

Modificaciones producidas en el huevo fértil de pollo por la inoculación del virus "A" de influenza

IV. - PESO DE LOS EMBRIONES Y MEMBRANAS CORIOALANTOIDEAS "Conclusiones"

por

A. S. Parodi, F. C. Pennimpepe, S. Lajmanovich y N. Mittelman

Los huevos fértiles, inoculados con virus "A" de influenza que fueron estudiados desde otro punto de vista en trabajos anteriores (I, II, y III) se examinaron en sus variaciones ponderales con respecto a los normales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Una vez revisados los huevos para verificar su fertilidad, eran pesados y de acuerdo a su peso se dividieron en tres lotes, cuyos pesos eran:

- 1^o) inferiores a 55 grs.;
- 2^o) inferiores a 60;
- 3^o) huevos de peso superiores a estos últimos.

Este modo de distribuir los huevos, permitió comparar huevos cuya diferencia en más o en menos nunca fué mayor de 3 gramos de la media de cada grupo. Los huevos fueron inoculados con la técnica y cepa tal como se indica en un trabajo anterior (1) usando como control embriones del mismo peso y edad, inoculados con líquido alantoideo normal en dilución 10^{-3} .

Cada día se seleccionaban 8 huevos de cada grupo (inoculados con virus e inoculados con alantoideo normal), tomándoles del mismo grupo. Después de pesados se estudiaba su metabolismo gaseoso,

De la Sección Virus del Instituto Bacteriológico "Dr. Carlos G. Malbrán" de la Secretaría Nacional de Salud Pública. Estos estudios fueron subvencionados, en parte, por una donación de la International Health Division de la Fundación Rockefeller.

Presentado en la reunión de comunicaciones del 28 de noviembre de 1946.

consumo de oxígeno y eliminación de CO_2 . Se dejaba durante la noche en la heladera a 4°C . y al otro día, previa extracción del líquido alantoideo eran pesados los embriones y las membranas corioalantoideas.

El peso se determina previo un escurrimiento exhaustivo del material en papel de filtro.

RESULTADOS

Los inoculados con virus de influenza pesaron significativamente menos que los normales, desde las 48 horas de inoculados en adelante. La diferencia se acentúa en el transcurso del tiempo. A las 48 horas es "P" del orden de 0,02 y desde esa hora en adelante es ya menor de 0,01 (cuadro 1 gráfico 1).

Las membranas tienen una curva de variación ponderal completamente diferente a la de los embriones. Las membranas corioalantoideas de los embriones infectados con virus de influenza pesan más de los normales.

Esta superioridad en el peso se establece como significativa desde las 48 horas de inoculadas hasta las 96 horas inclusive. A las 120 horas el peso de ambas es prácticamente idéntico y a las 144 horas las membranas de los infectados pesan menos que las de los normales. (Cuadro 1, gráfico N^o 2).

Se calculó también el porcentaje de aumento de los embriones en función del tiempo, reproduciendo modificada la curva de Minot.

Se observa en ella que el aumento de peso de los embriones infectados se hace con un ritmo menor que en los normales, pero que ambas líneas tienden a unirse a las 144 horas. (Gráfico N^o 3).

DISCUSIÓN

El peso de los embriones normales que hemos obtenido son similares a los de Murray (2) para embriones de la misma raza y edad aunque hay que hacer notar que en nuestros experimentos fueron incubados a una temperatura de $38,5^\circ\text{C}$. solamente durante los primeros 11 días de edad para ser transferidos después de inoculados a una incubadora a 37°C . El peso de las membranas, en cambio, difiere considerablemente de los datos de Byerly (3). Este autor da cifras que divergen de las nuestras en más del doble en algunos casos. Quizá el método nuestro de secar exhaustivamente con papel de filtro las membranas, con el objeto de extraer toda el agua extraña a la misma, puede explicar tal diferencia.

La correlación de los datos ponderales con los de metabolismo gaseoso es de una relación simple. Más difícil es tratar de fundamentar una hipótesis que relacione todas las modificaciones encontradas.

Muchos puntos necesitan ser aclarados para tener una noción acabada de la patogenia de los procesos que se producen en el embrión.

CUADRO N.º 1

Días de desarrollo	Horas después de inoculados	N = inoc. con liq. alan t. normal I = inoc virus A. infl 10-3	Peso de embriones grs. (1)	N.º determinaciones	P (2)	T.M. Peso de huevo entero - grs.	T.M. de cáscara grs.	Peso de membranas grs. (1)	N.º determinaciones	P (2)
12	24	N	4.51 ± 0.10	96	0.7	51.48	5.77	0.29 ± 0.01	48	0.6
		I	4.60 ± 0.08	96		50.90	5.82	0.30 ± 0.01	48	
13	48	N	6.41 ± 0.12	96	0.02	53.57	5.99	0.32 ± 0.01	56	0.05
		I	6.02 ± 0.10	96		52.91	6.00	0.35 ± 0.01	56	
14	72	N	8.66 ± 0.15	94	<< 0.01	54.12	6.03	0.34 ± 0.01	48	0.07
		I	7.63 × 0.16	94		54.99	6.32	0.41 ± 0.01	48	
15	96	N	11.47 ± 0.18	84	<< 0.01	55.57	6.19	0.33 ± 0.009	48	< 0.01
		I	9.40 ± 0.20	84		55.82	6.20	0.38 ± 0.01	48	
16	120	N	14.31 ± 0.26	71	<< 0.01	55.92	6.37	0.36 ± 0.01	48	0.5
		I	11.12 ± 0.31	71		56.05	6.52	0.35 ± 0.009	48	
17	144	N	17.3 ± 0.3	55	<< 0.01	57.72	6.45	0.32 ± 0.01	48	< 0.01
		I	13.1 ± 0.4	55		57.57	6.60	0.37 ± 0.01	48	

(1) Valores promedios con su correspondiente error standard; el error standard fué calculado de acuerdo a la fórmula general.

$$\sigma_x = \frac{\sigma}{\sqrt{N}} \text{ donde } \sigma = \text{desviación standard} = \sqrt{\frac{\sum(x^2)}{N}}$$

(2) "P" es la probabilidad de que la diferencia de los promedios de N e I sea debida al azar; fué calculada de acuerdo a la tabla de Fisher ("Statistical Methods for Research Workers, pág. 177). El error standard de la diferencia de los promedios fué calculado de acuerdo a la fórmula.

$$\sigma_D = \sqrt{\sigma_{x_1}^2 + \sigma_{x_2}^2}$$

(*) Las diferencias de los promedios se consideran significativa cuando $P < 0,05$.

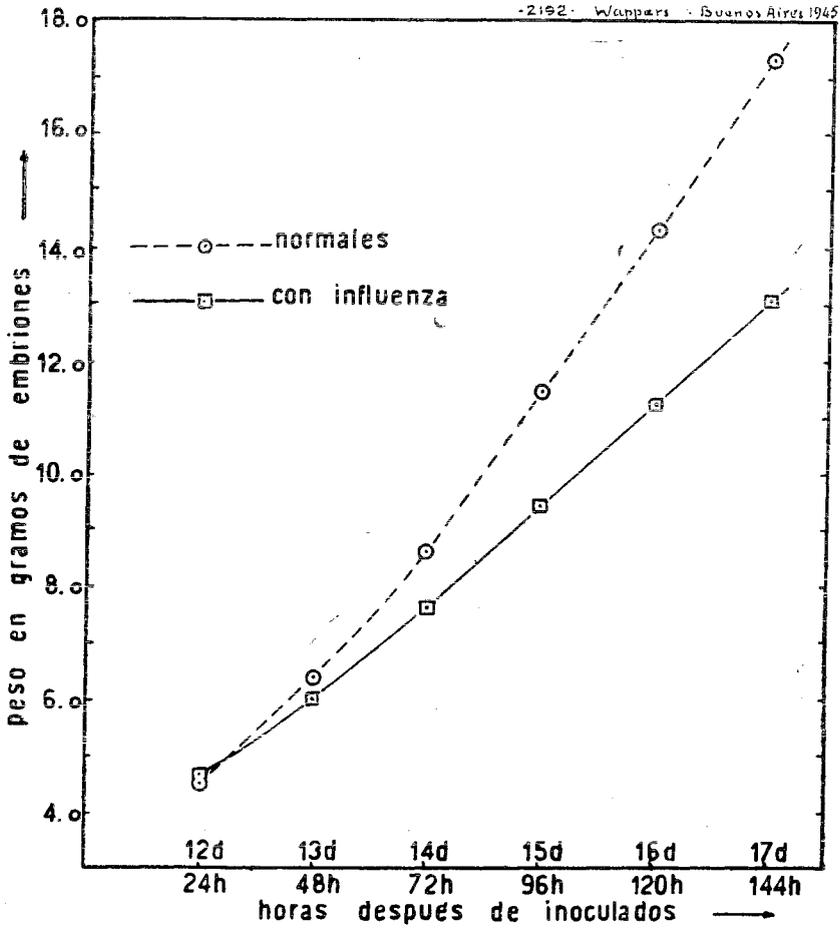


Gráfico 1

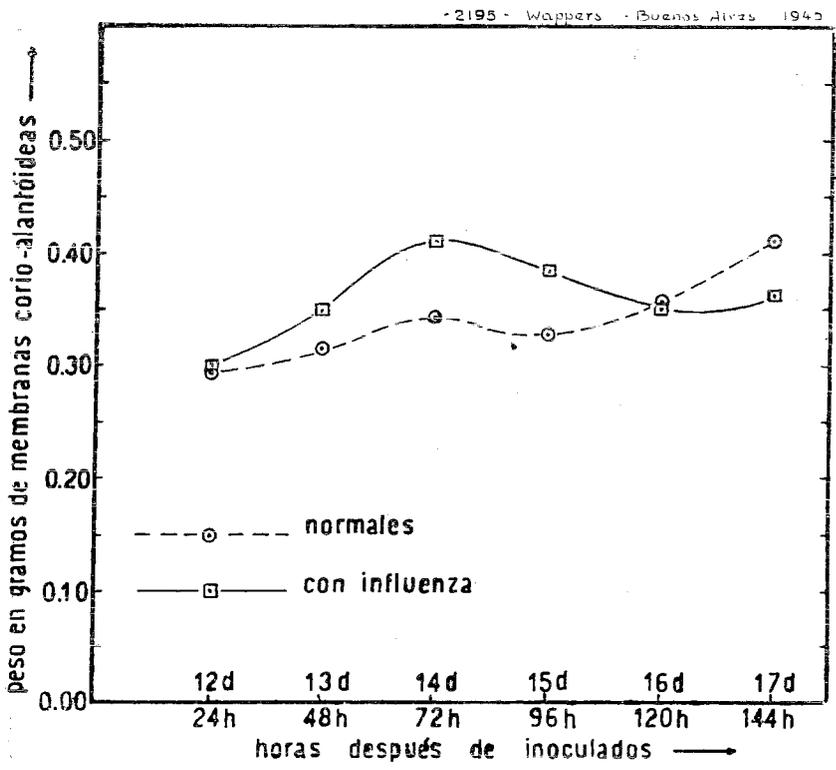


Gráfico 2

-2193- Wappers Buenos Aires 1943

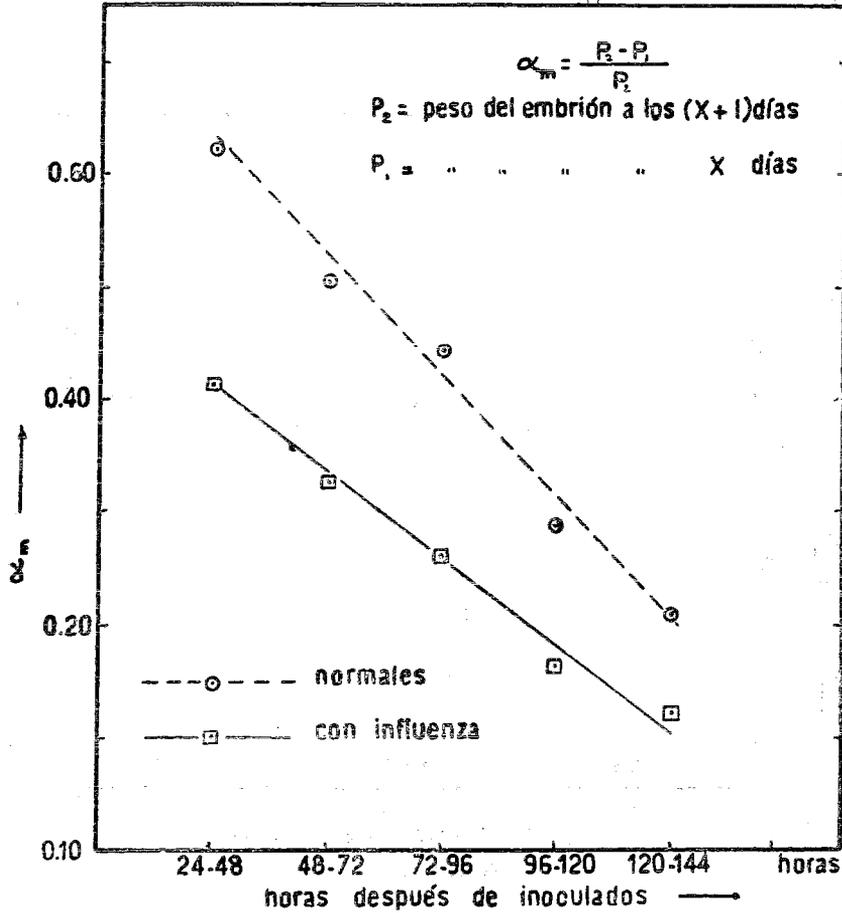


Gráfico 3

Recapitulando podemos establecer las siguientes diferencias del huevo fértil infectado con el normal:

- 1º) Menor peso del embrión;
- 2º) Aumento del peso de las membranas corioalantoideas;
- 3º) Aumento del volumen del líquido alantoideo.
- 4º) Mantenimiento del pH del líquido alantoideo en cifras netamente mayores que las normales.

La disminución de peso del embrión puede ser debida a una acción del virus sobre las mitosis, obrando éste como un factor de inhibición; pero el hecho de que las membranas infectadas con virus aumenten de peso y que este aumento de peso se deba a un aumento del número de células hace poco probable esta hipótesis. Quizá sería más lógico dar al hecho una explicación mecánica; el aumento de espesor de las membranas corioalantoideas, determinaría un trastorno en la difusión de los gases (O_2 y CO_2) produciéndose una anoxia del embrión. Esto podría también explicar el mantenimiento de las cifras de pH elevado de los líquidos alantoideos debida a una acumulación de carbonatos.

El sentido contrario que hay en las diferencias entre peso de embriones, normales e infectados y las de volumen de líquidos alantoideos hizo pensar que el volumen en exceso de éstos provenía de los embriones, produciéndose por causas que todavía ignoramos un trastorno del metabolismo acuoso.

En efecto, si se suman los volúmenes de líquidos alantoideos ($D=1.007$) al peso de embriones se tienen cifras que son prácticamente idénticas.

En la actualidad hay en curso experimentos que tratan de aclarar con precisión estos puntos.

CONCLUSIONES

Los embriones inoculados con virus "A" de influenza tienen un peso menor que los normales, a partir de las 48 horas de inoculados.

Las membranas corioalantoideas de los embriones infectados con virus "A" de influenza pesan más que los normales de las 48 a 96 horas. El peso se iguala a las 120 horas y se invierten los valores a las 48 horas.

BIBLIOGRAFÍA

1. PENNIMPEDE F. C., PARODI A. S., LAJMANOVICH S., y MITTELMANN N. — (En prensa).
2. MURRAY H. A., (Jr.). — J. Gener. Physiol., 1925, **29**, 1.
3. BYERLY T. M. — J. Exp. Biol., 1932, **9**, 15.