Zeitschrift: Acta Tropica

Herausgeber: Schweizerisches Tropeninstitut (Basel)

Band: 25 (1968)

Heft: 4

Artikel: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zum Lebenszyklus von "Trypanosoma cruzi" : unter besonderer Berücksichtigung der Entwicklungsformen im Überträger "Rhodnius prolixus"

Autor: Brack, Christine

Kapitel: II: Beschreibung des Zyklus von Trypanosoma cruzi Stamm G in Rhodnius prolixus

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-311542

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 12.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Aus diesen Arbeiten geht hervor, daß sich verschiedene mögliche Entwicklungsgänge aufstellen lassen. Im Darm der Raubwanze kommen immer viele Entwicklungsstadien nebeneinander vor, und diese lassen sich je nach Interpretation in die diversen Schemata einordnen.

Angesichts dieser Probleme stellten wir uns die Frage, ob sich in der Feinstruktur der einzelnen Formen strukturelle Unterschiede finden lassen, welche einen Hinweis geben könnten auf die Reihenfolge der Entwicklung. Die bis jetzt veröffentlichten elektronenmikroskopischen Arbeiten über *T. cruzi* befassen sich mit einzelnen Stadien aus Kulturen und Gewebe (MEYER & PORTER, 1954; MEYER et al., 1958; MEYER & QUEIROGA, 1960; SCHULZ & MACCLURE, 1961; SANABRIA, 1963, 1964; WÉRY & DE GROODT-LASSEEL, 1966). Das Gewicht unserer Studien soll deshalb hauptsächlich auf die Stadien im Überträger *Rhodnius prolixus* gelegt werden, wobei Blut- und Kulturformen lediglich zu Vergleichszwecken verwendet werden.

Gegen den Abschluß meiner elektronenmikroskopischen Untersuchungen ist die Publikation von SANABRIA (1966) über das Zeitschriftenabonnement im Frühjahr 1967 in meine Hände gelangt. Der Autor befaßt sich ebenfalls mit den *T. cruzi*-Formen im Wanzendarm, behandelt aber nur die epimastigoten und trypomastigoten Stadien, bei welchen er zu ähnlichen Resultaten kommt. Im Interesse einer geschlossenen Übersicht über das Ganze wird in der vorliegenden Arbeit trotzdem eine lückenlose Beschreibung der Ultrastruktur sämtlicher Stadien gegeben. Auf Berührungspunkte mit den Befunden von SANABRIA wird von Fall zu Fall hingewiesen.

Wir wollen zunächst den Zyklus von *Trypanosoma cruzi* im Darm von *Rhodnius prolixus* beschreiben, wie er in unseren Versuchen beobachtet wurde. Daraus werden wir sehen können, wann und in welchen Darmabschnitten die verschiedenen Entwicklungsstadien auftreten. Danach soll die Feinstruktur der einzelnen Formen beschrieben werden. Zuletzt werden wir Versuche besprechen, in denen wir einzelne Stadien isoliert züchteten und ihre Entwicklung einerseits im Wanzendarm, andererseits in Deckglaskulturen verfolgten.

Die vorliegende Arbeit wurde als Dissertation unter der wissenschaftlichen Anleitung meines verehrten Lehrers Herrn Prof. Dr. R. GEIGY, Vorsteher des Schweizerischen Tropeninstitutes in Basel, durchgeführt. Für sein ständiges Interesse und viele anregende Diskussionen möchte ich ihm an dieser Stelle herzlich danken; ebenso auch dafür, daß er mir für diese Untersuchungen einen Arbeitsplatz an der elektronenmikroskopischen Abteilung des Tropeninstitutes zur Verfügung gestellt hat. Es ist mir ein besonderes Anliegen, auch Herrn P.D. Dr. H. Mühlpfordt (Tropeninstitut Hamburg), dem ich meine Arbeit vorlegen durfte, für seine wertvollen Anregungen meinen herzlichen Dank auszusprechen. Danken möchte ich auch den Herren Dr. P. Suter und Dr. H. Hecker, die mich in die elektronenmikroskopische Technik eingeführt haben und mir bei meinen Untersuchungen stets mit Rat und Hilfe zur Seite gestanden sind.

II. Beschreibung des Zyklus von Trypanosoma cruzi Stamm G in Rhodnius prolixus

A. Material und Methoden

1. Trypanosomen

Der untersuchte Stamm von *T. cruzi* wurde 1950 von V. Nussenzweig in Brasilien isoliert. In der Literatur ist er bekannt als

Stamm «Y». Eine genauere Charakterisierung findet sich bei DA SILVA & NUSSENZWEIG (1953). Im Schweizerischen Tropeninstitut ist er 1961 anläßlich einer Laborinfektion vom Menschen (mittels Xenodiagnose) neu isoliert worden und wird seither als Stamm G zyklisch in weißen Mäusen und Raubwanzen gehalten.

2. Wanzen

Die verwendeten Wanzen *(Rhodnius prolixus)* stammten aus den Zuchten des Tropeninstituts (der Stamm wurde 1951 aus Venezuela eingeführt). Sie wurden bei konstanter Temperatur von 26° C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50—60% gezüchtet (Zuchtmethoden siehe GEIGY & HERBIG, 1955). Für unsere Versuche fütterten wir die Tiere des 3. und 4. Larvenstadiums auf Mäusen, die mit *T. cruzi* infiziert waren, und zwar stets bei ansteigender Parasitaemie.

An den darauffolgenden Tagen wurden jeweils zwei Wanzen seziert und ihr Darminhalt auf Parasiten untersucht. Der Darmtrakt der Reduviiden gliedert sich in folgende drei Abschnitte: auf den Oesophag folgt der magenartig erweiterte vorderste Teil des Mitteldarms, der Proventikel (im folgenden bezeichnet als Vorderdarm); darauf folgt ein dünnes, gewundenes Stück des Mitteldarms, abschließend der Enddarm, der sich zur sogenannten Rektalampulle erweitert.

Um den Parasitenbefall der einzelnen Darmabschnitte gesondert beobachten zu können, wurden von jedem Teil getrennt Ausstriche angefertigt. Die Präparate wurden in Methanol fixiert und mit Romanowsky-Giemsa gefärbt (8% pH 7,6 45 Min.).

3. Kulturen

Für die späteren elektronenmikroskopischen Vergleiche und für die experimentellen Untersuchungen hielten wir *T. cruzi* auch in Kulturen. Sie wurden auf Davis-Pifano-Nährböden bei 24° C gezüchtet (GEIGY & HERBIG, 1955, p. 409) und alle 14 Tage überimpft.

B. Resultate

Der zeitliche Ablauf des Entwicklungszyklus ist schematisch in Figur 1 dargestellt.

Schon wenige Stunden nach der infektiösen Blutmahlzeit sind im Vorderdarm neben normalen Blutformen (a) [2] einige verkürzte,

[2] Die Buchstaben beziehen sich auf die entsprechenden Stadien in Figur 1.

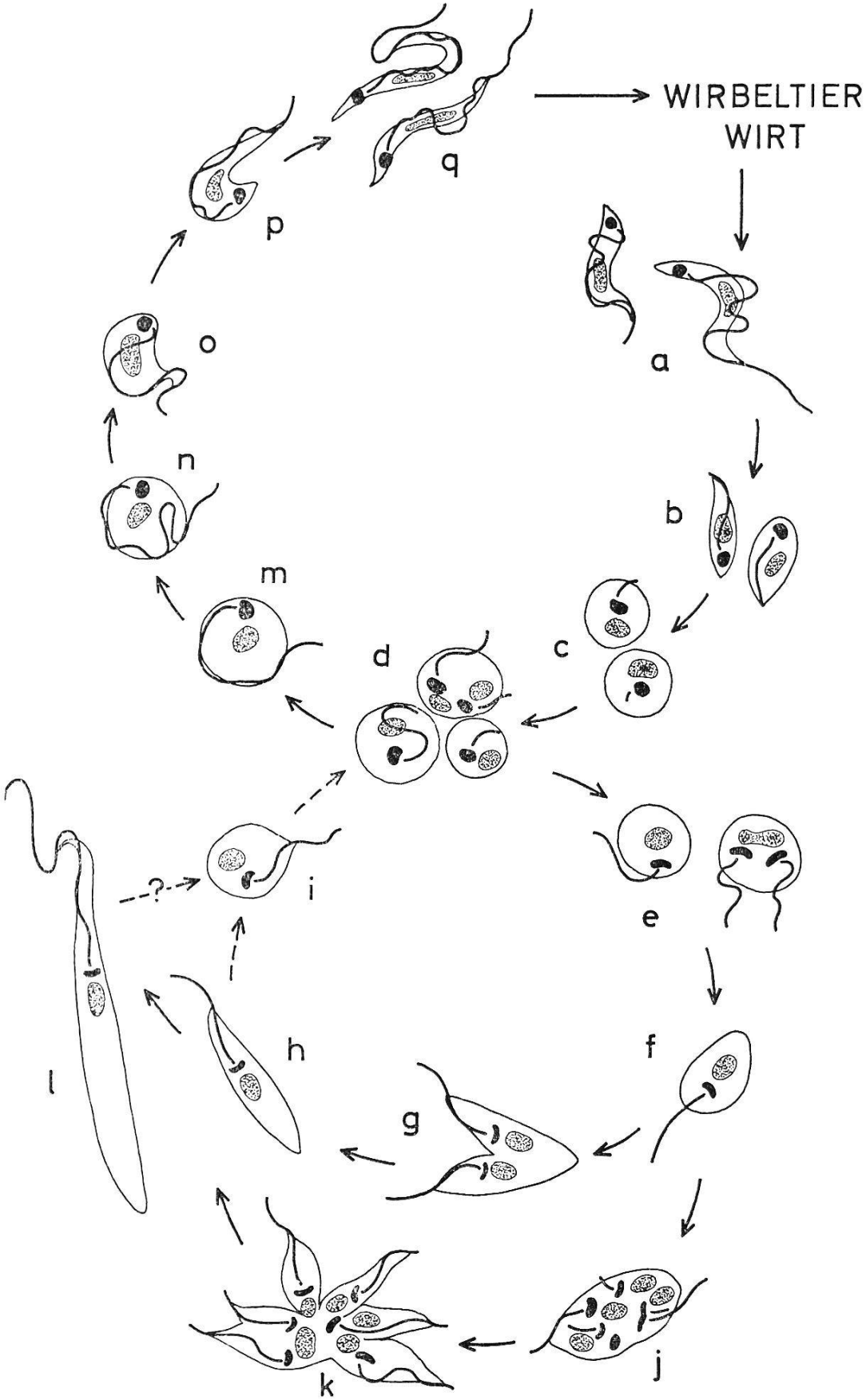

Fig. 1. Schematische Darstellung des Entwicklungszyklus von **Trypanosoma cruzi** in **Rhodnius prolixus.** a) Blutform, b) spindelförmig verkürzte Blutform, c) amastigote Form, d) sphaeromastigote Formen, e) sphaeromastigote Form, Teilung, f) kurze epimastigote Form, g) Längsteilung, epimastigote Form, h) mittlere epimastigote Form, i) Verkürzung der epimastigoten Form, j) multiple Teilung, k) Rosette, l) lange epimastigote Form, m) sphaeromastigote Form, von Geißel umwachsen, n, o, p) Übergangsformen zur metacyclischen trypomastigoten Form q) trypomastigote Form, a–d im Vorderdarm, c–l im Mitteldarm, g–i und l–q im Enddarm.

spindelförmige Trypanosomen (b) festzustellen, deren Geißel weitgehend abgebaut ist. Nach 14—20 Stunden finden sich im Vorderdarm amastigote Formen (c) oder «Rundformen» mit kurzem Geißelrest (c). Im Vorderdarm sind an den folgenden Tagen regelmäßig größere Nester der amastigoten Formen anzutreffen, welche sich durch Zweiteilung vermehren, hier aber keine weitere Entwicklung durchmachen.

Gelangen die «Rundformen» mit dem Darminhalt in den Mitteldarm (ca. 24 Stunden nach der Blutmahlzeit), so wächst ihre Geißel aus (d, e) und im Verlauf der folgenden Teilungen nimmt der Kinetoplast die für das epimastigote Stadium typische scheibenförmige Gestalt an. Durch Streckung der Zellen entstehen kurze (f) und mittlere (h) epimastigote Formen (10—20 μ), welche sich ebenfalls durch Zweiteilung vermehren (g). Bei extrem langen Formen (35—40 μ) konnte hingegen nie Teilung beobachtet werden (l). Gelegentlich findet man Zellen mit 6 bis 8 Kernen und Kinetoplasten (j). Diese multiple Teilung führt zur Bildung von Rosetten (k).

In der Rektalampulle erscheinen die ersten epimastigoten Stadien am 3.—4. Tag. Vom 5. Tag an beobachten wir neben kurzen und langen epimastigoten Formen plötzlich in steigender Zahl «Rundformen», die zunächst noch ähnlich gebaut sind wie diejenigen im Mitteldarm. Die Geißel umwächst den Körper, der Kinetoplast ist jedoch rund und liegt meist marginal (m, n). Nach etwa 7—8 Tagen treten die ersten «metacyclischen» trypomastigoten Formen auf (q). Sie sind schlanker als die plumpen Blutformen und zeichnen sich vor allem durch ihren schmalen, langgezogenen Zellkern aus. Verschiedene Übergangsformen im Enddarm (o, p) können als Zwischenstadien einer direkten Entwicklung von der «Rundform» zur trypomastigoten Form angesehen werden.

Spätere Versuche (vgl. Kap. IV) weisen darauf hin, daß noch eine weitere Möglichkeit in Betracht gezogen werden muß: die kleinen, teilungsfähigen epimastigoten Formen können sich anscheinend wieder zu «Rundformen» verkürzen (i) und sind dann erneut Ausgangspunkt für alle andern Stadien (d).

Ob auch die extrem langen epimastigoten Flagellaten (l) noch zu einer solchen Umwandlung fähig sind, läßt sich schwer bestimmen. Wir sind der Meinung, es handle sich dabei um ausgewachsene Zellen, die am Ende ihrer Entwicklung stehen. Da sie sich nicht mehr teilen, ist auch kaum anzunehmen, daß sie sich noch weiter differenzieren können. Diese langen Formen machen allerdings nur 15—20% aller im Insektendarm vorkommenden epimastigoten Formen aus.

C. Diskussion

Wir haben den Begriff «Rundformen» bis jetzt in Anführungszeichen gesetzt. Dieses Stadium ist klar zu unterscheiden von der amastigoten Gewebeform, die intrazellulär im Hauptwirt lebt. Die runde Form aus dem Darmlumen des Überträgers ist ausgezeichnet durch den Besitz einer Geißel. In Anlehnung an die Nomenklatur von HOARE & WALLACE (1966), welche dieses Stadium nicht berücksichtigt, schlagen wir vor, für die «runde begeißelte Form» die Bezeichnung sphaeromastigote Form einzuführen.

Wie wir aus unseren Untersuchungen ersehen können, treten im Enddarm zeitlich vor den trypomastigoten Formen regelmäßig sphaeromastigote Stadien auf. Es scheint daher naheliegend, diese in Zusammenhang mit der Neubildung der infektiösen Form zu bringen. Die sphaeromastigoten Formen gelangen, wohl weil sie sich nicht aktiv fortbewegen, erst nach den epimastigoten in die Rektalampulle. Dort entwickeln sie sich vermutlich direkt zu trypomastigoten Formen (m, n, o). Die langen epimastigoten Formen hingegen erscheinen dank ihrer relativ großen Beweglichkeit bald im Enddarm und wurden deshalb oft als Vorstadium zur metacyclischen Form angesehen.

Wenn wir nun, unseren Beobachtungen zur Folge, eine direkte Entwicklung der trypomastigoten Form aus der sphaeromastigoten annehmen, so wird damit die Bedeutung des epimastigoten Stadiums in Frage gestellt. Wozu dient in diesem Fall die im Wanzendarm viel häufigere, vermehrungsfähige epimastigote Form, wenn sie für die Bildung der metacyclischen Trypanosomen nicht nötig ist?

Wenn wir versuchen wollen, diese Frage zu beantworten, kommen wir nicht umhin, kurz auf das vieldiskutierte Problem der Phylogenese der Trypanosomen einzugehen. Die meisten Autoren vertreten heute die Ansicht von LÉGER (1904), nach der sich die zweiwirtigen Haemoflagellaten aus ursprünglich einwirtigen Darmbewohnern von Insekten (vom Typus *Crithidia* oder *Leptomonas*) entwickelt haben (vgl. LAVERAN & MESNIL, 1912; REICHENOW, 1934a; HOARE, 1948, 1957; DOFLEIN & REICHENOW, 1953; CAMERON, 1956; BAKER, 1963, 1965).

Innerhalb der Entwicklungsreihe dieser Anpassung der Flagellaten an ein Leben im warmblütigen Wirt stellt *T. cruzi* eine relativ primitive Form dar, bei welcher das infektiöse Stadium im Enddarm des Insektes gebildet und durch den Kot übertragen wird. Für die Arterhaltung ist *T. cruzi* nicht unbedingt auf einen zweiwirtigen Zyklus angewiesen; eine Übertragung von Insekt zu Insekt

kann auch direkt erfolgen (durch Koprophagie oder gegenseitiges Anstechen; BRUMPT, 1914; REICHENOW, 1934b).

Nach diesen Überlegungen können wir uns fragen, ob in der Wanze nicht ein doppelter Zyklus möglich wäre. Der erste Zyklus würde der ursprünglichen Entwicklungsfolge der Insektenflagellaten (z. B. Gattung *Crithidia*) entsprechen. Diese führt von einer amastigoten Cystenform über ein sphaeromastigotes in das epimastigote Stadium (Vermehrungsform) und im Enddarm durch Verkürzung über ein sphaeromastigotes Stadium wieder zurück zur amastigoten Ruheform (DOFLEIN & REICHENOW, 1953). Diesen Stadien entsprechen, allerdings ohne die Cystenform, die Stadien d—h und zurück zu d in unserer schematischen Darstellung (Fig. 1).

In diesem Modell dient also die epimastigote Form lediglich der Arterhaltung, d. h. der Fortdauer der Infektion in den Insekten.

Als sekundäre Anpassung an ein Leben im Warmblüter bildete sich bei blutsaugenden Wanzen, parallel zum ersten, ein zweiter Zyklus heraus. Dabei entstanden die für den Wirbeltierwirt infektiösen, beweglichen trypomastigoten Formen. Sie dienen in unserem Modell nur der Infektion des Warmblüters und sind für die Wanzen weiter nicht von Bedeutung. (DIAS stellte 1934 fest, daß nach der Infektion von Wanzen mit metacyclischen Trypanosomen — durch Injektion oder durch saugen lassen — keine Entwicklung der Parasiten erfolgt.)

CHAGAS (1911) glaubte schon an das Vorkommen von zwei Entwicklungsprozessen im Insekt. Er sprach allerdings von einem sexuellen Prozeß, der zur Bildung der infektiösen Form führe. Daneben stellt der ungeschlechtliche Prozeß eine einfache Vermehrung der Parasiten dar und führt zur Bildung von Crithidiaformen.

Ein weiteres Merkmal für die «primitive» Stellung des *T. cruzi* in der Entwicklungsreihe der Blutflagellaten ist die Tatsache, daß sich die trypomastigoten Formen nicht teilen. Die metacyclischen Trypanosomen wandeln sich nach dem Eindringen in den neuen Wirt sofort zu amastigoten Gewebeformen um, welche hier das einzige vermehrungsfähige Stadium darstellen. Auch die daraus sich entwickelnden Blutformen teilen sich nicht; sie dienen lediglich der Weiterverbreitung im Wirtsorganismus (durch Befall neuer Wirtszellen) oder der Reinfektion der Insekten. Sie unterscheiden sich von den metacyclischen Formen dadurch, daß sie sich im Insektendarm wieder via sphaeromastigotes Stadium zu epimastigoten Flagellaten entwickeln können.

Die trypomastigote Form spielt eine wichtige Rolle als infektiöses Stadium, welches sich aber erst sekundär, parallel mit Wirtswechsel und Parasitismus, entwickelt hat.

Im Zentrum beider Entwicklungszyklen steht somit die sphaeromastigote Form, die den Weg gefunden hat, sich sowohl im wirbellosen Wirt als auch im Wirbeltierwirt zu entwickeln. Im ersten Zyklus führt sie zur Bildung der ursprünglichen, epimastigoten Insektenflagellaten, im zweiten Zyklus zur Bildung der trypomastigoten Form, welche eine Ausdehnung des Lebensraums auf den warmblütigen Wirt ermöglicht. Die sphaeromastigote Form kann in dieser Funktion verglichen werden mit der resistenten Dauerform (Cyste), die primären Insektendarmflagellaten zur Übertragung diente.

In diesem Zusammenhang sei auf eine Arbeit von PIZZI & CHRISTEN (1950) hingewiesen. Die Autoren haben gezeigt, daß in Kulturen von *T. cruzi,* die bei niederem pH oder bei tiefen Temperaturen (bis 0° C) gezüchtet wurden, «runde Formen» als Überdauerungsstadien der ungünstigen Milieuverhältnisse auftreten können. Wir wissen allerdings nicht, ob dies Degenerationsformen sind, oder ob sie direkt mit den sphaeromastigoten Stadien aus dem Wanzendarm verglichen werden dürfen.

In unseren alten Kulturen treten oft auch abgerundete, atypische Formen auf. Im gefärbten Ausstrichpräparat lassen sich jedoch diese absterbenden, oft stark vakuolisierten Zellen mit gestreckter Geißel deutlich unterscheiden von den sphaeromastigoten Formen, die von der Geißel umwunden sind, sich lebhaft teilen und den Formen im Wanzendarm gleichen.

Wenn wir nun die Eigenschaft der sphaeromastigoten Form, sich als widerstandsfähigstes Stadium an andere Verhältnisse anzupassen, berücksichtigen, so scheint ihre zentrale Stellung in unserem Schema nicht mehr so fragwürdig.

Wir sind uns bewußt, daß auch diese Interpretation der Entwicklungszyklen im Insektendarm noch weitgehend spekulativ ist. Sie soll uns aber als Arbeitshypothese für die nachfolgenden Untersuchungen dienen.

III. Ultrastruktur der verschiedenen Entwicklungsformen

A. Material und Technik

Alle Entwicklungsstadien wurden aus den verschiedenen Darmabschnitten der Raubwanze isoliert und so weit wie möglich getrennt verarbeitet. Dazu wurden die Wanzen an bestimmten Tagen nach der infektiösen Blutmahlzeit seziert und der Inhalt der einzelnen Darmteile in physiologische NaCl-Lösung entleert. Epimastigote Formen wurden am 5.—6. Tag aus dem Mitteldarm isoliert,