

**TRYPANOSOMA (HERPETOSOMA) RANGELI TEJERA, 1920: REVISIÓN
BREVE DE LOS APORTES DEL LABORATORIO DE PARASITOLOGÍA DEL
INSTITUTO DE ZOOLOGÍA TROPICAL, FACULTAD DE CIENCIAS, U. C. V.**

Servio Urdaneta Morales

Laboratorio de Biología de *Trypanosoma* de Mamíferos

INTRODUCCIÓN

Hasta el presente se han descrito dos especies de *Trypanosoma* como parásitos del humano y de numerosas especies de mamíferos neotropicales: *T. cruzi* y *T. rangeli* (D' Alessandro y col., 1999). La bibliografía sobre la primera especie es extensa, en tanto que el conocimiento que tenemos de *T. rangeli* ha sido, hasta hace poco tiempo, muy limitado a pesar de que fue descubierta hace más de ochenta años (Tejera 1920). La lectura de sus publicaciones nos convenció de que esta situación se debía (y continúa siéndolo) al uso de protocolos inapropiados, además de algunas particularidades que presenta el parásito y que iremos describiendo. Por esta razón, en las décadas de los 80 y 90 en nuestro laboratorio del Instituto de Zoología Tropical (Facultad de Ciencias, U.C.V.) realizamos una extensa investigación sobre el comportamiento de este hemoflagelado, la cual permitió obtener resultados que esclarecieron detalles bioepidemiológicos de su historia natural. En esta corta revisión trataremos de explicar estos aportes.

***Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli* Tejera, 1920.**

Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli Tejera, 1920 utiliza como vectores diversas especies exclusivamente hematófagas del género *Rhodnius* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), las cuales se distribuyen desde México hasta Brasil. Como reservorios, utiliza mamíferos silvestres y domésticos ubicados en 5 órdenes. Ambas especies de tripanosomas comparten más del 60% de sus antígenos que producen reacciones serológicas mixtas, lo cual dificulta la obtención de datos confiables de infección humana. Según la bibliografía, la presencia del parásito en humanos se demuestra mediante

examen directo, xenodiagnóstico o hemocultivo, que han producido registros de unos 3000 casos (ver Guhl y Vallejo 2003).

A continuación discutiremos las posibles causas que han venido dificultando el conocimiento de la biología de este parásito, así como la metodología que empleamos para clarificarlas. Para ello utilizamos una cepa ("Perro-82") recientemente aislada y gentilmente cedida a nosotros por el Dr. Néstor Añez (Universidad de Los Andes), por lo cual le expresamos una vez más nuestro agradecimiento. Los parásitos se mantienen cíclicamente mediante pasajes cultivo-ratón-triatomino-(xenodiagnóstico)-ratón-cultivo, lo cual se preserva la metaciclo-génesis y evita la pérdida de infectividad de los parásitos.

Para que un tripanosoma sea considerado *T. rangeli sensu stricto* debe poseer las siguientes características: estructura morfológica y movimiento compatibles con los que muestra la especie-tipo de los *Herpetosoma (T. lewisi)*; período prepatente que puede ser tan corto como 30 min. post inoculación (PI); ausencia de estadios de multiplicación en el torrente sanguíneo así como de mortalidad en el mamífero hospedador; presencia de estadios en el lumen intestinal del vector de tipo amastigotes, esferomastigotes, epimastigotes y tripomastigotes no metacíclicos; capacidad de atravesar la pared intestinal del insecto e invadir su hemolinfa y glándulas salivares, con la producción en éstas de tripomastigotes metacíclicos infectantes para el mamífero mediante la picadura del triatomino (Hoare, 1972).

Con el propósito de determinar con precisión las propiedades citadas y poder asegurar que estábamos trabajando con un aislado de *T. rangeli* sin posibilidad de contaminación con *T. cruzi* (especie

simpátrica que se superpone con frecuencia por su distribución geográfica, vectores y reservorios) desarrollamos un modelo experimental con lotes de 8 ratones machos (cepa NMRI) de 6, 16 y 26 g (promedio) que inoculamos i.p. con 15×10^6 metatrimastigotes/g cosechados de cultivos LIT con 12 días de repique mantenidos a 22°C (Docampo y col., 1974). La parasitemia fue determinada diariamente con sangre de la vena de la cola de 4 animales/lote escogidos al azar (Brenner, 1961). Los xenodiagnósticos de animales infectados/lote sirvieron para realizar frotos de hemolinfa y contenido de glándulas salivares de los insectos, los cuales conjuntamente con frotos de sangre de los ratones, se tiñeron con Giemsa para determinar la morfología de los flagelados presentes. Las propiedades ya señaladas como características de *T. rangeli* se corroboraron con el modelo murino utilizado, en el cual los animales de 6 g produjeron parasitemias superiores a 7 veces el inóculo original y persistieron por más de 2 semanas (Urdaneta-Morales y Tejero, 1985; Tejero y col., 1988). Estos resultados son pertinentes por cuanto esta especie de flagelado se caracteriza también por producir parasitemias muy bajas y de corta duración en condiciones naturales y experimentales, por lo cual se demuestra la utilidad de nuestra metodología.

El comportamiento de *T. rangeli* en sus vectores ha sido ampliamente determinado (referencias en Tovar, Urdaneta-Morales y Tejero 1989; Azambuja y col., 1999), pero no así en sus hospedadores mamíferos. Por ello, a continuación describiremos algunos esfuerzos que hemos realizado con el propósito de aclarar algunas de las vacíos de información que presenta esta parte importante del ciclo de vida del hemoflagelado.

Está bien establecido que *T. rangeli* no se multiplica en el torrente circulatorio de los mamíferos, pero es capaz de persistir en infecciones naturales y experimentales durante años. Esto ha motivado numerosas investigaciones para determinar el sitio y los mecanismos responsables de la proliferación del parásito en sus hospedadores vertebrados (Hoare, 1972; Guhl y Vallejo, 2003). Por ello, utilizando el modelo murino descrito obtuvimos resultados que nos permiten asegurar con precisión que este parásito se reproduce en el mamífero mediante la producción de amastigotes que se

multiplican intracelularmente por fisión binaria en diferentes tejidos y órganos. Doce ratones de 3 g, inoculados i.p. con 8×10^6 metacíclicos/g fueron sacrificados individualmente a las 5 y 18 hs PI y luego diariamente hasta el quinto día PI. Los restantes fueron sacrificados a intervalos diferentes hasta la desaparición de la parasitemia y se les retiró el corazón, bazo, pulmón, riñón y cerebro, así como fragmentos de hígado, intestino, estómago, piel y músculo esquelético del fémur para luego ser procesados histológicamente con tinción por H-E y Giemsa-colofonio. El tejido conjuntivo subcutáneo, el intersticial del músculo esquelético y el bazo mostraron 5 hs PI parasitismo intenso por estadios intermedios entre tripomastigotes y amastigotes, similares a los señalados por Pan (1978) en infecciones experimentales por *T. cruzi*, así como amastigotes bien formados, todos libres en el tejido y débilmente teñidos. Algunos amastigotes mostraron inicio de división. La invasión tisular avanzó al hígado y pulmones en los animales sacrificados 18 y 24 hs PI, en tanto que a las 48 hs PI el parasitismo aumentó notablemente mientras el corazón comenzó a ser invadido hasta que a los 3 días PI mostró numerosos pseudoquistes con amastigotes, tripomastigotes, o bien estadios intermedios. El parasitismo tisular disminuyó abruptamente a partir de 96 hs PI con excepción de los conjuntivos, que permanecieron intensamente invadidos hasta 10 días PI. En paralelo con este tropismo tisular, entre 5-24 hs PI se observaron numerosos macrófagos en los tejidos conjuntivos infectados conjuntamente con aglomerados de polimorfos y algunos monocitos y mastocitos degranulados. Estos resultados se observaron también en el corazón 48-72 hs PI (Urdaneta-Morales y Tejero, 1986; de Scorza, Urdaneta-Morales y Tejero, 1986).

Otro aspecto que no había sido aclarado en la infección con *T. rangeli* en el mamífero se refiere a su pleomorfismo. En efecto, los estudios morfológicos publicados sobre los tripomastigotes sanguíneos que presentan los mamíferos parasitados se realizaron en momentos aleatorios de las parasitemias y por lo tanto sin la debida continuidad que este fenómeno requiere (ver referencias en Urdaneta-Morales y Tejero, 1992). Nosotros estudiamos este problema inoculando i.p. 3 lotes de 10 ratones ($n = 30$) de 6, 16 y 26 g (promedio) con 100.000 metacíclicos/g y un grupo adicional de 6g

fue inoculado s.c.. De cada lote de 10 ratones se extrajo diariamente sangre de la vena de la cola de 5 ratones tomados al azar, con la cual realizamos exámenes en fresco, determinación de parasitemias y frotos que teñimos con Giemsa. Éstos fueron examinados por 2 observadores independientes (1000X); un mínimo de 50 flagelados en cada estadio de la infección fueron dibujados con una cámara lúcida Nikon para determinar la biometría de las formas de acuerdo con Hoare (1972). Empleando los valores de la longitud total de los flagelados, mediante un "análisis de cluster" se determinaron, en los 4 lotes de animales, patrones morfológicos similares que mostraron una secuencia de 4 tipos pleomórficos que fueron superponiéndose a lo largo de la infección. Urdaneta-Morales y Tejero (1992) discuten el posible significado del pleo-morfismo en *T. rangeli*, así como los mecanismos que lo controlan.

Terminaré esta breve revisión de nuestros aportes sobre la biología de *T. rangeli* mediante las siguientes consideraciones. Los estudios parasitológicos que realizamos sobre el comportamiento del parásito en mamíferos (ya descritos) y en triatomos (Tovar et al. 1989) nos permiten afirmar que los resultados obtenidos (algunos de los cuales continúan siendo controversiales) podían deberse a varias situaciones: el comportamiento notoriamente variable de aislados bien caracterizados del flagelado en una variedad de vectores sugería que este tripanosoma puede estar evolucionando hacia un complejo de "sibling species" morfológicamente idénticas pero fisiológicamente distintas. En efecto, las interacciones parásito-vector varían desde una total ausencia de infección hasta la colonización del intestino con variados grados de invasión en hemolinfa o glándulas salivares; el grado final del comportamiento es la patología ocasionada al vector. Por supuesto que estas consideraciones toman en cuenta el hecho de que, lo que discuto, puede deberse a propiedades inherentes al parásito así como al hospedador triatomino lo cual complica

pero, y es lo más importante, estimula la investigación.

Por ello, los resultados divergentes obtenidos en las investigaciones realizadas por diferentes autores sobre la multiplicación de *T. rangeli* en mamíferos y en cultivos celulares (referencias en Guhl y Vallejo, 2003) apoyan la hipótesis de que el comportamiento del protozooario dependa de las características propias del aislado usado. Desde hace pocos años la caracterización bioquímica y molecular de aislados de *T. rangeli* han mostrado la plasticidad genómica del tripanosoma, lo cual según Grisard (2002) explicaría estas controversias. Vallejo y col., (2002; 2003) proponen la existencia de dos linajes en este parásito los cuales presentan una elevada divergencia genética (diferentes clases de kDNA y minicírculos). Probablemente, esto sería un resultado de co-evolución con diferentes líneas radiadas de *Rhodnius*, por lo cual cada especie del triatomino selecciona aquella subpoblación parasitaria que sea susceptible de transmitirla por inoculación. Todo ello obliga a acompañar las investigaciones parasitológicas con herramientas bioquímicas y moleculares que nuestro laboratorio está realizando por cuanto ambas se complementan.

AGRADECIMIENTOS

A los Drs. F. Tejero y C. de Scorza por su corresponsabilidad en las investigaciones realizadas; al MSc I. McLure por su permanente colaboración en el laboratorio así como en la preparación de los manuscritos; a las Lics. N. Galli y D. Tovar por su ayuda en el laboratorio; a la Sra. C. Bermúdez por su impecable trabajo histológico; al Dr. N. Añez por el valioso suministro del aislado de *T. rangeli* y al CDCH-UCV por su permanente financiamiento. Este trabajo se dedica a la memoria de Ian y Melitta McLure.

LITERATURA CITADA

- AZAMBUJA, P., D. FEDER, C. MELLO, S. COMES Y E. GARCÍA
1999. Immunity in *Rhodnius prolixus*: Trypanosomatid-vector interactions. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 94: 2 19-222.
- BRENER, Z.
1962. Therapeutic activity and criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 4: 389-396.
- D'ALESSANDRO, A. Y N. SARAVIA
1999. *Trypanosoma rangeli*. En: *Protozoal Diseases*. Gules (Ed.). Arnold Press, pp. 398-412.
- DE SCORZA, C., S. URDANETA-MORALES Y F. TEJERO
1986. *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli* Tejera, 1920: Preliminary report 011 histopathology in experimentally infected mice. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 28: 371-378.
- DOCAMPO, R., J. BOISO Y A. STOPPANI
1974. Diferencias metabólicas en *Trypanosoma cruzi* dependientes de las condiciones de cultivo. *Rev. Asoc. Arg. Microbiol.*, 6: 7-14.
- GRISARD, E.
2002. Salivaria or Stercoraria?. The *Trypanosoma rangeli* dilemma. *Kinetoplastid Biol. Dis.*, 1: 5-6.
- GUHL, F. Y G. VALLEJO
2003. *Trypanosoma rangeli*: an updated review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 98: 435-442.
- HOARE, C.
1972. *The Trypanosomes of mammals*. Oxford. Blackwell. 749p.
- PAN, S.
1978. *Trypanosoma cruzi*: Ultrastructure of morphogenesis in vitro and in vivo. *Exp. Parasit.*, 46: 92-107.
- TEJERA, E.
1920. Un nouveau flagele de *Rhodnius prolixus*. *Trypanosoma* (ou *Crithidia*) *rangeli* n. sp. *Bull. Soc. Path. exot.*, 13: 527-530.
- TEJERO, F., N. GALLI Y S. URDANETA-MORALES
1988. *Trypanosoma rangeli*: Influence of host weight, size of inoculum, and route of infection upon experimental parasitemia. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.*, 21: 135-138.
- TOVAR, D., S. URDANETA-MORALES Y F. TEJERO
1989. *Trypanosoma rangeli*: Study of the effects of the parasite on the vector. *Acta Cient. Venez.*, 4: 208-214.
- URDANETA-MORALES, S. Y F. TEJERO
1985. *Trypanosoma rangeli*: Mouse model for high, sustained parasitemia. *J. Parasit.*, 71: 409-414.
1986. *Trypanosoma rangeli*: Intracellular amastigote stages of reproduction in white mice. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 28: 166-169.
1992. *Trypanosoma rangeli* (Tejera, 1920): Observations upon pleomorphism. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 87: 511-516.
- VALLEJO, G., F. GUHL, J. CARRANZA, L. LOZANO, J. SÁNCHEZ, J. JARAMILLO, D. GUALTERO, N. CASTAÑEDA, J. SILVA Y M. STEINDEL
2002. kDNA markers define two major *Trypanosoma rangeli* lineages in Latin-America. *Acta Trop.*, 81: 77-82.
- VALLEJO, G., F. GUHL, J. CARRANZA, J. MORENO, O. TRIANA Y E. GRISARD
2003. Parity between kinetoplast DNA and mini-exon gene sequences supports either clonal evolution or speciation in *Trypanosoma rangeli* strains isolated from *Rhodnius colombiensis*, *R. pallelescens* and *R. prolixus* in Colombia. *Infect. Genet. & Evolut.*, 3: 39-45.