

RECIENTES PROGRESOS EN EL CONOCIMIENTO
DE LA POLIOMIELITIS*

Por HENRY W. KUMM, M.D., DR.P.H.

Subdirector de la Fundación Nacional contra la Parálisis Infantil

Durante los dos últimos años han aparecido en la literatura médica varios centenares de artículos sobre muchas fases de la parálisis infantil. Es imposible discutirlos todos en el breve espacio de tiempo disponible. Algunos de los artículos a discutir son de primordial interés, pero desafortunadamente no pueden incluir todos los aportes de importancia publicados durante este período. Los puntos a discutir se refieren a la etiología, epidemiología, factores precipitantes de la parálisis en animales de experimentación y en el hombre, estudios sobre inmunización y, finalmente, el importante descubrimiento de que el virus puede ser cultivado en tejidos.

ETIOLOGÍA

Las pruebas de inmunidad cruzada han demostrado que los virus de la poliomielitis pueden ser clasificados en tres grandes grupos antigénicos. Ya se ha completado esta investigación, que comprende varios centenares de cepas del virus, y se ha publicado un informe de los resultados con las primeras cien. Los gastos de esta investigación fueron sufragados por la Fundación Nacional contra la Parálisis Infantil; el estudio quedó a cargo de un comité especial de clasificación, y fué llevado a cabo por cuatro grupos de investigadores en las Universidades de Pittsburgh, Kansas, Utah y Southern California. Estos estudios fueron iniciados en 1948 y completados tres años después (1, 2).

Se emplearon tres métodos. En el primero se vacunaron monos con tipos conocidos de virus inoculándolos más tarde intracerebralmente con cepas desconocidas de virus. Si el virus de prueba producía poco o ningún efecto cuando se inoculaba intracerebralmente, se daba por sentado que esa cepa pertenecía al mismo tipo que el usado para la inmuni-

* Trabajo leído en la Décima Reunión Anual de la Asociación Fronteriza Mexicana-Estadounidense de Salubridad, Monterrey, México, marzo 24-27, 1952.

zación. Por el contrario, si el virus de prueba provocaba parálisis o la muerte del animal, pertenecía sin duda a un tipo diferente.

El segundo método comprendió una prueba de neutralización. Se obtuvieron potentes sueros por hiperinmunización de monos con las cepas Brunhilde y Lansing, comprobando luego los virus no clasificados con los antisueros conocidos. Por desgracia, no pudieron clasificarse satisfactoriamente con esa prueba de neutralización *in vivo* las cepas con muy bajo poder de patogenicidad. Por lo tanto, se elaboró un tercer procedimiento, que consistió en inmunizar a los monos contra cepas desconocidas mediante la inyección intramuscular de virus más dos coadyuvantes. El antisuero resultante era comprobado con cepas conocidas de virus. Este método de clasificación resultó más eficaz y económico que los dos procedimientos recomendados en un principio.

Entre las primeras cien cepas clasificadas, 85 fueron del tipo Brunhilde o tipo I, 12 pertenecían al grupo Lansing o tipo II, y sólo tres se asemejaban a la cepa prototipo del virus Leon o tipo III. La mayoría de las cepas primitivas fueron aisladas en monos. Más recientemente, con el uso de cultivos en tejidos, se han obtenido numerosas cepas del tipo III o tipo Leon, quizás porque los cultivos en tejidos constituyen un medio más apropiado para aislar las cepas de este tipo. También se ha descubierto que en una sola epidemia en una comunidad puede intervenir más de un tipo de virus poliomiélfítico. Por ejemplo, Bodian (3) ha comunicado el aislamiento de cepas del tipo I y III en niños pequeños que usaban el mismo sitio de recreo.

Bodian también ha demostrado que los segundos ataques de la poliomiélfitis parálítica en seres humanos se deben a reinfección con virus de un tipo antigénico diferente al que produjo el primer ataque. Ofreció el ejemplo de un niño que sufrió su primer ataque a la edad de 3 años y el segundo a la de 12. En la época del segundo ataque, el niño presentaba un alto nivel de anticuerpos del tipo Brunhilde, en tanto que en las suspensiones fecales concentradas se aisló una cepa de virus semejante al de Leon. Por lo tanto, Bodian dedujo que el primer ataque parálítico se debió a un virus del tipo Brunhilde y el segundo a una cepa del virus Leon.

Todos los tipos tienen el mismo poder patogenicida. La patogénesis, virulencia, propagación y antigenicidad pueden variar entre las diferentes cepas de un mismo tipo. Por ejemplo, Melnick comunica que la cepa Y-SK, que pertenece al grupo Lansing, estimula la formación de anticuerpos cuando se suministra por vía bucal a monos *cynomolgus*. La cepa primitiva de Lansing parece haber perdido esa capacidad, quizás debido al pase repetido por animales de laboratorio.

Algunos investigadores (4, 5) han demostrado recientemente que tanto el virus Coxsackie como el virus de la poliomiélfitis pueden ocurrir en la misma epidemia y en el mismo sujeto. En esas personas el virus de la poliomiélfitis ha sido encontrado en las heces durante más tiempo que el virus Coxsackie. Un minucioso estudio de una epidemia en Easton,

Pennsylvania, llevado a cabo por Melnick y colaboradores, reveló que más de la mitad de los pacientes examinados, particularmente aquellos con la forma parálitica de la afección, excretaban ambos virus. En esos casos no resulta todavía posible decidir hasta qué punto cada uno de los virus fué responsable del cuadro clínico de la enfermedad. Ambos virus han sido encontrados también en las aguas negras y moscas.

EPIDEMIOLOGÍA

La distribución mundial de la inmunidad a la poliomielitis indica que el organismo etiológico prevalece en todas las zonas excepto las más aisladas. Este virus es una causa importante de parálisis en los Estados Unidos, Suecia, y Australia, mientras que más cerca del Ecuador la mayor parte de los niños se inmunizan sin manifestar síntomas. Sabin (6) hace notar que "en general, mientras más pobre es el pueblo y más bajo su estándar de vida y de higiene, más diseminado se encuentra el virus de la poliomielitis, y es más baja la incidencia de la enfermedad cuando se tropiezan con cepas virulentas de virus."

En un grupo de sueros obtenidos en Point Barrow (remota aldea situada en la costa norte de Alaska), Paul, Riordan y Melnick (7) descubrieron evidencia de inmunidad a los tres tipos de virus de la poliomielitis. Se hizo un intento para correlacionar la aparición de anticuerpos con la historia local de parálisis infantil. Los datos obtenidos indicaron que una cepa del tipo de virus Leon apareció en esa región en 1905; otra del tipo Brunhilde, alrededor de 1915, y que hubo otro pequeño brote con el tipo de infección Lansing alrededor de 1930.

Un estudio aclarador llevado a cabo por Gear en Suráfrica (8), demostró la presencia del virus de la poliomielitis en las heces de cuatro de dieciséis criaturas de Bantu examinadas durante un año no epidémico. La primera muestra de las heces fué recogida dentro de los primeros 14 días del nacimiento y las muestras subsiguientes aproximadamente a intervalos mensuales. Los virus aislados demostraron que una criatura había contraído la infección en su cuarto mes de vida, otra en el octavo y dos en el duodécimo. El virus aislado de la criatura de 4 meses no pertenecía al tipo Lansing. Las otras tres cepas, sin embargo, eran del tipo II. Así pues, parece evidente que los anticuerpos Lansing, demostrables en el suero de los niños africanos, se desarrollan como resultado de infecciones asintomáticas silenciosas con ese tipo de virus y usualmente muy temprano en la vida.

Turner y colaboradores (9) comunicaron un estudio extenso de la prevalencia de anticuerpos del tipo Lansing en el suero de personas sanas que vivían en Baltimore. Setenta y dos por ciento de las criaturas menores de 3 meses eran inmunes, pero al llegar al primer año, la proporción de reactores positivos había descendido a un 10%. Las pruebas repetidas en 272 niños con neutralización negativa en el examen inicial, demostraron que la proporción de las infecciones silenciosas con el tipo Lansing ascendía a un 20% de los susceptibles, por año. De la misma

manera pareció haber una correlación inversa entre las condiciones económico-sociales favorables y el desarrollo temprano de anticuerpos.

Hammon (10) ha declarado que la infección en la infancia está relativamente exenta de peligros. Más del 50% de las criaturas de la isla de Guam, se infectaron antes del primer año de vida, sin observarse parálisis. Paul y Riordan (11) consideran que en las personas infectadas, los anticuerpos neutralizantes de tipo Lansing persisten por lo menos 20 años.

FACTORES QUE PRECIPITAN LA PARÁLISIS

Horstmann (12) estudió la relación entre la actividad física al iniciarse la poliomielitis, y la gravedad de la enfermedad. Esta investigadora descubrió que en la primera etapa de la enfermedad la actividad física no ejercía ningún efecto, pero que durante la segunda etapa o fase febril, la actividad física excesiva se asociaba sin duda con un aumento significativo del grado de parálisis subsecuente.

El mayor riesgo de poliomielitis después de la tonsilectomía ha sido estudiado por Anderson y colaboradores en el hombre (13), y por Faber y colegas en el mono (14). El primero comunicó que el riesgo de manifestar las formas más graves de poliomielitis fué por lo menos tres veces más común en las personas que se sometieron a la tonsilectomía que en personas no sujetas a esa operación. El peligro a manifestar la forma bulbar de la enfermedad fué 11 veces mayor. Faber estudió monos *cynomolgus* en los que se habían resecado los nervios olfatorios para impedir la migración del virus al cerebro por esos nervios. Si el virus de la poliomielitis se aplica a la faringe de los monos después de la tonsilectomía, se produce parálisis bulbar. Esta pudo impedirse pintando la zona inoculada con tintura de yodo al 2%.

En 1950 Shwartzman (15) publicó la muy interesante observación de que el ACTH, y la cortisona en combinación, o la cortisona solamente, producen marcada exacerbación de la poliomielitis en el ratón y aumentan la susceptibilidad de los hamsters a la forma parálitica de la enfermedad. Existe al parecer relación entre la función adrenocortical y la susceptibilidad de esos animales a la enfermedad experimental. Las investigaciones en progreso indican que bajo ciertas condiciones, la evolución de la poliomielitis experimental en los monos puede también ser acelerada con el tratamiento previo de estos animales con cortisona.

ESTUDIOS SOBRE INMUNIZACIÓN

Cuando se administra virus de la poliomielitis a monos *cynomolgus*, los anticuerpos del suero aparecen pronto, ya se presente o no parálisis. Cuando se presenta parálisis como resultado de la administración oral del virus, se encuentran por lo común anticuerpos desde el primer día de la parálisis. Melnick (16) sugirió que, dado que los anticuerpos pueden ser encontrados en el hombre desde la iniciación de la parálisis, debe reinvestigarse la posible existencia de virus en el torrente sanguíneo.

En noviembre de 1950 Hammon (17) señaló que, como en la actualidad no se dispone de ninguna vacuna, la posibilidad de inmunización pasiva merece seria consideración. Bodian demostró en monos (18) que pequeñas cantidades de anticuerpos, producidos por inmunización pasiva antes de la fijación del virus en los tejidos nerviosos, pueden impedir la infección por el virus inoculado por vía periférica. Este efecto profiláctico puede obtenerse con cantidades relativamente pequeñas de globulina gamma, la que de paso contiene anticuerpos para los tres tipos de virus. Ya se está llevando a cabo una investigación de las potencialidades de este procedimiento en el hombre.

Melnick y Ledinko (19) han efectuado estudios sobre la inmunización consecutiva a la administración oral de virus a monos. En los monos *cynomolgus*, como el chimpancé, la infección por vía bucal provoca una inmunirreacción mucho más rápida que la producida por otras vías de inoculación. Sabin (20) ha declarado que "exceptuando condiciones artificiales, la entrada del virus de la poliomiélitis por vía bucal puede ser justificadamente considerada como el modo usual de infección". Dicho autor está convencido de que "las heces humanas derivadas de pacientes y portadores sanos son la fuente más importante del virus". Además, opina que el modo usual de infección en seres humanos es por contacto con personas o cosas contaminadas con el virus, el cual es transmitido con los dedos a la boca. La disentería bacilar viene a ser, pues, el prototipo epidemiológico más parecido al de la poliomiélitis.

Al considerar las sugerencias de Sabin, es interesante mencionar que Wenner y Rabe (21) han comunicado el hallazgo del virus en los ganglios regionales en seis de nueve casos fatales de poliomiélitis. Dichos autores creen que, durante el período de invasión, el virus de la poliomiélitis se propaga desde el conducto gastrointestinal a los canales linfáticos que desembocan en la corriente sanguínea. Faber y sus colegas (22) están convencidos de que la mayoría de los seres humanos se infectan con el virus por vía bucal; sin embargo, también opinan que después de llegar a la orofaringe, el virus asciende rápidamente por los nervios regionales periféricos hasta infectar sus ganglios. En este sentido, conviene mencionar que hace cuatro años Bodian y Howe habían llegado a la conclusión de que cuando se encontraban lesiones sospechosas en los ganglios sensoriales del chimpancé o del hombre, no era posible determinar si el virus había llegado a los ganglios desde la periferia o desde el sistema nervioso central.

CULTIVO EN TEJIDOS

Aunque los informes iniciales del cultivo del virus de la poliomiélitis en tejidos fueron publicados primeramente por Enders, Weller y Robins (23) en 1949, en los últimos dos años se han logrado adelantos considerables en este campo. Enders y colaboradores han demostrado que los tres tipos del virus proliferan en células procedentes de fragmentos de tejidos del hombre o del mono, cuando dichos tejidos han sido baña-

dos con un medio nutriente adecuado y se colocan en frascos de Erlenmeyer o tubos de ensayo.

Uno de los métodos más útiles es el llamado cultivo en un tubo cilíndrico. Este consiste en un tubo de ensayo en el que se han introducido pequeños fragmentos de tejido humano o de mono, distribuidos en una película viscosa de plasma. Después se agrega una mezcla de solución salina, suero de caballo y extracto de res o de embrión de pollo. El tubo de ensayo se coloca luego en un tambor dentro de una incubadora. A medida que el tambor gira, lentamente el suero baña los pequeños fragmentos de tejido vivo. Muy pronto nuevas células comienzan a desprenderse y a diseminarse sobre la superficie interna del tubo; su crecimiento puede seguirse fácilmente con el microscopio. Si después que las células proliferan bien se agrega una pequeña cantidad de virus de la poliomielititis, el virus atacará y matará ciertas células. La acción letal del virus sobre las células en desarrollo puede observarse fácilmente con el microscopio. Además, si se agrega suero que contenga anticuerpos al mismo tipo de virus que se utilizó para infectar las células, las células susceptibles no sucumbirán a la acción letal. Si por el contrario el suero añadido contiene anticuerpos de un tipo diferente al del virus usado, las células sucumbirán a la acción letal, tal como si no se hubiera agregado ningún suero. En esta forma Robbins, Enders, Weller y Florentino (24) han podido describir un método para el aislamiento directo e identificación serológica de cepas de virus procedentes de pacientes, utilizando la técnica de cultivos en tejidos. Previamente había sido posible llevar a cabo estos procedimientos solamente con el empleo de monos.

Las perspectivas de esta nueva técnica para el estudio de la poliomielititis son extraordinarias. Enders y colaboradores han empleado piel o músculo embrionario o cerebro del hombre, riñón humano, prepucio o útero. Otros investigadores han utilizado testículos humanos o del mono. Las cepas de virus que proliferan en cultivos en tejidos, pueden emplearse como antígeno en las pruebas de fijación del complemento para el diagnóstico de la poliomielititis.

Además, parece que el virus puede propagarse en muchas generaciones sucesivas en varias clases de cultivos en tejidos, hasta que finalmente se adapta bien a nuevas condiciones. No se ha determinado todavía si tras de una larga serie de pases, será posible obtener una cepa no patogénica que retenga sus propiedades antigénicas originales.

SUMARIO

(1) Durante los dos últimos años, se han logrado numerosos adelantos significativos en el campo de la poliomielititis; de éstos, sólo algunos han sido mencionados en esta discusión.

(2) Se ha publicado un informe que trata sólo de la clasificación antigénica de las cien primeras cepas de virus, descubriéndose tres diferentes tipos inmunológicos.

(3) Se demostró que los segundos ataques de poliomielitis pueden ser causados por infecciones sucesivas por tipos inmunológicamente diferentes del virus.

(4) Se discuten los diferentes factores que provocan parálisis en el hombre y animales de experimentación.

(5) También se ha demostrado que las inyecciones profilácticas de globulina gamma pueden aminorar las parálisis de una infección experimental en los monos. Los efectos de esas inoculaciones en los seres humanos se investigan en la actualidad. Se han elaborado técnicas para la proliferación *in vitro* del virus cultivado en tejidos. Son inmensas las perspectivas de este método para el estudio de la poliomielitis.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Committee on Typing of the National Foundation for Infantile Paralysis: "Immunologic classification of poliomyelitis viruses. I. A cooperative program for the typing of one hundred strains", *Am. Jour. Hyg.*, 54:191-204, 1951.
- (2) Committee on Typing of the National Foundation for Infantile Paralysis: "Immunologic classification of poliomyelitis viruses. V. Discussion of results and general summary", *Am. Jour. Hyg.*, 54:268-274, 1951.
- (3) Bodian, D.: "Second attacks of paralytic poliomyelitis in human beings in relation to immunity, virus types and virulence", *Am. Jour. Hyg.*, 54:174-190, 1951.
- (4) Curnen, E. C., y Melnick, J. L.: "Poliomyelitis and Coxsackie viruses in paralytic poliomyelitis", *Pediatrics*, 8:237-248, 1951.
- (5) Melnick, J. L., y otros: "An epidemic of paralytic poliomyelitis characterized by dual infections with poliomyelitis and Coxsackie viruses", *Jour. Exper. Med.*, 94:471-492, 1951.
- (6) Sabin, A. B.: "Paralytic consequences of poliomyelitis infection in different parts of the world and in different population groups", *Am. Jour. Pub. Health*, 41:1215-1230, 1951.
- (7) Paul, J. R.; Riordan, J. T., y Melnick, J. L.: "Antibodies to three different antigenic types of poliomyelitis virus in sera from North Alaska Eskimos", *Am. Jour. Hyg.*, 54:275-285, 1951.
- (8) Gear, J. V., y otros: "Poliomyelitis in South Africa: studies in an urban native township during a non-epidemic year", *South African Med. Jour.*, 25:297-301, 1951.
- (9) Turner, T. B., y otros: "Age incidence and seasonal development of neutralizing antibodies to Lansing poliomyelitis virus", *Am. Jour. Hyg.*, 52:323-347, 1950.
- (10) Hammon, W. M.: "Neurotropic virus diseases with special reference to natural immunity and artificial immunization in poliomyelitis", *Pediatrics*, 8:741-749, 1951.
- (11) Paul, J. R., y Riordan, J. T.: "Observations on serological epidemiology. Antibodies to the Lansing strain of poliomyelitis virus in sera from Alaskan Eskimos", *Am. Jour. Hyg.*, 52:202-212, 1950.
- (12) Horstmann, D. W.: "Acute poliomyelitis; relation of physical activity at the time of onset to the course of the disease", *Jour. Am. Med. Assn.*, 142:236-241, 1950.
- (13) Anderson, G. W., y otros: "The risk of poliomyelitis after tonsillectomy", *Ann. Otol. Rhin. & Laryng.*, 59:602-613, 1950.
- (14) Faber, H. K., y otros: "Experimental production of post-tonsillectomy bulbar poliomyelitis", *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 77:532-534, 1951.

- (15) Schwartzman, G.: "Enhancing effect of cortisone upon poliomyelitis infection (strain MEFI) in hamsters and mice", *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 75:835-838, 1950.
- (16) Melnick, J. L.: "Poliomyelitis and poliomyelitis-like viruses of man and animals", *Am. Rev. Microbiology*, 5:309-332, 1951.
- (17) Hammon, W. M.: "Possibilities of specific prevention and treatment of poliomyelitis", *Pediatrics*, 6:696-705, 1950.
- (18) Bodian, D.: "Experimental studies on passive immunization against poliomyelitis. I. Protection with human gamma globulin against intramuscular inoculation and combined passive and active immunization", *Am. Jour. Hyg.*, 54:132-143, 1951.
- (19) Melnick, J. L., y Ledinko, N.: "Immunity following oral administration of poliomyelitis virus to monkeys", *Jour. Immunol.*, 67:213-217, 1951.
- (20) Sabin, A. B.: "Transmission of poliomyelitis virus, analysis of differing interpretations and concepts, practical implications", *Chicago Med. Soc. Bull.*, sbre. 1951.
- (21) Wenner, H. A., y Rabe, E. F.: "The recovery of virus from regional lymph nodes of fatal human cases of poliomyelitis", *Am. Jour. Med. Sc.*, 222:292-299, 1951.
- (22) Faber, H. K., Silverberg, R. J., y Dong, L.: "Studies on entry and egress of poliomyelitic infection. IV. Atraumatic oral entry: Distribution of lesions and virus during the incubation period: with notes on asymptomatic poliomyelitis", *Jour. Exp. Med.*, 94:455-470, 1951.
- (23) Enders, J. F.; Weller, T. H., y Robbins, F. C.: "Cultivation of the Lansing strain of poliomyelitis virus in cultures of various human embryonic tissues", *Science*, 109, 85-87, eno. 1949.
- (24) Robbins, F. C., y otros: "Studies on the cultivation of poliomyelitis viruses in tissue culture. V. The direct isolation and serological identification of virus strains in tissue culture from patients with nonparalytic and paralytic poliomyelitis", *Am. Jour. Hyg.*, 54:286-293, 1951.

RECENT ACQUISITIONS TO OUR KNOWLEDGE ABOUT POLIOMYELITIS (*Summary*)

(1) During the past two years a number of significant advances have been made in the field of poliomyelitis—of these, only a few have been mentioned in this discussion.

(2) A report was published which deals only with the first 100 strains of virus which have been classified into their broad antigenic groups. Three different immunogenic types were found.

(3) It was shown that second attacks of poliomyelitis may be caused by successive infections with different immunogenic types of the virus.

(4) The results of numerous studies of factors precipitating paralysis in experimental animals and man have been discussed.

(5) It has been shown in monkeys that prophylactic injections of gamma globulin will ameliorate the paralytic consequences of an experimental infection with the virus of poliomyelitis. The effects of such inoculations in human beings are now under investigation.

(5) Techniques have been developed for *in vitro* growth of virus in tissue culture. The potentialities of this procedure for advancing the study of poliomyelitis are very great.