

## DESPRE ETIOLOGIA VIROTICĂ A REUMATISMULUI ACUT VI. CERCETĂRI ELECTROPTICE ASUPRA CULTURILOR DE CELULE INFECTATE CU VIRUSUL R<sub>31</sub>

A. Abrahám, Gy. Filep

În lucrările noastre anterioare (1, 2, 3, 4, 5) am descris izolarea unor virusuri cu mărimea de 120–180 milimicroni, izolate din lichidul cefalo-rachidian al copiilor bolnavi de reumatism acut. Am constatat că virusurile produc un efect citopatic (ecp) pe culturile de celule de cord Cynomolg (CM) și că serul bolnavilor neutralizează această acțiune a virusurilor; în schimb unele seruri standard de poliomielită, Coxsackie, ECHO și APC nu au această proprietate. În continuare, am efectuat reacția de fixare a complementului (6), folosind unul dintre virusurile izolate de noi — R<sub>31</sub> — drept antigen brut față de unele seruri provenite de la copii bolnavi de reumatism acut și unele seruri obținute de la mături, suferinzi de cardite, respectiv presupuși a fi bolnavi de reumatism poliarticular cronic. Rezultatele obținute par să confirme legătura dintre acest virus și boala reumatismală acută, deși nu putem exclude posibilitatea participării streptococului în declanșarea bolii. S-ar putea că atât virusul cât și streptococul să fie incriminați ca agenți etiologici ai reumatismului acut. Această ipoteză este susținută în prezent de mai mulți autori (7, 8).

În lucrarea de față dorim să expunem rezultatele cercetărilor noastre asupra comportării virusului R<sub>31</sub> în culturi de celule CM, urmărite la microscopul electronic.

### *Materiale și metodă*

Virusul R<sub>31</sub>, izolat de noi și presupus de a fi candidat pentru declanșarea bolii reumatismale acute la copii, a fost menținut prin pasaje succesive pe culturi de celule CM. Pentru cultivare am folosit mediul Hanks-Earle + ser de vițel 10%, iar pentru menținere mediul LaYc fără ser. Pentru examinările electronoptice am utilizat celulele CM infectate cu virus din pasajul XXV, după 4 zile de incubație. Incluziunile celulelor s-a făcut în metacrilat de metil și butil, iar secționarea la ultramicrotom de tip „Reichert” și cercetarea la microscopul electronic de tip „Tesla BS 242 A”.

### *Rezultate*

La microscopul electronic celulele apar sub cele mai variate forme, observându-se leziuni atât în structura citoplasmatică, cât și în cea a nucleului.

Citoplasma este neuniformă, observându-se mitocondrii ușor alterate, de forme și dimensiuni variate. Citoplasma celulară este neomogenă și prezintă granulații sau vacuolizări, însă drept mai caracteristice am considera nenumăratele vilozități care iau uneori forme ovalare sau chiar rotunde și care se deplasează de pe rețelele celulare. Numai pe alocuri se pot distinge urme de ergastoplasmă. În alte imagini se pot distinge formațiuni mici electrondense, sub formă de conglomerate care par a semăna cu îngrămădiri de corpusculi elementari virotici în citoplasma celulară (fig. nr. 1 și 2). La nivelul nucleului se observă leziuni mai accentuate dintre care menționăm în primul rând vacuolizarea și ușoara descompunere a nucleolului (fig. nr. 3). În nucleoplasmă se deosebesc componente electrondense sub

formă de conglomerate, asemănătoare cu cele din citoplasmă (fig. nr. 4). Nucleul își schimbă mult structura, prezentând cele mai variate faze ale distrugerii ca: gruparea componentelor granulare, izolarea acestora sub diferite forme care par să imite localizarea corpusculilor elementari virotici din celule. Alteori se manifestă la acest nivel o vacuolizare intensă (fig. nr. 5). Totodată se deosebesc unele formațiuni inelare cu un miez central (fig. nr. 6). S-ar putea ca aceste grupări să fie într-adevăr grupări de particule virotice în formare.

### Discuții

Este cît se poate de greu a ne pronunța, dacă elementele electrondense, observate de noi atît în citoplasmă cît și în nucleu, aparțin particulelor virale sau nu. Este cert că sub acțiunea virusului R<sub>31</sub>, efectul citopatic al celulelor CM, care merge pînă la distrugerea completă a celulelor, devine evident la microscopul fonic. Există de asemenea o oarecare analogie între distrugerea primordială a citoplasmei observată la microscopul fonic și distrugerea ei din piesele ultrasectionate. În cazul urmării fonice a efectului citopatic, se remarcă rezistența incipientă a nucleilor și lezarea lor numai într-un timp mai tardiv. Pe ultrasecțiuni se pun în evidență imagini asemănătoare, cînd pe lîngă nucleul vizibil dar lezat se deslușesc doar urme de citoplasmă.

Pare verosimil ca aglomerările electrondense din citoplasmă, cît și cele izolate sau uneori sub forme inelare din nucleu, să fie componente ale corpusculilor elementari virotici. De altfel și Lannigan și Zaki (9) au descris în ultrasecțiunile efectuate din nodulii lui Aschoff ai cardiacilor de reumatism, particule electrondense, foarte asemănătoare cu cele observate de noi.

### Concluzii

1. În urma examenelor preliminare, efectuate pe ultrasecțiuni la microscopul electronic, pare verosimil ca virusul candidat la reumatism infantil acut să provoace leziuni celulare atît la nivelul citoplasmei, cît și al nucleului în culturi CM.

2. În protoplasma și în nucleul celulelor CM, infectate cu virusul R<sub>31</sub>, se observă particule electrondense izolate sau aglomerate, care imită localizarea corpusculilor elementari virotici.

3. Ar fi posibil ca distrugerea celulelor să înceapă o dată cu lezarea nucleolilor, după care ar urma lezarea citoplasmei și doar ulterior a nucleului, fapt care ar putea reprezenta și etapele replicării virusului R<sub>31</sub> din celulele CM. Totuși nu deținem deocamdată date pentru excluderea streptococului din procesul infecțios.

Sosit la redacție: 3 mai 1966.

### Bibliografie

1. ABRAHAM A., FILEP GY., NUSSBAUM O.: Simposion de reumatologie Tg.-Mureș (1961);
2. ABRAHAM A., PAPP Z.: Revista Medicală (1963), 3, 298;
3. ABRAHAM A., SABĂU MONICA, NUSSBAUM O., PAPP Z.: Orvosi Szemle (1965), 1, 41;
4. ABRAHAM A., PAPP Z.: Proc. of the IV. Congress of the Hung. Ass. Microbiol. Budapest (1965);
5. ABRAHAM A., SABĂU MONICA, NUSSBAUM O., PAPP Z.: Sesiunea Științifică a I.M.F. Tg.-Mureș (1965);
6. ABRAHAM A., SABĂU MONICA, O. NUSSBAUM: Revista Medicală (1966), 1, 45;
7. DREIZIN A. și colab.: Vopr. Virusol (1961), 5, 21;
8. MARCENCO L. și colab.: Vopr. Virusol. (1962), 4, 78;
9. LANNIGAN, ZAKI S.: Lancet (1965), 7395; 1098.

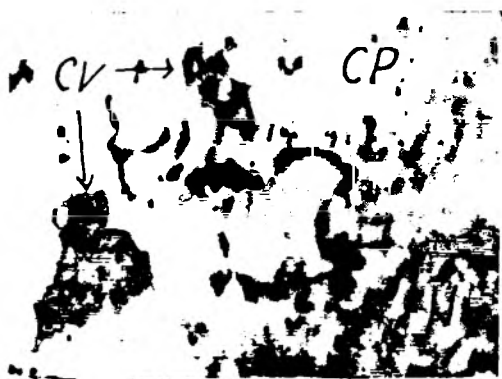


Fig. nr. 1.: Mărire 16.000 X

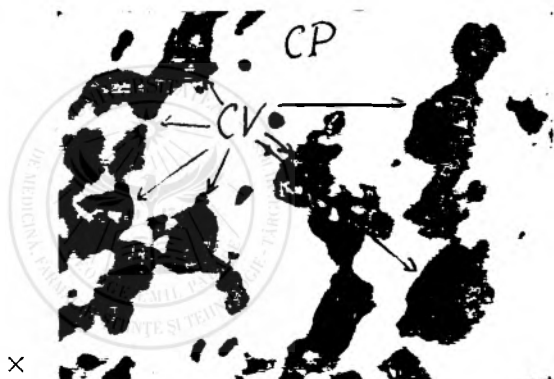


Fig. nr. 2.: Mărire 16.000 X



Fig. nr. 3.: Mărire 20.000 X

Fig. nr. 1-3.: Culturi de celule CM, infectate cu virusul R<sub>31</sub>. Ultrasecțiune (N =nucleu, CP cito-  
plasmă, No=nucleol, CV=corpusculi virotici, V=vacuole).

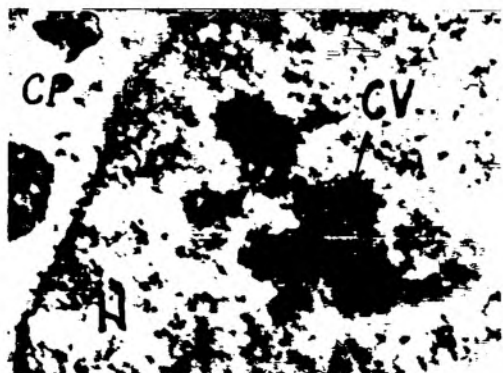


Fig. nr. 4.: Mărire 20.000

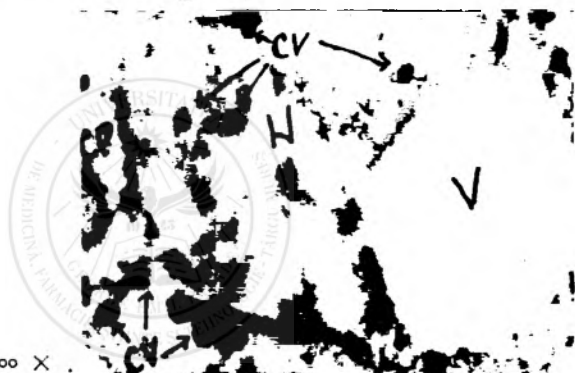


Fig. nr. 5.: Mărire 25.500 X



Fig. nr. 6.: Mărire 20.000 X

Fig. nr. 4-6.: Culturi de celule CM infectate cu virusul R<sub>31</sub>. Ultrasecțiune (N=nucleu, CP=citoplasmă, No=nucleol, CV=corpusculi virotici, V=vacuole).