

Clinica O.R.L. și Laboratorul de cercetări virologice a I.M.F. Tirgu-Mureș
(cond.: prof. V. Vendég)

EXPERIENȚE ÎN LEGĂTURĂ CU PATOGENEZA ANIMALĂ A VIRUSURILOR VEGETALE ȘI ETIOLOGIA VIROTICĂ A TUMORILOR UMANE

Partea I.

V. Vendég

Mecanismul de acțiune al hidrocarburilor și al coloranților azotici cancerigeni a fost interpretat în trecut în două feluri: 1. tumorile maligne sînt cauzate de însăși substanțele cancerigene; 2. distrucția celulară produsă de substanțele amintite și procesul de regenerare consecutiv, ca stare precanceroasă, creează numai condiții ca virusul tumoral ubicuitar să genereze tumoarea din teritoriul lezat. În favoarea acestei din urmă concepții pledează experiența practică, verificată de multe ori, conform căreia în regiunile tisulare lezate (de lupusul vulgar, l. eritematos, xeroderma pigmentoasă, fistule persistente timp îndelungat, inflamații cronice, eczeme rebele, cicatrici în-veterate etc.) adesea iau naștere tumori canceroase fără aplicarea substanțelor cancerigene.

Etiologia virotică a tumorilor aviare

Etiologia virotică a tumorilor a fost dovedită pentru prima oară la tumorile maligne ale găinilor. Rous în 1910 a produs tumori maligne la găini, inoculîndu-le filtratul acelular al sarcoamelor apărute spontan. Mai tîrziu s-a constatat (McIntosh, 1933) că la păsări pot fi cauzate tumori identice cu substanțe cancerigene și că acestea sînt transmisibile prin filtratul acelular. Aceste două constatări fundamentale și de mare importanță în domeniul cercetărilor tumorale nu au fost apreciate în mod convenit. Din cele de mai sus poate fi dedusă următoarea concluzie: tumorile păsărilor, apărute spontan sau produse prin substanțe cancerigene, sînt cauzate de virusuri. Pînă în prezent nu s-a reușit să se descopere experimental etiologia virotică a tumorilor umane și ale mamiferelor, dar pe baza celor relatate, aceasta este foarte verosimilă.

În opoziție cu cele de mai sus, timp îndelungat, următoarea concepție a avut cei mai mulți adepți: tumorile păsărilor sînt generate de virusuri, iar tumorile maligne ale mamiferelor și ale omului sînt cauzate de substanțe cancerigene. Substanțele cancerigene pot ajunge în organism din lumea exterioară, ori iau naștere chiar în organism, în cursul proceselor metabolice.

În cursul deceniilor concepția a fost în general adoptată, determinînd totodată și direcția cercetărilor cancerogenezei. Alitudinea care domina această perioadă, este oglindită de următoarele citate: „Teoria virotică este slab fundamentată chiar pînă astăzi“ (Borst, 1938). „Virusul latent al tumorilor trebuie considerat ca inexistent“ (Warburg și Christian, 1943) Etiologia virotică avea puțini

adepti. Dintre aceștia menționăm pe *Gye*, care pe baza datelor care i-au stat la dispoziție, a afirmat încă în anul 1925 că toate tumorile maligne umane și animale sînt cauzate de virusuri.

Etiologia virotică a tumorilor mamiferelor

Dintre tumorile maligne ale mamiferelor, etiologia virotică a putut fi dovedită pentru prima oară în papilomatoza cu tendință la malignizare a iepurilor cu coada linoasă, care trăiesc sălbatic în America (*Shope*, 1932). Cîțiva ani mai tîrziu, *Bittner* (1936) a arătat în legătură cu carcinomul spontan al șoarecilor albi de laborator, că el poate fi de asemenea transmis prin filtratul acelular. În urma inoculării filtratului de lapte acelular al șoarecilor cu cancer mamar la șoareci nou-născuți, aceștia se îmbolnăvesc la vîrstă adultă de cancer mamar.

În ultimii 15 ani, etiologia virotică a tumorilor mamiferelor a trecut printr-o evoluție remarcabilă. *Gross* a inoculat în 1953 la șoareci nou-născuți filtratul singelui și al lichidului tisular al șoarecilor leucemici. După maturizare, o parte a șoarecilor inoculați s-au îmbolnăvit de leucemie, iar la alții au apărut tumori canceroase (frecvent la nivelul parotidei). *Stewart* și colab. (1953, 1956) au obținut rezultate identice, folosind aceeași metodă. În decurs de 15 ani, efectele virusului au preocupat pe mulți cercetători. S-a dovedit că virusul poate produce malignizare și la alte rozătoare de laborator și că malignizarea apare la nivelul diferitelor organe. Tumorile apărute cit și denumirea virusului — poliom — indică o mare varietate.

Cercetările au mai pus în evidență și faptul că același virus este capabil să determine tablouri clinice, aparent foarte diferite și anume: leucemie sau tumori canceroase. Cele două afecțiuni sînt identice în esență: una reprezintă boala canceroasă a sistemului hematopoetic, iar cealaltă a parotidei sau a altor organe. La păsări este un fapt bine cunoscut de mai multe decenii, (*Oberling* și *Guerin*, 1933) că virusul leucemiei poate produce deopotrivă leucemie sau sarcom.

Friend (1956) apoi *Graffi* (1957) au inoculat filtratul acelular al cancerului de ascită al șoarecilor, la șoarecii nou-născuți, reușind să obțină astfel leucoză limfatică, respectiv leucemie mieloidă. *Thurzo* și *Sveč* (1956), *Moloney* (1959) au reușit să provoace leucemie prin inocularea filtratului de cancer al șobolanului la șobolani nou-născuți.

McCulloch și colab. (1959) au inoculat filtratul acelular al adenocarcinomului murin la hamsteri nou-născuți, obținînd sarcoame renale cu o dezvoltare foarte rapidă, provocînd sucombarea animalelor în decurs de 2 săptămîni.

Ca rezultat al cercetărilor autorilor citați și al multor alora, azi este dovedită etiologia virotică a majorității tumorilor maligne la mamifere. După *Stanley*, *Zilber*, *Duran-Reynals*, *Oberling*, *Gross*, *Beard*, *Lieberman* și *Kaplan*, toate tumorile canceroase, — înțelegînd și tumorile cauzate de substanțe cancerigene — (deoarece atît morfologic, cît și biologic corespund carcinoamelor de origine virotică) sînt cauzate de virusuri.

Originea endogenă sau exogenă a virusului oncogen

Referitor la originea virusului oncogen au existat două concepții contradictorii: 1. virusul ia naștere în interiorul organismului pe cale endogenă, din proteinele celulelor intacte, modificate patologic în urma factorilor chimici și fizici; 2. virusul pătrunde din exterior în organism, pe cale exogenă. Mai de mult virusurile oncogene au fost considerate endogene (*Doerr* 1932, *Rous*

și Beard 1935). Originea endogenă sau exogenă a virusurilor reprezintă o problemă dezbătută multe decenii în virologie. În favoarea originii exogene a virusurilor putem trece în revistă un mare număr de dovezi din domeniul virusurilor umane, animale și vegetale. Originea endogenă a virusurilor nu a putut fi dovedită cu certitudine pînă în prezent în nici un caz. Azi sînt considerate exogene toate virusurile umane, animale, vegetale și bacteriene. După Stanley, Zilber, Oberling și Guerin, Duran-Reynals, virusurile oncogene, asemenea celorlalte virusuri sînt și ele de origine exogenă.

Azi, pe baza concepției adoptată de cei mai mulți cercetători, tumorile maligne ale păsărilor și mamiferelor sînt cauzate de virusurile exogene ubicuitare. Prezența ubicuitară a virusurilor oncogene se dovedește la animale corespunzătoare de experiență. În urma administrării substanțelor cancerigene puternice, cînd reușim să obținem în 70% sau chiar într-un procent mai ridicat al cazurilor tumori canceroase. Este deci suficientă creerea condițiilor necesare apariției cancerului cu substanțe cancerigene fără să fie necesară administrarea virusului oncogen prezent pretutindeni.

Problema rezervorului virusului oncogen

Existența virusului tumoral exogen, ubicuitar, impune în mod obligator prezența unui rezervor bogat și variat în afara organismului uman și animal, unde virusurile oncogene împreună cu alte virusuri se produc în mare număr și de unde ajung în organism din timp în timp. Nu cunoaștem în natură încă un rezervor atît de bogat și variat de virusuri, ca cel reprezentat de virusurile lumii vegetale, foarte felurite și în mare cantitate.

În lumea vegetală virusurile sînt foarte răspindite. Aproape fiecare plantă crescută în condiții naturale, prezintă semne manifeste ale unor viroze, sau virusul este prezent în formă latentă și se poate pune în evidență prin procedee corespunzătoare. Cantitatea enormă a virusurilor în lumea vegetală, poate fi apreciată prin următorul exemplu: majoritatea covârșitoare a proteinelor din frunzele de tutun cu semnele bolii de mozaic este alcătuită de proteine virotice, în cazuri extreme chiar 80% din cantitatea lor totală (Butenandt, 1938).

Virusurile cauzează la vegetale infecții generale. Virusul este prezent în fiecare parte a plantei: în frunze, tulpini, semințe, fructe, rădăcini sau în tuberculi. Omul și animalele consumînd vegetale crude introduc concomitent în organism și cantități considerabile, calitativ foarte variate, de virusuri în stare activă.

Are o importanță fundamentală precizarea faptului, dacă virusurile vegetale se pot înmulți în organismul vertebratelor. În această privință am luat o atitudine pozitivă în cursurile anului 1948 cit și în lucrările publicate mai tîrziu (Vendég, 1951; Vendég și Ábrahám, 1951; Vendég, 1954; Vendég, Ujváry și Ábrahám, 1958; Vendég, 1958; Vendég, 1959; Vendég, 1965). În cursul celor două decenii, de la prima noastră luare de atitudine, în toate domeniile științelor tributare cercetărilor virologice, au fost date publicității numeroase descoperiri noi legate de cercetarea virusurilor. Au apărut rezultate noi, pe baza cărora a fost necesară revizuirea multor teorii vechi, eronate. Nici unul dintre rezultatele noi, nu este în contradicție cu concepția noastră, ba chiar mai multe dintre ele pledează în favoarea justetei ei.

Datele din literatură pledează pentru înmulțirea virusurilor vegetale în organismul vertebratelor

1. Lwoff (1954), Gierer și Schramm (1956), Fraenkel-Conrat (1956), Hart (1956) au dovedit că în înmulțirea virusurilor, factori activi sînt numai acizii nucleici, iar aceștia nu sînt străini nici unor celule, fiind prezenți în toate celulele umane, animale, vegetale și bacteriene.

2. Ca rezultat al eforturilor fitopatologilor și entomologilor s-a dovedit și a devenit cunoscut în cercuri tot mai largi că virusurile vegetale se înmulțesc în organismul insectelor (păduchi de frunze tripse, cicade etc.). (Fukushi, 1935; Kunkel, 1937, 1938; Black, 1948, 1950, 1959; Prentice, 1949; Maramorosch, 1952, 1956, 1958, 1963, 1968; Day, 1955; Yamada și Yamamoto, 1955, 1956; Littau și Maramorosch, 1956; Jensen, 1958; Cadman și Harrison, 1956). Pe de altă parte este cunoscut de multă vreme că virusurile insectelor (țînțari, muște, căpușe etc.) se pot înmulți în organismul uman și al mamiferelor (encefalita de țînțar, encefalita de căpușe, febra galbenă etc.).

Azi numărul îmbolnăvirilor al căror agent patogen (arbovirusuri) se înmulțește atât în organismul insectelor cât și al vertebratelor a trecut de 150. Dacă virusurile vegetale se pot înmulți în insecte, iar virusurile insectelor se pot înmulți în vertebrate, nu este nici un impediment principal ca virusurile vegetale să se înmulțească în vertebrate. Azi virologi eminenti, pornind de la faptele de mai sus, au ajuns la această concluzie, pe baza datelor amintite, la care noi am ajuns pe baza observațiilor, rezultatelor și experiențelor proprii. Bieling și Gsell (1962) scriu în ediția 5-a a manualului lor intitulat: „Die Viruskrankheiten des Menschen“ următoarele: „Știm că insectele sînt vectorii și răspînditorii virozelor vegetale și că virusul respectiv se poate înmulți frecvent în insecta vector. Aici se află deci puntea de legătură. Nu este exclus ca aceste virusuri să dobindească însușiri patogene pentru om și mamifere“.

3. Despre virusuri, în trecut s-a crezut că ele se răspîndesc de la omul — respectiv animalul — bolnav, la cel sănătos, în mod continuu, fără întreruperea lanțului de infecție. Odată cu lărgirea cunoștințelor noastre de virologie, această afirmație a devenit inacceptabilă. A reieșit că virusurile ajunse de la bolnavi în mediul înconjurător, în scurt timp își pierd contagiozitatea. După viroze acute, organismul vertebratelor scapă complet de virusuri. În legătură cu virusul gripal, situația a evoluat astfel: din secreția faringiană a bolnavilor, virusul se poate pune în evidență numai în primele cinci zile ale îmbolnăvirii. Virusul ajuns din organism în mediul extern, în câteva zile își pierde patogenitatea. În perioadele fără epidemii, nimeni nu a reușit să-l pună în evidență, din secreția faringiană a celor sănătoși, deși s-au efectuat foarte multe examinări. Pe baza datelor de mai sus Kravcenko (1949), și-a pus întrebarea: unde este rezervorul virusului gripal, unde își păstrează virulența și patogenitatea virusul de la sfîrșitul unei epidemii pînă la debutul următoarei epidemii, care începe după 2—3 ani (în caz de pandemie după 2—3 decenii)?

Burnet (1953) a dat acestei probleme un orizont mai larg, extinzînd întrebarea și la celelalte virusuri, definind-o în felul următor: „Fiecare problemă epidemiologică-ecologică include și cite o întrebare-cheie care pretinde un răspuns: cum supraviețuiește virusul de la caz la caz, de la epidemie la epidemie și de la secol la secol“. Credem că teza reprezentată de noi dă răspuns la această întrebare. Organismul vertebratelor face posibilă înmulțirea virusurilor numai pentru un timp de tranziție. După însănătoșire în urma unei îmbolnăviri virotice, organismul vertebratelor cu ajutorul anticorpilor se eliberează complet de virusuri, iar virusurile ajunse în mediul înconjurător, în decurs de câteva zile se inactivează și procesul de infectare se curmă. Plantele neproducînd anticorpi, conviețuirea lor cu virusurile poate dura mai multe generații. Continuitatea virusurilor în lumea vegetală este asigurată din mai multe direcții: generația nouă se poate infecta, pe de o parte din sămîntă, pe de altă parte prin insectele sugătoare, care hibernează și pot transmite infecția la generația nouă. Dacă privim problema virotică sub aspect istoric, putem afirma că agenții patogeni ai tuturor virozelor umane și

animale ar fi dispărut fără urmă, dacă rezervorul de nesecat al lumii vegetale n-ar oferi posibilitate pentru menținerea lor.

4. În ultimul timp au fost cunoscute noi serii de viroze umane și animale. Este îndeosebi surprinzător numărul mare al tipurilor de virusuri dintr-un grup anumit. Astfel de ex. grupul A al virusului Cocksackie, cuprinde 24 tipuri, grupul B 6 tipuri, grupul Echo 28, iar cel Adeno numără peste 30 de tipuri de virusuri. Faptul că diferitele tipuri pot fi serologic net diferențiate și că ele nu se pot transforma unele în altele, a sugerat multor cercetători ideea că ele provin dintr-un rezervor care există în afara organismului uman și animal. Această presupunere devine și mai verosimilă în lumina faptului, că afecțiunile produse de diferitele tipuri ale adenovirusurilor survin în regiuni geografice bine determinate (*Sage și Suie 1956, Van Der Veen și Kok, 1957*).

5. Numărul virozelor cu apariție „net sezonală”, în cazul cărora îmbolnăvirile survin vara și toamna s-a înmulțit considerabil. Faptul este cu atât mai curios cu cât insolația și căldura din cursul verii sînt factori care nu favorizează, ci din contră, inhibă transmiterea și răspîndirea virozelor umane și animale. Virusurile ajunse în lumea exterioară se inactivează mult mai repede vara decît iarna. Iarna aglomerația este mai mare, favorizînd astfel infecțiile de contact. Dacă presupunem că virozele umane și animale sînt cauzate de virusurile vegetale, aceasta ne dă nu numai o explicație clară a acestui fapt bine cunoscut, ci totodată derivă din ea ca o necesitate. Vara și toamna avem contactul cel mai strîns cu lumea vegetală, consumînd în aceste anotimpuri cantitatea cea mai mare de vegetale crude. Pe baza acestui fapt, marea majoritate a virozelor a căror contagiozitate de la om la om nu este mare, trebuie să apară în mod obligator în lunile de vară și toamnă. Virozele care în zona temperată prezintă o apariție net sezonală, survin în zona tropicală și subtropicală (California, Africa-Centrală) în tot cursul anului, independent de anotimp.

Acceptarea virusurilor vegetale ca rezervoare ale îmbolnăvirilor umane și animale ne duce la explicația concludentă pentru apariția sezonieră a îmbolnăvirilor virotice, fără de această premiză nu vom găsi o explicație pentru realitatea apariției sezoniere a îmbolnăvirilor virotice, fapt cunoscut de atîtea decenii.

Inmulțirea virusurilor vegetale la vertebrate pe baza experiențelor noastre

În primele noastre comunicări am arătat că datele furnizate din viața practică, ne-au trezit bănuiala că virusurile vegetale cauzează îmbolnăvirile virotice la om și la animale. Pentru a obține o dovadă, la început am inoculat virusuri umane și animale la un mare număr de vegetale-test de specii diferite, observînd manifestările apărute. După 3—6 săptămîni virusurile de pe plante le-am reinoculat la un grup de animale, trecîndu-le ulterior la alt grup de animale, tot la intervalul de 7 zile.

Virusurile animale inoculate la plante s-au retransformat în decurs de 3—6 săptămîni în virusuri vegetale. Reinocularea la animale în primul pasaj nu a mai provocat tabloul caracteristic virusurilor originale. Efectuînd pasaje tot la 7 zile, la noi grupe de animale, am reușit ca în mai multe cazuri, să obținem tabloul caracteristic virusurilor originale. La aceste experiențe am folosit virusuri care provoacă la animale îmbolnăviri ușor de recunoscut (pesta porcină, virusuri Cocksackie, encefalomiocardita șoarecilor). Virusul pestei porcine a produs tabloul caracteristic virusurilor originale în pasajul 2—3, virusul Cocksackie în pasajele 3—4, iar encefalomiocardita șoarecilor în pasajele 6—8.

V. VENDEG: EXPERIENȚE ÎN LEGĂTURĂ CU PATOGENEZA ANIMALĂ
A VIRUSILOR VEGETALE ȘI ETIOLOGIA VIROTICĂ A TUMORILOR UMANE.



Fig. nr. 1: Șoareci de 5 zile: Rîndul de jos: animale edemajiate, la vîrsta de 1 zi, inoculate cu suc presat din vișine, în diluție de 1:20. Animalul din partea dreaptă paralizat în a 5-a zi. Dintre cei 7 membri ai lotului, 3 prezintă paralizie și succombă între 4—7 zile iar 4 au supraviețuit. Greutatea medie 4,6 g. Rîndul de sus: animalele de control, la vîrsta de 1 zi, inoculate cu același suc presat dar fierț. Acest lot de 6 animale, după o observație de 3 săptămîni rămîne asimptomatic. Greutatea medie 2,4 g.

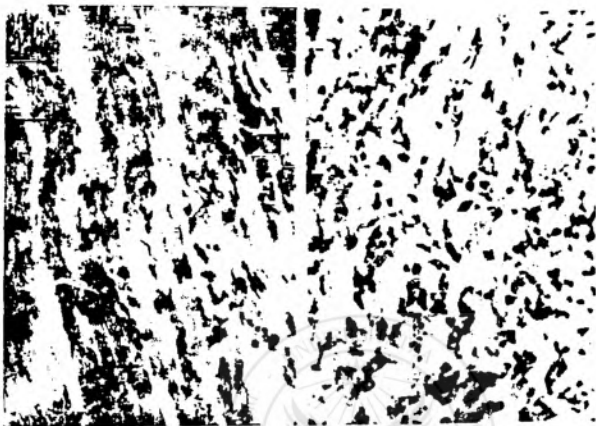


Fig. nr. 2: Imaginea de jos: secțiune histologică din mușchii gabei a unui șoarece, inoculat cu suc presat dintr-o căpsună, în diluție de 1:5 și paralizat în a 5-a zi a experimentului. Modificările corespund degenerației Zenker. Imaginea de sus: secțiune histologică din mușchii gabei a animalului de control, după 6 zile de la inoculare cu același suc presat, dar fierț. Secțiune din mușchi normal. Colorație hematoxilină-eozină, 330 X. În ambele cazuri.

V. VENDÉG: EXPERIENȚE ÎN LEGĂTURĂ CU PATOGENEZA ANIMALĂ
A VIRUSURILOR VEGETALE ȘI ETIOLOGIA VIROTICĂ A TUMORILOR UMANE.

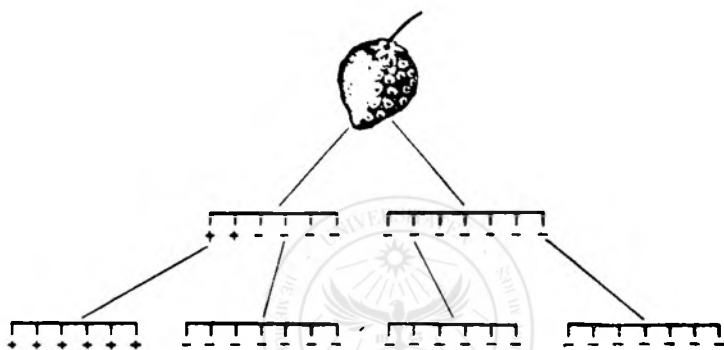


Fig. nr. 3: Rezultatul reprezentat schematic al pasajului I și II a șoarecilor nou născuți, inoculați cu suc presat dintr-o căpșună, în diluție de 1:5. (Semnul „+” indică paralizie și sucombare, iar semnul „-” animalele asimptomatice după o observație de 3 săptămâni).

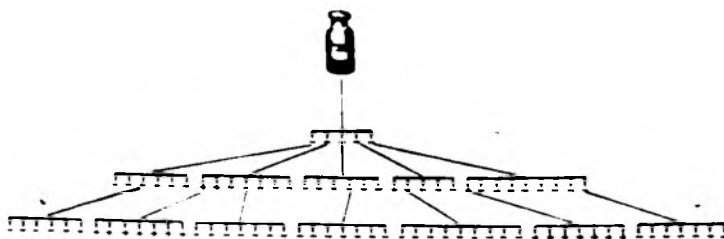


Fig. nr. 4: Rezultatul obținut, reprezentat schematic al șoarecilor nou născuți, pasajul I, II și III, inoculați cu suspensia standard, preparată din sucul a 1.0 kg frunze de piersec presate.

V. VENDÉG: EXPERIENȚE ÎN LEGĂTURĂ CU PATOGENEZA ANIMALĂ
A VIRUSURILOR VEGETALE ȘI ETIOLOGIA VIROTICĂ A TUMORILOR UMANE.

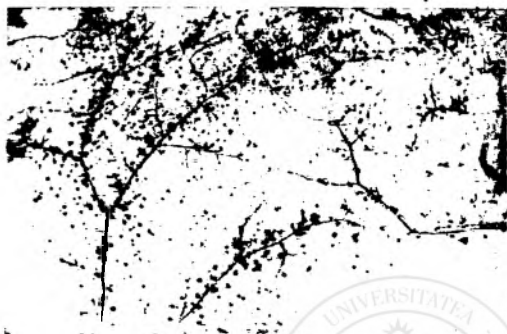


Fig. nr. 5: Membrana chorio-alantoidiană a unui embrion de găină inoculat la vârsta de 10 zile cu suc presat de roșie, în diluție de 1:5, sucombat la vârsta de 22 de zile. În jurul vaselor mici apar modificări hemoragice.



Fig. nr. 6: Embrioni aparținând experimentelor anterioare: tulburări în resorbția gălbenușului.

V. VENDÉG: EXPERIENȚE ÎN LEGĂTURĂ CU PATOGENEZA ANIMALĂ
A VIRUSURILOR VEGETALE ȘI ETIOLOGIA VIROTICĂ A TUMORILOR UMANE.



Fig. nr. 7: Pasajul II al experienței precedente. Embrioni inoculați la vârsta de 10 zile, sucombați în cea de a 18-a zi. Membrana chorio-alantoidiană este edemațiată, vasele obstruate.



Fig. nr. 8: În stînga, embrion edemațiat după experimentul anterior, nedezvoltat, socombat la vârsta de 18 zile. În dreapta, embrion normal, la vârsta de 18 zile, inoculat cu material de control fiert.

V. VENDÉG: EXPERIENȚE ÎN LEGĂTURĂ CU PATOGENEZA ANIMALĂ
A VIRUSURILOR VEGETALE ȘI ETIOLOGIA VIROTICĂ A TUMORILOR UMANE.

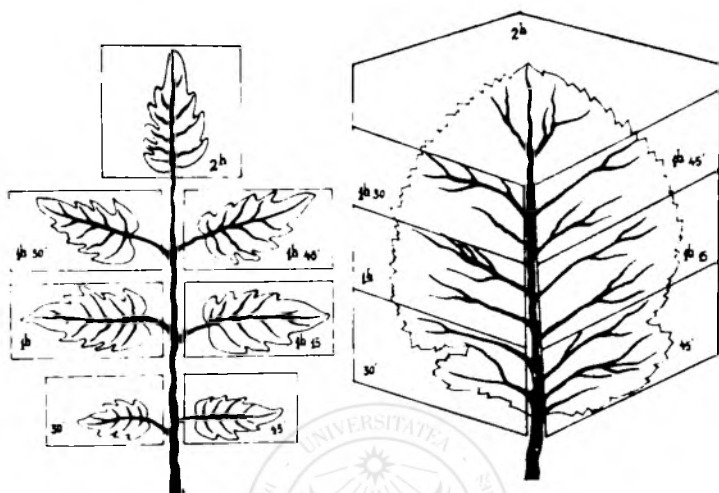


Fig. nr. 9: Locul și momentul recoltării.

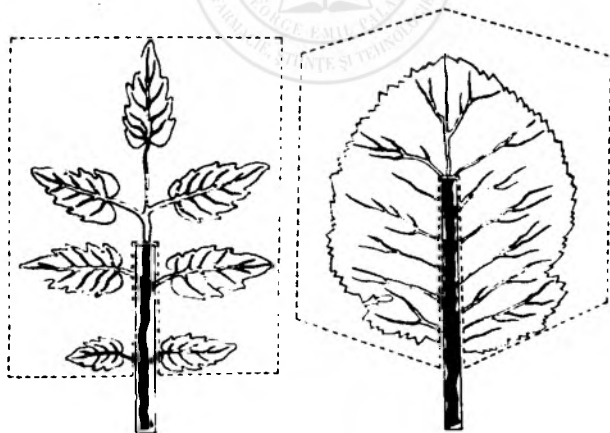


Fig. nr. 10: Distribuția cantitativă a virusurilor: 2/3 a părții inferioare a nervurilor principale (—) și restul (- - -). Cele 2/3 ale nervurilor inferioare reprezintă 20—30 % din greutatea totală a frunzelor. Virusurile care sînt reizolabile, cantitativ, sînt conținute în aceste părți.

Pentru cercetarea patogenității la animale a virusurilor vegetale formate pe cale naturală, am procedat în felul următor:

Sucul obținut din diferite plante (care în majoritate au fost diferite fructe) l-am inoculat la șoareci nou-născuți și la embrioni de găină de 8—10 zile. Pentru inocularea uneia dintre substanțe am folosit 1—4 familii de șoareci, respectiv cite 8—10 embrioni de găină. Loturile de control au fost egale ca număr și au primit aceeași substanța, dar fiartă. După 7 zile virusurile au fost trecute altor loturi de animale (pasajul II). În I sau al II pasaj unii dintre șoarecii nou-născuți inoculați cu substanța de experiență, paralizează între a 4-a și a 7-a zi, decedind după 1—2 zile de la apariția paraliziei. Modificările histologice sînt în concordanță cu cele cauzate de virusul Cocksackie (fig. 1 și 2). Prelucrînd anual în medie cite 50 substanțe, am izolat în decurs de 10 ani, mai mult de 20 de tulpini de virusuri în majoritate obținute în pasajul I, și mai puține în al II-lea.

Adeesea am obținut rezultate pozitive prin următorul procedeu: toamna am recoltat 0.5—1.0 kg frunze de la plante diferite (piersici, roșii, ardei, castraveți, variate soiuri de tutun) care prezentau simptome evidente ale bolii virotice. După procedeul *Stanley* [precipitare și resolubilizare repetată, cu $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$] din suc frunzelor am preparat o suspensie de virus purificat. După 8—10 zile de repaus am preparat suspensia standard, volumul căreia se compune din părți egale de precipitat și supernatant [$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ în semiconcentrație]. Din suspensia standard, după agitare, am centrifugat 1.0 ml, la 4000 de turații. Am decantat supernatantul și prin stratificare cu apă distilată, am îndepărtat cea mai mare parte a $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Precipitatul, suspendat în 1.0 ml apă distilată, l-am administrat subcutan, la un lot de 10 șoareci nou-născuți, revenind deci 0.1 ml pentru un șoarece. Folosind acest procedeu, am obținut rezultate pozitive în majoritatea preparatelor. Un alt avantaj al suspensiilor standard față de suc de fructe este că experiențele se pot repeta la voința experimentatorului.

Mecanismul patogenzei în lumina experiențelor de mai sus se desfășoară într-un mod caracteristic. Dintre numeroșii șoareci nou-născuți inoculați cu aceeași substanță, numai cîțiva paralizează și mor, iar celelalte animale rămîn asimptomatice. De la animalele paralizate, virusul poate fi transmis și în pasajul următor, în care toate animalele paralizează și sucombă, iar perioada de latență, de 4—7 zile, se reduce aproape la jumătate. De la animalele asimptomatice, virusurile în general nu sînt transmisibile (fig. 3—4).

Pe baza însușirilor caracteristice ale virusurilor izolate din plante am presupus înrudirea lor cu diferite tipuri de Cocksackie grupa A. Pentru lămurirea acestei probleme ne-am adresat lui *Dalldorf** — descoperitorul virusurilor Cocksackie — cu rugămintea să tipizeze una din tulpinile virotice, izolate de pe căpșuni. După constatarea lui *Dalldorf* acest virus a fost neutralizat de serul imun al tipului Cocksackie A₄. Între cele două virusuri totuși există deosebiri considerabile: perioada de latență a virusului izolat de la om este de 3—4 zile, iar a 4-a zi toate animalele inoculate paralizează și sucombă. Perioada de latență a virusului izolat din plante este de 4—6 zile, iar ultimele animale au sucombat în a 8-a—9-a zi.

Pentru inocularea embrionilor de găină, am folosit materialul de mai sus filtrat cu filtrul Seitz EK. Filtratul l-am picurat pe membrana corio-alantoidiană. Rezultatele pozitive obținute au fost mai frecvente decît în experiențele pe șoareci. Majoritatea embrionilor au sucombat între a 8-a și a 11-a zi. De-a lungul vaselor mici ale membranei corio-alantoidiene au apărut

* Aducem dr.-ului G. *Dalldorf* mulțumiri pentru bunăvoința cu care ne-a răspuns la solicitare.

numeroase alterări hemoragice punctiforme. Datorită acestor alterări ale vaselor, marea majoritate a gălbenuşului nu a fost absorbit (fig. 5—6). Efectuind pasaje în ziua a 7-a, la noi embrioni de găină, aceştia au sucombat între a 4-a şi a 8-a zi, iar vasele mari au prezentat alterări şi obstrucţii. Dezvoltarea embrionilor rămîne în urmă, prezentînd ca şi membranele corio-alantoidiene edeme (fig. 7—8). În lichidul amniotic şi alantoidian, cu ajutorul microscopului electronic, s-au pus în evidenţă corpusculi elementari, de forme şi dimensiuni variate, în funcţie de virusul utilizat.

Se ştie că, reproducerea virusurilor se petrece în mod ciclic. În prima fază a ciclului, corpusculii elementari se adsorb pe suprafaţa celulelor. În timpul adsorbţiei se formează legături trainice. Adsorbţia este urmată de pătrunderea substanţelor infectante în celule. Moleculele acidului nucleinic, lungi şi filiforme, ajunse în celule se descompun în particule pierzîndu-şi patogenitatea. Substanţele infectante astfel pătrunse nu pot fi puse în evidenţă nici măcar tranzitoriu (fază de eclipsă). Acizii nucleinici descompuşi în particule, se încorporează în substanţa celulară (organizare) şi începe reproducerea lor. În ultima fază a ciclului de reproducere corpusculii elementari noi, maturizaţi se eliberează din celule (eliberare).

Deoarece toată reproducerea virusurilor decurge după cum am arătat mai sus, ea trebuie să fie valabilă şi pentru virusurile vertebratelor care se reproduc în plante, cit şi pentru virusurile vegetale care se reproduc în vertebrate.

În cele ce urmează expunem rezultatele obţinute prin aceste experienţe: am sectionat de pe tulpină frunze, în greutate de 3.0—10.0 g şi timp de 30 minute le-am aşezat cu partea tăiată într-o suspensie virotică, cu titru cunoscut, iar apoi timp de 90 minute le-am pus în apă de robinet. La începutul şi în cursul adsorbţiei de apă, la interval de cîte 15 minute am recoltat probe din diferite părţi ale frunzelor (fig. 9) şi le-am omogenizat prin adăugare de ser fiziologic în producţie de 1:5, 1:20 raportată la greutate, iar apoi le-am reinoculat la animale. Deşi frunzele au absorbit o cantitate relativ mare din suspensia virotică, totuşi nu am reuşit să punem virusul în evidenţă în părţile prelevate din frunze. Dacă după 30 de minute de adsorbţie a virusurilor şi 90 de minute de adsorbţie a apei, separăm 2/3 a părţii inferioare ale nervurilor principale de celelalte părţi ale frunzelor (fig. 10) şi le titrăm conţinutul virotic, constatăm că virusurile reisolabile, se găsesc cantitativ preponderent în cele 2/3 inferioare ale nervurilor principale. Faptul rămîne cu atît mai pregnant, cu cît cele 2/3 ale părţii inferioare constituie doar 20—30% din greutatea totală a frunzelor. Proporţia de disribuire a virusurilor reisolabile a rămas neschimbată şi în cazul dacă după adsorbţia timp de 30 minute a virusurilor am continuat adsorbţia apei timp de 24 ore. Însă în acele experienţe în cursul cărora înainte de adsorbţia virusurilor frunzele au absorbit glicerină (soluţie 25%) — substanţă care prin lezarea celulelor inhibă adsorbţia virusurilor — după puţin timp de la începerea adsorbţiei de apă, virusurile au pu'tut fi evidenţiate din orice parte a frunzelor. Efectuînd experienţele şi în ordine inversă, introducînd frunzele în suspensia virotică şi apoi în soluţia de glicerină, am constatat că virusurile adsorbite nu au fost puse în libertate de glicerină.

Experienţele arătate au fost efectuate cu plante din familii diferite (Solanacee, Crucifere) şi cu diferite virusuri de patogenitate animală (tipuri diferite de Coxsackie grupa A, ectromielie, pestă aviară, pestă porcînă), rezultatele fiind concordante. Virusurile de patogenitate animală, nu se distribuie însă uniform în diferitele părţi ale frunzelor, ci se adsorb în acele celule cu care ajung mai întîi în contact. Adsorbţia este legată deci de prezenţa celulelor vii, intacte.

Sosit la redacţie: 30 septembrie 1968.