

## ACCION DEL VIRUS DE COXSACKIE SOBRE EL TUMOR EXPERIMENTAL DE RATON CULTIVADO "IN VITRO"

Por EUGENIA S. DE LUSTIG y ARMANDO S. PARODI

El virus de Coxsackie ha sido cultivado "in vitro", por varios autores en células embrionarias humanas, de rata y de pollo, pero no ha sido mantenido como el virus de la poliomielitis, en elementos tumorales.

En este trabajo nos vamos a ocupar de la multiplicación y de la acción del virus de Coxsackie sobre los fibroblastos sarcomatosos.

### MATERIAL

El sarcoma provenía de un tumor provocado por metilcolantrene y mantenido durante varias generaciones por injertos repetidos.

El virus de Coxsackie ha sido aislado en la Argentina por el Dr. Parodi durante una epidemia de Poliomielitis en 1953.

Hemos cultivado en gota pendiente y en frasco de Carrel. Luego de haber obtenido un buen crecimiento hemos agregado al cultivo material proveniente de un cerebro de laucha de 1 día paralizada con virus de Coxsackie.

Los cultivos han sido fijados en Bouin y Acido Osmico a las 24, 48 y 72 horas después de la infección y luego coloreados con Hematoxilina Eosina y Hematoxilina Férrica. El líquido de los cultivos infectados ha sido utilizado para inocular intracerebralmente lauchas adultas y recién nacidas.

### RESULTADOS

Durante las primeras 24 horas de la infección las células siguen su migración normal. Luego de 48 y 72 horas el conjunto de la colonia celular no presenta la inhibición del crecimiento que se observa en los cultivos infectados con otros virus; pero algunas células se redondean, mientras que con cierta frecuencia se forman inclusiones

nucleares intensamente basófilas, del tipo roseta, alrededor del nucleolo (Fig. 1). A las 72 horas la degeneración abarca un gran número de elementos de la zona de migración. En los cultivos fijados se observan células completamente indemnes al lado de otras que presentan inclusiones nucleares adosadas a la membrana nuclear (fig. 2) que se repiten con el mismo aspecto y constantemente en todos los explantes infectados. En las células más degeneradas desaparece hasta el nucleolo. Los condriocitos aparecen muy largos y delgados. En las células en mitosis se observan a menudo desorganización cromosómica.

El líquido proveniente de los cultivos infectados inoculado intracerebralmente en lauchas recién nacidas produce parálisis al 5° día. En las lauchas adultas el líquido de los cultivos provoca parálisis a los 10 días de la inoculación intracerebral (Fig. 3). En algunos casos no se ha observado parálisis, sino formación de un tumor intracerebral (debido a las células tumorales que han quedado viables en el líquido) que produce más tardíamente (a los 45 días) muerte del animal por compresión. Se ha inoculado músculo y cerebro de los animales paralizados a otras lauchas adultas y se ha observado nuevamente parálisis del tren posterior durante los 3 primeros pasajes a distancia de 10 días uno del otro; después del 4° pasaje no apareció ningún caso de parálisis. Se observó solamente atrofia muscular intensa, pérdida de peso bien marcada (Fig. 4), (hasta la mitad del control) y desaparición de todos los depósitos naturales de tejido adiposo. Los extractos de músculo y cerebro de este lote de lauchas atroficas, pero no paralizadas, no produjo tampoco parálisis en animales de 1 día.

## DISCUSION

Con este trabajo hemos establecido que:

1. Los fibroblastos sarcomatosos de ratón cultivados "in vitro" pueden ser infectados por el virus de Coxsackie que, como otros virus neurotrópicos, se multiplican en los elementos malignos.
2. Ratonés adultos generalmente refractarios a la infección viral se vuelven susceptibles una vez inoculados con un cultivo de células malignas infectados con virus de Coxsackie.
3. Las células sarcomatosas cultivadas "in vitro" infectadas con Coxsackie presentan inclusiones nucleares en forma de roseta a diferencia de las células infectadas con virus de Influenza que presentan cambios evidentes (Lustig y Parodi 1951) de todos los elementos

de la célula. Levaditi en 1951 ya había observado inclusiones basófilas pero citoplásmicas y vacuolas nucleares en neuronas infectadas con el virus de grupo B. Las inclusiones nucleares observadas por nosotros pueden ser debidas a un virus perteneciente a otro grupo de Coxsackie que ataca otros elementos de la célula o representan una reacción celular a las toxinas del virus.

El proceso de reducción de los condriocitos de las células infectadas nos hace pensar en una posible relación entre virus y condrioma que podrá ser demostrado más claramente por medio del microscopio electrónico o con el fraccionamiento celular.

El hecho que los animales adultos, generalmente refractarios, presentan parálisis luego de un pasaje del virus por células malignas nos llevaría a pensar que el virus en cuestión no es Coxsackie, pero, por otra parte la infección con el mismo material de cultivo, de las lauchas de 1 día, elimina esta duda. Podría ser que el tumor infectado con virus inoculado en laucha adulta, actuara como la Cortisona (Kilbourne y col. 1951) modificando al metabolismo del huésped, hasta disminuir la defensa del organismo.

Pero la parálisis aparece antes de la formación del tumor es decir, antes de que pueda, con su crecimiento, modificar el estado hormonal o debilitar la defensa del huésped, y por otra parte, cuando hay formación del tumor en el lugar de inoculación con líquido del cultivo, no se observa la parálisis, o esta aparece muy tardíamente.

En consecuencia se excluye que el injerto de células malignas infectadas actúe directamente como factor de difusión de la enfermedad viral o indirectamente disminuyendo la defensa del animal adulto.

No habiendo cambios en el metabolismo del huésped como en el caso de la cortisona, podríamos pensar, como posibilidad teórica, en una mutación que sufre el virus pasando por las células malignas.

## RESUMEN

Un virus de tipo Coxsackie, aislado en la Argentina en 1953, pudo infectar fibroblastos sarcomatosos de ratón cultivados "in vitro".

Los elementos malignos infectados presentan en el núcleo inclusiones basófilas en forma de roseta, y en el citoplasma condriocitos muy reducidos en su espesor.

Ratones adultos generalmente refractarios a esta infección viral, se vuelven susceptibles una vez inoculados con un cultivo de células sarcomatosas infectadas con virus de Coxsackie.

## RESUME

Un virus de Coxsackie isolé en Argentine en 1953 peut infecter les fibroblastes sarcomateux de souris cultivés "in vitro".

Les cellules malignes infectées présentent dans le noyau des inclusions basophiles ayant la forme de rosette, et dans le cytoplasme des chondriosomes filamenteux très amincis.

Les souris généralement refractaires à cette infection virale deviennent susceptibles après qu'elles ont été inoculées avec une culture de cellules sarcomateuses infectées avec virus de Coxsackie.

## SUMMARY

A Coxsackie virus, isolated in Argentina in 1953, is able to infect mouse sarcomatous fibroblasts cultivated "in vitro".

The infected malignant cells show rosette-shaped basophilic inclusions in the nucleus, and their filamentous mitochondria are extremely thin.

Adult mice generally refractory to this viral infection become susceptible after being inoculated with a culture of sarcomatous cells infected with Coxsackie virus.

## BIBLIOGRAFIA

LEVADITI, C., France Médicale 1951, 11.

KILBOURNE, E., HORSFALL, F., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1951, 77, 135:

E. S. de LUSTIG, A. S. PARODI, Rev. Arg. Bio., 1951, 27, 324:

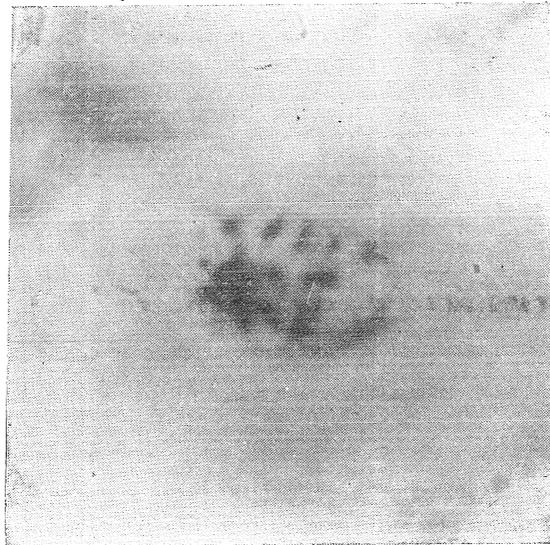


Fig. 1. — Inclusiones nucleares intensamente basófilas alrededor del nucléolo en células sarcomatosas infectadas con virus Coxsackie.

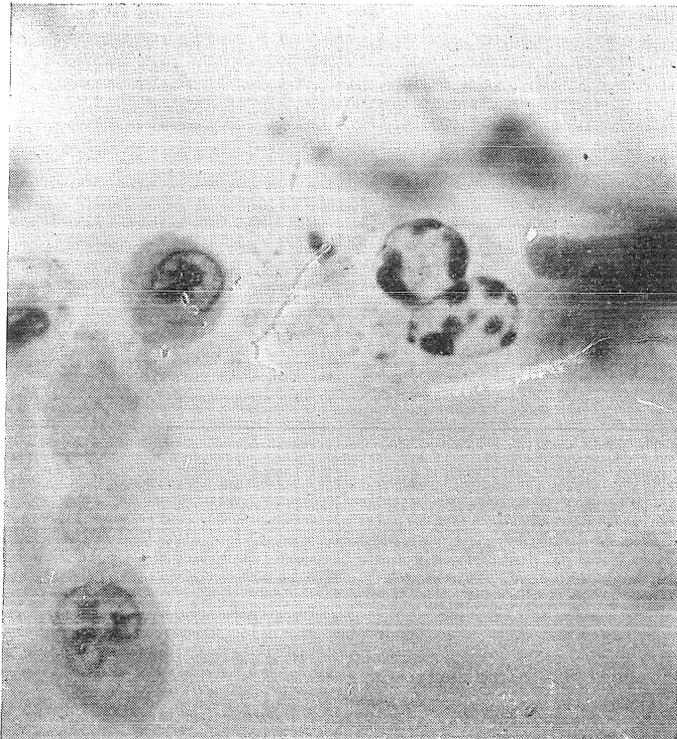


Fig. 2. — Inclusiones nucleares en el interior de la membrana nuclear. Desaparición del nucleolo a las 48 horas de la infección.

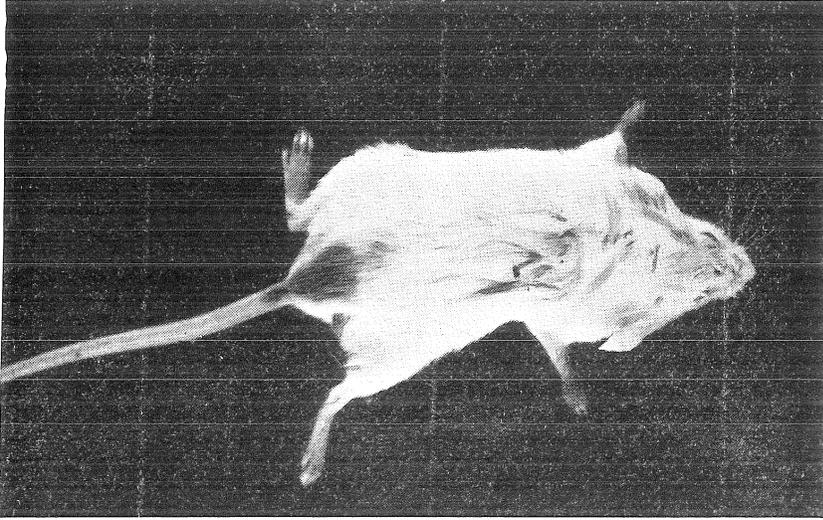


Fig. 3. — Ratón adulto paralizado a los 10 días de la inoculación con un cultivo infectado con Virus de Coxsackie.



Fig. 4. — Diferencia de tamaño entre un ratón normal y uno infectado con Virus de Coxsackie.