP
Prof.Dr. José Augusto Martins		
Prof.Dr. Rui Ribeiro Franco		
Prof.Dr. Theodoreto H.I. de Arruda Souto		
		pela CNEN

Divisões Didático-Científicas

Divisão de Física Nuclear -  
Chefe: Prof.Dr. José Goldenberg

Divisão de Radioquímica -  
Chefe: Prof.Dr. Fausto Walter de Lima

Divisão de Radiobiologia -  
Chefe: Prof.Dr. Rômulo Ribeiro Pieroni

Divisão de Metalurgia Nuclear -  
Chefe: Prof.Dr. Tharcísio D.S. Santos

Divisão de Engenharia Química -  
Chefe: Lic. Alcídio Abrão

Divisão de Engenharia Nuclear -  
Chefe: Engº Pedro Bento de Camargo

Divisão de Operação e Manutenção de Reatores -  
Chefe: Engº Azor Camargo Penteado Filho

Divisão de Física de Reatores -  
Chefe: Prof.Dr. Paulo Saraiva de Toledo

Divisão de Ensino e Formação -  
Chefe: Prof.Dr. Rui Ribeiro Franco

# CONCEITO CORRENTE DE IMUNOPATOLOGIA NAS DOENÇAS ENDÓCRINAS<sup>1</sup>

Lício Marques de Assis\*

Wiliam Nicolau\*\*

Rômulo Ribeiro Pieroni\*\*\*

Antonio Barros de Ulhõa Cintra\*\*\*\*

O endocrinologista enfrenta duas eventualidades bem distintas que exigem conhecimento, pelo menos elementar, dos processos imunobiológicos, para a sua compreensão:

1a.) a possível existência de autoimunidade com relação aos tecidos endócrinos e, portanto, a provável existência de síndromes endócrinas desencadeadas por componentes próprios dos tecidos glandulares e por mecanismo auto-imune;

2a.) o eventual aparecimento de resistência a tratamento hormonal de condições endócrinas, em fase da presença de determinantes antigênicos no produto hormonal utilizado.

Para a interpretação de ambas estas eventualidades, lembremos, sumariamente, algumas noções fundamentais e gerais do processo imunológico.

A base do processo imunológico é representada pela interação entre antígeno e anticorpo, com formação do complexo "antígeno-anticorpo". As definições de antígeno e anticorpo são tautológicas, um sendo definido em função do outro.

Antígeno é toda substância que, surgindo nos fluidos or

---

1. Concept courant d'immunopathologie dans les maladies endocrines/Current concept of immunopathology in endocrine diseases.  
\* Méd. do Hosp. das Clín. da Univ. de S. Paulo e pesq. do Inst. de En. Atôm. de S. Paulo.  
\*\* Méd. do Hosp. das Clín. da Univ. de S. Paulo e do Inst. de En. Atôm. de S. Paulo.  
\*\*\* Chefe da Div. de Radiobiol. do Inst. de En. Atôm. de S. Paulo.  
\*\*\*\* Prof. de Med. da Univ. de S. Paulo.

gânicos de um animal, é capaz de determinar nele o aparecimento de outra substância, chamada anticorpo, e, com a qual, é capaz de interagir de forma específica, para formar o complexo molecular antígeno-anticorpo.

O antígeno é representado por substâncias protéicas ou polissacáridos, de massa molecular suficientemente grande. Na verdade, para que uma proteína atue como antígeno, é preciso que contenha pelo menos um grupo químico ou haptênico não presente em nenhuma das moléculas protéicas normalmente existentes no fluido extracelular. Não se sabe ao certo por que razão o sistema celular incumbido da fabricação dos anticorpos está plenamente capacitado para distinguir proteína própria de proteína estranha. Ora, sendo as moléculas protéicas tridimensionais, podemos compreender que a probabilidade da presença de áreas ativas ou antigênicas será tanto maior, e tanto maior o poder antigênico da molécula, quanto maior a sua massa. Mas, no organismo existem substâncias que normalmente nunca têm oportunidade de entrar em contato com o sistema celular responsável pela fabricação de anticorpos. São substâncias que, desde o início de sua síntese, na fase embrionária ou fetal ou após o nascimento, mantêm-se segregadas dentro dos órgãos e, em condições normais, nunca terão possibilidade de entrar em contato com as células produtoras de anticorpos. Por isso são potencialmente antigênicas. É o que ocorre, por exemplo, com a tireoglobulina, para a qual o organismo não desenvolve tolerância imunológica. Se, eventualmente, esta proteína vem a invadir o fluido extracelular e cair na circulação, poderá estimular o sistema imunológico, tal como se fôsse uma proteína estranha, embora, na realidade, seja componente próprio do organismo. Para distinguir-se êstes dois grupos de substâncias próprias, usam-se os têrmos "acessível" e "inacessível".

Com relação aos anticorpos, basta lembrar que êles são gamaglobulinas.

As células produtoras de anticorpos são, principalmente,

as células plasmáticas, cuja estrutura é muito semelhante à das células que têm por função elaborar proteínas, como as células das glândulas exócrinas. Entretanto, os linfócitos, que pela sua estrutura íntima não estão bem preparados para a síntese protéica, parecem desempenhar papel mais importante que os anticorpos circulantes, especialmente em certos tipos de reações imunológicas que se traduzem por marcada reação celular. É o que ocorre nas hipersensibilidades de tipo tardio, onde a reação celular parece ser mais importante que os anticorpos circulantes, na patogenia da lesão local.

Quanto à reação do antígeno com o anticorpo, devemos lembrar que ela é específica, relativamente firme, reversível, e a combinação se processa em proporções muito variáveis, de acordo com as concentrações relativas de ambos.

Geralmente, mas nem sempre, a combinação do antígeno com o anticorpo forma um complexo útil, isto é, de proteção biológica. Fala-se, então, que a presença do anticorpo confere imunidade. É por esta forma que o organismo se defende contra a sua invasão por material estranho, inerte ou vivo, neutralizando toxina ou vírus, lisando germes ou enfraquecendo cápsulas bacterianas e facilitando sua fagocitose. Às vezes, entretanto, a produção do complexo antígeno-anticorpo é responsável por situações desagradáveis, que podem, inclusive, levar à morte. Fala-se, então, em hipersensibilidade, que seria um processo oposto ao da imunidade.

Com estas noções, será lógico deduzir que, para um organismo oferecer resposta imunológica normal, há necessidade de que seu sistema imunológico, vale dizer, as suas células imunológicas, sejam normais e, inclusive, capazes de distinguir as substâncias próprias acessíveis das substâncias estranhas; é necessário também que, por toda a vida do indivíduo, nenhum componente inacessível, potencialmente antigênico, abandone seu estado de segregação e venha a surgir no fluido extracelular.

Pode-se, então, teoricamente, induzir que uma doença imunológica, ou imunopatia, poderá resultar<sup>(20)</sup>:

1º) de defeitos de desenvolvimento das células imunológicas, de tal sorte que nenhuma ou pouca gamaglobulina venha a ser produzida nas condições normais ou de solicitação do sistema - agama ou hipogamaglobulinemia;

2º) de neoplasias do sistema imunológico, com síntese de gamaglobulinas anômalas - mieloma múltiplo e macrogamaglobulinemia;

3º) de uma alteração funcional do sistema imunológico, de tal sorte que esse sistema passe a apresentar "reatividade anormal" a antígenos, que habitualmente todos os organismos tendem a enfrentar - hipersensibilidade ou alergia;

4º) do aparecimento de uma imunorresponsividade contra as substâncias acessíveis (anomalia funcional das células imunológicas) ou inacessíveis do próprio organismo - são as doenças auto-ímmunes.

Portanto, nas doenças auto-ímmunes, que representam uma condição anormal, onde aparece uma resposta imunológica contra componentes acessíveis ou inacessíveis do próprio organismo, o complexo antígeno-anticorpo produzido deixa de se constituir em "proteção biológica" e passa a ter papel patogênico. Por terem mecanismo patogênico comum, devem exibir, teoricamente, características gerais mais ou menos semelhantes e que devem aparecer também nas doenças auto-ímmunes experimentais. Estas características, que realmente existem, são observadas de forma parcial ou global nas doenças auto-ímmunes humanas e nas correspondentes experimentais e, pelo menos, em um dos seus estádios evolutivos:

I - Aumento das gamaglobulinas plasmáticas.

II - Demonstração de anticorpos contra componentes do pró  
prio organismo (auto-anticorpos).

III - Infiltração por células linfóides (mononucleares)  
dos tecidos lesados pelo processo auto-imune.

IV - Possibilidade da coexistência num mesmo indivíduo  
de mais de um quadro de manifestações de auto-imuni-  
dade.

V - Efeito benéfico, transitório, duradouro e mesmo per-  
manente dos glicocorticóides. Este efeito, às vezes,  
é tão marcante que a resposta terapêutica de uma condição suposta-  
mente de caráter auto-imune aos corticóides tem sido usada como  
um teste diagnóstico para definir a base imunológica dessa condi-  
ção.

No campo da endocrinologia, a condição clínica que mais  
se aproxima das doenças auto-imunes, pelas suas características  
gerais e pela frequência e alto título de anticorpos, é a tireoi-  
dite linfadenóide ou doença de Hashimoto<sup>(16)</sup>. Nesta condição, é  
possível demonstrar no sangue circulante de mais de 90% dos casos  
a presença de 3 tipos principais de auto-anticorpos: contra a ti-  
reoglobulina<sup>(13,24,25,26,33)</sup> contra antígeno de colóide diferente  
da tireoglobulina<sup>(7,22)</sup> e contra antígeno celular localizado, es-  
pecialmente, na fração microssômica<sup>(4,8,34)</sup>. Isto faz supor que,  
depois de uma lesão inicial da tireóide, por um mecanismo inespe-  
cífico (traumatismo cirúrgico, radiação infecção a vírus etc.),  
têm acesso à circulação diferentes tipos de antígenos provenien-  
tes do colóide e das células epiteliais. Do ponto de vista anato-  
mopatológico, as lesões encontradas no Hashimoto são, essencia-  
mente aquelas próprias das lesões de autoimunidade: infiltração di-  
fusa por mononucleares e aparecimentos de folículos linfóides com  
centros germinativos<sup>(17)</sup>. Lesões semelhantes são encontradas na

tireoidite auto-imune experimental<sup>(30)</sup>.

Apesar de exibir tôdas as características de doença auto-imune, há ainda muitos pontos obscuros relativamente ao mecanismo patogênico de autodestruição da glândula<sup>(16,27)</sup>. Lembramos, por exemplo, que o complexo antígeno-anticorpo não tem significado patogênico em si, já que não existe correlação entre título de anticorpo e grau de lesão e não foi ainda possível provocar lesão com a transferência passiva do anticorpo na tireoidite experimental<sup>(27)</sup>. Não se sabe o que é patogênicamente mais importante na produção da lesão do tecido glandular: se as células linfoplasmocitárias que, para alguns autores, surgem na tireóide induzidas pelo extravasamento local dos antígenos e seriam os elementos agressivos diretos dos ácinos tireoideanos; ou se o complexo antígeno-anticorpo circulante formado como consequência daqueles antígenos. Não se sabe mesmo se este complexo teria uma ação patogênica direta sobre o tecido tireoideano, ou se sua ação seria indireta e mediada por um fator citotóxico que tem sido descrito ultimamente no sôro de Hashimoto. Parece, entretanto, fora de dúvida que é indispensável a existência de uma predisposição individual, pela qual a tireóide é mais suscetível à ação do complexo, ou o sistema imunológico mais reativo em face dos antígenos celulares.

De 1953 para cá, tem-se conseguido obter, com as características gerais das doenças auto-imunes, lesões do testículo, semelhantes àquelas da tireoidite de Hashimoto: infiltrações linfoplasmocitárias e destruição de túbulos seminíferos<sup>(15,20,37)</sup>. Isto foi conseguido com a preparação de auto-anticorpos com antígenos testiculares. Estas experiências levaram à sugestão de que mecanismos auto-imunológicos poderiam ser os responsáveis pela aplasia das células germinativas em pacientes com azospermia. Uma doença auto-imune seria, portanto, o fator etiológico de muitos casos de esterilidade. Entretanto, a pesquisa de auto-anticorpo nessa condição endócrina somente tem sido positiva num número extremamente pequeno de casos, insuficiente para definir a aplasia

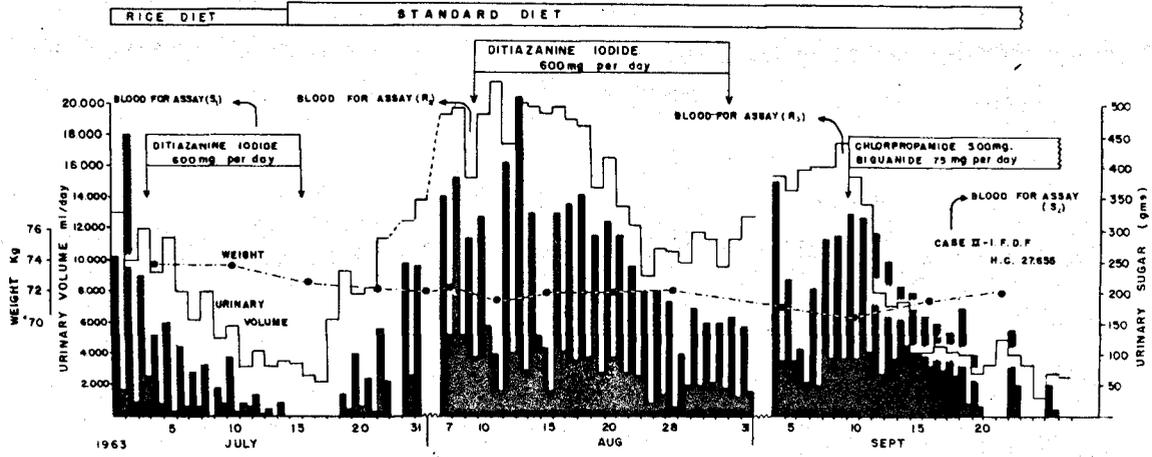


Fig. 1 - Mostra a evolução da diurese e glicosúria de 24 horas, em diabética portadora de resistência à insulina, sob dieta de arroz e dieta geral. Notar a queda acentuada do volume urinário e da glicosúria, coincidente com a administração de iodeto de ditiazanina e de clorpropamida-biguânida. O soro R<sub>1</sub>, a que se refere a fig. 2, foi colhido em 7/6/63 (não representado na presente figura) durante a fase de resistência. Tal soro revelou a presença de anticorpo anti-insulina. O soro S<sub>1</sub>, a que se refere a fig. 4, colhido na fase de desaparecimento da resistência, não revelou presença de anticorpos circulantes (trabalho a ser publicado).

<sup>131</sup>I - INSULIN + SERUM FROM RESISTANT PHASE (R<sub>1</sub> - 6/7/63)

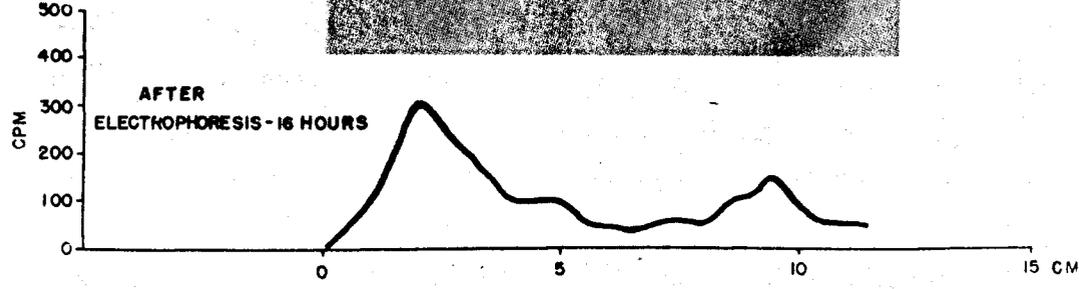
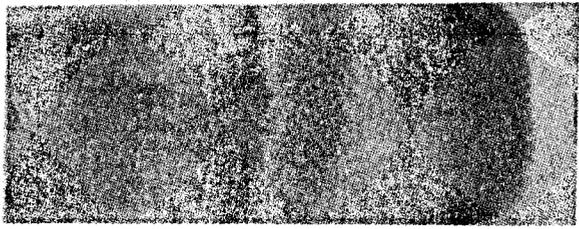
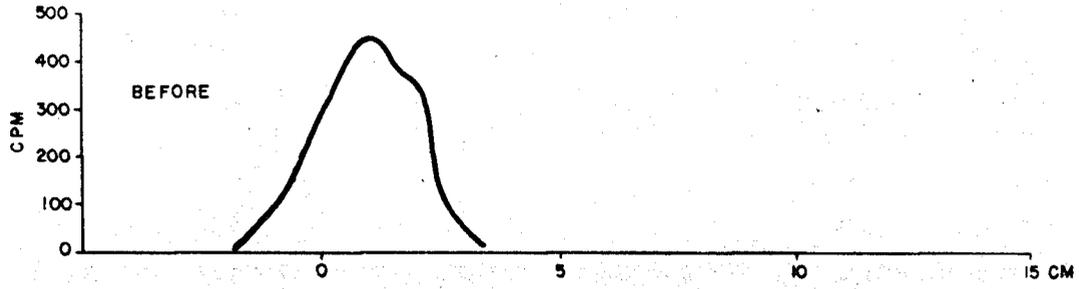


Fig. 2 - O pico de atividade, na eletroforese de papel, situa-se, predominantemente, ao nível das gamaglobulinas. Comparar com o controle (fig. 3), onde o pico de atividade fixou-se, predominantemente, em correspondência das alfa-1-globulinas (trabalho a ser publicado).

germinativa como processo auto-imunológico<sup>(31)</sup>. Raciocínio análogo foi empregado para explicar certos casos de doença de Addison, caracterizados por atrofia bilateral das supra-renais, desde que foi possível a obtenção de uma "adrenalite auto-imune" com o uso de extrato adrenal<sup>(12,32)</sup>. A possibilidade da doença supra-renal auto-imune foi reforçada pela demonstração de Anderson<sup>(5)</sup> e outros AA.<sup>(21)</sup>, da presença de auto-anticorpo contra extrato supra-renal em casos de doença de Addison idiopática e inclusive em paciente com associação de tireoidite de Hashimoto e insuficiência supra-renal primária<sup>(32)</sup>.

Muito recentemente, tem-se suposto que o hormônio estimulador lento da tireóide, a cuja presença se atribui a tireotoxicose do Graves, seria conseqüente a um processo auto-imunobiológico<sup>(1,2,3,18,23)</sup>. Mas há necessidade ainda de muito trabalho de investigação para que se possa ter uma conceituação bem definida para a auto-imunidade, não apenas no campo da endocrinologia, como em toda patologia humana.

Outra situação, encontrada pelo endocrinologista e ligada a processo imunobiológico, é a resistência adquirida por um paciente a hormônio usado na terapêutica substitutiva de uma condição endócrina<sup>(11,29)</sup>. Devemos lembrar inicialmente, que, até o presente, ainda não se demonstrou o aparecimento espontâneo de resistência contra um hormônio endógeno, por mecanismo imunobiológico. O problema a ser tratado diz respeito à possibilidade do aparecimento de resistência contra hormônio exógeno, geralmente administrado com fins terapêuticos. É claro que este problema surge, especialmente, com hormônios de natureza protéica, cujas moléculas são suficientemente grandes para atuarem como antígenos. Quando os hormônios são provenientes de espécies diferentes, isto é, são heterólogos à espécie humana, eles devem ter ações biológicas muito afins ou idênticas. Isto implica em que as porções biologicamente ativas da molécula devem ser muito semelhantes, senão idênticas, às porções ativas da molécula do hormônio humano que se

pretende substituir. Estas porções, teoricamente, não devem atuar como determinantes antigênicos. Portanto, se o restante da molécula for diferente, pelo menos numa de suas porções, os anticorpos contra esse hormônio não irão atuar ou combinar-se com as zonas biologicamente ativas, mas sim contra os determinantes antigênicos. Entretanto, se a combinação efetuar-se numa zona contígua à biologicamente ativa, pode resultar, por uma condição estérica ou espacial, uma neutralização da atividade biológica da molécula hormonal: a molécula do anticorpo como que recobre a área biológica ativa do hormônio e este perde sua atividade<sup>(21)</sup>. Diz-se, então, que o anticorpo é neutralizador ou bloqueador. Pode-se admitir que a neutralização biológica pelo mecanismo imunológico deve ser um fenômeno casual. E, sendo o anticorpo elaborado especificamente contra o determinante antigênico do hormônio estranho (apesar de biologicamente idêntico ou semelhante), não se deve esperar que ele se combine com o hormônio endógeno e, portanto, que o neutralize também.

Iremos tratar aqui apenas do problema da resistência à insulina, por representar condição que, às vezes, mas felizmente de modo raro, pode trazer consequências importantes e sérias para o endocrinologista.

É importante lembrar que os anticorpos bloqueadores não são precipitantes e, por isso, a reação antígeno-anticorpo, ou melhor, insulina-anticorpo in vitro é invisível. Os complexos insulina-gamaglobulina são pequenos, solúveis, específicos e reversíveis. Para que se possa evidenciar a reação entre a insulina e a gamaglobulina anticórpica e estudar qualitativa ou quantitativamente esta reação, pode-se utilizar alguns artifícios, mediante os quais a insulina é firmemente ligada a partícula inertes (eritrócitos tanisados, partículas de látex etc.) ou marcada com um isótopo radioativo, sendo preferentemente escolhido o iôdo.

No caso particular da pesquisa qualitativa de anticorpo

contra insulina exógena, pode-se usar a insulina marcada com o  $^{131}\text{I}$  e incubá-la com sôro onde se presume existir o anticorpo<sup>(9, 10)</sup>. Submete-se depois a amostra a uma eletroforese. Na presença de anticorpo, formar-se-á um complexo insulina-globulina e o pico da atividade irá se localizar na zona gamaglobulinas. Num sôro normal e usando insulinas de baixa atividade específica, a atividade irá se deslocar para a região da albumina ou pré-abumina<sup>(10,19)</sup>; usando insulina de elevada atividade específica (altamente diluída), o pico de atividade se manterá na origem ou próxima dela<sup>(40)</sup>.

Para se saber em que local da fita da eletroforese se localiza o pico de atividade da insulina, e assim conhecer com qual fração das proteínas plasmáticas ela correu, podem-se utilizar 3 processos:

- 1 - Obter o auto-radiograma.
- 2 - Correr a fita em um autoscanner, que registrará automaticamente a atividade das diferentes zonas da fita.
- 3 - Cortar a fita de cm em cm e contá-las separadamente em contador de poço.

A fig. 1 ilustra um caso onde a resistência à insulina pôde ser atribuída à presença de um anticorpo bloqueador. No sôro colhido durante a fase de resistência (fig. 2), verifica-se que o pico da atividade se encontra no nível das gamaglobulinas, enquanto no sôro normal contrôle (fig. 3) a insulina (de baixa atividade específica) moveu-se junto com a albumina. Na fase de desaparecimento da resistência, que coincidiu com a administração de iodeto de ditiazanina para tratamento de estromboloidíase, a insulina moveu-se, como no sôro contrôle, com a fração albumina (fig. 4). Admitiu-se, neste caso, que o anticorpo produzido no organismo pela administração de insulina exógena formou com ela um complexo "insulina-anticorpo" inativo. Provavelmente o iodeto de di

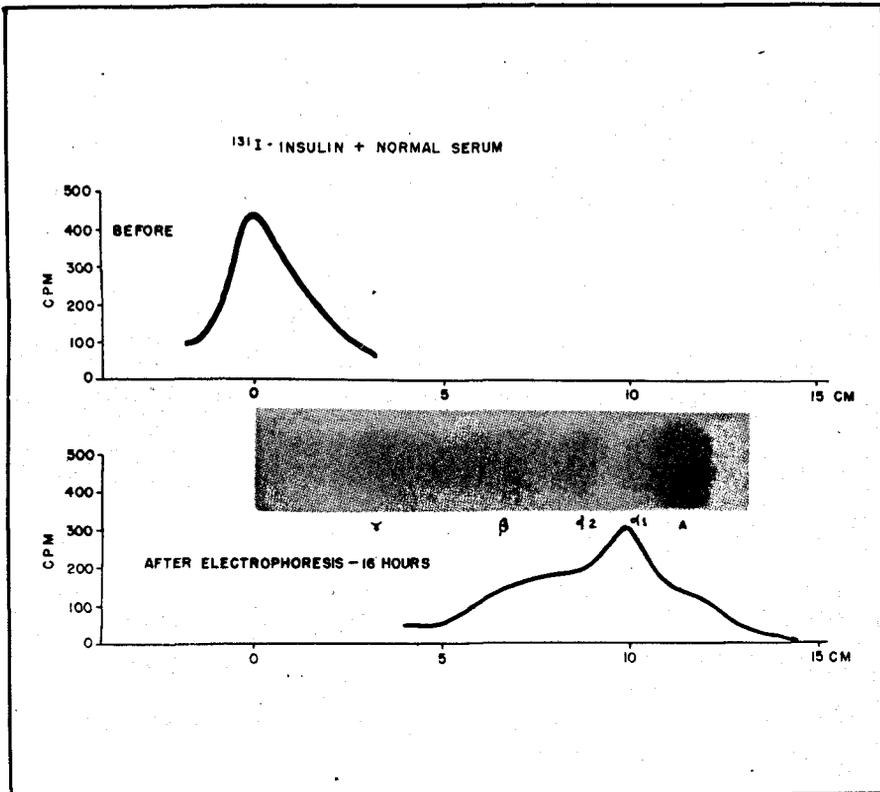


Fig. 3 — Na presença de sôro normal, a insulina radioativa não se complexa com anticorpos (gamaglobulinas), correndo mais rapidamente e fixando-se na zona da albumina, pré-albumina ou alfa-1-globulinas (trabalho a ser publicado).

tiazanina, embora uma substância pouco solúvel, foi capaz, apesar de pouco absorvida, de cindir a ligação antígeno-anticorpo, liberando a insulina, que, em sua forma livre, promoveu rápida compensação do diabetes; no sôro colhido durante esta fase de "não-resistência", a presença de iodeto de ditiazanina impediria a formação do complexo insulina  $^{131}\text{I}$  com o anticorpo e na eletroforese.. ela caminhou, como ocorre no sôro normal, com velocidade igual à da albumina. O efeito do iodeto de ditiazanina pode ser visto na fig. 3. A simples existência de anticorpo no sôro de um paciente tratado com insulina heteróloga não é fator determinante, por si só, do aparecimento do fenômeno da resistência; tem-se demonstrado<sup>(9)</sup> que, com muita frequência, indivíduos que recebem insulina exôgena (diabéticos, psicopatas não diabéticos) apresentam,

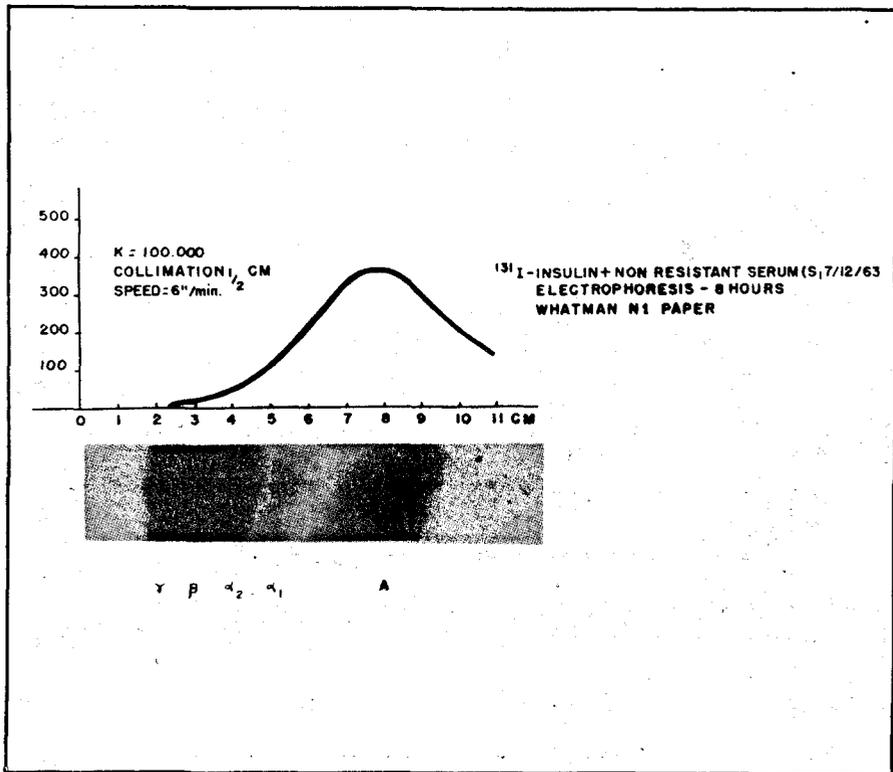


Fig. 4 — Na presença de sêro colhido na fase de desaparecimento da resistênciã (sêro S<sub>1</sub>, 12/7/63, fig. 1), a insulina radioativa deixou de complexar-se com o anticorpo e caminhou na regiãõ da pré-albumina (trabalho a ser publicado).

apõs algum tempo, anticorpos antiinsulínicos sem manifestarem resistênciã. É possível que uma resposta quantitativamente anormal por parte do sistema produtor, com elaboraçãõ de quantidades excessivamente grandes de anticorpo, seja a responsãvel pelo aparecimento do fenômeno da resistênciã. Os motivos pelos quais, dentro da grande massa de indivíduos que recebem tratamento insulínico, raros sãõ os que respondem com essa produçãõ exagerada de anticorpos, sãõ inteiramente desconhecidos.

#### REFERÊNCIAS

1. Adams, D.D.: Pathogenesis of the hyperthyroidism of grave's dis-

- ease, Brit. Med. J. 1: 1.015, 1965.
2. Adams, D.D.: The presence of an abnormal thyroid stimulating hormone in the serum of some thyrotoxic patients, J. Clin. Endocrinol. 18: 699, 1958.
  3. Adams, D.D. & Purves, H.D.: Abnormal responses in the assay of thyrotrophin, Proc. Un. Otago Med. School 34: 11, 1956.
  4. Anderson, J.R., Goudie, R.B. & Gray, K.G.: The "thyrotoxic" complement-fixation reaction, Scot. Med. J. 4: 64, 1959.
  5. Anderson, J.R., Goudie, R.B., Gray, K.G., & Timbury, G.C.: .. Autoantibodies in Addison's disease, Lancet 1: 1.123, 1957.
  6. Assis, L.M., Nicolau, W., Salomon, J.B., Cintra, A.B.U. & Pieroni R.R.: Immunological studies in two cases of insulin - resistant diabetes. Successful corticoid therapy in one case with progressive acidosis without detectable circulating antibodies. Trabalho a ser publicado.
  7. Balfour, B.M., Douniach, D., Roitt, I.M. & Couchman, K.G.:... Fluorescent antibody studies in human thyroiditis: autoantibodies to an antigen of the thyroid colloid distinct from thyroglobulin, Brit. J. Exper. Path. 42: 307, 1961.
  8. Belyavin, G. & Trotter, W.R.: Investigations of thyroid antigens reacting with Hashimoto sera. Evidence for an antigen .. other than thyroglobulin, Lancet 1: 648, 1959.
  9. Berson, S.A., Yallow, R.S., Bauman, A., Rothschild, M.A. & Newerly, K.: Insulin-<sup>131</sup>I metabolism in human subjects: ..... demonstration of insulin binding globulin in the circulation of insulin treated subjects, J. clin. Invest. 35: 170, 1956.
  10. Burrows, B.A., Peters, T. & Lowell, F.C.: Physical binding of

- insulin by gamma-globulins of insulin-resistant subjects, J. Clin. Invest. 36: 393, 1957.
11. Collers, W.S. & Bonawitch: Insulin resistance: report of an unusual case with requirements up to 7.840 units in 24 hours, Metabolism 4: 355, 1955.
  12. Colover, J. & Glynn, L.E.: Experimental iso-immune adrenalites, Immunology 1: 172, 1958.
  13. Douniach, D. & Roitt, I.M.: Autoimmunity is Hashimoto's disease and its implication, J. Clin. Endocrinol. 17: 1.293, 1957.
  14. Field, J.B., Weinberg, A. Johnson, P. & Spont, S.: An unusual case of diabetes mellitus with increased pancreatic production of insulin, J. Clin. Invest. 38: 1.003, 1959.
  15. Freund J., Lipton, M.M. & Thompson, G.E.: Aspermatogenesis in the guinea pig induced by testicular tissue and adjuvants, J. Exp. Med. 97: 711, 1953.
  16. Hall, R.: Immunologic aspects of thyroid function, New Engl. J. of Med. 266: 1.204, 1962.
  17. Hashimoto, H.: Zur Kenntniss der lymphomatösen Veränderung der Schilddrüse (struma lymphomatosa), Arch. Klin. Chir. 97: 219, 1912.
  18. Hoffmann, M.J. & Hetgel, B.S. The clinical significance of plasma thyroid-stimulating activity in hypothyroidism, Australasian Ann. of Med. 15: 204, 1966.
  19. Kallee, E.: Über <sup>131</sup>J-signiertes Insulin II, Klin. Wochschr. 32: 21, 1954.
  20. Katsh, S.: Localication and identification of antispermatogenic factor in guinea pig testide, Int. Arch. Allergy 16: 241,

1960.

21. Mackay, I.R. & Burnet, F.M.: Autoimmune Diseases. Pathogenesis, Chemistry and Therapy, Springfield, Illinois, USA, ... Charles C. Thomas. Publisher, Sec. Printing, 1964.
22. Mackay, I.R. & Perry, B.T.: Autoimmunity in human thyroid disease, Australian Ann. Med. 9: 84, 1960.
23. Mackenzie, J.M.: Review: pathogenesis of graves disease: role of the long acting thyroid stimulator, J. Clin. Endocrinol. 25: 424, 1965.
24. Roitt, I.M., Campbell, P.N. & Douniach, D.: The nature of the gamma-globulins in lymphadenoid goitre, Bioch. J. 69: 248 , 1958.
25. Roitt, I.M. & Douniach, D.: Autoimmunity and disease. Scientific Basis of Medicine, Annual Reviews, 1965, p. 110.
26. Roitt, I.M. & Douniach, D.: Human autoimmune thyroiditis: serological studies, Lancet 2: 1.027, 1958.
27. Roitt, I.M. & Douniach, D.: Mechanism of Tissue Damage in Human and Experimental Autoimmune thyroiditis in Mechanism of Cell and Tissue Damage Produced by Immune Reactions, IIInd Int. Symp. on Immunopathology-Brook Lodge (Michigan, USA), Ed. by Pierre Grabau, Paris and Peter Miescher, N.Y., 1961, pg. 174-183.
28. Roitt, I.M., Douniach, D., Campbell, P.N. & Hudson, R.V.: ... Autoantibodies in Hashimoto's disease (lymphadenoid goitre) , Lancet 2: 820, 1956.
29. Root, H.F.: Insulin resistance and bronze diabetes, N.England J. of Med. 201: 201, 1929.

30. Rose, N.R. & Witebsky, E.: Studies on organ specificity. V. Changes in the thyroid gland of rabbits following active immunization with rabbit thyroid extracts, *J. Immunol.* 76: 417, 1956.
31. Rümke, P. & Hellenga, G.: Autoantibodies against spermatozoa in sterile men, *Am. J. Clin. Path.* 32: 357, 1959.
32. Steiner, J.W., Langer, B., Shatz, D. L. & Volpe, R.: Experimental immunologic adrenal injury. A response to injections of autologous and homologous adrenal antigens in adjuvants, *J. Exp. Med.* 112: 187, 1960.
33. Strauss, A., Mendes, E. & Ulhôa Cintra, A.B.: Anticorpos contra tireóide. Incidência em 1.157 sôros de pacientes do Hospital das Clínicas (São Paulo), *O Hospital* 71: 3, 623, 1963.
34. Trotter, W.R., Belyavin, G. & Waddams, A.: Precipitating and complement-fixing antibodies in Hashimoto's disease, *Proc. Roy. Soc. Med.* 50: 961, 1957.
35. Tucker, W.R., Klink, D., Goetz, F., Zalme, E. & Knowles, H. C.J.: Insulin resistance and acanthosis nigricans, *Diabetes* 13: 395, 1964.
36. Tyler, D.R. & Beigelman, P.M.: Insulin-resistant coma, *Diabetes* 9: 97, 1960.
37. Waksman, B.H.: A histologic study of the auto-allergic testis lesion in the guinea pig, *J. Exper. Med.* 109: 311, 1959.
38. Wayburn, E. & Bechh, W.: Insulin resistance in diabetes mellitus, *J. Clin. Endocrinol.* 2: 511, 1942.
39. Wiener, H.J.: Diabetic coma requiring an unprecedented amount of insulin, *Am. J.M. Sc.* 196: 211, 1938.

40. Yallow, R.S. & Berson, S.A.: Immunoassay of Plasma Insulin ,  
Methods of Biochemical Analysis XII: 68, 1964.