

## Algunos efectos de la infección aguda y crónica de la enfermedad de Chagas en la gestación de la rata Wistar (Rodentia; Muridae)

### Some effects of acute and chronic infection with Chagas disease in pregnant Wistar (Rodentia; Muridae) rats

Dolores Guadalupe Vidal-López,<sup>I</sup> Jesús Díaz-Gómez,<sup>I</sup> María Adelina Schlie-Guzmán,<sup>I</sup> Javier Gutiérrez-Jiménez,<sup>I</sup> Any Laura Flores-Villegas,<sup>II</sup> Adriana Moreno-Rodríguez,<sup>III</sup> José Antonio De Fuentes-Vicente<sup>I,IV</sup>

<sup>I</sup> Instituto de Ciencias Biológicas. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.

<sup>II</sup> Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

<sup>III</sup> Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma "Benito Juárez". Oaxaca, México.

<sup>IV</sup> Universidad "Pablo Guardado Chávez". Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.

---

#### RESUMEN

**Objetivos:** caracterizar genéticamente una cepa de *Trypanosoma cruzi* aislada en el estado de Chiapas, México, y evaluar su efecto en la gestación de ratas Wistar.

**Métodos:** se evaluaron los daños producidos en la gestación de ratas Wistar infectadas con la cepa ITR/MX/10/COP de *T. cruzi*, el agente causal de la enfermedad de Chagas. Dos grupos de 10 ratas hembras fueron infectadas intraperitonealmente con  $1 \times 10^6$  de tripomastigotes sanguíneos. Un grupo fue cruzado a los 19 días posinfección (etapa aguda) y el otro grupo a los 59 días (etapa crónica). Como control se utilizaron 10 ratas no infectadas y cruzadas. Antes del término de la gestación, las ratas fueron sacrificadas para calcular el número, peso y longitud de los fetos, medidas de la placenta y cordón umbilical.

**Resultados:** hubo una reducción significativa en el número, peso y longitud de fetos de los grupos infectados con *T. cruzi* ( $p < 0,05$ ). Asimismo, las medidas de placenta y cordón umbilical fueron menores en los grupos experimentales ( $p < 0,05$ ), sin embargo, no se presentaron diferencias significativas entre los grupos.

**Conclusiones:** la infección aguda y crónica por *T. cruzi* de una región de Chiapas, México, caracterizada como TcI, puede llegar a causar daños considerables durante el proceso de gestación.

**Palabras clave:** enfermedad de Chagas; etapa aguda; etapa crónica; desarrollo intrauterino; ratas.

---

## ABSTRACT

**Objectives:** genetically characterize a strain of *Trypanosoma cruzi* isolated in the state of Chiapas, Mexico, and evaluate its effect on gestation in Wistar rats.

**Methods:** evaluation was conducted of the damage caused to gestation in Wistar rats infected with the strain ITR/MX/10/COP of *T. cruzi*, the causal agent of Chagas disease. Two groups of ten female rats were infected intraperitoneally with  $1 \times 10^6$  blood trypomastigotes. One group was mated 19 days postinfection (acute stage) and the other 59 days postinfection (chronic stage). Ten non-infected mated rats were used as control. Before the end of gestation, the rats were sacrificed to estimate the number, weight and length of fetuses, as well as placenta and umbilical cord measurements.

**Results:** fetuses from the groups infected with *T. cruzi* showed a significant decrease in number, weight and length ( $p < 0.05$ ), while placenta and umbilical cord measurements were lower in the experimental groups ( $p < 0.05$ ), but no significant differences were found between the groups.

**Conclusions:** acute and chronic infection by *T. cruzi* in a region of Chiapas, Mexico, characterized as TcI, may cause considerable damage during gestation.

**Keywords:** Chagas disease; acute stage; chronic stage; intrauterine development; rats.

---

## INTRODUCCIÓN

La tripanosomiasis americana, también conocida como enfermedad de Chagas, es una infección parasitaria endémica de América Latina que cuenta con una prevalencia de alrededor de 6 millones de personas infectadas y cerca de 18 millones en riesgo de contraer la enfermedad.<sup>1</sup> El agente causal de esta zoonosis es el protozooario hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*, parásito que de manera natural es transmitido por las heces de insectos hematófagos de la subfamilia Triatominae (Hemíptera; Reduviidae), conocidos popularmente como vinchucas, chinches, chipo o barbeiro.<sup>2</sup>

La enfermedad de Chagas presenta dos etapas claramente diferenciadas: la fase aguda que dura de uno a dos meses después de la infección, se caracteriza por la presencia del parásito en el torrente sanguíneo y se pueden presentar algunas manifestaciones clínicas como mareo, cefalea, fatiga, fiebre, agrandamiento de ganglios linfáticos o hinchazón en el sitio de penetración del parásito; mientras que en la fase crónica los parásitos crean nidos en diversos tejidos del hospedero y

---

posteriormente pueden ocasionar afecciones cardiacas o viscerales que conducen a la muerte del paciente.<sup>3</sup>

Además de la transmisión vectorial, *T. cruzi* puede ser transmitido de una persona a otra por transfusión sanguínea, trasplante de órganos, ingesta de alimentos contaminados y a través de la madre embarazada al hijo, llamada transmisión congénita o vertical.<sup>4</sup> Si bien este último tipo de transmisión no se presenta en todos los recién nacidos, la infección materna puede ocasionar complicaciones en el desarrollo del producto, como retardo en el crecimiento intrauterino, prematuridad, deformaciones y en algunos casos abortos.<sup>5</sup> Debido a que los medicamentos disponibles para el tratamiento de la enfermedad de Chagas, benznidazol y nifurtimox, no son recomendados durante el embarazo por los riesgos teratogénicos que tienen,<sup>6</sup> es importante conocer las complicaciones con el fin de intentar minimizarlas durante la gestación.

Varios aspectos de la enfermedad de Chagas han sido evaluados en animales experimentales como la rata Wistar, principalmente por su susceptibilidad y las similitudes en el curso de la infección con el humano.<sup>7</sup> En estudios con animales de laboratorio se sugiere que las complicaciones durante el desarrollo intrauterino pueden estar condicionadas por la virulencia del parásito.<sup>8-10</sup> Esta virulencia varía entre las cepas de *T. cruzi* y generalmente se debe a la extensa variabilidad genética que tiene, lo cual ha conducido a una clasificación actual de seis diferentes grupos o unidades de tipificación discretas (DTUs TcI-TcVI).<sup>11</sup> Sin embargo, la clasificación anterior en linajes TcI y TcII aún permanece vigente y se emplea en estudios recientes (e.g. *De Fuentes-Vicente* y otros<sup>12</sup> y *Tamay-Segovia* y otros<sup>13</sup>), ya que estos grupos corresponden a los DTUs TcI y TcII, respectivamente, y dieron origen a los nuevos genotipos.<sup>14</sup>

Por tanto, se consideró necesario estudiar las cepas de regiones donde las poblaciones humanas, y particularmente las mujeres en edad fértil, corren el riesgo de contraer la infección. Por ello, el objetivo del presente estudio fue caracterizar genéticamente una cepa de *T. cruzi* aislada en el estado de Chiapas, México, y evaluar su efecto en la gestación de ratas Wistar. En vista de que la etapa crónica ha sido generalmente soslayada en este tipo de investigaciones, se propuso además evaluar ambas etapas de la enfermedad en el modelo.

## MÉTODOS

### CEPA DE *T. CRUZI*

Se utilizó una cepa de *T. cruzi* aislada de la ampolla rectal de un espécimen de *Triatoma dimidiata* colectado en el municipio de Copainalá, Chiapas, México (17°13'16"N, 93°21'08"O). La cepa fue denominada ITR/MX/10/COP según los códigos recomendados para la designación de aislados de *T. cruzi*<sup>15</sup> y se mantuvo por pases periódicos en ratas cepa Wistar.

## CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE *T. CRUZI*

### Extracción de ADN

Los parásitos fueron cultivados previamente en medio Liver Infusion Triptasa (LIT). A partir de los cultivos se tomaron 40 µL para realizar la extracción de ADN empleando una técnica modificada de fenol-cloroformo alcohol isoamílico.<sup>16</sup> Las muestras fueron visualizadas mediante electroforesis en gel de agarosa (SIGMA) al 1 % utilizando un buffer de carga (Blue/Orange 6X Loading Dye, Promega) y 5 µL de muestra.

### Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La caracterización genética del aislado se hizo mediante la amplificación del gen que codifica para el mini-exón usando un *pool* de tres oligonucleótidos, de 5' a 3': GTGTCCGCCACCTCCTTCGGGCC (específico para TcI), CCTGCAGGCACACGTGTGTGTG (específico para TcII) y CCCCCTCCCAGGCCACTG (común para los dos grupos).<sup>17</sup> La reacción de amplificación se ajustó a un volumen final de 25 µL que contenía 12 µL de GoTaq Green Master Mix 2X (PROMEGA), 10 µL de agua libre de nucleasas, 0,4 µM de cada oligonucleótido y 20 ng de ADN de *T. cruzi* extraído con la técnica fenol-cloroformo alcohol isoamílico.

### Visualización de ADN

Los productos de PCR fueron visualizados en un gel de agarosa (SIGMA) al 2 % utilizando una cámara electroforética BioRad (Wide Mini-Sub), un *buffer* TAE 1X y un marcador de peso molecular (Promega) de 50 pares de bases (pb). Las muestras amplificadas a 300 pb corresponden a TcII, mientras que a 350 pb amplifica TcI. Como controles se utilizaron las cepas Qro. (TcI) y Y (TcII).<sup>18,19</sup>

## ANIMALES EXPERIMENTALES E INOCULACIÓN

Un total de 30 ratas hembra cepa Wistar de 2 meses de edad y un peso aproximado de 200 g, fueron separadas en tres grupos de 10 ejemplares cada uno. Dos grupos fueron inoculados intraperitonealmente con  $1 \times 10^6$  de tripomastigotes sanguíneos. El tercer grupo (control) fue inoculado por la misma vía con solución salina fisiológica al 0,9 %. Todos los grupos fueron mantenidos en jaulas separadas de policarbonato bajo condiciones controladas ( $24 \pm 2$  °C; 75 % humedad) y alimentadas con dieta comercial (Diet Rodent) y agua *ad libitum*.

## APAREAMIENTO Y EVALUACIÓN DE ALTERACIONES EN FETOS, PLACENTAS Y CORDÓN UMBILICAL

Todas las hembras fueron colocadas individualmente con dos machos de la misma cepa para su apareamiento a los siguientes tiempos posinoculación (*pi*): un grupo infectado con *T. cruzi* fue cruzado a los 19 días *pi* (etapa aguda), tiempo en el que se documentaron parásitos en sangre; el segundo grupo infectado fue cruzado a los 59 días *pi*, cuando ya no se visualizaban tripomastigotes sanguíneos (etapa crónica); y el grupo control fue cruzado a los 10 días *pi*.

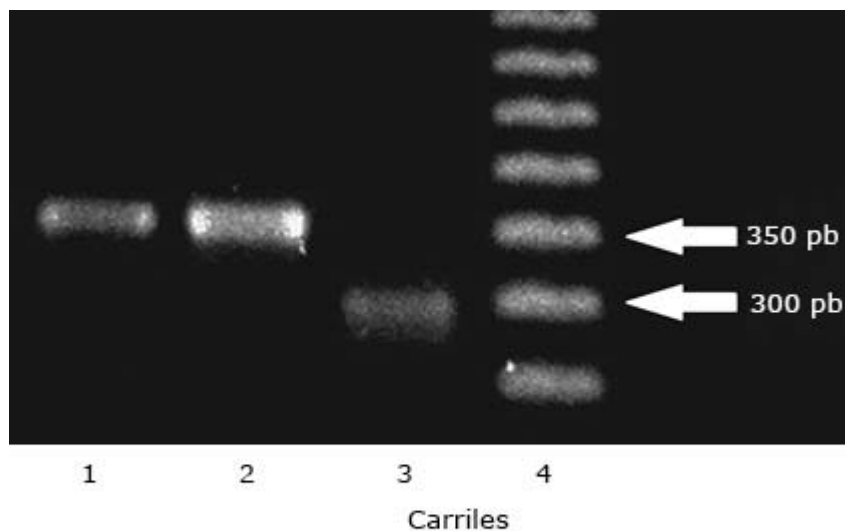
A los 20 días de gestación se realizó la eutanasia de los grupos en una cámara cerrada emisora de bióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (E-30 Crigramex). A continuación, los fetos fueron extraídos de los sacos uterinos mediante incisión longitudinal del cuerno uterino para registrar el número de fetos por rata, anomalías morfológicas externas, tomar medidas y pesos del feto, placenta y del cordón umbilical mediante el uso de un calibrador Vernier y una báscula digital (Scout-Pro). Todos los protocolos utilizados en los animales se sujetaron a la Norma Oficial Mexicana "NOM-062-ZOO-1999" sobre especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis de los datos se realizó con el software Infostat, versión 2016. Diferencias en las variables de respuesta se determinaron con un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba *post hoc* de Tukey. Se consideraron diferencias significativas cuando  $p < 0,05$ .

### RESULTADOS

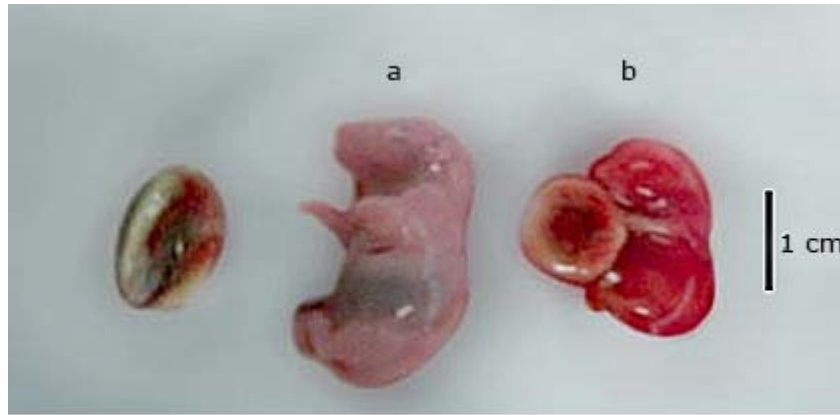
El análisis molecular del gen mini-exón de *T. cruzi*, dio como resultado un producto de 350 pb, y confirmó que esta cepa pertenece al grupo TcI del parásito (Fig. 1).



Carriles: 1) control-TcI (cepa Qro); 2) cepa ITR/MX/10/COP; 3: control TcII (cepa Y) y 4: marcador de peso molecular de 50 pb.

**Fig. 1.** Productos de PCR en gel de agarosa al 2 %.

La infección con *T. cruzi* causó una reducción significativa en el número de fetos de los grupos experimentales en relación con el grupo control ( $p = 0,0001$ ). Dentro de los grupos infectados, se presentó una mayor disminución en las ratas que cursaban la etapa crónica de la enfermedad, la cual fue significativa ( $p = 0,0069$ ) con respecto al grupo de ratas en etapa aguda (tabla). El análisis visual de los fetos mostró que en ambos grupos experimentales los productos no presentaron anomalías en la estructura corporal (Fig. 2).



**Fig. 2.** Fetos y placentas de una rata control (a) y de una rata en etapa aguda (b) de la enfermedad de Chagas donde no se observan alteraciones en la estructura corporal.

El registro del peso de los fetos evidenció que los valores más bajos se observaron en el grupo de ratas en etapa aguda, los cuales mostraron diferencias significativas cuando fueron comparadas con las crías de las ratas en etapa crónica ( $p= 0,0001$ ). Asimismo, la longitud de los fetos fue más baja en el mismo grupo experimental ( $p= 0,0001$ ) (tabla).

Con respecto a la placenta, tanto el peso como el diámetro fueron menores en las ratas que cursaban la etapa aguda de la enfermedad; sin embargo, estas diferencias no fueron significativas en relación con el grupo en etapa crónica ( $p= 0,084$ ). Del mismo modo, la longitud del cordón umbilical no varió ( $p= 0,097$ ) entre los grupos experimentales (tabla).

**Tabla.** Mediciones realizadas en fetos, placentas y cordones umbilicales de los diferentes grupos de ratas

Grupo	Número de fetos por rata	Fetos		Placenta		Cordón umbilical
		Peso (g)	Longitud (cm)	Peso (g)	Diámetro (cm)	Longitud (cm)
Control	11,3 (0,5)	4,31 (0,5)	3,19 (0,2)	0,68 (0,09)	1,28 (0,2)	2,91 (0,3)
Etapa aguda	7,5 (0,7)	1,58 (0,1)	1,77 (0,9)	0,47 (0,2)	0,92 (0,3)	1,92 (0,5)
Etapa crónica	4,5 (1,3)	2,62 (1,1)	2,59 (0,3)	0,55 (0,4)	1,01 (0,2)	1,85 (0,6)

Los valores están expresados como medio (desviación estándar).

## DISCUSIÓN

Los resultados generales de este estudio muestran que se produce un daño durante la gestación en las dos etapas de la infección con la cepa ITR/MX/10/COP de *T. cruzi*, obtenida en el estado de Chiapas y caracterizada como TcI. Este genotipo es el más abundante y se concentra principalmente en Centroamérica y Norteamérica, donde se ha llegado a asociar tanto con ciclos selváticos como domésticos.<sup>11</sup> Uno de los objetivos del genotipado del parásito es la de tratar de establecer vínculos entre los grupos genéticos y los daños producidos por el parásito en el huésped, sin

embargo, las relaciones aún no son del todo precisas debido a la extensa variación biológica que se ha reportado.

En este trabajo fue significativa la reducción en el número de fetos de los grupos de ratas infectadas con *T. cruzi* en relación con las ratas control ( $p < 0,05$ ), aun cuando el apareamiento se llevó a cabo en condiciones normales. Esta condición también ha sido observada en modelos murinos con cepas de distintos grupos genéticos.<sup>20</sup> En investigaciones con ratones BALC/c infectados con *T. cruzi* se evidenció que la fecundación y primera división del cigoto ocurren de manera normal. Sin embargo, se presentan anomalías en el desarrollo de embriones de dos células a la etapa de blastocisto, incluso algunos embriones detienen su desarrollo antes de haber llegado a la etapa de ocho células y otros más degeneran, lo que ocasiona la reducción en el número de crías.<sup>21</sup> Comparaciones entre los grupos infectados nos permitieron determinar que se produjeron menos fetos en las ratas que cursaban la etapa crónica que aquellas que cursaban la etapa aguda ( $p < 0,05$ ). Los cambios en la fertilidad han sido relacionados con procesos inflamatorios en el útero, los cuales son producidos en gran parte por la presencia de nidos de amastigotes de *T. cruzi* y moléculas de respuesta inmune (células mononucleares y polimorfonucleares).<sup>22</sup> Al ser los nidos de amastigotes una característica de la etapa crónica de la enfermedad, lo anterior explica la diferencia que se observó en este grupo.

A diferencia de otras cepas como la Y que pertenece al grupo TcII,<sup>23</sup> no se observaron deformaciones en ninguno de los fetos de este experimento. Esta propiedad puede deberse a la virulencia de las cepas o a la capacidad materno-fetal para desarrollar una respuesta inmune específica, y de esta forma lograr disminuir el daño en el producto.<sup>24</sup> La respuesta inmune en ratas infectadas con *T. cruzi* se compone fundamentalmente de anticuerpos de la clase IgM en el transcurso de la infección aguda e IgC e IgA en la infección crónica.<sup>25</sup> Sin embargo, aún se desconocen a detalle los mecanismos inmunológicos que pueden proteger a las crías durante la infección de la madre, permitiendo que las crías nazcan libres de anomalías morfológicas o estructurales.<sup>10</sup> A pesar de que el sistema inmune de las fetos es inmaduro, se ha llegado a detectar la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* de la clase IgM, los cuales no pueden cruzar la placenta y se descarta entonces que sean transferidos a través de la madre.<sup>8</sup> Por lo tanto, es posible que la respuesta inmune de los fetos sea un factor clave para la protección contra el parásito.

Por otra parte, la presencia del parásito en el torrente sanguíneo de la madre se ha relacionado con una mayor disminución en el peso y crecimiento de los fetos,<sup>26,27</sup> lo cual es acorde con los resultados obtenidos en el grupo de ratas en etapa aguda. Los parásitos circulantes pueden atravesar la placenta y provocar una disminución en los niveles de crecimiento epidermal, que ocasiona un mal funcionamiento de la placenta y alteración en el desarrollo de los fetos.<sup>28</sup> De hecho, el peso y diámetro de las placentas fueron ligeramente menores en el mismo grupo; sin embargo, no se presentaron diferencias significativas con respecto al grupo en etapa crónica ( $p > 0,05$ ). La alteración en las placentas en ambos grupos, así como del cordón umbilical, condicionan el flujo sanguíneo y el transporte de glucosa, eventos que son cruciales para que se lleve de manera correcta el desarrollo del producto durante la gestación.<sup>29</sup> Las alteraciones en las placentas pueden estar acompañadas de áreas dispersas de degeneración y necrosis, las cuales han sido observadas en animales infectados con la cepa RAL de *T. cruzi* caracterizada como TcII.<sup>30</sup> Por su parte, la limitación en los movimientos intrauterinos a causa de la infección materna se ha asociado con la reducción en la longitud del cordón umbilical. Esta limitación en los movimientos evita que se lleve a cabo el desarrollo y estiramiento adecuado del cordón,<sup>31</sup> como se observó en las ratas de ambos grupos experimentales.

Por último, en este trabajo se evidenció que ninguna de las dos etapas de la enfermedad de Chagas está exenta de riesgos durante la gestación, al menos con la cepa de *T. cruzi* empleada y un modelo murino. Si bien resulta arriesgado extrapolar los datos de modelos murinos al humano, principalmente por los tiempos de gestación, estas investigaciones ofrecen un panorama sobre las posibles consecuencias de la infección materna en el desarrollo de los fetos. En este sentido, se pone de manifiesto la importancia de contar con métodos de vigilancia y seguimiento de mujeres embarazadas que presenten serología positiva a la enfermedad de Chagas.

### Conflictos de interés

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dumonteil E, Herrera C. Ten years of Chagas disease research: Looking back to achievements, looking ahead to challenges. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(4):1-5.
2. Jurberg J, Galvão C. Biology, ecology and systematics of Triatominae (Heteroptera: Reduviidae) vectors of Chagas disease and implications for human health. *Denisia*. 2006. 19:1096-116.
3. World Health Organization. First report on neglected tropical diseases 2010: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Geneva, Switzerland: WHO; 2010.
4. Guhl F. Enfermedad de Chagas: Realidad y perspectivas. *Rev Biomed*. 2009;20(3):228-34.
5. Blasco L, Nuñez V, Cruceyra M, Magdaleno F, García S. Enfermedad de Chagas y embarazo. *Rev Chil Obstet Ginecol*. 2011;76(3):162-8.
6. Howard EJ, Xiong X, Carlier Y, Sosa-Estani S, Buekens P. Frequency of the congenital transmission of *Trypanosoma cruzi*: a systematic review and meta-analysis. *BJOG*. 2014;121(1):22-33 .
7. Moreno E, Rivera I, Moreno S, Alarcón M, Lugo-Yarbuh A. Vertical transmission of *Trypanosoma cruzi* in Wistar rats during the acute phase of infection. *Invest Clin*. 2003;44(3):241-54.
8. Alarcón-Mendoza MA, Ruíz-Rangel G, Lugo de Yarbuh A, Briceida-Guillén C, Moreno-Balza EA, Pérez-Aguilar C, et al. Transmisión congénita de *Trypanosoma cruzi* en crías de ratas Wistar con infección chagásica aguda. *Rev Soc Ven Microbiol*. 2010;30(2):114-20.
9. Moreno EA, Ramírez M, Alarcón ME, Lugo de Yarbuh A, Villareal J, Araujo S, et al. Transmisión congénita de *Trypanosoma cruzi* en ratas Wistar de segunda generación. *Bol Mal Salud Amb*. 2010;50(1):29-38.
10. Pérez-Aguilar MC, Alarcón M, Araujo S, Goncalves L. Efecto de la infección congénita por *Trypanosoma cruzi* sobre el desarrollo intrauterino y la respuesta inmune fetal-neonatal. *Invest Clin*. 2012;53(2):190-204.



11. Zingales B, Miles MA, Cambell DA, Tibayrenc M, Macedo A, Teixeira M, et al. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale epidemiological relevance and research applications. *Infect Genet Evol.* 2012;12;240-53.
12. De Fuentes-Viciente JA, Cabrera-Bravo M, Enríquez-Vara J, Bucio-Torres M, Gutiérrez-Cabrera AE, Vidal-López DG, et al. Relationships between altitude, triatomine (*Triatomadimidata*) immune response and virulence of *Trypanosoma cruzi*, the causal agent of Chagas' disease. *Med Vet Entomol.* 2016;31:63-71.
13. Tamay-Segovia P, Blum-Domínguez S, Núñez-Oreza LA, Martínez-Hernández F, Gómez-Solana M, Maldonado-Velázquez MG, et al. Presence of Virginia (*Didelphis virginiana*) and Pic (*Triatoma dimidiata*) infected with *Trypanosoma cruzi* in urban areas: preliminary evaluation in the city of Campeche, Mexico. *Austral J Vet Sci.* 2017;1:38-8.
14. Zingales B, Andrade S, Briones M, Campbell D, Chiari E, Fernandes O, et al. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009;104(7):1051-4.
15. World Health Organization (WHO). Control for Chagas disease. Second report of the WHO expert committee. Geneva; World Health Organization; 2002.
16. Espinoza ME, García BM. Manual de laboratorio de genética, ECOSUR-San Cristóbal de las Casas. Chiapa: ECOSUR; 2003.
17. Souto R, Fernandes O, Macedo A, Campbell D, Zingales B. DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasit.* 1996;83(2):141-52.
18. Espinoza B, Rico S, Sosa S, Oaxaca E, Vizcaíno-Castillo A, Caballero ML, et al. Mexican *Trypanosoma cruzi* *T. cruzi* I strains with different degrees of virulence induce diverse humoral and cellular immune responses in a murine experimental infection model. *J Biomed Biotechnol.* 2010;2010: 890672. doi: 10.1155/2010/890672.
19. Pena DA, Eger I, Nogueira L, Heck N, Menin A, Menin A, et al. Selection of TcII *Trypanosoma cruzi* population following Macrophage infection. *J Infect Dis.* 2011;204(3):478-86.
20. Cencig S, Coltel N, Truyens C, Carlier Y. Fertility, Gestation Outcome and Parasite Congenital Transmissibility in Mice Infected with TcI, TcII and TcVI Genotypes of *Trypanosoma cruzi*. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7(6):e2271.
21. Boufker I, Alexandre H, Carlier Y, Truyens C. Infertility in murine acute *Trypanosoma cruzi* infection is associated with inhibition of pre-implantation embryo development. *Am J Pathol.* 2006;169(5):1730-8.
22. Alarcón M, Lugo de Yarbuh A, Moreno E, Payares G, Araujo S, Colmenares M. Presencia de *Trypanosoma cruzi* en tejidos de ratas Wistar infectadas experimentalmente y sus fetos. *Bol Mal Salud Amb.* 2006;46(2):137-48.
23. Pérez M, Alarcón M, Goncalves L, Lugo de Yarbuh A, Moreno E, Araujo S, et al. Anomalías morfológicas y estructurales en fetos de ratones con infección aguda experimental por *Trypanosoma cruzi*. *Bol Mal Salud Amb.* 2008;48(2):127-34.

24. Pérez M, Goncalves L, Alarcón M. Transmisión congénita por *Trypanosoma cruzi*: aspectos de la respuesta inmune fetal. Bol Mal Salud Amb. 2009;49(2):175-80.
25. Moreno E, Méndez M, Alarcón M, Araujo S, Lugo A, Moreno S. Reactivación de la infección chagásica en ratas Wistar gestantes. Kasmera. 2005;33(1):51-63.
26. Moreno E, Quintero A, Alarcón M, Lugo-Yarbu A, Moreno S, Araujo S, et al. Investigación sobre la transmisión vertical de *Trypanosoma cruzi* en ratas Wistar crónicamente infectadas. Bol Mal Salud Amb. 2006;46(2):149-60.
27. Mjihdi A, Lambot M, Stewart I, Detournay O, Noel J, Carlier Y, et al. Acute *Trypanosoma cruzi* infection in mouse induces infertility or placental parasite invasion and ischemic necrosis associated with massive fetal loss. Am J Pathol. 2002;161(2):673-80.
28. Lugo-Yarbu A, Cáceres K, Sulbarán D, Araujo S, Moreno E, Carrasco H, et al. Proliferación de *Trypanosoma cruzi* en la membrana peritoneal y líquido ascítico de ratones con infección aguda. Bol Mal Salud Amb. 2013;53(2):146-56.
29. Kamei Y, Tsutsumi O, Yamakawa A, Oka Y, Taketani Y, Imaki J. Maternal epidermal growth factor deficiency causes fetal hypoglycemia and intrauterine growth retardation in mice: possible involvement of placental glucose transporter GLUT3 expression. Endocrinol. 199;140(1):4236-43.
30. Carraro-Abrahao A, Meneguette C, Sala M, Lopes R. Histological and morphometric investigation of changes induced by the RAL strain of *Trypanosoma cruzi* in the mouse placenta. Rev Bras Cienc Farm. 2003;39(2):169-76.
31. Sala M, Lopes R, Carraro A, Meneguette C. Efecto de la infección aguda por diferentes cepas de *Trypanosoma cruzi* sobre el crecimiento intrauterino de fetos de ratón. Parasitología Latinoamericana. 2006;61(2):69-73.

Recibido: 26 de diciembre de 2016.

Aceptado: 17 de julio de 2017.

José Antonio De Fuentes-Vicente. Universidad Pablo Guardado Chávez. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. Correo electrónico:  
[josedefuentes@comunidad.unam.mx](mailto:josedefuentes@comunidad.unam.mx)