

ACCION DEL VIRUS DE COXSACKIE SOBRE EL MUSCULO DE EMBRION DE POLLO CULTIVADO "IN VITRO"

Por E. SACERDOTE DE LUSTIG y A. S. PARODI

El virus tipo A de Coxsackie ha sido cultivado "in vitro" en explantes de cerebro, músculo, intestino de embriones de ratones (Slater y Syverton 1950) y en embriones de pollo (M. Schaw 1952); el virus tipo B de Coxsackie ha sido cultivado por Weller, Robbins y Shoddard (1952) en varios tejidos humanos, menos piel y músculo, y en grasa interescapular de lauchas recién nacidas por Stulberg, Schapira y Edam (1952). Todos los autores están de acuerdo en describir la multiplicación del virus en cultivo y su acción destructiva sobre las células cultivadas. Siendo la miositis uno de los síntomas que más frecuentemente se manifiesta durante la infección a Coxackie, nos hemos propuesto estudiar su acción directa sobre el mioblasto cultivado in vitro.

MATERIAL Y TECNICAS

Hemos cultivado en gota pendiente, en frasco de Carrel, en cajas de Petri, tejido muscular y conectivo de embrión de pollo de 9-14 días de incubación.

El medio de cultivo consistía en plasma más extracto de embrión de pollo al cual se agregaba una mezcla de Solución de Hanks-Simms, líquido amniótico bovino, suero de caballo inactivado.

Después de varios repiques se agregaba al cultivo una suspensión de cerebro de laucha de 1 día, infectado con virus de Coxsackie más penicilina (100 U por ml) y estreptomycin (100 microg. por ml).

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

Los cultivos de control se trataban con el mismo material pero inactivados por el calor.

Luego de un estudio "in vitro" se fijaban los cultivos en Bouin y se coloreaban con Hematoxilina Eosina.

RESULTADOS

Observaciones in vivo

Como se sabe (Lewis 1924, Sepzenwol 1952) el músculo somático aislado de embrión de pollo y laucha, libre de conexiones nerviosas presenta contracciones automáticas, arrítmicas, con distinta frecuencia según la edad del embrión.

Cuando se agrega el material infectado con virus de Coxackie se observa y a las 24-36 horas, que las contracciones son menos frecuentes, es decir que se alarga el período de latencia entre una contracción y la otra. A las 48 horas disminuye en el explante el número de centros con automatismo propio, hasta que al 3° día de la infección se produce parálisis total de todo el explante. Los brotes musculares crecidos en el área de migración que se contraen normalmente en forma aislada son los primeros en sufrir la acción del virus. Contemporáneamente a la pérdida de la contracción muscular se observa vacuolización y degeneración de los mioblastos y fibroblastos migrados.

En los cultivos fijados y teñidos resalta el gran número de fibras musculares edematosas (Fig. 1) vacuolizadas. El sarcoplasma pierde poco a poco su estriación longitudinal y transversal y aparecen fisuras transversales a lo largo de las fibras. El sarcolema primeramente estirado por el edema aparece luego tan ondulado que todas las fibras adquieren el aspecto de un peine (Fig. 2). Los núcleos pierden sus contornos netos, sus propiedades tintoriales y se hacen picnóticos, con tendencia a moverse hacia el centro de la fibra perdiendo su contacto con el sarcoplasma.

Los fibroblastos sufren igualmente un proceso degenerativo; el citoplasma se llena de granulaciones y vacuolas; en el núcleo la cromatina es empujada en dirección de la membrana nuclear. Las células en división presentan desorganización de los cromosomas que aparecen separados y aislados en el jugo nuclear (Fig. 3).

DISCUSION

Nuestras observaciones confirman la acción directa específica del virus sobre la fibra muscular aislada del organismo, cultivada en ausencia de tejido nervioso.

La degeneración muscular observada en cultivo corresponde a la descrita por otros autores (Pappenheimer 1950, Melnick 1953), Godman y col. 1952), quienes estudiaron la histopatología de los músculos de los ratones de 1 día que sufrían de miositis y parálisis con Coxsackie, con la única diferencia que, en los músculos explantados *in vitro*, al primer período de edema y degeneración sarcoplásmicas, no sigue el segundo período de infiltración leucocitaria y regeneración de fibras que se observa en los organismos vivientes una vez transcurrido el período agudo de la infección.

No todas las fibras musculares son igualmente afectadas; se observan en el mismo preparado segmentos con varios grados de destrucción.

Parecería además que las miofibrillas presentan más resistencia que el sarcoplasma a la acción del virus puesto que conservan su estructura intacta aún cuando el sarcoplasma tiene aspecto edematoso.

Estamos estudiando histoquímicamente la modificación del glucógeno del músculo infectado con virus de Coxsackie.

RESUMEN

El virus de Coxsackie aislado durante una epidemia local (1953) agregado a un cultivo de músculo de embrión de pollo de 8-15 días, produce parálisis de la contracción automática paralelamente a vacuolización y degeneración de los mioblastos.

Histológicamente se observa edema del sarcoplasma, pérdida de la estriación y desplazamiento de los núcleos hacia el centro de las fibras.

RESUME

Nous avons infecté une culture de muscle d'embryon de poulet de 8 à 15 heures, avec le virus de Coxsackie isolé pendant une épidémie locale (1953).

On observe une paralysie de la contraction automatique de l'explant parallèlement à la vacuolisation, et une dégénérescence des myoblastes migrés.

L'examen histologique présente un oedème du sarcoplasme avec disparition de l'estriation et un déplacement des noyaux vers le centre des fibres.

SUMMARY

Coxsackie virus isolated during a local epidemic in 1955, when added to "in vitro" cultures of striated muscle of chick embryos 8 to 15 days old, produces paralysis of the automatic contraction together with vacuolization and degeneration of the myoblasts.

Histologically one observes edema of the sarcoplasm, loss of striation and displacement of the nuclei toward the center of the fiber.

BIBLIOGRAFÍA

- G. GODMAN, H. BUNTING y J. MELNICK, — *Amer. J. Path.*, 1952, 289, 225.
M. R. LEWIS, y W. H. LEWIS. — *Amer. Physiol.*, 1917, 44, 67.
J. MELNICK, ANN. — *New York Acad. Sciences*, 1955, 56, 587.
A. M. PAPPENHEINER, J. B. DANIELS, F. S. CHEEVER, T. H. WELLER. — *J. Exp. Méd.*, 1950, 92, 169.
M. SHAW. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Méd.*, 1952, 79, 7198.
E. A. SLATER, J. T. SYVERTON. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Méd.*, 1950, 74, 509.
SZEPSENWOL, J. — *Rev. Soc. Arg. Biol.*, 1941, 17, 491.
WELLER, T. H., ROBBINS, F. C., STODDARD, M. B. — *Fed. Proc.*, 1952, 11, 486.

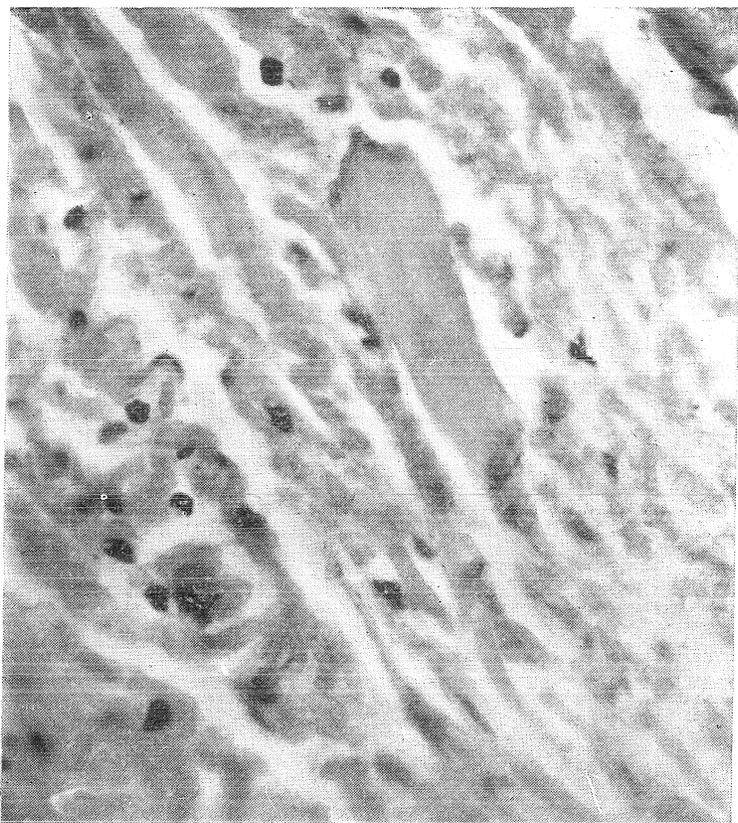


Fig. 1. — Fibra muscular edematosa que ha perdido su contracción automática luego de haber agregado el V. de Coxsackie. Sarcolema a peine.

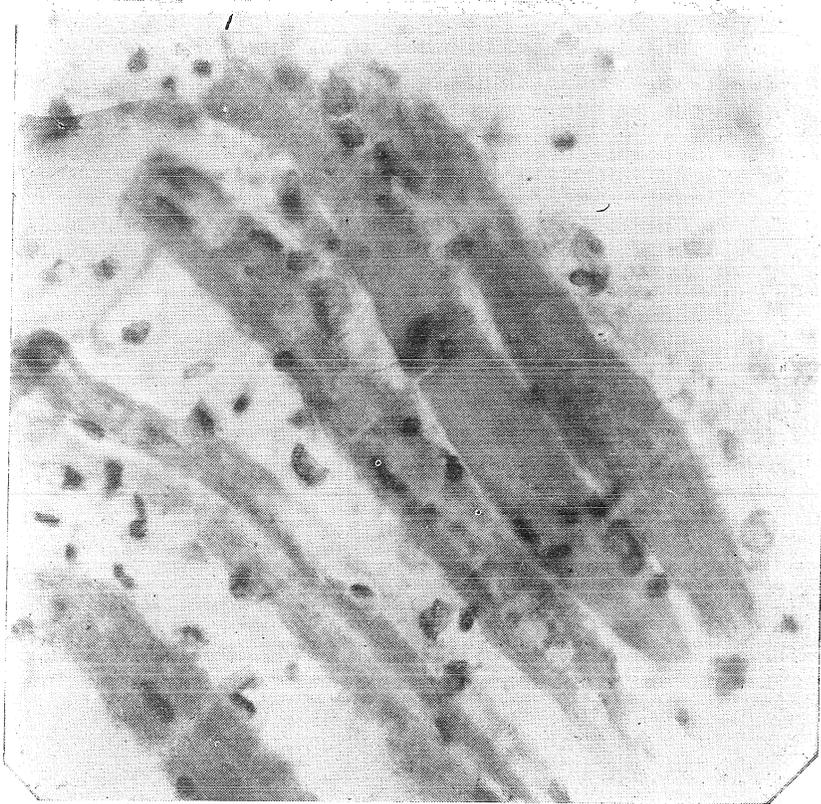


Fig. 2. — Fibras vacuolizadas. Núcleos picnóticos desplazados hacia el centro de la fibra muscular.



Fig. 3. — Desorganización de los cromosomas de un fibroblastos en mitosis por acción del virus.

