

Henry G Kunkel y el mieloma múltiple

Damián Palafox,* Luis Llorente*

RESUMEN

La historia del estudio del mieloma múltiple se remonta a mediados del siglo XIX con la descripción de los primeros pacientes con la enfermedad. A partir de ese momento sobrevino una revolución en las áreas de la Medicina, Inmunología y Química que trajo consigo el descubrimiento de la estructura de las proteínas, novedosas técnicas de laboratorio y con ello, un hallazgo magistral por Henry Kunkel que cambió radicalmente la concepción que prevalecía sobre la fisiopatogenia del mieloma. El presente trabajo precisa los sucesos que llevaron a dilucidar la estructura química de las proteínas secretadas por células plasmáticas malignas.

Palabras clave: mieloma múltiple, historia, Henry Kunkel, células plasmáticas malignas.

ABSTRACT

Multiple myeloma's history begins in the first half of the XIX century with the description of the first patients with the disease. Since that moment, a veritable revolution took place in the fields of medicine, immunology and chemistry, which brought about the discovery of the proteins' structure, brand new laboratory techniques and a masterly discovery by Henry Kunkel, which radically changed the prevalent conception about myeloma's physiopathogeny. We herein present with detail the events that lead to the elucidation of the chemical structure of malignant plasma cells' secreted proteins.

Key words: Multiple myeloma, history, Henry Kunkel, malignant plasma cells.

No creemos que haya habido, hubiera o fuera a haber una historia del mieloma múltiple en que no se pondere el importante papel que tuvo Henry George Kunkel en la resolución de este complicado acertijo de la Naturaleza. Esta revisión ofrece un breve panorama de los inicios del estudio del mieloma múltiple a mediados del siglo XIX, el surgimiento de la inmunología moderna en el siglo XX y los clarividentes hallazgos de Henry Kunkel sobre las proteínas del mieloma y los anticuerpos.

ANTECEDENTES

Quizá los dos casos más famosos de mieloma múltiple, y a partir de los cuales surgió el interés por investigar la enfermedad, corresponden a una mujer y un hombre durante la quinta década del siglo XIX. En 1844, Samuel Solly publicó, en *Medical and Chirurgical Transactions of London*, las características del padecimiento conocido como "mollities ossium" en dos de sus pacientes; describió con detalle y precisión las manifestaciones clínicas de ambos.¹ Una era Sarah Newbury, una mujer de 39 años de edad. El mismo Solly aseguró que la mujer tenía una apariencia contenta y, salvo por su delgadez extrema, era por demás sana. Sarah refirió pérdida de fuerza desde tres años antes, aunque sólo declaró tener dolores reumáticos particularmente notorios en los pies. El cuadro fue agravándose, a tal grado que sólo lograba sostenerse en pie con su pierna izquierda y caminar asistida. Un día, su marido intentó cargarla desde su sala de chimenea hasta su cama y en ese momento tuvo una sensación tan extremadamente dolorosa, que refirió haber sentido que sus caderas se rompían en mil pedazos. Tres años más tarde, Solly acudió a casa de

* Departamento de Inmunología y Reumatología. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. México, DF.

Correspondencia. Dr. Luis Llorente. Departamento de Inmunología y Reumatología. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Vasco de Quiroga 15. Tlalpan. México 14000, DF. Correo electrónico: luisllorentepeters57@gmail.com
Recibido: mayo 2010, aceptado: Mayo 2010

Este artículo debe citarse como: Palafox D, Llorente L. Henry G. Kunkel y el mieloma múltiple. Rev Hematol Mex 2010;11(3):146-151.

Sarah y reportó que la mujer tenía múltiples alteraciones óseas en la columna, las costillas, las clavículas y el tórax. La paciente fue deteriorándose progresivamente hasta el día de su muerte, la cual se atribuyó a asfixia. Durante la necropsia se realizó el estudio de médula ósea, que evidenció la existencia de una sustancia grumosa color rojo carmesí. Este último hallazgo coincide con el encontrado en Thomas Alexander McBean, un comerciante de 45 años que era tratado desde 1843 por el Dr. Thomas Watson, debido a fatiga que le obligaba a detenerse al caminar e inclinarse hacia el frente para retomar el aire y, además, también tenía poliuria. Dos años más tarde consultó al Dr. Macintyre en Harley Street (desde entonces y hasta ahora la calle más representativa de la medicina privada londinense), quien optó por tomar una muestra de orina que le hizo llegar al prestigioso patólogo y químico Henry Bence-Jones, quien determinó sus características.² Esta muestra poseía alta densidad, era opaca y ante la adición de ácido nítrico producía un precipitado que tenía la peculiar característica de ser capaz de disolverse con el calor y volverse a formar al enfriarse. Finalmente, concluyó que la proteína hallada en la muestra era “deutóxido hidratado de albúmina” y que la cantidad de esa sustancia era proporcional a la cantidad de albúmina en la sangre sana.³ El paciente murió en 1886, extenuado luego de martirizantes jornadas con la enfermedad. La causa de la muerte fue registrada como: atrofia por albuminuria.⁴ Si bien estos casos son ampliamente reconocidos, cabe resaltar el que describiera en 1873 J. von Rustizky, a quien se atribuye el acuñamiento del término mieloma múltiple. Mientras trabajaba en el Instituto del profesor von Recklinghausen, von Rustizky describió en la necropsia de un hombre de 47 años, ocho tumores rojizos y de consistencia suave.⁵ El paciente tenía antecedentes de oftalmoplejia, fracturas y tumores en las costillas, manubrio esternal y vértebras torácicas que protruían hacia el canal medular.

El caso mejor descrito y más famoso de la enfermedad corresponde al reportado por el checo Otto Kahler en 1889.⁶ Fue así que se estableció el epónimo de enfermedad de Kahler (correspondiente a mielomatosis múltiple). Kahler, quien colaborara con Duchenne y Charcot en Francia, describió el caso de un paciente (curiosamente, también médico, el Dr. Loos), quien presentaba constantemente dolor óseo localizado en las costillas, la espina dorsal, los hombros y las clavículas y que se exacerbaba con el ejercicio y con movimientos discretos. Kahler

advirtió, además, características de la orina similares a las encontradas por Bence-Jones. Loos murió ocho años después del inicio de los síntomas. La necropsia reportó la existencia de múltiples tumores de color rojo grisáceo en las costillas y vértebras torácicas, y en células largas y redondeadas, congruentes con mieloma múltiple.

El inicio de la inmunología moderna

En 1890 Emil Behring y Shibasaburo Kitasato descubrieron la seroterapia con suero de conejos inmunizados contra tétanos y difteria.⁷⁰ Un año después, en la noche de Navidad, se efectuó la primera aplicación de la seroterapia a un niño con difteria. Esto le valió a Behring recibir un título nobiliario (el *von* precediendo su apellido) y el primer premio Nobel de Fisiología o Medicina (1901). El experimento de Kitasato y Behring es único en su género por dos razones: 1) mostró que la resistencia a enfermedades microbianas puede ocurrir a través del poder del suero; y 2) demostró la inmunidad pasiva; por ejemplo, la adquisición de resistencia a patógenos mediante la transferencia de esa propiedad proveniente de un donador inmunizado. El experimento, por lo demás, abrió de par en par la puerta a la inmunología moderna, al proveer un sustrato concreto de estudio, que aunque de estructura química aún desconocida, al menos estaba ahí expectante, en la sangre, en el suero. Ese mismo año, el médico Paul Ehrlich llegó a la conclusión de que cuando dos toxinas diferentes (ricina y abrina) se administran a animales de experimentación se originan dos *antikörper* diferentes e introduce así este término –anticuerpo– que continúa utilizándose hasta la fecha.⁸

El mismo Ehrlich, en 1900, presentó ante la Royal Society de Londres su sorprendente teoría de las cadenas laterales, en la que los anticuerpos vienen siendo estructuras proteicas membranales preformadas, que al ser seleccionadas (no inducidas) por el antígeno, aumentan su síntesis vertiéndose en exceso en el suero.⁹ Si bien fue la primera teoría sobre la formación de anticuerpos, ésta tuvo muchos detractores entre sus contemporáneos. Así y todo, Ehrlich obtuvo el premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1908, por sus múltiples aportaciones a la Inmunología.

La Inmunoquímica

Aunque la Inmunología aún se encontraba en sus albores, fue una de las primeras disciplinas biológicas que adquirió formalmente un sólido apoyo en la química. En 1907,

Svante Arrhenius (premio Nobel de Química en 1903) acuñó el término de inmunoquímica para referirse a la unión de la química con la inmunología biomédica, ciencia que perduraría unos 50 años obsesionada por la reacción antígeno-anticuerpo.¹⁰ Arrhenius no estaba del todo de acuerdo con la insistencia de Ehrlich en el contorno molecular y, en cambio, proponía que los antígenos y anticuerpos se combinaban mediante una forma de unión electrostática coloidal. Creía que la unión antígeno-anticuerpo compartía semejanzas con la interacción de ácidos débiles con bases. Este precursor fisicoquímico, cuyos experimentos fueron muy sonados en la época –a pesar de tener fundamentos erróneos– introdujo a la inmunoquímica aspectos termodinámicos, las constantes de equilibrio, los coeficientes de viscosidad y otros parámetros cuantitativos con lo que no sólo unieron, sino que literalmente fusionaron, a la química con la inmunología.

La saga la continuó Karl Landsteiner (premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1930), quien midió cuidadosamente la especificidad de las reacciones antígeno-anticuerpo a compuestos sintéticos, con variaciones tan sutiles que disiparon toda duda sobre la exquisita especificidad de las mismas. Landsteiner descubrió las funciones de los haptenos y el efecto acarreador (*carrier effect*).¹¹ Con sus experimentos logró dar a la idea de antigenicidad una contraparte material que era propia de la especificidad de los anticuerpos.

En esta época prevalecía la idea de que sólo las proteínas, y acaso también las glicoproteínas, eran las únicas estructuras químicas capaces de despertar la producción de anticuerpos ya que esto jamás sucedía cuando se inmunizaban animales con azúcares. Sin embargo, en 1923 Michael Heidelberger y Oswald T Avery, mientras estudiaban al polisacárido del pneumococo, descubrieron lo contrario;¹² demostraron que los polisacáridos eran antigénicos y, más aún, inmunogénicos.

Pero la Inmunología, que por todo el primer cuarto del siglo XX había sido considerada una disciplina médica con claras aspiraciones terapéuticas, llegó a convertirse, al final de la década de 1920, en una mina de oro de investigación para los químicos. La química coloidal se encontraba en su cenit de popularidad, aunque ya se iniciaban las nociones sobre enlaces polares e hidrofílicos. De importancia capital sobre esto último fue el modelo atómico de Niels Bohr, con su imagen de capas de electrones que introdujo la idea de electrón-valencia.

En la siguiente década, el médico inglés John R Marrack propuso, en 1934, que las fuerzas hidrofílicas (enlaces o puentes de hidrógeno) eran las responsables de la unión antígeno-anticuerpo. Más aún, describió que si los antígenos y algunos anticuerpos en particular pudieran tener una valencia mayor a la unidad, se lograrían explicar satisfactoriamente varios enigmas inmunológicos, como la floculación, precipitación y solubilidad de los complejos antígeno-anticuerpo en zonas de exceso de antígeno o de anticuerpo. Su hipótesis, basada en el modelo del átomo de Bohr, combatió a la ya para entonces herida de muerte, pero aún prevalente, teoría coloidal y al consenso general de que los anticuerpos eran monovalentes.¹³

Los siguientes años fueron enteramente de avances tecnológicos que brindaron a la inmunoquímica cierta certeza sobre la naturaleza física del anticuerpo, y todo esto se dio en Escandinavia. En el intervalo entre las dos guerras mundiales, Theodor Svedberg, en Suecia, estampó el sello de creatividad en la tecnología química. Obtuvo el premio Nobel de Química en 1926 y es conocido, principalmente, por haber sido el inventor de la ultracentrífuga.¹⁴ De hecho, los coeficientes de sedimentación se miden en unidades Svedberg (S) en su honor. De 1925 a 1932 Svedberg tuvo como alumno y, posteriormente, íntimo colaborador a Arne Tiselius, que a su vez obtuvo su premio Nobel de Química en 1948 por el descubrimiento de otro método analítico: la electroforesis.¹⁵ Un discípulo de Heidelberger, Elvin Kabat, realizó una estancia post-doctoral con Tiselius, en Uppsala, Suecia. Esta relación tuvo como resultado el descubrimiento de extraordinarias y novedosas técnicas de separación física de anticuerpos de entre todas las proteínas del suero, como el isoelectroenfoque y la inmunoelectroforesis de dos dimensiones. Tiselius y Kabat sometieron a electroforesis el suero de conejos inmunizados con albúmina de huevo y demostraron que la actividad de anticuerpo se encontraba en el tercer pico del desplazamiento electroforético de las proteínas, también conocido como pico gamma, por lo que muy pronto a los anticuerpos se les denominó gammaglobulinas.¹⁶ Cuando se llegó a conocer que ciertas globulinas del pico gamma no eran anticuerpos se introdujo el nombre de inmunoglobulinas generando así el término IgG (inmunoglobulina gamma). El análisis por ultracentrifugación estableció que las gammaglobulinas tenían un coeficiente de sedimentación de 7S, con un peso molecular de cerca de 150,000 daltons. Sin embargo, no todos los anticuerpos están en esta categoría.

A los que migraban más rápidamente al pico beta se les llamó, primeramente, β -2-macroglobulinas de γ M, ahora conocidas como IgM (inmunoglobulina macro). Estas tienen un coeficiente de sedimentación de 19S, con un peso molecular aproximado de 900,000 daltons. También se encontraron cambios en el patrón electroforético del suero a lo largo de un periodo de inmunización. Así, con la primera exposición a un antígeno se iniciaba la formación de IgM que disminuía después de unos días, al tiempo que la IgG aumentaba. Los subsecuentes contactos con el antígeno típicamente producían una misma respuesta IgM pero inmediatamente después aparecía mayor cantidad de IgG, de ahí el término “booster shot” (dosis de recuerdo).

Un hallazgo de particular importancia en las investigaciones de Tiselius y Kabat fue que los anticuerpos no eran uniformes ni en sus cargas eléctricas ni en sus coeficientes de sedimentación, lo que resultó ser el primer indicio de la heterogeneidad física de los anticuerpos.

En 1950, Tiselius recibió a quien llegaría a ser el padre de la inmunología clínica moderna, el Dr. Henry Kunkel, proveniente del Rockefeller Institute for Medical Research (hoy Rockefeller University) (Figura 1), quien llegó a Uppsala para realizar una breve estancia de investigación.

Henry George Kunkel

Henry G Kunkel nació en la ciudad de Nueva York el 9 de septiembre de 1916 y murió a la edad de 67 años en la Clínica Mayo en Rochester, Minnesota, el 14 de diciembre de 1983 después de una cirugía vascular periférica.



Figura 1. Instituto Rockefeller para la Investigación Médica. Fundado en 1901 por John D. Rockefeller. Desde 1965, cambió su nombre a Universidad Rockefeller al expandir su misión incluyendo a la educación. Veintitrés premios Nobel han sido entregados a miembros de la Universidad.

Kunkel, quien sin duda se encuentra entre los mejores científicos biomédicos e investigadores clínicos de su tiempo, era hijo de Louis Otto Kunkel, un distinguido fitopatólogo del Rockefeller Institute for Medical Research, miembro de segunda generación de la Rockefeller University. En 1953 llegó a ser miembro titular y profesor de Inmunología de la universidad y fue editor del *Journal of Experimental Medicine* desde 1965 hasta su muerte.

Tras haberse graduado como médico en Johns Hopkins, trabajó brevemente en el Bellevue Hospital en Nueva York y, en 1942, se alistó en la Marina de Estados Unidos (Figura 2). Durante la invasión de Italia por Estados Unidos, recibía incesantemente a marinos con hepatitis con lo que adquirió una vasta experiencia en el estudio de esta enfermedad. A su regreso en 1945, ingresó en el Rockefeller Institute and Hospital en Nueva York y, dada su experiencia acumulada durante el periodo de guerra, fue asignado al programa de hepatitis infecciosas de la marina, cuyo laboratorio era dirigido por Charles Hoagland. Si bien Kunkel se interesaba por estudiar el aspecto clínico de las hepatopatías, eran las anomalías bioquímicas las que realmente capturaban su atención.^{17,18,19}

Kunkel se convirtió en el jefe del laboratorio al morir catastróficamente Hoagland. En colaboración con H. Ahrens describió, por vez primera, la cirrosis biliar primaria²⁰ y, por su cuenta, un síndrome específico de mujeres jóvenes que comprendía la presencia de artritis, enfermedad hepática y característicamente hipergamaglobulinemia. Aún sabiendo que causaba enorme vergüenza y pena a Kunkel, había quienes llamaban cariñosamente a las pacientes “las chicas de Kunkel”. Su creciente fijación por las proteínas le inspiraron la creación de la Unidad de Metabolismo Proteico.



Figura 2. Henry G. Kunkel. Fotografía tomada alrededor de 1940 durante su estancia en la Marina de EUA.

Su año en Uppsala con Arne Tiselius fue un parteaguas en su carrera. Ahí descubrió su instinto por el buen uso de las herramientas y la tecnología. De hecho, asimiló toda la metodología del laboratorio de Tiselius y llegó a hacerla suya y, en ocasiones, a modificarla para hacerla más efectiva o con mejor rendimiento para sus propósitos, como la electroforesis en papel que mejoró primero con almidón y posteriormente con celulosa como sustrato.²¹

Kunkel era conocido en la Universidad por el empleo de material clínico para utilizarlo en investigación básica sobre problemas inmunológicos, pero pronto retribuía el favor recibido con el desarrollo de técnicas inmunológicas para el diagnóstico de enfermedades. A su regreso de Suecia, tenía en mente cómo resolver el análisis de la estructura de los anticuerpos. Como ya hemos mencionado, su estudio resultaba sumamente complejo debido a su heterogeneidad, lo que hacía que el planteamiento de estudios analíticos con moléculas homogéneas fuera prácticamente imposible. En 1951 realizó un descubrimiento de gran cabida y enorme alcance: en ese tiempo se consideraba que los pacientes con mieloma múltiple secretaban productos derivados de las células malignas. En una serie de experimentos de asombrosa simplicidad, empleando la técnica de inmunoprecipitación en fase sólida descrita por Örjan Ouchterlony en 1948, demostró que la elevación de proteínas en el suero de pacientes con mieloma múltiple estaba relacionada con las gammaglobulinas normales.²² Este hallazgo brindó a los inmuoquímicos la posibilidad de estudiar moléculas homogéneas para analizar y comparar e hizo posible, a la postre, la identificación de las clases de anticuerpos, las cadenas de inmunoglobulinas, sus genes y sus regiones constantes y variables.

En 1955 Kunkel y su grupo descubrieron que las proteínas del mieloma diferían antigénicamente y desarrollaron el concepto de marcadores individuales de antigenicidad específica.²³ Cuatro años después, su alumno Gerald Edelman inició la caracterización de la estructura química de los anticuerpos,²⁴ que culminó con un trabajo más desarrollado y definitivo que apareció en 1961,²⁵ firmado por el propio Edelman y Miroslav Poulik. El problema de la heterogeneidad de los anticuerpos lo tenían resuelto, *a priori*, gracias a los hallazgos de su tutor: emplearon proteínas monoclonales de pacientes con mieloma múltiple. De hecho, al año siguiente, Edelman y su alumno Joseph A Gally, siempre en el laboratorio de Kunkel, demostraron que las proteínas urinarias de Bence-Jones eran en realidad

las cadenas de bajo peso molecular de las proteínas del mieloma,²⁶ con lo que resolvieron el misterio que se había iniciado en 1845. Edelman compartió el premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1972 con el británico Rodney Porter por sus investigaciones sobre la estructura química de los anticuerpos.

En 1963, Kunkel, Mannik y Williams encontraron que los anticuerpos humanos dirigidos contra tres diferentes antígenos eran, por sí mismos, antigénicamente únicos en conejos;²⁷ por ejemplo, los anti-anticuerpos del conejo sólo reaccionaban con los anticuerpos de una persona en particular. No eran capaces de reaccionar con anticuerpos dirigidos contra el mismo inmunógeno aislados de diferentes personas; por tanto, los idiotipos (término acuñado por el francés Jacques Oudin) son específicos de cada clona por lo que los hallazgos de 1955 en mieloma podrían expandirse ahora a todas las inmunoglobulinas.

Ciertamente hubo muchos más investigadores que participaron en la historia del mieloma múltiple⁶ pero creemos que los trabajos de Kunkel y su grupo fueron de particular relevancia para definir la naturaleza de las proteínas secretadas por células plasmáticas malignas. Quedaban aún muchos datos por aclarar, pero los principios estaban establecidos y, lo que es más, confirmados.

Los trabajos de Kunkel fueron los cimientos para dos teorías que revolucionaron la inmunología y de una técnica que ha tenido un enorme impacto en el laboratorio clínico y de investigación y, más recientemente, en la terapéutica. La percepción de Kunkel que las proteínas del mieloma (los productos monoclonales de células plasmáticas malignas) eran el equivalente de anticuerpos normales producidos por células plasmáticas normales demostró que la teoría de selección clonal de Frank Macfarlane Burnett (premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1960) era correcta.²⁸ La identificación de la especificidad antigénica individual de los anticuerpos o idiotipos que, por definición son autoinmunogénicos, fue la base de la teoría de la red de regulación inmune de Niels Kaj Jerne (premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1984).²⁹ Finalmente, sus hallazgos proporcionaron a la postre a George Jean Franz Köhler y César Milstein las herramientas y abordajes necesarios para la tecnología de los anticuerpos monoclonales³⁰ que les valió el premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1984, que compartieron con Niels K Jerne.

Al repasar todos estos logros, uno debe reflexionar sobre el papel preponderante del paciente —el paciente con

mieloma, cuya expansión monoclonal de células secretoras de anticuerpos proporcionó el material experimental, las proteínas del mieloma, que condujeron a una de las más importantes contribuciones básicas de la Inmunología, la estructura química de los anticuerpos.

REFERENCIAS

1. Solly S. Remarks on the pathology of mollities ossium with cases. Medical and Chirurgical Transactions of London 1844;27:435-461.
2. Macintyre W. Case of mollities and fragilitas ossium, accompanied with urine strongly charged with animal matter. Medical and Chirurgical Transactions of London 1850;33:211-232.
3. Bence-Jones H. On a new substance occurring in the urine of a patient with mollities ossium. Philosophical Transactions of the Royal Society of London (Biology) 1848;55-62.
4. Clamp JR. Some aspects of the first recorded case of multiple myeloma. Lancet 1967;2:1354-1356.
5. Von Rustizky J. Multiples myelom. Deutsche Zeitschrift für Chirurgie 1873;3: 162-172.
6. Kyle RA. Multiple myeloma: an odyssey of discovery. Brit J Haematol 2000; 111:1035-1044.
7. Behring E, Kisato S. Ueber das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Thieren. Deutsche Medicinische Wochenschrift 1890;49:1113-1114.
8. Ehrlich P. Experimentelle Untersuchungen über Immunität. II. Ueber Abrin. Deutsch Med Wochenschr 1891;17:1218.
9. Ehrlich P. On immunity with special reference to cell life. Proc Roy Soc (London) 1900;66:424-448.
10. Arrhenius S. Immunochemistry. The application of the principles of physical chemistry to the study of the biological antibodies. New York: Macmillan, 1907.
11. Landsteiner K. The Specificity of Serological Reactions, 1936. Baltimore, MD. 1936.
12. Heidelberger M, Avery OT. The soluble specific substance of pneumococcus. J Exp Med 1923;38:73-79.
13. Marrack JR. The chemistry of antigens and antibodies. Special Report Series No. 194. Medical Research Council, London, 1934.
14. Svedberg T, Rinde H. The ultra-centrifuge, a new instrument for the determination of size and distribution of size of particle in amicroscopic colloids. J Amer Chem Soc 1924;46:2677-2793.
15. Tiselius A. A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtures. Transactions of the Faraday Society 1937;33:524.
16. Tiselius A, Kabat EA. An electrophoretic study of immune sera and purified antibody preparations. J Exp Med 1939;69:119-131.
17. Hoagland CL, Kunkel HG, Shank RE. An analysis of the effect of fat in the diet on recovery in infectious hepatitis. Am J Public Health 1946;36:1287-1292.
18. Kunkel HG, Hoagland CL. Persistence of elevated values for the thymol turbidity test following infectious hepatitis. Proc Soc Exp Biol Med 1946;62:258-261.
19. Kunkel HG, Ward SM. Plasma esterase activity in patients with liver disease and the nephrotic syndrome. J Exp Med 1947;86:325-337.
20. Ahrens EH, Kunkel HG. The relationship between serum lipids and skin xanthomata in eighteen patients with primary biliary cirrhosis. J Clin Invest 1949;28:1565-1574.
21. Kunkel HG, Slater R. Zone electrophoresis in a starch supporting medium. Proc Soc Exp Biol Med 1952;80:42-44.
22. Kunkel HG, Slater R, Good RA. Relation between certain myeloma proteins and normal gamma globulin. Proc Soc Exp Biol Med 1951;76:190-193.
23. Slater RJ, Ward SM, Kunkel HG. Immunological relationships among the myeloma proteins. J Exp Med 1955;101:85-108.
24. Edelman GM. Dissociation of γ -globulin. J Am Chem Soc 1959;81:3155.
25. Edelman GM, Poulik MD. Studies on structural units of the γ -globulins. J Exp Med 1961;113:861-884.
26. Edelman GM, Gally JA. The nature of Bence-Jones proteins. Chemical similarities to polypeptide chains of myeloma globulins and normal gamma-globulins. J Exp Med 1962;116:207-227.
27. Kunkel HG, Mannik M, Williams RC. Individual antigenic specificity of isolated antibodies. Science 1963;140:1218-1219.
28. Burnet FM. The clonal selection theory of acquired immunity. Vanderbilt University Press and Cambridge University Press, 1959.
29. Jerne NK. Towards a network theory of the immune system. Ann Immunol (Inst. Pasteur) 1974;125C:373-389.
30. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975;256:495-497.