

Alteraciones histopatológicas de placentas de ratones infectadas con diferentes cepas de *Trypanosoma cruzi*

Histopathological alterations of placentas from mice infected by different Trypanosoma cruzi strains

Miguel Angel Sala*¹, Cícero Meneguette², Ana Amélia Carraro Abrahão³, Sérgio de Albuquerque³, Ruberval Armando Lopes¹ & Rosa Domingues Ribeiro⁴

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar las alteraciones histopatológicas de las placentas provocadas por la infección materna durante la preñez con diferentes cepas de *Trypanosoma cruzi*. Ratones preñados, de 60 días de edad, fueron inoculados por la vía intraperitoneal (i.p.) con 2×10^5 tripomastigotes sanguíneos de las cepas colombiana, Y, Bolivia o RC del *T. cruzi*. Los resultados mostraron que las cepas Bolivia y RC presentan mayor histotropismo por las células placentarias del ratón que las cepas colombiana e Y. El proceso inflamatorio afectó la decidua basal en todos los grupos de ratones infectados, mientras que la cepa colombiana causó intensa degeneración de la decidua basal, con células inflamatorias escasas o ausentes. Las placentas de todos los grupos infectados presentaron áreas de edema, degeneración, necrosis y calcificación, principalmente en la decidua basal. En los animales inoculados con la cepa RC del *T. cruzi* también fue afectado el trofoblasto de la zona esponjosa. El parasitismo más intenso fue observado en los animales infectados con las cepas Bolivia y RC, envolviendo todas las zonas placentarias, incluso las células trofoblásticas gigantes y el trofoblasto esponjoso. Los resultados permiten concluir que las placentas sufren procesos patológicos diferentes, característicos para cada cepa del *T. cruzi*.

Palabras claves: *Trypanosoma cruzi*, Cepas, Parasitología, Patogenicidad, Preñez, Ratón, Placenta, Histopatología.

INTRODUCCIÓN

Trypanosoma cruzi es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas, que afecta cerca de 20 millones de personas en América Latina. Entre los medios de diseminación de la enfermedad podemos citar la transmisión congénita a través de la placenta.

SUMMARY

The objective of the present study was to evaluate the histopathological alterations of the placenta provoked by maternal infection during pregnancy by different *Trypanosoma cruzi* strains. Pregnant mice, 60 day-old, were i.p. inoculated with 2×10^5 bloodstream trypomastigotes of colombian, Y, Bolivia or RC strains of *T. cruzi*. The results demonstrated that the Bolivia and RC strains showed higher histotropism for the mouse placental cells than the colombian or Y strains. The inflammatory process in all the infected groups involved the basal decidua, but the colombian strain caused intense decidual degeneration, with rare or absent inflammatory cells. Placentas from all the infected groups displayed aéreas of edema, degeneration, necrosis and calcification, mainly in the basal decidua, but the group infected by the RC strain showed also involvement of the spongiotrophoblast. The highest parasitism was observed with the Bolivia and RC strains, involving all the placenta zones, including the trophoblast giant cells and the spongiotrophoblast. The results show that placentas undergo differentiated pathological processes, characteristic for each strain.

Key words: *Trypanosoma cruzi*, Strains, Parasitology, Pathogenicity, Mouse, Pregnancy, Placenta, Histopathology.

Villela (1923) demostró, por primera vez, la transmisión congénita con indiscutibles evidencias de alteraciones morfológicas, tanto en placentas como en los fetos de perro. Posteriormente, Nattan-Larrier (1928) verificó la existencia de grandes nidos de amastigotes y de lesiones tisulares en placentas de cobayas infectadas, sugiriendo que esas

¹ Laboratorio de Histopatología, Facultad de Odontología de Ribeirão Preto, USP, Avenida do Café s/n, 14040-904 Ribeirão Preto, SP, Brasil

² Laboratorio de Patología, Facultad de Medicina de São José do Rio Preto, 15090-000, São José do Rio Preto, Brasil

³ Laboratorio de Parasitología, Facultad de Ciencias Farmacéuticas de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto, SP, Brasil

⁴ Universidad de Franca – UNIFRAN, 14404- 600 Franca, SP, Brasil.

*Autor de correspondencia: masdmatt@gmail.com

lesiones provocarían hiatos, permitiendo el pasaje de parásitos de la circulación materna para la circulación fetal. Así, a través de los hiatos trofoblásticos, los tripomastigotes pasarían de la sangre materna al estroma placentario, donde se multiplicarían formando nidos de amastigotes dentro de los macrófagos. La muerte de estas células liberaría los tripomastigotes en la corriente sanguínea fetal (Apt & Díaz, 1965; Werner & Egger, 1971; Delgado & Santos-Buch, 1978; Kemmerling *et al.*, 2010). Otros autores sustentan que la transmisión congénita puede ocurrir sin necesidad de la existencia de una lesión trofoblástica previa (Silva & Nussenzweig, 1953; Lushbaugh *et al.*, 1969; Mjihdi *et al.*, 2002).

La enfermedad de Chagas exhibe manifestaciones clínicas y patológicas variables, con lesiones diferentes en diversos órganos, reflejando la complejidad de su patogénesis (Macedo *et al.*, 2004). Desde 1970, varios trabajos mostraron comportamiento variable de diferentes cepas de *T. cruzi*, con relación a la severidad de la enfermedad y al patrón de transmisión vertical del parásito (Andrade *et al.*, 1973; Andrade, 1982; Pedrosa *et al.*, 1990; Virreira *et al.*, 2006). Los mecanismos de transmisión congénita, así como los factores relacionados al parasitismo o a las lesiones placentarias causadas por las cepas de *T. cruzi*, permanecen en gran parte ignorados (Kemmerling *et al.*, 2010; Duaso *et al.*, 2012). El propósito de este trabajo consistió en estudiar las alteraciones histopatológicas placentarias, causadas por diferentes cepas de *T. cruzi*, inoculadas experimentalmente en ratones preñadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fueron usadas ratones swiss (*Mus musculus*) hembras vírgenes, de 60 días de edad. Después de dos semanas de aclimatación, las hembras fueron apareadas con machos fértiles. Fue definido como primer día de preñez aquel en que fue detectado el tampón vaginal.

Las hembras preñadas fueron mantenidas en condiciones controladas de temperatura ($22^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$), luz (12 h de luz y 12 h de oscuridad), humedad relativa ($55 \pm 10\%$) y alimentadas con ración comercial para roedores y agua "*ad libitum*".

Los animales fueron inoculados por vía intraperitoneal (i.p.) con 2×10^5 tripomastigotes

sanguíneos de *T. cruzi*. El día de inoculación fue escogido de modo a que el pico de la curva de parasitemia de la respectiva cepa coincidiese con el último día de la preñez, (19^o), cuando los animales fueron sacrificados. De esta manera, la eutanasia ocurrió en la fase máxima de la parasitemia (Andrade, 1982).

Las curvas de parasitemia para cada cepa fueron previamente determinadas en un estudio piloto con ratones preñadas, de acuerdo con el método descrito por Albuquerque *et al.* (2008).

Fueron usadas cuatro cepas de *T. cruzi* proporcionadas por el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas de Ribeirão Preto, constituyéndose los siguientes grupos:

Grupo I - 5 ratones hembras inyectadas el 10^o día de la preñez con 0,5 ml de suero fisiológico (grupo control);

Grupo II - 5 ratones hembras inoculadas el 13^o día de la preñez con la cepa colombiana (Federici *et al.*, 1964);

Grupo III - 5 ratones hembras inoculadas el 13^o día de la preñez con la cepa Y (Silva & Nussenzweig, 1953);

Grupo IV - 5 ratones hembras inoculadas el 6^o día de la preñez con la cepa Bolivia (Funayama & Prado, 1974), y

Grupo V - 5 ratones hembras inoculadas el 8^o día de la preñez con la cepa RC (Albuquerque & Barreto, 1968).

El 19^o día de la preñez fue realizada la eutanasia por dislocación cervical, previa anestesia con tribromoetanol al 2,5% (1ml/100g de peso). Luego de laparotomía y abertura del útero, los fetos y placentas fueron extraídos e inmediatamente fijados en solución de alcohol 80% - 85 ml, formol - 10 ml y ácido acético - 5 ml, por 24 h.

Las placentas, después de fijadas, fueron cortadas transversalmente en dos mitades e incluidas en parafina. Los cortes de 6 μm de espesor, fueron teñidos con Hematoxilina y Eosina (H-E).

Para el estudio histopatológico de las placentas fueron consideradas las siguientes regiones: decidua basal o materna, zona de las células trofoblásticas gigantes, zona esponjosa y zona laberíntica (Georgiades *et al.*, 2002).

El estudio fue conducido de acuerdo con las normas éticas establecidas por el CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – Ministério de Ciência e Tecnologia, Brasil), siguiendo los procedimientos estandarizados por el COBEA (1996).

RESULTADOS

Los resultados son presentados de acuerdo con las zonas placentarias consideradas y, finalmente, resumidos de acuerdo con las cepas de *T. cruzi* inoculadas.

Decidua basal

La decidua basal normal presenta vasos sanguíneos maternos, levemente dilatados y congestionados. El edema cuando existe es moderado. En las placentas infectadas por la cepa RC no fueron detectados cambios significativos, mientras que las infectadas por las cepas colombiana, Y o Bolivia mostraron vasos sanguíneos dilatados y congestionados, con células endoteliales grandes, con núcleos de nucléolos evidentes. Además, las placentas infectadas presentaron edema, variando de discreto a intenso en la decidua basal de los animales infectados con las cepas RC e Y, respectivamente (Tabla I).

En la decidua basal de las placentas infectadas con las cepas colombiana o Bolivia se observaron pequeñas áreas de degeneración, necrosis y escasas áreas de calcificación, mientras que en las placentas de los animales inoculados con la cepa Y se

detectaron extensas áreas de degeneración y necrosis en la región central. Las placentas infectadas por la cepa RC mostraron áreas discretas de degeneración y necrosis, intercaladas con proceso inflamatorio moderado (Tabla I).

La decidua basal de las placentas infectadas por las cepas colombiana o Y mostraron escaso parasitismo, con nidos de amastigotes en células decíduales (Fig. 1) y en el grupo inoculado con la cepa Y los parásitos fueron también observados en las células endoteliales. Las deciduas de las placentas infectadas por las cepas Bolivia o RC mostraron intenso parasitismo, en forma de nidos grandes de amastigotes (N>50) en las células decíduales de las placentas del grupo IV, y en forma de nidos pequeños de amastigotes (N<50) en las células endoteliales y perivasculares de las placentas del grupo V (Tabla II).

Zona de las células trofoblásticas gigantes

La zona de las células trofoblásticas gigantes está formada por un estrato intermitente de células grandes, localizadas entre la decidua basal y esponjosa. Las células gigantes poseen un núcleo grande, groseramente ovoide, de cromatina ligeramente granular y homogénea, con nucléolo excéntrico y citoplasma eosinofílico.

En las placentas de los animales infectados, las células gigantes mostraron núcleos irregulares e hipercromáticos, con citoplasma intensamente eosinofílico, con señales frecuentes de degeneración. Pueden ser observadas células gigantes parasitadas

Tabla I. Distribución del proceso inflamatorio y otras alteraciones patológicas causadas por las diversas cepas de *T. cruzi* en placentas de ratón (*Mus musculus*).

	Control	CEPAS			
		Colombiana	Y	Bolivia	RC
Zonas Afectadas	-	-	Decidua basal	Decidua basal	Decidua basal Esponjosa
Infiltrado Inflamatorio	-	Linfocitos (Escasos)	Neutrófilos Linfocitos	Plasmocitos Linfocitos	Plasmocitos Linfocitos
Edema	Decidua basal (Raro)	Decidua basal Esponjosa Laberíntica	Decidua basal Esponjosa Laberíntica	Decidua basal Esponjosa	Decidua basal
Degeneración, Necrosis y Calcificación	Decidua basal (Raras)	Decidua basal	Decidua basal	Decidua basal	Decidua basal Esponjosa
Células Gigantes	Preservadas	Degeneración evidente	Preservadas parcialmente	Degeneración escasa	Degeneración evidente

Tabla II. Distribución de los procesos parasitarios causados por las diversas cepas de *T. cruzi* en placentas de ratón (*Mus musculus*)

	Control	CEPAS			
		Colombiana	Y	Bolivia	RC
Zonas parasitadas	-	Decidua basal	Decidua basal	Decidua basal Células gigantes Esponjosa Laberíntica	Decidua basal Células gigantes Esponjosa Laberíntica
Tamaño de los nidos	-	Pequeños	Pequeños	Grandes	Pequeños
Otras células parasitadas	-	Endoteliales de la decidua basal	Endoteliales de la decidua basal	Endoteliales de la esponjosa	Endoteliales de la decidua basal y de la esponjosa

Nidos pequeños: < 50 amastigotes

Nidos grandes: ≥ 50 amastigotes

por nidos grandes de amastigotes (N>50) en las placentas infectadas por las cepas Bolivia o RC (Fig. 2, Tabla II).

Zona esponjosa

La zona esponjosa de la placenta de ratón sin infección mostró células poligonales con citoplasma basófilo. El núcleo de estas células es regular, con cromatina granular, distribuida homogéneamente. Escasas figuras de mitosis fueron observadas en la región más distal de las trabéculas que se invaginan en la zona laberíntica. Ocasionalmente fue detectado edema moderado, con células de citoplasma levemente vacuolado. Los capilares son regulares, con células endoteliales de tamaño uniforme. Los vasos son dilatados e hiperémicos a lo largo de los límites con la decidua basal.

La zona esponjosa de las placentas infectadas presenta edema acentuado, con células de núcleos grandes, con cromatina granular homogénea y nucléolos eminentes, en especial en las trabéculas que se invaginan en la laberíntica. La región central de la zona esponjosa muestra células con núcleos picnóticos y citoplasma más eosinofílico, con señales de degeneración. Fueron observadas numerosas áreas pequeñas de calcificación a lo largo de los límites con la zona de las células gigantes o con la decidua basal. En las placentas infectadas por la cepa RC fueron observadas áreas de degeneración, necrosis y calcificación junto con infiltrado inflamatorio, constituido por escasos plasmocitos y raros linfocitos (Tabla I).

En la zona esponjosa de las placentas infectadas por las cepas colombiana o Y se observaron vasos dilatados y congestionados, sin parasitismo ni proceso inflamatorio. Por otro lado, las placentas infectadas por las cepas Bolivia (Fig. 2) o RC (Fig. 3) mostraron nidos de amastigotes en el trofoblasto esponjoso (Tabla II).

Zona laberíntica

La zona laberíntica representa alrededor de dos tercios del espesor de la placenta. Esta zona muestra intensa celularidad y numerosos capilares de calibre uniforme, dilatados y congestionados. Entre los capilares se disponen trabéculas celulares, mezcladas con tejido conjuntivo laxo escaso. En la periferia, las células se disponen en cordones y los capilares, más voluminosos, constituyen pequeños lagos sanguíneos de paredes finas y delicadas.

La zona laberíntica de las placentas infectadas posee capilares dilatados y congestionados. Puede existir edema discreto. En la zona laberíntica de las placentas infectadas por las cepas colombiana o Y no se detectó parasitismo ni proceso inflamatorio, mientras que las placentas infectadas por la cepa Bolivia mostraron parasitismo escaso, con nidos grandes de amastigotes (N>50) en las células endoteliales, sin presencia de infiltrado inflamatorio (Tabla I). En las placentas infectadas por la cepa RC, la zona laberíntica mostró células endoteliales intensamente parasitadas por nidos de amastigotes (Fig. 4, Tabla II).

Resumiendo, presentamos los hallazgos histopatológicos según la cepa de *T. cruzi* inoculada.

Cepa colombiana

Intenso edema en todas las zonas placentarias con raras áreas de degeneración, necrosis y calcificación, en especial entre la decidua basal y la esponjosa (Tabla I). Discreto parasitismo en la decidua, con nidos pequeños de amastigotes (N<50) en células endoteliales y deciduales (Tabla II).

Cepa Y

Edema marcado en la esponjosa, con capilares dilatados y congestionados en la

laberíntica. En la decidua basal, degeneración, necrosis y áreas de calcificación, alternadas con infiltrado inflamatorio (Tabla I). Parasitismo escaso en células deciduales y endotelio (Tabla II).

Cepa Bolivia

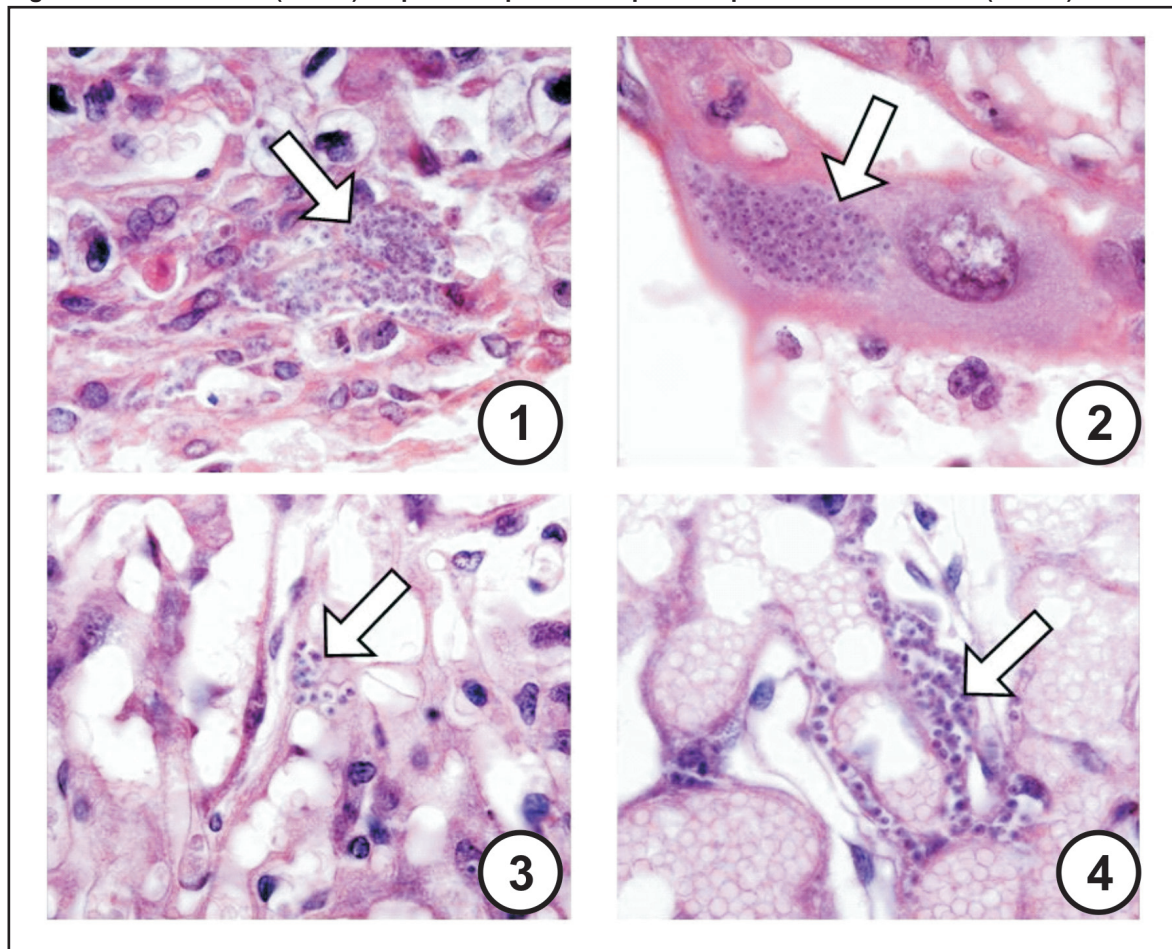
Edema marcado en la esponjosa, sin inflamación. Áreas de degeneración y necrosis, con escaso infiltrado inflamatorio en la decidua (Tabla I). Parasitismo intenso en forma de nidos grandes de amastigotes (N>50) en la decidua (Fig. 1), células gigantes (Fig. 2) y células endoteliales de la laberíntica, y nidos pequeños de amastigotes (N<50) en el trofoblasto esponjoso (Tabla II).

Fig. 1. Células de la decidua basal con nido de amastigotes (flecha) en placenta infectada por la cepa Bolivia de *T. cruzi*. H-E (1000 x).

Fig. 2. Célula gigante (flecha) parasitada por amastigotes de *T. cruzi* – cepa Bolivia. H-E (1000 x).

Fig. 3. Trofoblasto esponjoso (flecha) de placenta parasitada por la cepa RC de *T. cruzi*. H-E (1000 x).

Fig. 4. Zona laberíntica (flecha) de placenta parasitada por la cepa RC de *T. cruzi*. H-E (1000 x).



Cepa RC

Edema leve en todas las zonas placentarias (Tabla I). Infiltrado inflamatorio escaso en la decidua basal y esponjosa, alternando con áreas de degeneración y necrosis. Parasitismo en forma de nidos pequeños de amastigotes en todas las zonas placentarias (Figs. 3 y 4, Tabla II).

DISCUSIÓN

El comportamiento de las diversas cepas de *T. cruzi* con relación al patrón de transmisión intrauterina y a la severidad de la enfermedad es muy variable (Andrade *et al.*, 1973; Andrade, 1982; Pedrosa *et al.*, 1990, Moreno *et al.*, 2003). Del mismo modo, existen diferencias expresivas en la distribución, intensidad y tipo de infiltrado inflamatorio, así como en las lesiones placentarias causadas por las diferentes cepas de *T. cruzi* (Andrade, 1982, 2000; Mjihdi *et al.*, 2002; Carraro Abrahão *et al.*, 2003; Badra *et al.*, 2008).

A pesar de la dificultad en establecer una correlación entre la patología humana y los hallazgos experimentales, es posible que, en ambos casos, las diferencias debidas a la cepa puedan influir en las manifestaciones de la enfermedad. Brener (1969) estableció una relación entre la morfología de las formas sanguíneas de *T. cruzi* y su susceptibilidad a los anticuerpos. Así, las formas delgadas poseerían mayor capacidad de penetración en los tejidos y mayor susceptibilidad a los anticuerpos (Andrade & Magalhães, 1997; Devera *et al.*, 2003).

Por otro lado, la virulencia representa la capacidad de multiplicación del *T. cruzi* que, según Andrade (2000), es característica de cada cepa. La virulencia puede ser aumentada o atenuada, dependiendo de factores como edad, sexo y condición inmune del huésped, entre otros (Araujo, 1998; Dost *et al.*, 2002; Solana *et al.*, 2002; Devera *et al.*, 2003; Virreira *et al.*, 2006).

La patogenicidad de la cepa es su capacidad de causar lesiones a los tejidos y está vinculada a la exaltación de su virulencia, provocando mayor parasitismo y severidad del daño tisular. Otras veces, una cepa, mismo de multiplicación lenta y gradual, provoca profundas lesiones que, según Phillips (1990), son independientes del inóculo. Así, la patogenicidad y virulencia, actuando concomitantemente, serían

los factores determinantes del curso de la infección (Magalhães *et al.*, 1996; Solana *et al.*, 2002; Buscaglia & Di Noia, 2003; Devera *et al.*, 2003; Macedo *et al.*, 2004).

La presente investigación mostró diferencias claras en el aspecto general del proceso inflamatorio causado por la infección experimental con diversas cepas de *T. cruzi* en la placenta de ratón. Todas las placentas infectadas presentaron reacción inflamatoria localizada, principalmente, en la decidua basal y constituida por plasmocitos y linfocitos. La cepa RC provocó inflamación más intensa, afectando también la zona esponjosa. El edema fue más intenso en las placentas infectadas por las cepas colombiana o Y, envolviendo todas las zonas placentarias.

La reacción inflamatoria provocada en la decidua basal por la cepa RAL estaba constituida por plasmocitos y linfocitos, mientras que un edema moderado fue detectado en todas las zonas de las placentas infectadas (Carraro Abrahão *et al.*, 2003). La infección por la cepa Morc-1 no causó reacción inflamatoria, provocando un edema moderado a severo en la decidua basal y zona esponjosa de las placentas infectadas (Badra *et al.*, 2008).

En el presente estudio, la patogenicidad de las cepas se evidenció por la existencia de áreas de degeneración, necrosis y calcificación en las placentas de los grupos infectados. En todas estas placentas, las alteraciones histopatológicas involucraron la decidua basal, pero en las infectadas por la cepa RC fueron afectadas además la zona esponjosa y las células gigantes. Las células gigantes sufrieron degeneración más intensa en las placentas infectadas por las cepas colombiana y RC, de menor intensidad en las placentas infectadas por la cepa Bolivia y estaban parcialmente preservadas en las placentas infectadas por la cepa Y.

La infección por la cepa RAL de *T. cruzi* provocó pequeñas áreas de degeneración, necrosis y calcificación distrófica en la decidua basal y escasa degeneración en las células gigantes de la placenta (Carraro Abrahão *et al.*, 2003).

En nuestra investigación fue demostrado que la mayor virulencia ocurrió en las placentas infectadas con la cepa Bolivia seguida por la cepa RC, afectando todas las zonas placentarias. Las placentas

infectadas por las cepas colombiana e Y mostraron menor parasitismo envolviendo principalmente la decidua.

Andrade (1982) demostró que la infección placentaria fetal ocurre principalmente en las células gigantes, señalando diferencias entre las cepas de *T. cruzi*. Así, la virulencia en la placenta fue más frecuente e intensa en los animales infectados con la cepa colombiana y más rara y débil en los animales infectados con las cepas Y, peruana y Honorina. En las placentas de ratones infectados con la cepa Tehuantepec, Mjihdi *et al.* (2002) detectaron nidos de amastigotes principalmente en la decidua basal, aunque también fueron observados algunos en la zona esponjosa y, más raramente, en la unión de las zonas laberíntica y esponjosa.

La cepa RAL de *T. cruzi* mostró una alta capacidad de penetración en los tejidos placentarios, con parasitismo intenso en las diferentes zonas, envolviendo decidua basal, células gigantes y trofoblasto esponjoso (Carraro Abrahão *et al.*, 2003). En las placentas de ratones infectados con la cepa Morc-1, Badra *et al.* (2008) demostraron la presencia de nidos de amastigotes en la decidua basal, células gigantes, trofoblasto esponjoso y células endoteliales de la zona laberíntica.

De acuerdo con esos resultados es posible concluir que, a pesar del tipo similar de transmisión, la patogénesis placentaria muestra matices diferentes, característicos de cada cepa de *T. cruzi*. Nuestros resultados coinciden con los de Delgado & Santos-Buch (1978) y Andrade (1982), que señalan que las cepas de *T. cruzi* poseen histotropismo diferente por las células placentarias, de modo que la transmisión congénita podría depender de la cepa y de la capacidad de fagocitosis de los macrófagos placentarios (Duaso *et al.*, 2012). De esta manera, la virulencia y la patogenicidad de las cepas, independiente de su tipo, juegan un papel significativo en la transmisión congénita (Delgado & Santos-Buch, 1978; Andrade, 1982; Moreno *et al.*, 2003; Virreira *et al.*, 2006; Duaso *et al.*, 2012). Según Dost *et al.* (2002) otros factores, como la morfología predominante del inóculo y la respuesta inmunológica del huésped, pueden estar envueltos en el comportamiento biológico de las diferentes cepas.

El modelo clónico-histotrópico de la patogénesis de la enfermedad, que correlaciona la

estructura de la población clónica del *T. cruzi* con su tropismo tisular (Macedo & Pena, 1998; Oliveira *et al.*, 1998; Macedo *et al.*, 2004), justifica el comportamiento tan variable del parásito.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

AGRADECIMIENTOS

La mayor parte de los resultados provienen de la Tesis de Doctorado de C.M. (Orientador: M.A.S.) defendida en la Facultad de Medicina de São José do Rio Preto, SP, Brasil.

REFERENCIAS

- Albuquerque R. D. R. & Barreto M. P. (1968). Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXX - Infecção natural do cachorro-do-mato, *Cerdocyon thous azarae* (Wied, 1824) pelo *T. cruzi*. *Rev. Bras. Biol.* **28**: 457-468.
- Allbuquerque S., Lopes R. A., Sala M. A., Carraro Abrahão A. A. & Ribeiro R. D. (2008). Histometría de la glándula sublingual de ratones (*Mus musculus*) machos y hembras infectados con la cepa RAL del parásito de Chagas *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Biol. Trop.* **56**: 459-471.
- Andrade S. G. (1982). The influence of the strain of *Trypanosoma cruzi* in placental infections in mice. *Trans. Royal. Soc. Trop. Med. Hyg.* **76**: 123-128.
- Andrade S. G. (2000). Patologia experimental da doença de Chagas. pp. 177-200. En: *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas*. Brener Z., Andrade Z.A. & Barral-Netto M. Eds. 2ª ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brasil.
- Andrade S. G., Bittencourt A. L., Figueira R. M. & Carvalho M. L. (1973). Estudo experimental de amostras do *Trypanosoma cruzi* isoladas de gestantes chagásicas. *Rev. Patol. Trop. São Paulo.* **2**: 301-310.
- Andrade S. G. & Magalhães J. B. (1997). Biodemes and zymodemes of *Trypanosoma cruzi* strains: correlations with clinical data and experimental

- pathology. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop. São Paulo*. **30**: 27-35.
- Apt W. & Díaz M. (1965). Hallazgo de *Trypanosoma cruzi* en estroma de las vellosidades coriales de ratones. *Bol. Chil. Parasit.* **20**: 52-53.
- Araújo S. M. (1998). Relação materno-fetal em camundongos experimentalmente infectados pelo *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop. São Paulo*. **31**: 329-330.
- Badra E. S., Sala M. A., Lopes R. A., Prado Jr J. C., Albuquerque S., Zucoloto S. *et al.* (2008). Histopathological changes in the placentas and fetuses of mice infected with *Trypanosoma cruzi* isolated from the *Myotis nigricans* bat. *J. Comp. Pathol.* **139**: 108-112.
- Brener Z. (1969). The behavior of slender and stout forms of *Trypanosoma cruzi* in the blood-stream of normal and immune mice. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **63**: 215-220.
- Buscaglia C. A. & Di Noia J. M. (2003). *Trypanosoma cruzi* clonal diversity and the epidemiology of Chagas' disease. *Microb. Infect.* **5**: 419-427.
- Carraro Abrahão A. A., Meneguette C., Sala M. A. & Lopes R. A. (2003). Histological and morphometric investigations of changes induced by the RAL strain of *Trypanosoma cruzi* in the mouse placenta. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* **39**: 169-176.
- COBEA. Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. (1996). Manual para Técnicos em Bioterismo. De Luca R. R., Alexandre S. R., Marques T., Souza N. L., Merusse J. L. B. & Neves S. P. Eds. 2ª Ed., Winner Graph, São Paulo, Brasil.
- Delgado M. A. & Santos-Buch C. A. (1978). Transplacental transmission and fetal parasitosis of *Trypanosoma cruzi* in outbred white Swiss mice. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **27**: 1108-1115.
- Devera R., Fernandes O. & Coura J. R. (2003). Should *Trypanosoma cruzi* be called "cruzi" complex? A review of the parasite diversity and the potential of selecting population after in vitro culturing and mice infection. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **98**: 1-12.
- Dost C. K., Albuquerque S., Hemleben V., Engels W & Prado Jr J. C. (2002). Molecular genetic characterization of different *Trypanosoma cruzi* strains and comparison of their development in *Mus musculus* and *Calomys callosus*. *Parasitol. Res.* **88**: 609-616.
- Duaso J., Castillo C. & Kemmerling U. (2012). Mechanism of congenital Chagas disease: Effective infection depends on the interplay between *Trypanosoma cruzi* and the different tissue compartments in the chorionic villi of the human placenta. Chapter 8, pp.149-164. En: Recent advances in research on the human placenta. Zheng J. Ed., InTechWeb Org., Rijeka, Croatia.
- Federici E. E., Abelmann W. B. & Neva F. A. (1964). Chronic and progressive myocarditis and myositis in C3H mice infected with *Trypanosoma cruzi*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **113**: 272-280.
- Funayama G. K. & Prado J. C. Jr. (1974). Estudo dos caracteres de uma amostra boliviana do *T. cruzi*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop. São Paulo*. **8**: 75-81.
- Georgiades P., Ferguson-Smith A.C. & Burton G.J. (2002). Comparative developmental anatomy of the murine and human definitive placentae. *Placenta*. **23**: 3-19.
- Kemmerling U., Bosco C. & Galanti N. (2010). Infection and invasion mechanisms of *Trypanosoma cruzi* in the congenital transmission of Chagas' disease: A proposal. *Biol. Res.* **43**: 307-316.
- Lushbaugh C. C., Humason G. & Gengozian N. (1969). Intrauterine death from congenital Chagas' disease in laboratory-bred marmosets (*Saguinus fuscicollis lagonotus*). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **18**: 662-665.
- Macedo A. M. & Pena S. D. J. (1998). Genetic variability of *Trypanosoma cruzi*: implications for the pathogenesis of Chagas' disease. *Parasitol. Today*. **14**: 119-124.
- Macedo A. M., Machado C. R., Oliveira R. P. & Pena S. D. J. (2004). *Trypanosoma cruzi*: genetic structure of population and relevance of genetic

- variability to the pathogenesis of Chagas disease. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **99**: 1-12.
- Magalhães J.B., Andrade S.G. & Sherlock I. (1996). *Trypanosoma cruzi* strains behavior after passage into autochthonous of foreign species of triatomines (biological and biochemical patterns). *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.* **38**: 23-28.
- Mjihdi A., Lambot M. A., Stewart I. J., Detournay O., Noël J. C., Carlier Y. *et al.* (2002). Acute *Trypanosoma cruzi* infection in mouse induces infertility or placental parasite invasion and ischemic necrosis associated with massive fetal loss. *Am. J. Pathol.* **161**: 673-680.
- Moreno E. A., Rivera I. M., Moreno S. C., Alarcón M. E. & Lugo-Yarbu A. (2003). Transmisión vertical de *Trypanosoma cruzi* en ratas Wistar durante la fase aguda de la infección. *Invest. Clin.* **44**: 241-254.
- Nattan-Larrier L. A. A. (1928). L'heredité de la maladie de Chagas. *Bull. Acad. Nac. Med. Paris.* **99**: 97-100.
- Pedrosa M. L., Silva M. E., Nicoli J. R. & Vieira E. C. (1990). The effect of iron deficiency and iron overload on the evolution of Chagas' disease produced by three strains of *Trypanosoma cruzi* in CFW mice. *Comp. Biochem. Physiol.* **97**: 235-243.
- Oliveira R, Broude N., Macedo A., Cantor C., Smith C. & Pena S. (1998). Probing the genetic population structure of *Trypanosoma cruzi* with polymorphic microsatellites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **95**: 3776-3780.
- Phillips N. R. (1990). Experimental studies on the quantitative transmission of *Trypanosoma cruzi*. Considerations regarding standardization of material. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **54**: 60-70.
- Silva L. H. P. & Nussenzweig V. (1953). Sobre uma cepa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o camundongo branco. *Folia Clin. Biol.* **20**: 191-203.
- Solana M. E., Celentano A. M., Tekiel V., Jones M. & González Cappa S. M. (2002). *Trypanosoma cruzi*: Effect of parasite subpopulation on murine pregnancy outcome. *J. Parasitol.* **86**: 102-106.
- Villela E. A. (1923). A transmissão intra-uterina da moléstia de Chagas. Encefalite congênita pelo *Trypanosoma cruzi* (Nota prévia). *Folia. Med.* **4**: 41-43.
- Virreira M., Alonso-Veja C., Solano M., Juena J., Brutus L., Bustamante Z. *et al.* (2006). Congenital Chagas disease is not associated with DNA polymorphism of *Trypanosoma cruzi*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **75**: 871-879.
- Werner H. & Egger I. (1971). Kongenitale Chagas-Einfluss einer *Trypanosoma cruzi* Infektion auf die Embryonalentwicklung bei trachtigen Mäusen. *Tropenmed. Parasitol.* **22**: 224-234.

Recibido el 29/06/2012
Aceptado el 10/09/2012

