

VARIAÇÕES MORFOLÓGICAS OBSERVADAS EM DIFERENTES AMOSTRAS DE *TRYPANOSOMA CRUZI*

Z. BRENER e E. CHIARI

RESUMO

Realizamos observações sobre a morfologia do *Trypanosoma cruzi* em sete amostras diferentes e de diversas procedências. De um modo geral elas podem ser agrupadas segundo três padrões morfológicos: (1) com predominância de formas delgadas; (2) com predominância de formas consideradas classicamente como largas; (3) amostras nas quais predominam formas largas, mas que apresentam um grande número de formas anormalmente largas. Estas últimas correspondem a parasitos isolados de triatomíneos coletados no Estado do Rio Grande do Sul.

INTRODUÇÃO

A partir da observação inicial de CHAGAS³, que assinalou a dualidade das formas sanguíneas do *Trypanosoma cruzi*, inúmeros pesquisadores têm procurado interpretar o significado desse dimorfismo. Persistem, entretanto, muitos aspectos obscuros, tais como o da frequência e natureza desse fenômeno nas populações de *T. cruzi*. Neste trabalho fizemos um estudo morfológico em populações de diferentes amostras do *T. cruzi*, dando-se especial ênfase ao seu dimorfismo e polimorfismo.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de T. cruzi estudadas — O presente estudo foi realizado em sete diferentes amostras da seguinte procedência:

1) Amostra C.L. — Isolada a partir de fezes de triatomíneos (*Triatoma infestans*) provenientes do município de Encruzilhada, Estado do Rio Grande do Sul.

2) Amostra F.L. — Isolada, igualmente, de fezes de triatomíneos (*Triatoma infestans*) capturados no município de Erval do Sul, localidade de São Diogo, Rio Grande do Sul.

3) Amostra M.R. — Como as duas anteriores, isolada a partir de fezes de triatomíneos (*Triatoma infestans*) capturados no município de Encruzilhada, localidade de Colilha das Figueiras, Rio Grande do Sul.

4) Amostra A.B.C. — Isolada, através de xenodiagnóstico, de uma paciente chagásica portadora de megacolon.

5) Amostra P.N.M. — Isolada, por xenodiagnóstico, de um paciente chagásico com megacolon e ECG normal.

6) Amostra Berenice — Isolada, por xenodiagnóstico (ESPÍNOLA⁵) da paciente de mesmo nome estudada por Carlos Chagas e cujo exame clínico é atualmente normal (SALGADO & col.⁸).

7) Amostra Y — Isolada, por xenodiagnóstico, em 1953, por SILVA & NUSSENWEIG¹⁰, de um caso agudo humano e que vem sendo mantida em camundongos.

Técnica de isolamento e manutenção das amostras — Para as amostras isoladas de triatomíneos, as fezes contendo tripanosomas metacíclicos eram diluídas em salina e inoculadas, por via intraperitoneal, em camundongos albinos pesando 14-16 g. A contagem de tripanosomas no sangue dos animais

inoculados era realizada segundo técnica já descrita (BRENER¹), sendo os resultados expressos em número de tripanosomas por 5

mm³ de sangue. As passagens das diferentes amostras em camundongos eram feitas em períodos variáveis, em geral com intervalo

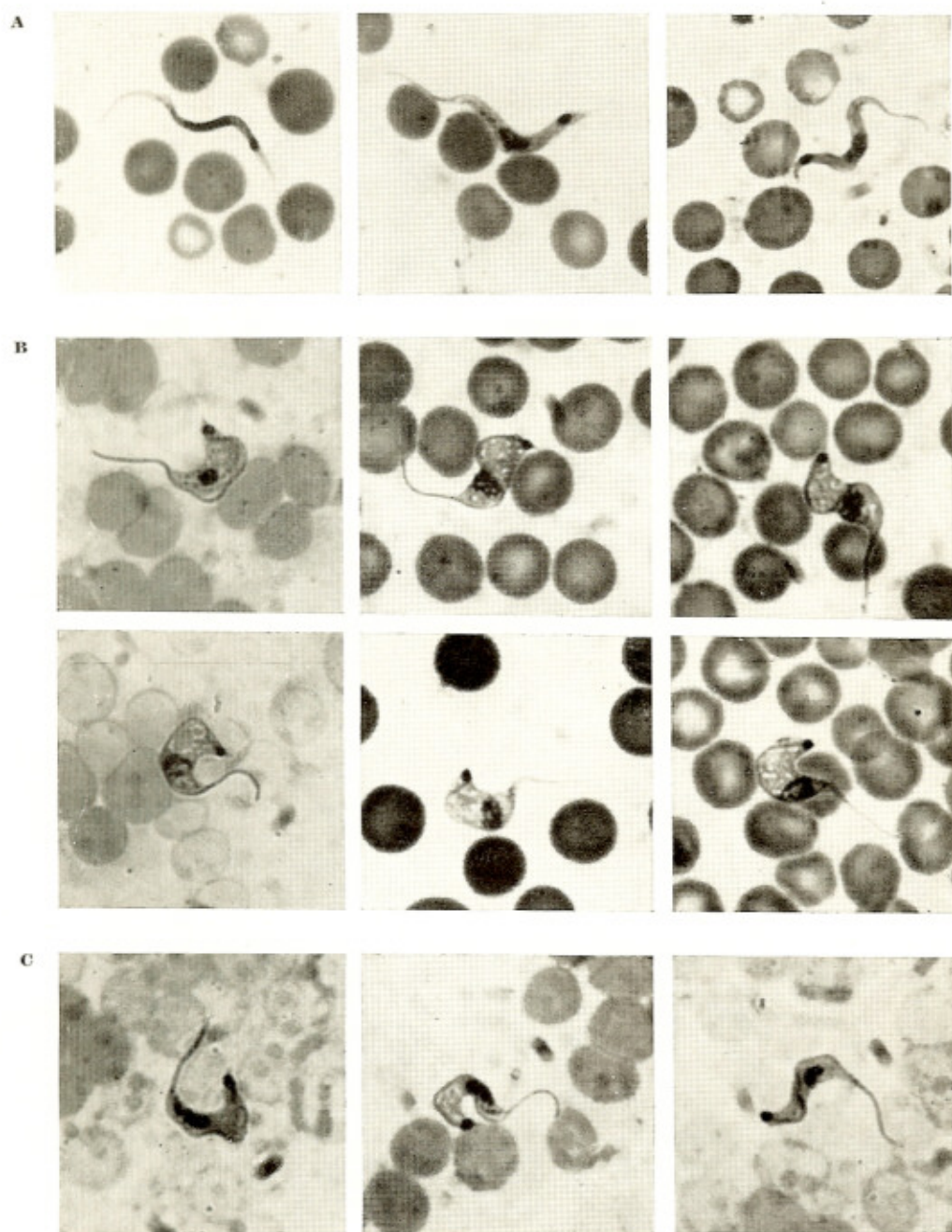


Fig. 1A — Formas sangüíneas delgadas do *T. cruzi* observadas na amostra *Berenice*. Fig. 1B — Formas sangüíneas do *T. cruzi*, muito alargadas, observadas nas amostras *C.L.*, *F.L.* e *M.R.* Fig. 1C — Formas sangüíneas largas do *T. cruzi*, observadas nas amostras *A.B.C.* e *P.N.M.*

de 8 a 10 dias, usando-se sempre a via intraperitoneal.

Estudo morfológico — A observação das formas sangüíneas era feita em esfregaço, após coloração pelo May-Grünwald-Giemsa, usando-se solução tamponada com pH 7. Desenhos de tripanosomas de diferentes amostras eram feitos em câmara clara e a mensuração realizada por intermédio de curvímetro.

RESULTADOS

A observação das formas sangüíneas das diferentes amostras em diversas fases da infecção experimental do camundongo permitiu agrupar as amostras segundo os seguintes padrões morfológicos:

1 — Amostras nas quais predominam as formas delgadas, com cinetoplasto bastante afastado da extremidade posterior, flagelo curto, núcleo de localização mediana e alongado. Nesse grupo estão localizadas as amostras Y e Berenice (Figs. 1A, 2).

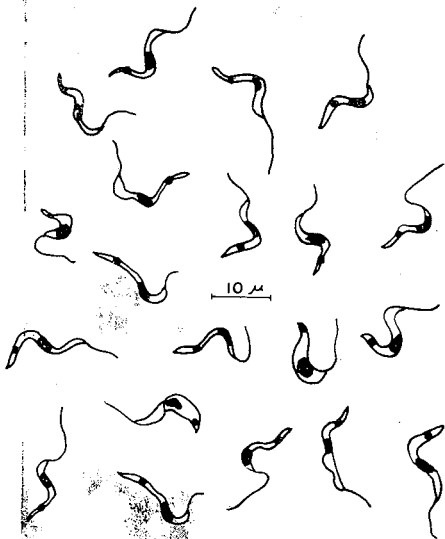


Fig. 2 — Formas de *T. cruzi* (amostra Berenice) observadas em camundongo com 11 dias de infecção.

2 — Amostras nas quais predominam as formas largas mas que apresentam um grande número de formas muito alargadas e de morfologia peculiar, apresentando cinetoplas-

to de localização terminal ou subterminal, núcleo arredondado com tendência à localização anterior, citoplasma intensamente vacuolado (Figs. 1B, 3, 4). Pertencem a esse grupo as 3 amostras isoladas de tritomíneos do Rio Grande do Sul.

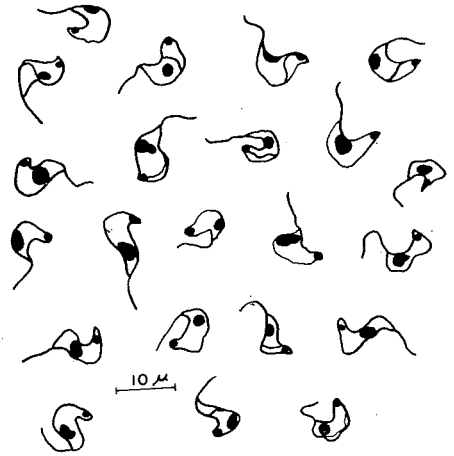


Fig. 3 — Formas de *T. cruzi* (amostra C.L.) observadas em camundongo com 11 dias de infecção.

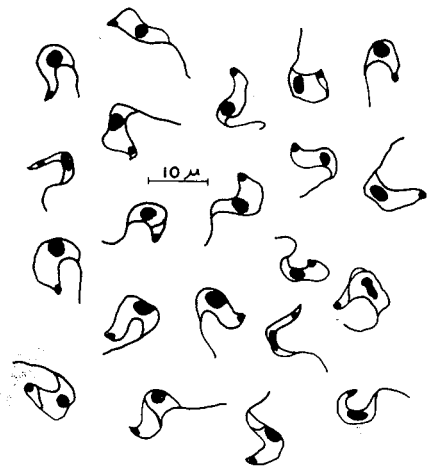


Fig. 4 — Formas de *T. cruzi* (amostra F.L.) observadas no sangue de camundongo com 11 dias de infecção.

3 — Amostras nas quais predominam formas largas com cinetoplasto terminal ou subterminal, núcleo arredondado anterior ou mediano (Figs. 1C, 5). Essas formas corres-

pondem às formas largas classicamente descritas para o *T. cruzi*. A esse grupo pertencem as amostras A.B.C. e P.N.M.

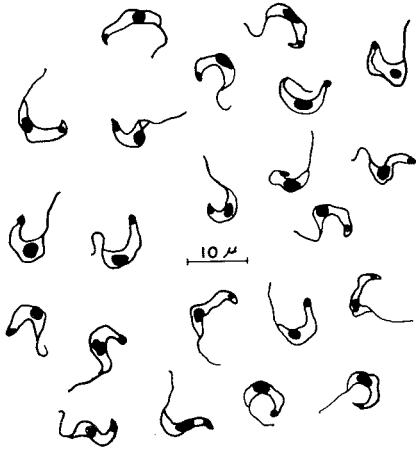


Fig. 5 — Formas de *T. cruzi* (amostra A.B.C.) observadas no sangue de camundongo com 11 dias de infecção.

As mensurações feitas em tripanosomas não selecionados das diferentes amostras permitiram obter os seguintes comprimentos totais:

C.L.	— 17,3 μ
F.L.	— 17,4 μ
M.R.	— 17,3 μ
P.N.M.	— 17,3 μ
A.B.C.	— 17,7 μ
Berenice	— 20,8 μ
Y	— 22,6 μ

DISCUSSÃO

Cumprir discutir alguns aspectos ligados à parasitemia provocada pelas amostras estudadas. Pode ser notada, de início, uma grande variação na duração do processo de obtenção de altas parasitemias nos animais inoculados com suspensão de fezes de triatomíneos, não havendo, aparentemente, relação entre o número de metacíclicos inoculados e os níveis iniciais de parasitemia. Em algumas ocasiões, após inoculação de um grande número de metacíclicos, o exame de sangue a fresco de camundongos foi repeti-

damente negativo. Em outras amostras, como por exemplo a M.R., altos níveis de parasitemia foram obtidos precocemente após a inoculação inicial com fezes de triatomíneos; já com a amostra C.L. altos níveis de parasitemia só foram atingidos após cerca de 25 passagens com 8 a 10 dias de intervalo. Com a amostra Berenice uma ascensão súbita e imprevista da parasitemia ocorreu após cerca de 20 passagens consecutivas. Apesar de todas essas variações, parasitemias intensas puderam ser obtidas e mantidas com todas as amostras estudadas, observando-se que resultados mais consistentes são obtidos quando as passagens são realizadas usando-se camundongos albinos jovens, pesando cerca de 16 g e do sexo masculino. Essas considerações têm importância no que se refere à obtenção de amostras para estudos semelhantes aos descritos no presente trabalho.

Como já foi assinalado, não passou despercebido a CHAGAS³ o fenômeno do dimorfismo das formas sanguíneas do *T. cruzi*, tendo aquele Autor considerado essa dualidade como expressão de uma diferenciação sexual. Esse ponto de vista, não aceito pela maioria dos autores, é, entretanto, acolhido por ELKELES⁴. Para BRUMPT² as formas largas representariam formas evolutivas mais adultas que derivariam de formas delgadas mais jovens presentes no sangue. Já para MEYER & OLIVEIRA⁷ o rompimento precoce das células parasitadas libertaria formas delgadas ao passo que o prolongamento da permanência dos tripanosomas nas células daria origem a formas largas. As experiências de SILVA⁹, confirmando observações anteriores de MAYER & ROCHA LIMA⁶, permitiram demonstrar, em células parasitadas, a existência de um duplo processo de evolução dos tripanosomas intracelulares: no primeiro, leishmânias arredondadas evoluíram, por um processo de “desenrolamento”, para as formas largas, ao passo que, em outras células, leishmânias fusiformes dariam origem, por simples “alongamento” com passagem pela fase de crítdia, às formas delgadas do *T. cruzi*. O mesmo autor demonstrou que a inoculação, em camundongos, de apenas formas largas dá origem a infecções em que são encontradas formas largas, intermediárias e mesmo delgadas.

As nossas observações permitiram demonstrar, como já havia feito SILVA⁹ em algumas cepas, que embora o dimorfismo se apresente, em maior ou menor grau, em tôdas as fases evolutivas da infecção experimental, existe uma nítida predominância de uma das diferentes formas, isto é, largas ou delgadas, descritas para o *T. cruzi*. Chama-nos particularmente a atenção a morfologia peculiar das formas presentes nas amostras isoladas de triatomíneos do Rio Grande do Sul, as quais se distinguem pela inusitada largura. Cumpre destacar que os referidos triatomíneos provêm de pelo menos dois municípios diferentes, sugerindo que essa particularidade morfológica tenha uma distribuição regional relativamente ampla. O significado geral dêsse polimorfismo ainda não foi suficientemente investigado, desconhecendo-se se êle expressa um diferente comportamento biológico das amostras ou se reflete apenas a existência de um "complexo" morfológico a exemplo do que ocorre com outros tripanosomas.

SUMMARY

Morphological variability of Trypanosoma cruzi observed in different strains.

Morphological studies of *T. cruzi* blood forms were performed on seven different strains of this parasite maintained in experimentally infected mice. The strains could be grouped according to the following morphological patterns: strains with most of the parasites presenting a slender form during great part of the infection; strains with broad forms highly predominating over the slender forms and, finally, strains presenting the already known broad forms and also many abnormally wide blood parasites.

REFERÊNCIAS

1. BRENER, Z. — Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da doença de Chagas. Tese, Belo Horizonte, 79 pp. 1961.
2. BRUMPT, E. — Le *Trypanosoma cruzi* évolue chez *Conorhinus megistus*, *Cimex lectularius*, *Cimex boueti* e *Ornithodoros moubata*. Bull. Soc. Path. éxot. 5:360-367, 1912.
3. CHAGAS, C. — Nova tripanozomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 1:159-218, 1909.
4. ELKELES, G. — Experimental studies and critical considerations regarding the life cycle of *Trypanosoma cruzi*. Am. J. trop. Med. 25:141-143, 1945.
5. ESPINOLA, H. — Informação pessoal.
6. MAYER, M. & ROCHA LIMA, H. — Zur Entwicklung von *Schizotrypanum cruzi* in Säugetieren. Arch. Schiffs u. Tropenhyg. 16:90-94, 1912.
7. MEYER, H. & OLIVEIRA, M. X. — Cultivation of *Trypanosoma cruzi* in tissue culture; a four year study. Parasitology 39:91-94, 1948.
8. SALGADO, J. A.; GARCEZ, P. N.; OLIVEIRA, C. F. & GALIZZI, J. — Revisão clínica atual do primeiro caso humano descrito da doença de Chagas. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 5:330-337, 1962.
9. SILVA, L. H. P. da — Observações sobre o ciclo evolutivo do *Trypanosoma cruzi*. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 1:99-118, 1959.
10. SILVA, L. H. P. da & NUSSENZWEIG, V. — Sobre uma cêpa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o camundongo branco. Folia clin. et biol. 20:191-208, 1953.

Recebido para publicação em 19 junho 1963.