

## ACCION ONCOLITICA DEL VIRUS "A" DE INFLUENZA SOBRE LOS TUMORES DE RATON

### *I. Modificaciones macroscópicas y sobrevida del animal.*

Por A. S. PARODI, E. SACERDOTE DE LUSTIG, J. PAHN.

#### I N T R O D U C C I Ó N

Concomitantemente con la observación de la acción del virus sobre el cultivo de tejido, normal y canceroso, hemos estudiado las modificaciones macroscópicas producidas por el virus en los sarcomas del ratón provocados por metilcolantreno y en los adenocarcinomas de la cepa C<sub>3</sub>H. La acción de distintos virus sobre los tumores ha tenido últimamente amplia difusión. Sharpless y col. (1950), Andrews (1940), Turner y Mulliken (1947-48-50), Moore (1949-50-51), aunque ya Levaditi y Nicolau (1923), Levaditi y Haber (1937), Pearce y Rivers (1927), habían observado con anterioridad que algunos virus tienen afinidad para el tejido tumoral.

En vista del detenimiento del desarrollo del embrión de pollo infectado por virus "A" de Influenza (Parodi y colaboradores, 1948) habíamos pensado que podría manifestarse acción similar sobre los tumores. Moore (1950) estudió este mismo problema con el mismo virus pero sobre otros tipos de sarcoma con resultado negativo. Como nuestros resultados previos contradecían los de esta investigadora y los estudios sobre cultivo de tejidos nos afirmaban en nuestra hipótesis nos pareció interesante continuar con el problema.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

Se usaron fibrosarcomas obtenidos con una inyección subcutánea de metilcolantreno en ratones, y mantenidos por repiques sucesivos.

Los adenocarcinoma provenían de un tumor espontáneo de mama en ratones de la cepa C<sub>3</sub>H.

*Virus.* — Se usó virus "A" de Influenza cepa 7 aislada en una epidemia local con título de 10<sup>-8</sup> en embrión fértil de pollo. Se inoculó en la periferia o en la masa tumoral 0.25 a 0.50 ml. que contenían 100.000 D.I.M. cada 0.1 cc. Los controles se inocularon con líquido alantoideo normal diluido en solución fisiológica. Los tumores a los 15 días de evolución alcanzaban el tamaño de una arveja. Se le medían dos diámetros antes y a las 24 horas de la inoculación y luego cada 24 horas sucesivas hasta la muerte del animal. El índice de crecimiento tumoral se calculaba por la fórmula A. B. siendo A y B los dos diámetros medios.

2

## R E S U L T A D O S

*Titulación del virus inoculado en la masa tumoral.* — El virus fué titulado en embrión fértil de pollo antes de la inoculación y luego se extirpó la masa tumoral a las 48 horas encontrándose una disminución del título del virus.

En otros animales el tumor se extirpó a las 24 horas y se inoculó una suspensión al 10 % a otros tumores repitiéndose el pasaje tres veces sucesivamente. Al final del 3er. pasaje se inoculó la suspensión a embriones de pollo comprobándose la desaparición del virus.

*Modificaciones en el tamaño tumoral.* — En las primeras 24 horas todos los tratados con virus presentan los diámetros disminuidos de 1 a 2 mm. mientras los controles tratados con L.A.N. o solución fisiológica aumentan diariamente dos milímetros. Los tratados con virus que no desaparecen quedan siempre atrasados en su crecimiento, respecto a los controles y mueren siempre más tardíamente. (Cuadro I).

Sobre 45 casos tratados con virus durante los meses de marzo a setiembre, 20 desaparecieron, es decir el 44.4 % entre el tercero y séptimo día después de la inoculación. Los controles solamente desaparecieron el 2 % mientras que el 98 % restante aumentó de tamaño.

De los 150 inoculados con virus de setiembre a marzo, desaparecieron el 28 % y el 6 % después de crecer lentamente durante 10 a 12 días se encapsularon paralizándose el

crecimiento del tumor y siguieron viviendo indefinidamente. En los tratados con líquido alantoideo normal se observó un 2 % de desaparición espontánea del tumor.

En 10 ratones de la C<sub>3</sub>H con adenocarcinoma la inoculación de virus no modificó su desarrollo.

*Sobrevida de los animales cuyo tumor no desaparece.* — En los animales cuyo tumor siguió su crecimiento, tanto controles como inoculados con virus, se nota también una diferencia en la sobrevida, pues mientras los normales viven como término medio 9,6 días después de la inoculación, los inoculados con virus sobreviven 18,5 días, durante el período de marzo-setiembre. Para el período de setiembre a marzo la sobrevida fué de 10,3 y 17,1 días para controles y tratados con virus respectivamente.

*Acción sobre la resistencia a la reimplantación del tumor.* — 40 ratones en los cuales se había observado la desaparición total del tumor por la acción del virus, fueron reinjertados con otro tumor al mes de la desaparición y en ninguno prendió el nuevo tumor inoculado.

Dos tumores inoculados con virus fueron extraídos a las 48 horas y reinoculados a 100 animales y ninguno de ellos desarrolló tumor.

*Acción sinérgica de la hialuronidasa.* — Basándonos en la propiedad difusora de la hialuronidasa, hemos agregado la enzima a los tumores tratados con virus pensando que aumentaría el número de células que se pondrían en contacto con el virus y en esta forma se aumentaría su acción oncolítica.

1) Si se inocula el virus en el tumor y luego se agrega  $\frac{1}{4}$  cc. de la enzima en solución al 1 % se obtiene a las 24 horas una inhibición en el crecimiento del tumor mucho mayor que con el virus solamente, pero a las 48 horas el tumor empieza otra vez su crecimiento más rápidamente que en el animal no tratado y a los 10 días el animal portador muere a causa de la invasión de los órganos profundos por parte del tumor.

El crecimiento tumoral resulta en estas formas más rápido y más invasor todavía que el tumor tratado con virus o que el tumor no tratado a pesar de la inhibición primitiva.

2) *Si se inocula en el tumor primeramente la hialuronidasa y luego el virus no se obtiene inhibición alguna.*

La invasión a la cavidad peritoneal y pleural es más rápida.

#### D I S C U S I Ó N

El virus de influenza, inoculados en la masa tumoral, tiene evidentemente una acción sobre su desarrollo que se manifiesta ya sea por la desaparición del tumor, ya por su encapsulación, ya por el prolongamiento de la vida del animal en aquellos casos en que el tumor sigue su crecimiento. Como se ve no hemos podido establecer una acción uniforme sobre el tumor y es por esa razón probablemente que Moore no ha encontrado ningún resultado por la inoculación de este virus. Las diferencias anotadas podemos atribuir las a varios factores. Las cepas de ratones blancos usadas no son genéticamente puras y variaciones de este tipo pueden alterar los resultados.

También hemos observado una diferencia en los resultados según la época del año en que se hacían los experimentos. En los meses más fríos el porcentaje de la desaparición del tumor fué mayor que en los meses cálidos. Esta diferencia podría atribuirse a una variación del metabolismo de los ratones consistente en variaciones hormonales o en el metabolismo de los embriones de pollo de los cuales se extraía el virus, ya que este agente no fué purificado y se inoculaba la dilución del líquido alantoideo. Debemos hacer notar que en los meses cálidos la fertilidad de los huevos de gallina se reduce enormemente. En aquellos casos en que no hubo aparentemente acción sobre el crecimiento del tumor hubo en cambio un atraso en la muerte del animal, de lo cual se indica un efecto beneficioso.

Debemos también hacer notar que a diferencia de los neurotropos usados en esta clase de estudios, el virus de la influenza no se reproduce en el tumor, confirmando así su carácter estrictamente neumotropo.

Esta falta de reproducción del virus y la constitución compacta del sarcoma hacen que su acción deba ser limitada a las células que están en contacto con él cuando se lo inocula y es por esto que para salvar este inconveniente pensamos inocular virus con hialuronidasa. Evidentemente és-

to refuerza la acción del virus, pero como luego favorece el crecimiento tumoral el resultado final es contraproducente.

#### CONCLUSIONES

El virus de influenza cepa 7 inoculado en sarcoma a metilcolantrene produce, bien una desaparición del mismo, bien una encapsulación, bien una prolongación de la vida del animal. No se ha podido comprobar una reproducción del virus en la masa tumoral.

#### CONCLUSIONS

The influenza virus "A" inoculated in a transplantable mouse sarcoma produces disappearance or capsulation of the tumor and an extension of life of the animal. The virus is not reproduced in the tumor.

The hyaluronidase inoculated after the virus, produce in the first 24 hours, a marked decrease in the growth but later a rapid increase and deepening of the tumor in the peritoneal cavity.

The animals in which the tumor disappears, remain immune to reinoculation of the same tumor.

#### CUADRO I

**Acción del virus sobre el crecimiento del tumor y sobrevida del animal (marzo-setiembre)**  
**Acción sobre el crecimiento del tumor**

Número de animales	Nº % aumento del tamaño del tumor	Dasaparición 2 %	Encapsulación %	Días de sobrevida del animal con tumores en evolución. T. M.	
Controles Inoculados con virus de influenza cepa 7	45	98	2	0	9.6 (3-15)
	45	55,6	44,4	0	18.5 (5-30)

#### CUADRO II

**Acción del virus sobre el crecimiento del tumor y sobrevida del animal (Setiembre marzo)**  
**Acción sobre el crecimiento del tumor**

Número de animales	Nº % aumento del tamaño del tumor	Dasaparición 2 %	Encapsulación %	Días de sobrevida del animal con tumores en evolución. T. M.	
Controles Inoculados con virus de influenza cepa 7	150	98	2	0	10.3 (6-13)
	150	66	28	6	17.1 (12-30)

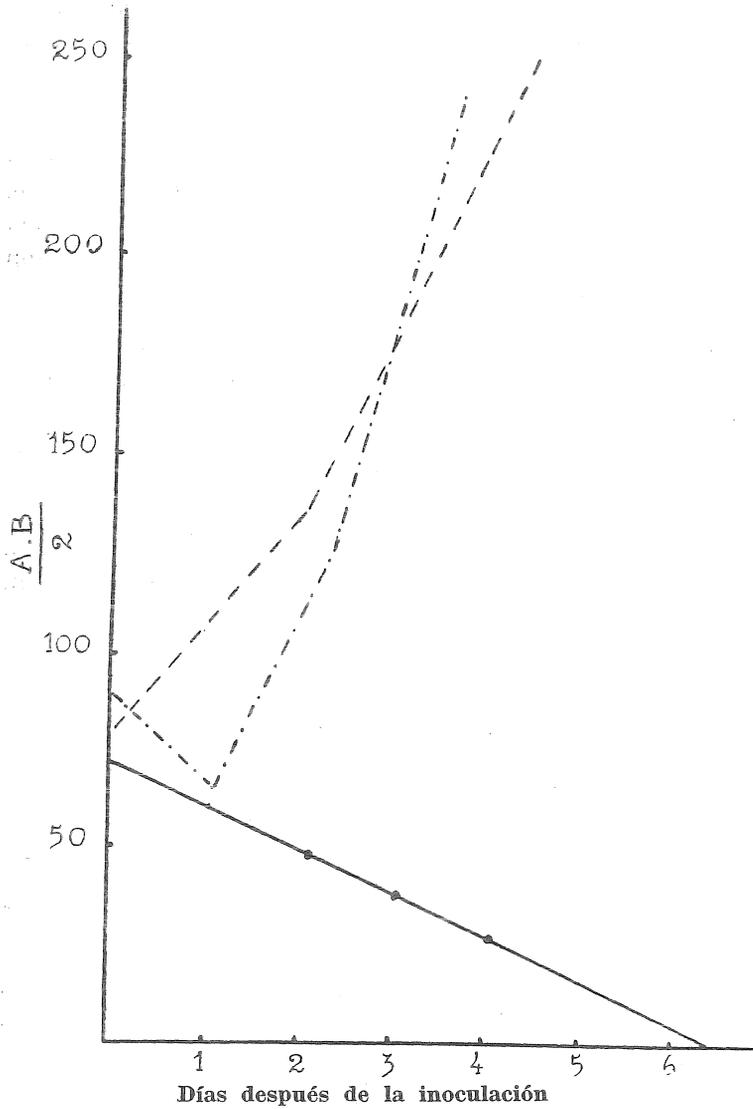


Fig. 1. — Crecimiento tumoral A.B. siendo A y B los dos diámetros.

$\frac{2}{2}$

- Tumor con resultado positivo después de la inoculación con virus.
- . - . - Inoculación con hialuronidasa y virus.
- Control. Inoculación con líquido alantoideo normal.