

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

### II. — MODIFICACIONES HISTOLÓGICAS Y ESTUDIOS DE SU METABOLISMO

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

#### INTRODUCCIÓN

Las modificaciones macroscópicas señaladas en un trabajo anterior <sup>(1)</sup> nos indujeron al estudio histológico de los tumores tratados con virus de sus controles y a determinar el consumo de oxígeno y glicolisis anaerobia.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

Se usaron las mismas técnicas señaladas en nuestro trabajo anterior y el mismo virus en idénticas concentraciones.

*Respiración.* — El consumo de  $O_2$  y la glicolisis anaerobia fué medida en vasos de Warburg, a 37° C. en líquido de Ringer-Krebs, con glucosa al 1 %. Dos técnicas diferentes fueron utilizadas para la preparación de los tejidos: la primera consistió en el aplastamiento de pequeños trozos entre dos porta objetos entre los cuales había en cada extremo un cubre objeto (Romanoff) <sup>(2)</sup>. La segunda técnica consistió en cortes de tejidos preparados según la manera habitual para esta clase de estudios (Umbreit) <sup>(3)</sup>.

*Estudios histopatológico.* — Se fijaron los tumores en formol, alcohol ó Bouin a los 1, 2, 6, 9 y 30 días después de la inoculación.

#### RESULTADOS

*Modificaciones microscópicas.* — En los tumores fijados y coloreados en las primeras 24 y 48 horas se ob-

---

Presentado para publicar el 3 de junio de 1952.

servan células con parálisis mitótica, otras con tendencia a la nucleololisis, y a la marginación cromatínica en medio de la gran masa de células sarcomatosas indemnes.

En los tumores con disminución del tamaño, fijados al tercer día después de la inoculación del virus, el número de mitosis paralizadas aumenta, aparecen pequeños focos necróticos en el centro del tumor y aumenta el número de células con cromatolisis, nucleololisis y picnosis.

Cuando la masa tumoral está en franca disminución del 5º al 7º día, la característica más evidente es el menor número de células, con aumento progresivo de los elementos conectivos intercelulares y la progresiva reducción de las células en división hasta que a los 9º y 10º días, cuando ya el tumor no es más palpable quedan unas escasas células sarcomatosas que ya no se dividen, envueltas en una cápsula fibrosa dura.

Los tumores que aumentan lentamente y luego paran su crecimiento sin desaparecer del todo, presentan una cápsula fibrosa muy dura que circunda las células malignas y protege el tejido sano de una ulterior invasión de parte del tumor. Esta cápsula aparece con la impregnación argéntica formada por una serie de capas concéntricas de fibras gruesas y negras que tienen tendencia a separar la masa tumoral en varios lóbulos. En los adenocarcinomas se ha observado solamente una desorganización de la disposición de sus lóbulos.

En la reacción de fosfatasa alcalina (con la técnica de Gomori) no se ha encontrado diferencias, ni en la intensidad ni en la localización de la enzima. Con la técnica de Mc Manus se ha observado en los tumores con virus, disminución de las gotas intracelulares de mucopolisacáridos en el centro del tumor, y un aumento muy notable de células cargadas de gotas en la periferia del tumor, es decir, en aquella zona destinada a la formación de la cápsula fibrosa. En el centro del tumor, donde hay disminución de células se nota un aumento de sustancia fundamental que se tiñe con la coloración metacromática.

*Respiración.* — Con la técnica de aplastamiento entre dos porta-objetos los valores de consumo de  $O_2$  por miligramo de peso seco fué de 4.4 para los inoculados con virus y de 3.4  $m\mu$  para los controles. La glicolisis anaerobia fué de 11.3 de  $CO_2$  para los tratados con virus y de 11.7  $m\mu$  para los controles.

Cuando se usó la técnica de cortes de tejido, los valores fueron mayores, pero no variaron respecto uno del otro, pues el consumo de  $O_2$  fué de 6.4 y 6.3 mg. para los tratados y controles respectivamente. (Cuadro 3).

#### DISCUSIÓN

Los resultados expuestos en este trabajo confirma uno presentado previamente por dos de nosotros. En él habiáanse comprobado que el virus actúa en las células cultivada "in vitro" paralizando sus mitosis y produciendo alteraciones profundas en sus estructuras.

Como hemos visto anteriormente, el virus tiene aún en los casos que el tumor sigue su crecimiento, una acción beneficiosa que se traduce por un prolongamiento en la vida del animal.

El mecanismo de esta acción consiste probablemente en un aumento de la sustancia fundamental que transforma el sarcoma en un fibro-sarcoma. Este aumento de la sobrevida no ha sido observado con los virus neurotropos los que son patógenos para el portador del tumor matándolos pocos días después de su acción oncolítica.

Tampoco los autores que han estudiado este punto han observado el aumento de la sustancia fundamental. En realidad esta acción ha sido algo sorpresiva para nosotros, pues nuestra hipótesis basada en los trabajos de Burnet, era que hubiese una desaparición total de los mucopolisacaridos. Sin embargo, debemos observar que esto sucede en el sitio de la inoculación del virus, donde se revela que el contenido de esta sustancia dentro de la célula desaparece, pero al mismo tiempo aumenta el tejido intercelular. Es posible que esta sea, no una acción del virus sino una reacción hormonal del animal que aumenta la excreción de dexosicorticoesterona.

En cuanto a la acción sobre el adenocarcinoma solamente hemos observado una desorganización de su estructura característica.

El consumo de  $O_2$  y la glicolisis anaerobia de estos tumores a las 24 horas de inoculados no acusa diferencias entre los mismos. En este tiempo no se sabe exactamente cual va a ser la evolución del tumor tratado de manera que es difícil, dado el porcentaje en los que se produce la desaparición del tumor, mostrar diferencias significativas. En algunos casos en que se llevó a cabo la prueba a

los 3-5 días después de la inoculación se observó un aumento del consumo  $O_2$  y disminución de la glicolisis anaerobia en los tratados con virus, pero el corto número de observaciones nos impide establecer conclusiones definitivas.

#### CONCLUSIONES

La histopatología de los tumores inoculados con virus "A" de Influenza demuestra una parálisis de la mitosis, una disminución de las células sarcomatosas, aumento del colágeno y formación de cápsula fibrosa en la periferia. En el sitio de la inoculación hay desaparición de los mucopolisacáridos intracelulares con aumento en las regiones circundantes.

No hay variación en el consumo de  $O_2$  y glicolisis anaerobia entre los inoculados con virus y los controles.

#### CONCLUSIONS

The histopathology of the tumors inoculated with Influenza virus "A" shows a paralysis of the mitosis, a decrease of the sarcomatous cells, an increase of the intracellular colageno and formation of fibrous cells on the periphery. At the spot of inoculation there is a disappearance of the intracellular mucopolysaccharides with an increase in the surrounding regions. There is no change in the consumption of  $O_2$  and anaerobic glycolysis between those inoculated with virus and the controls.

#### BIBLIOGRAFÍA

- 1) ROMANOFF, A. L. — *J. Exp. Zool.*, 1943, 9, 31.
- 2) UMBREIT, W. W. ET AL. MANOMETRIC TECHNIQUES — *Burgess Publishing C. Minn.*
- 3) SHARPLESS, G. R., DAVIES M. C., COX H. R. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1950, 73, 270.
- 4) ANDREWES, C. H. — *J. Pathol. Bact.*, 1940, 50, 227.
- 5) TURNER, J. C., MULLIKEN B. — *Cáncer Res.* 1947, 7, 774.
- 6) TURNER, J. C., MULLIKEN, B. — *Cáncer*, 1950, 3, 354.
- 7) MOORE, A. E. — *Cáncer*, 1949, 2, 525.
- 8) MOORE, A. E. — *Cáncer*, 1949, 2, 516.
- 9) MOORE, A. E., SHEELAGH O'CONNOR. — *Cáncer.*, 1950, 3, 886.
- 10) MOORE, A. E. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1951, 76, 749.
- 11) MOORE, A. E., STICK. — *Cáncer. Res.*, 1950, 10, 233.
- 12) LEVADITI, NICOLAU, S. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1923, 37, 443.
- 13) LEVADITI, C., HABER, P. — *Rev. Immunol.*, 1937, 3, 5.
- 14) PEARCE L., RIVERS, T. M. — *J. Exp. Med.*, 1927, 46, 81.
- 15) PARODI A. S., LAJMANOVICH S., PENNIMPEDE, F. C., MITTELMAN N. — *JL Immunol.*, 1948, 58, 109.

## I N D I C E

RICARDO A. MARGNI.— Microrreacción para el diagnóstico de la Lues practicada sobre suero o sangre desfibrinada y seca . . .	195
INDA S. MIRAVET DE ISSALY y ABEL S. ISSALY. — Contribución al estudio de la clasificación de las <i>Pasteurellas</i> (Primera comunicación). . . . .	209
VICTORIO VANNI. — Parasitismos y comensalismo de las amebas en la práctica médica . . . . .	219
FERNANDO MODERN, GUILLERMO RUFF y ALEJANDRO GATTI. — Sobre una nueva técnica utilizada para la concentración y purificación de toxoide diftérico . . . . .	225
FERNANDO MODERN, GUILLERMO RUFF y ALEJANDRO GATTI. — Purificación de toxoides diftérico y tetánico . . . . .	232
C. M. HARISPE, IDA FISCHER, CATALINA A. M. DE DEL VALLE. — Contribución al estudio de la purificación de las linfas vaccinales . . . . .	241
PABLO NEGRONI. — Clasificación de las micosis profundas. . .	248
P. NEGRONI y C. A. LANATA. — Estudios sobre <i>criptococcus neoformans</i> . . . . .	251
ABEL S. ISSALY e INDA S. MIRAVET DE ISSALY. — Actualización de los conocimientos sobre <i>Pasteurellosis</i> humana . . . . .	257
SONIA BRIEUX. — Determinación de cationes y fosfatos en líquido alantoideo infectado con virus "A" de influenza. .	265
E. SACERDOTE DE LUSTIG y A. S. PARODI. — Acción del virus "A" de influenza sobre la célula normal y tumoral cultivada "in vitro" . . . . .	268
SONIA BRIEUX. — Variación de la potasemia por acción del virus de influenza en embrión de pollo . . . . .	273
A. S. PARODI, E. SACERDOTE DE LUSTIG, J. PHAN. — Acción oncolítica del virus "A" de influenza sobre los tumores de ratón. I. Modificaciones macroscópicas y sobrevida del animal . . . . .	275
A. S. PARODI, E. SACERDOTE DE LUSTIG, J. PHAN. — Acción oncolítica del virus "A" de influenza sobre los tumores de ratón. II. Modificaciones histológicas y estudios de su metabolismo . . . . .	281