

## VIRUS TUMORALES AVIARES: Producción de tumores en mamíferos (1)

ENRIQUE F. BUSTOS (2), ALEJANDRO A. SCHUDEL (3)

### RESUMEN

En este trabajo se confirma el alto potencial oncogénico de la cepa Schmidt-Ruppin, subgrupo D de virus de Sarcoma de Rous para mamíferos. La cepa BH-RSV-(RAV<sub>1</sub>) (A) resultó negativa en la inducción de tumores en ratas. Se obtuvieron diferencias significativas entre las dosis mínimas tumorales para ratas endogámicas y heterogámicas, que indican la importancia de los antígenos de histocompatibilidad en los fenómenos de rechazo o aceptación al trasplante de tumor. Se observó una mayor susceptibilidad al desarrollo tumoral en hospedadores jóvenes que en adultos, que sugeriría una acción determinante de factores inmunológicos ontogénicos.

### SUMMARY

#### AVIAN TUMOR VIRUSES: PRODUCTION OF TUMORS IN MAMMALS

This study confirms the high oncogenic potential of the Schmidt-Ruppin strain sub-group D of Rous sarcoma virus for mammalia. The BH-RSV-(RAV<sub>1</sub>) (A) strain resulted negative in the induction of tumours in rats. Significant differences were obtained between the minimum tumoral dose for endogamic and heterogamic rats, which point out the importance of histocompatibility antigens in the phenomenon either of rejection or of tolerance of the tumour trasplant. A greater susceptibility to the tumoral development was noticed in young hosts than in adults which would suggest a determinant action of ontogenic immunologic factors.

(1) Trabajo realizado con el subsidio Nº 5.342/975 de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires.

(2) Becario de Perfeccionamiento de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires.

(3) Miembro de la Carrera de Investigador Científico del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

## INTRODUCCION

Peyton Rous encuentra en 1911, un sarcoma transmisible en una gallina de la raza Plymouth Rock barrado (6). Posteriormente este autor y su equipo realizan pasajes seriados del tumor en gallinas genéticamente emparentadas con la del descubrimiento inicial. Otros autores analizaron la etiología del tumor (4), y las características físico-químicas del virus productor (1, 2, 3) que fue designado virus de Sarcoma de Rous, miembro de la familia Retroviridae (5).

La interacción entre virus de Sarcoma de Rous y células mamíferas,

inicialmente estudiada por Zilber y Kryukova (9) y Svet - Moldavsky (8), 1957, atrajo en su momento la atención de los equipos de investigación en Oncología debido a las posibilidades de aplicación como modelo experimental en relación con la investigación de cáncer en el hombre.

En este trabajo se compara la oncogenicidad de 2 cepas de virus de Sarcoma de Rous; BH-RSV-(RAV<sub>1</sub>) (A) y SR-RSV-(D) sobre mamíferos. Asimismo se tratan de indagar los mecanismos que rigen la aceptación o rechazo a la inducción de tumor.

## MATERIALES Y METODOS

**Virus:** Cepas BH-RSV-(RAV<sub>1</sub>) (A) y SR-RSV-(D) de virus de Sarcoma de Rous, propagadas en pollos de 52 y 25 días respectivamente. Los tumores obtenidos se trituraron con la adición de antibióticos y se almacenaron a -70°C hasta su uso. Se realizaron pasajes seriados de las 2 cepas de virus con el objeto de incrementar su virulencia.

**Animales:** Ratas de la cepa Wistar endogámicas y de la cepa Sprague-Dowley heterogámicas, ratones cepa Rockland, cobayos heterocigotas coloreados y gerbils.

**Inoculación:** La primera inoculación de mamíferos se realizó en la

zona subescapular derecha, con suspensiones celulares de tumores de pollo (10<sup>7</sup> células viables/animal) inducidos por las cepas BH-RSV-(RAV<sub>1</sub>) (A) y SR-RSV-(D) de virus de Sarcoma de Rous. Los pasajes seriados en rata se realizaron con suspensiones celulares de tumores de rata (10<sup>1</sup> a 10<sup>7</sup> células viables/animal) producidos por la cepa SR-RSV-(D) de virus de Sarcoma de Rous.

A fin de detectar la producción de tumor los animales inoculados se observaron 5 veces a la semana por un período mínimo de 2 meses. Los animales muertos se necropsiaron y se realizaron estudios histopatológicos.

## RESULTADOS

Se obtuvieron resultados positivos en ratas y gerbils utilizando la cepa Schmidt-Ruppin de virus de Sarcoma de Rous. En ratas con tumores de pollo de 1º a 15º pasaje se obtuvieron 132 tumores de 339 animales inoculados (38%). En ratones y cobayos, con tumores de pollo de 1er. pasaje se obtuvieron resultados nega-

tivos. En gerbils con tumores de pollo de 14º pasaje se obtuvieron 5 tumores de 5 animales inoculados (100%), Tabla N° 1.

La cepa Bryan High Titer de virus de Sarcoma de Rous se ensayó en experiencias de heterotrasplante de ratas, con resultados negativos, Tabla N° 1.

Al realizar pasajes seriados en ratas endogámicas es posible observar que luego de realizados 10 pasajes, se nota una progresiva disminución del tiempo de aparición de tumor: 14 días en el 1er. pasaje, 10 días en el 2º, 8 días en el 3º, 6-7 días en el 4º pasaje, Tabla N° 2. Simultáneamente se comprueba un aumento del porcentaje de positividad de las inoculaciones: 38% en el 1er. pasaje, 58% en el 2º pasaje, 73% en el 3º, 74% en el 4º, 100% en el 8º pasaje y sucesivos, Tabla N° 2.

Se comparó la oncogenicidad de la cepa Schmidt-Ruppin de virus de Sarcoma de Rous en ejemplares de ratas heterocigotas (Sprague - Dowley) y ejemplares de una línea en-

dogámica de ratas Wistar. En las ratas heterogámicas la Dosis mínima tumoral 50% fue determinada en  $1 \times 10^{5,83}$  células tumorales por rata y en las ratas endogámicas la Dosis mínima tumoral 50% fue estimada en  $1 \times 10^1$  células tumorales por rata, Tabla N° 3.

Asimismo se determinó la influencia de la edad de los individuos inoculados, en la susceptibilidad al desarrollo tumoral. Se utilizaron ratas heterogámicas y endogámicas de 3 edades: 5 días, 24-28 días y 30-35 días, determinándose los valores porcentuales acumulativos para cada una de las edades, Tabla N° 3.

#### DISCUSION

El alto potencial oncogénico para mamíferos de la cepa Schmidt-Ruppin en virus de Sarcoma de Rous, subgrupo D, demostrado en nuestras experiencias, y la falta de oncogenicidad en mamíferos de la cepa BHRV (RAV<sub>1</sub>) del subgrupo A, corrobora datos obtenidos por otros autores (7). Estos hechos indicarían la existencia de una marcada selectividad en el rango de hospedador de acuerdo al subgrupo viral (7).

El aumento de la positividad de las inoculaciones y la disminución del período de formación de tumor en los pasajes seriados de tumores inducidos por la cepa Schmidt-Ruppin de virus de Sarcoma de Rous en ratas, podrían indicar un aumento de su virulencia y patogenicidad en relación directa con el número de pasajes. Sin embargo, otros resultados experimentales nos demuestran que los tumores inducidos no son productores de virus.

Es aceptado universalmente que la supervivencia de tejidos trasplantados depende fundamentalmente de la

compatibilidad entre donador y receptor. Así hemos obtenido una aceptación casi total al trasplante en la cepa endogámica (individuos genéticamente semejantes) empleando bajas concentraciones de células ( $2 \times 10^1$  células tumorales/rata), mientras que en la cepa heterogámica los porcentajes de aceptación son más bajos y la Dosis mínima tumoral elevada ( $2 \times 10^5$  células tumorales/rata), Tabla N° 3.

La observación experimental (Tabla N° 3) de una mayor susceptibilidad al desarrollo tumoral en ratas jóvenes que en adultas, podría fundamentarse en base a la adquisición de madurez inmunológica (humoral y celular) en el tiempo, y por lo tanto, los individuos jóvenes resultarían más susceptibles que los adultos. Experiencias en marcha permitirían determinar en forma más clara la influencia de los mecanismos inmunológicos, celular y humoral, en la respuesta a la producción tumoral en nuestro sistema experimental.

TABLA Nº 1

*Inducción de tumores en especies mamíferas por la inoculación de virus de Sarcoma de Rous*

Especie mamífera	Cepa de virus	Nº pasaje en pollo	Nº tumores /Nº inoculados	Porcentaje de positividad
	(X)			
Rata	SR-RSV-(D)	1º-15º	132/339	38
	(+)			
"	BH-RSV-(RAV <sub>1</sub> ) (A)	1º	0/18	0
Ratón	SR-RSV-(D)	1º	0/28	0
Cobayo	SR-RSV-(D)	1º	0/2	0
Gerbil	SR-RSV-(D)	14º	5/5	100

(X): Cepa Sschmidt-Ruppin de virus de Sarcoma de Rous.

(+): Cepa Bryan High Titer de virus de Sarcoma de Rous.

TABLA Nº 2

*Inducción de Sarcoma de Rous en ratas por inoculación de la cepa Schmidt-Ruppin de virus de Sarcoma de Rous*

Pasaje del virus en rata	Edad ratas (días)	Nº tumores /Nº inoculados	Porcentaje de positividad
1º	1-19	132/339	38
2º	1-4	53/90	58
3º	1-8	28/38	73
4º	2-4	32/43	74
5º	4	4/4	100
6º	3	4/6	66
7º	8	5/9	55
8º	3	9/9	100
9º	1	4/4	100
10º	adultos	3/3	100

TABLA N° 3

Comparación de la oncogenicidad de la cepa Schmidt-Ruppin de virus de Sarcoma de Rous en ratas heterogámicas y endogámicas de diferentes edades

Ratas	Edad	N° de células tumorales inoculadas						
		10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	15 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>
(+) Heterogámicas	5 días	(X) 0	0	0	0	40 <sup>↑</sup>	100	100
	35 días	0	0	0	0	0	0	33 <sup>↑</sup>
(&) Endogámicas	5 días <sup>↑</sup>	66	100	100	100	100	100	100
	24-28 días	0	0 <sup>↑</sup>	100	100	100	100	100
	30-35 días	0	0	0	0 <sup>↑</sup>	66	100	100

(+): Cepa Sprague-Dowley.

(&): Cepa Wistar.

(X): Porcentaje de totales acumulativos.

<sup>↑</sup> : Dosis tumoral 50%.

## BIBLIOGRAFIA

- ALLISON y BURKES The nucleic acid contents of viruses. *Journal of General Microbiology*. 27: 181-194. 1962.
- BONARD y BEARDS Virus of Avian Myeloblastosis. XII. Chemical constitution. *Journal National Cancer Institute*. 23:183-197. 1959.
- CLAUDE, A.; PORTER, K. R. and PICKELS, E. G.: Electron microscope study of chicken tumor cells. *Cancer Research*. 7:421-430. 1947.
- ELFORD, W. J. and. ANDREWES, C. H.: Estimation of the size of a fowl tumour virus by filtration through graded membranes. *Brit. J. Exp. Path.* 16:61-66. 1935.
- FENNER, FRANK: Classification and Nomenclature of viruses. Second Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. 116 p., 1976. S. Karger-Basel. München. Paris. London. New York. Sydney.
- ROUS, P. A.: Transmissible avian neoplasm. (Sarcoma of the common fowl). *J. Exp. Med.*, 12:696-705. 1910.
- SMIDA, J.; SMIDOVÁ, V.: Different tumorigenicity of Avian RNA Sarcoma Viruses for some Mammalian Species. *Neoplasma* 19, 5. 1972.
- SVET-MOLDAVSKY, G. J.: Development of multiple cysts and of Haemorrhagic affections of internal organs in albino rats treated during the embryonic or new-born period with Rous sarcoma virus. *Nature*, 180:1299-1300. 1957.
- ZILBER, L. A. and KRYUKOVA, I. N.: Haemorrhagic disease of rats caused by Rous sarcoma virus. *Vopr. virusol.*, 2-239-243. 1957.