

TOXOPLASMA GONDII, UN PATÓGENO ASESINO RE-EMERGENTE*

Saé Muñiz Hernández y Ricardo Mondragón Flores

RESUMEN

La toxoplasmosis es una enfermedad distribuida mundialmente y que no distingue género, raza y distribución geográfica. Afecta al 30% de la población a nivel mundial y es ocasionada por el parásito protozoario intracelular obligado *Toxoplasma gondii*. A la fecha no existe vacuna ni tratamiento que lo elimine cuando se encuentra en su estadio intracelular. *Toxoplasma* invade a cualquier célula del organismo por un proceso de invasión activa que involucra eventos de motilidad y secreción molecular. El éxito como organismo invasor reside en su alta capacidad de migración transepitelial alcanzando órganos privilegiados como cerebro, ojo y placenta en mujeres embarazadas. A la fecha se desconocen los mecanismos de reconocimiento celular y atracción quimiotáctica que determinan la dirección de su migración y diseminación tisular.

PALABRAS CLAVE: Toxoplasmosis, taquizoíto, migración epitelial, diseminación tisular.

INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es una de las zoonosis parasitarias más comunes a nivel mundial ocasionada por el parásito protozoario *Toxoplasma gondii*, el cual infecta a todas las especies animales de sangre caliente incluyendo al humano (1). El hombre adquiere la infección por diferentes rutas: mediante la ingestión de quistes tisulares presentes en carne mal cocida proveniente de animales infectados, o de ooquistes liberados en las heces de gatos que contaminan hortalizas o fuentes de agua potable. Una tercera ruta de infección es la vía

transplacentaria de la madre al feto.

Debido a que la toxoplasmosis es una de las zoonosis más importantes en el humano con severas consecuencias en la salud de la población, organizaciones de Salud Pública en algunos países han incluido dentro de sus medidas de sanidad la evaluación epidemiológica de la toxoplasmosis en animales y humanos. Entre las patologías que se presentan por toxoplasmosis están: encefalitis, coriorretinitis, ceguera y linfadenopatía. Particularmente en mujeres embarazadas, *Toxoplasma* alcanza y atraviesa la placenta alojándose en el feto en el

cual puede producir aborto o inducir malformaciones, hidrocefalia, macro o microcefalia y lesiones oculares. La infección con *Toxoplasma* no muestra diferencias entre género, raza y distribución geográfica.

En la mayoría de los casos de pacientes inmuno-comprometidos incluyendo aquellos con SIDA, *Toxoplasma* se establece en el cerebro desarrollando encefalitis toxoplásrica, la cual es la principal causa de mortalidad especialmente en países de pocos recursos (2).

A la fecha sólo existe una vacuna comercial contra *Toxoplasma* (ovilis

*Recibido: 9 de diciembre de 2008 Aceptado: 16 de junio de 2009

Departamento de Bioquímica. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV)- IPN. México, DF.
Correo E: rmflores@cinvestav.mx

toxovax) la cual se ha aplicado con éxito a nivel veterinario, particularmente en ovejas. Esta vacuna consiste de una cepa atenuada o de baja virulencia de *Toxoplasma* que se ha aplicado orientada a la prevención de la infección y a evitar pérdidas en la producción animal por aborto. En humanos no existe una vacuna que prevenga la toxoplasmosis; diversos grupos de investigación han encauzado sus estudios a la búsqueda de componentes provenientes de los diferentes organelos secretores con potencial aplicación inmunoprotectora. Entre los organelos secretores que se han estudiado se encuentran: las roptrías, con base en su papel biológico en la invasión celular; los micronemos, debido a su participación en la adhesión a la célula hospedera durante la invasión y finalmente los gránulos densos, cuyos componentes son secretados dentro de la vacuola parasitófora (VP). Particularmente el inhibidor de serín proteasa-1 (TgPI-1) es un antígeno altamente inmunogénico de gránulos densos que se ha considerado como una molécula inmunoprotectora potencial (3).

Distribución Mundial y en México

En la actualidad entre el 30 a 40% de la población mundial se encuentra infectada con *Toxoplasma*. La prevalencia de toxoplasmosis se ha estudiado principalmente en mujeres embarazadas y en personas infectadas y portadoras del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Algunos reportes señalan a Brasil como el país con más casos de coriorretinitis ocasionada por infecciones por *Toxoplasma*, por encima incluso de países europeos o países de América del Norte. Reportes epidemiológicos indican que la prevalencia de la infección en mujeres embarazadas varía sustancialmente a nivel mundial. En Europa, la prevalencia varía del 9% al 67%. En contraste,

en Asia se han reportado prevalencias bajas, por ejemplo en Corea del 0.8% y en Vietnam del 11.2%; en ciudades como India, Malasia y Nepal se presentan prevalencias del 41.8% hasta el 55.4%. Con respecto al continente Americano, en Brasil y Cuba se han reportado en mujeres embarazadas prevalencias de anticuerpos contra *Toxoplasma* del 74.5% y 70.9% respectivamente.

La encuesta Nacional Sero-epidemiológica realizada en México en 1992, demostró una prevalencia de la toxoplasmosis por todo el país con distribuciones del 13% en la zona norte del país, y un máximo de hasta el 64% en ciudades costeras (4). En un estudio adicional se reportó para Tabasco una prevalencia del 60% en mujeres embarazadas, en el centro de México 34.9%, en Mérida 47% y en Durango 6.1%. En el 2005 se reportó que cada año, 2 de cada 1000 recién nacidos presentan toxoplasmosis congénita (5).

Ciclo de Vida de *Toxoplasma gondii*

El ciclo de vida del parásito se desarrolla en dos tipos de huéspedes: el huésped definitivo que comprenda todos los felinos, incluido el gato doméstico, y el huésped intermediario, que son todos los animales de sangre caliente (incluido el humano) (Fig. 1). Dependiendo del tipo de huésped se puede llevar a cabo la replicación sexual o asexual. El ciclo de replicación sexual inicia cuando algún felino ingiere una presa infectada con quistes tisulares (forma infectiva que contiene al bradizoíto). Por acción de las enzimas digestivas intestinales se liberan las formas infectivas del parásito que invaden a los enterocitos del intestino del felino. En el intestino es donde se lleva a cabo un proceso de desarrollo y diferenciación celular conocido como gametogonia, proceso sexual de reproducción celular que conduce a la formación del ooquiste. El ooquiste es liberado en forma no

esporulada a través de las heces de los felinos y expuesto al medio ambiente, en donde bajo condiciones adecuadas esporula en 2-3 días produciendo en su interior 8 esporozoítos; el ooquiste así maduro se convierte en la forma infecciosa. Millones de ooquistes son producidos y liberados por los felinos a través de las heces, contaminando suelo, hortalizas y fuentes de agua. El ciclo de replicación asexual se desarrolla en los huéspedes intermediarios, los cuales pueden infectarse mediante el consumo de ooquistes esporulados o de quistes tisulares presentes en los tejidos de otros huéspedes intermediarios.

En el caso del hombre, la infección puede ser por la ingestión directa de los ooquistes o por la ingestión de carne mal cocida, contaminada por quistes tisulares de *Toxoplasma*. Una vez ingerido el ooquiste ó el quiste tisular, se liberan los esporozoítos y los bradizoítos respectivamente, los cuales rápidamente se diferencian a taquizoítos, la forma móvil, altamente dinámica e invasiva que atraviesa eficientemente el epitelio intestinal, diseminándose a través de todo el organismo. La presencia del parásito en el organismo activa la respuesta inmune del huésped con la formación de anticuerpos y la activación de células efectoras de la respuesta inmune celular como macrófagos, linfocitos T, etc; con la consecutiva liberación de citocinas como interleucinas e interferón γ (IFN-γ). La presencia de IFN-γ es uno de los componentes que se ha descrito que inducen la diferenciación de los taquizoítos intracelulares a la forma de bradizoíto con la consecutiva modificación de la célula hospedera en un quiste tisular en el cual vive en una forma latente durante muchos años o incluso durante toda la vida del individuo. En casos de inmunosupresión como en los individuos infectados con el VIH, el parásito puede re-emerger

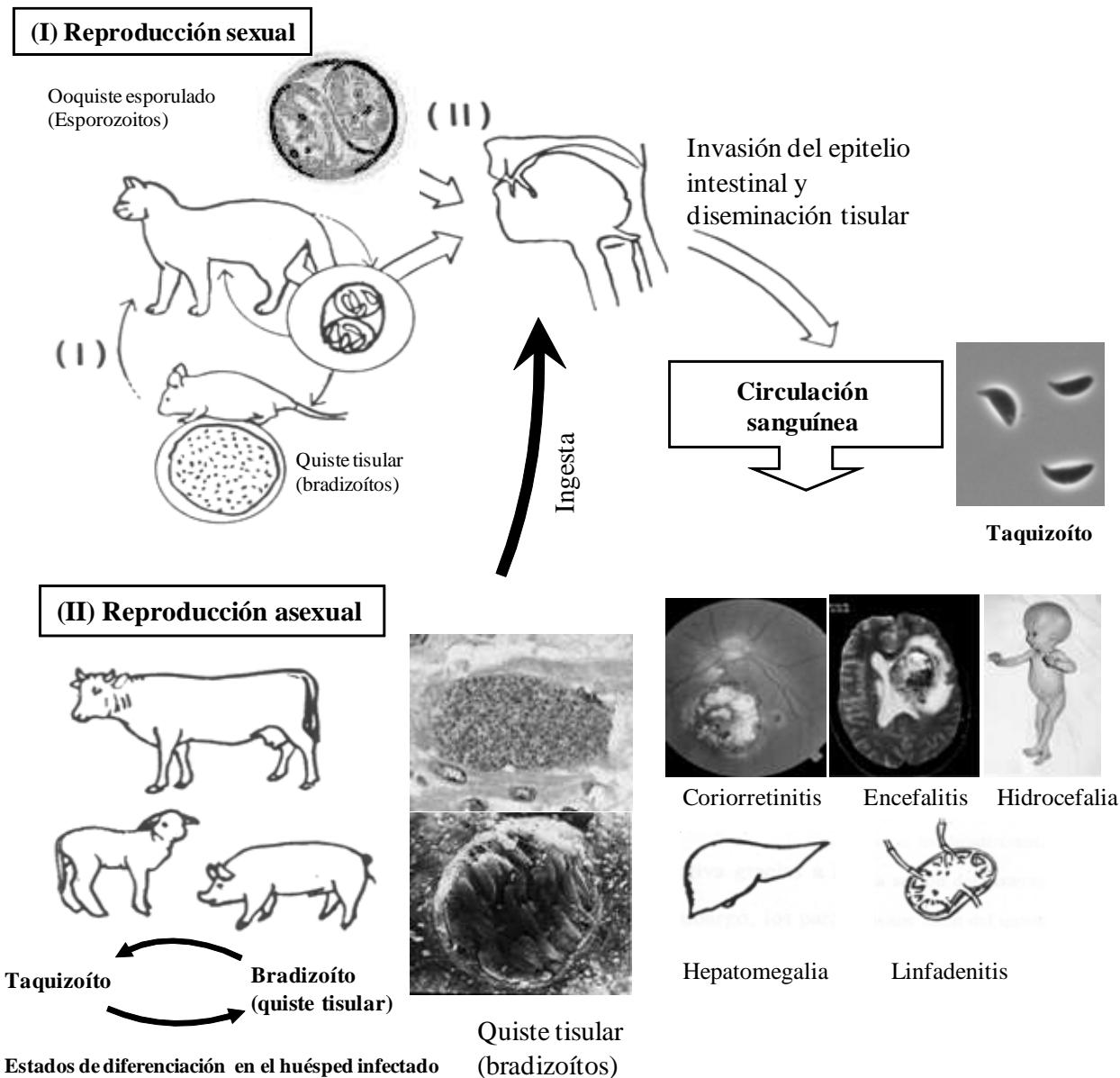


Figura 1. Ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*. (I) Reproducción sexual llevada a cabo en el intestino de los huésped definitivos, inicia con el consumo de presas infectadas con bradizoítos y termina con la liberación de oocistes inmaduros presentes en las heces. (II) Reproducción asexual se lleva a cabo en huéspedes intermedios, todos los animales de sangre caliente, inicia al ingerir quistes tisulares u oocistes los cuales contienen bradizoítos y esporozoítos respectivamente, y al ser liberados por las enzimas gástricas, se diferencian a taquizoítos los cuales van a diseminar a través de la circulación sanguínea alcanzando órganos inmunológicamente privilegiados como son: placenta, cerebro, ojo, etc; donde desarrollan diferentes patologías. Figura de R. Mondragón.

del quiste tisular, diferenciarse de nuevo a taquizoíto e iniciar su diseminación tisular alcanzando incluso el encéfalo y provocar la muerte del individuo (1).

El Taquizoíto: forma dinámica, altamente infectiva e invasiva

Dependiendo de la etapa del ciclo celular, *Toxoplasma* presenta las formas

parasitarias: 1) Ooquiste, 2) Esporozoíto, 3) Quiste tisular, 4) Bradizoíto y 5) Taquizoíto (1).

El taquizoíto es la forma de *Toxoplasma* más caracterizada debido a la facilidad para mantenerlo en condiciones de cultivo celular y en un modelo murino de inoculación intraperitoneal y corresponde a la forma asexual infectiva altamente

invasiva y de diseminación tisular. Tiene una apariencia de arco ó media luna con un tamaño de 3 x 7 μm y con una distribución polarizada de sus organelos citoplásmicos, de tal forma que se identifica un extremo apical y un extremo posterior. Está rodeado por un complejo de tres membranas (membrana plasmática y el complejo membranal interno) conocido como

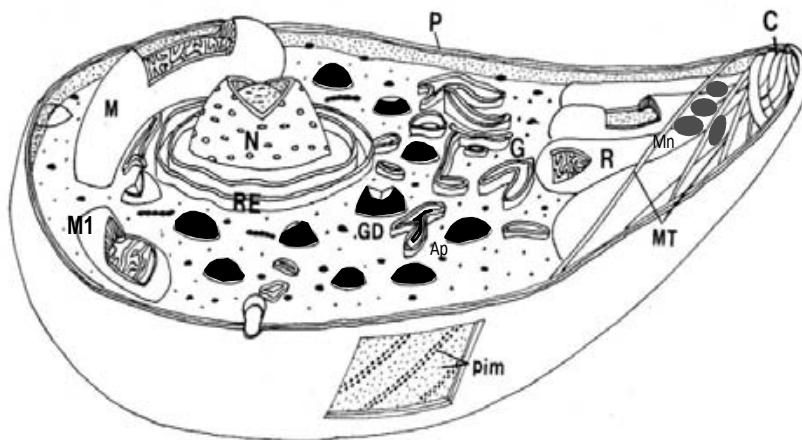


Figura 2. Diagrama de un taquizoíto de *Toxoplasma gondii*. P, membrana plasmática; C, conoide; MT, microtúbulos; Mn, micronematos; R, roptrías; N, núcleo; pim, partículas intermembranales; RE, retículo endoplásmico; Ap, apicoplasto; GD, gránulos densos y M, mitocondria. Figura de R. Mondragón.

películo. Posee un núcleo, una única mitocondria que tiene la característica de convolucionar dentro del citoplasma del taquizoíto y alrededor del núcleo (Fig 2, M, M1), aparato de Golgi y retículo endoplásmico. En la región apical se encuentran organelos relacionados con la motilidad, la secreción y la invasión celular, como son: el conoide (un organelo retráctil conformado al menos por α tubulina y que es activado durante la invasión), el anillo polar anterior, las roptrías, los micronematos y los gránulos densos. El citoesqueleto del parásito está constituido por 22 microtúbulos subpelículares que se encuentran anclados al anillo polar anterior y que recorren en forma helicoidal 2/3 partes del cuerpo del parásito. Asociada a los microtúbulos se encuentra una red subpelicular que está constituida por actina y proteínas asociadas a actina, como profilina y miosina (6); se ha sugerido que la función de la red podría ser la de definir la forma del parásito y determinar su motilidad. El movimiento por deslizamiento y la extrusión del conoide son procesos dinámicos activados durante la invasión y que dependen del citoesqueleto del parásito y de incrementos en los

niveles de calcio citoplásmico (7, 8).

La invasión celular es un evento crucial en la supervivencia del

Toxoplasma al ser éste un parásito intracelular obligado. El parásito tiene la capacidad de infectar cualquier célula nucleada de un organismo. El taquizoíto de *Toxoplasma* presenta tres organelos secretores involucrados en la adhesión a la célula hospedera, en la penetración y en la formación de la VP, que incluyen a los micronematos, roptrias y gránulos densos, respectivamente (Fig 3). La descarga inicial de las proteínas de micronematos (proteínas MIC) permite la adhesión y el movimiento por deslizamiento del parásito sobre la membrana de la célula blanco como un evento necesario para la invasión. Posteriormente se presenta la secreción del contenido de las roptrías sobre la membrana de su célula hospedera, con la formación de una unión "móvil" entre las membranas plasmáticas de la célula hospedera

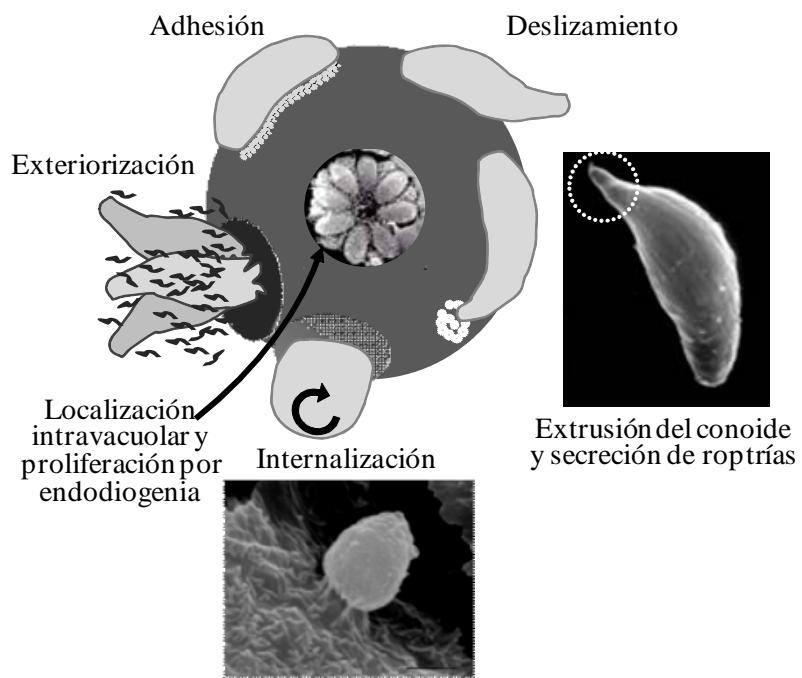


Figura 3. Eventos de la invasión activa por el taquizoíto de *Toxoplasma gondii*. La invasión activa es dependiente del citoesqueleto del parásito y se lleva a cabo mediante una serie de eventos que involucran: 1) adhesión y deslizamiento sobre moléculas MIC secretadas desde los micronematos, 2) extrusión del conoide y secreción de las roptrías para la generación de una horadación de la membrana de la célula hospedera, 3) internalización mediante movimientos tipo tornillo con formación de una vacuola parasitófora intracelular y proliferación intravacuolar por endodiogenia y 4) exteriorización con destrucción de la célula invadida. Las micrografías corresponden a imágenes de microscopía electrónica de barrido de las etapas indicadas. Figura de R. Mondragón.

ra y del parásito y la generación de una horadación de menos de 1 μm por la cual el taquizoíto se internaliza mediante movimientos tipo tornillo (9). Al mismo tiempo que el parásito penetra en su célula hospedera, se va generando una invaginación membranal compuesta principalmente por elementos de la membrana plasmática de la célula hospedera (esencialmente lípidos) y por algunos componentes secretados por el parásito (Fig 3) (9).

Vacuola Parasitófora (VP) y proliferación intracelular

Una vez dentro de la célula hospedera y ubicada en el interior de la vacuola, el parásito inicia rápidamente la secreción del contenido de los gránulos densos hacia el espacio intravacuolar transformando la vacuola endocítica en una vacuola parasitófora (VP), con la generación de una red vesículo-tubular intravacuolar de función desconocida y seguido de la proliferación por un proceso asexual conocido como endodiogenia (10).

La membrana de la VP (MVP), se asocia con organelos citoplásmicos de su célula hospedera que incluyen al retículo endoplásmico, el aparato de Golgi, mitocondrias y elementos del citoesqueleto celular como los filamentos intermedios y microtúbulos. La asociación de las mitocondrias a la MVP aparentemente está mediada al menos por la proteína ROP2 de las roptrias (11). Una de las funciones que se le han encontrado a la membrana de la VP es la de funcionar como un filtro molecular que permite el paso bidireccional de moléculas menores a 1.5 kDa, entre el citoplasma celular y el espacio intravacuolar. Hasta el momento se sabe que en la membrana vacuolar se insertan proteínas provenientes de los gránulos densos como: GRA 3, 5, 7 y 8; sin embargo, poco se conoce de sus propiedades biológicas.

El parásito acondiciona el espacio intravacuolar mediante la secreción de

componentes de gránulos densos: GRA1, 2, 4, 6 y 9, para convertirlo en el nicho en el cual se lleva a cabo la proliferación. Mediante un proceso aún no bien determinado, estos componentes se organizan en una red vesículo-tubular de funciones desconocidas (10). La proliferación de *Toxoplasma* sólo ocurre a nivel intravacuolar por un proceso asexual llamado endodiogenia, en el que se forman en el interior de una célula madre, dos células hijas que al madurar incorporan algunos organelos de la célula madre mientras que otros los generan *de novo* dando como resultado en un periodo de aproximadamente 6 horas (en cultivo celular) a dos individuos con capacidad invasiva y proliferativa. Este parásito posee un sistema de replicación subcelular altamente coordinado para asegurar que cada célula hija adquiera un "conjunto" completo de organelos, manteniendo la organización polarizada requerida para la invasión celular.

Migración epitelial

Una de las características que determinan la patogenia de la toxoplasmosis está relacionada con la alta capacidad del parásito para diseminarse por todos los tejidos del huésped, alcanzando incluso órganos privilegiados como cerebro, ojo y placenta en mujeres embarazadas. Algunos parásitos como *Plasmodium* y *Eimeria* que pertenecen al mismo phylum que *Toxoplasma* (el Apicomplexa) también comparten la capacidad de atravesar barreras biológicas tisulares y distribuirse por todo el huésped. Todas las formas invasivas de *Toxoplasma* incluyendo el esporozoíto, taquizoíto y bradizoíto tienen la capacidad de invasión celular sin embargo, el taquizoíto es la forma más invasiva, proliferativa y con mayor capacidad de diseminación tisular, en gran medida debido a su elevada propiedad dinámica y secretora que lo caracteriza.

La diseminación tisular también depende de la virulencia del parásito, la cual está asociada con sus propiedades genotípicas. Mediante el análisis del genoma de *Toxoplasma*, el cual ya se secuenció y se puede consultar en el portal www.Toxodb.com, se ha podido determinar con técnicas de amplificación de genes por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y posterior análisis con enzimas de restricción (RFLP), la existencia de 3 poblaciones clonotípicas de *Toxoplasma* llamadas tipo I, II y III las cuales se caracterizan por tener diferentes grados de virulencia y distribución en diferentes huéspedes (12). Los taquizoítos de tipo I de *Toxoplasma* como la cepa RH, son los de mayor distribución geográfica y en consecuencia los más caracterizados. Son los más virulentos, con una elevada capacidad de diseminación tisular *in vivo* en modelos de toxoplasmosis murina e *in vitro* en modelos de migración a través de monocapas de células crecidas en filtros y en cámaras de Boyden (13).

Mediane el uso de modelos epiteliales como las células MDCK, las cuales se caracterizan por conservar en cultivo las características típicas de un epitelio, como son: polarización celular así como la presencia de uniones intercelulares de anclaje, oclusoras y de contacto al substrato, se ha sugerido que *Toxoplasma* atraviesa los epitelios mediante el reconocimiento de la proteína ICAM-1, que es una molécula de adhesión intercelular perteneciente a la superfamilia de las inmunoglobulinas y que se encuentra distribuida en los endotelios vasculares y participa en la migración fisiológica de los leucocitos. Este reconocimiento lo lleva a cabo el parásito mediante la proteína MIC2 que se asocia a la membrana plasmática de la célula huésped durante el proceso de adhesión inicial. A la fecha se desconoce si los

taquizoítos interactúan con las barreras endoteliales de la misma manera que con las células MDCK. No se descarta la posibilidad de que el parásito también utilice la vía transcelular para su migración, es decir que el *Toxoplasma* invada a la célula epitelial, prolifere y al romper a la célula durante su exteriorización pueda, en consecuencia, tener acceso a la lamina basal y tejido conectivo alcanzando así los microcapilares para su diseminación por vía sanguínea.

En modelos murinos de infección oral, *Toxoplasma* invade, prolifera y atraviesa el epitelio intestinal, alcanzando el torrente sanguíneo para diseminarse a todos los tejidos del organismo. Puede incluso atravesar barreras inmunológicamente privilegiadas como: la hemato-encefálica y la placentaria, donde causa diferentes patologías como encefalitis y aborto, respectivamente (1). Una vez en la circulación sanguínea, se desconoce si *Toxoplasma* se disemina como un parásito extracelular libre o si lo hace transportado por leucocitos infectados (que no destruyen al parásito a menos de que sean previamente activados por INF- γ), los cuales pueden atravesar muchas barreras biológicas como parte de sus funciones de vigilancia inmunológica. El mecanismo por el cual *Toxoplasma* atraviesa los diferentes epitelios del organismo aún no queda claro. Reportes recientes en modelos de células epiteliales en cultivo, sugieren que el parásito puede utilizar la vía paracelular para su migración transepitelial, es decir que el parásito migra entre los espacios intercelulares los cuales contienen moléculas y estructuras de adhesión.

En modelos de toxoplasmosis murina inducidos por la infección intragástrica con quistes tisulares, se ha reportado la presencia de taquizoítos dentro de leucocitos en el intestino de ratón. Se han caracterizado varias células que podrían partici-

par en la diseminación tisular de *Toxoplasma* después de la liberación intragástrica de los parásitos: 1) la diseminación temprana del parásito es llevada a cabo por células de estirpe monocítica CD11c+ presentes en la lámina propia del intestino y en nódulos linfáticos; 2) en la sangre, los parásitos se asocian con células CD11b+ muy probablemente monocitos y 3) en células dendríticas y leucocitos recuperados de nódulos linfáticos mesentéricos y de sangre. Debido a que estas células se encuentran parasitadas, pueden desencadenar en consecuencia el proceso infeccioso cuando son transferidas intravenosamente a ratones sanos en los cuales pueden alcanzar el cerebro (12). Esto indica que monocitos sanguíneos CD11b+ parasitados pueden migrar a través de la barrera hemato-encefálica y promover la entrada del parásito en este órgano. Estos datos dan soporte a la hipótesis de que el taquizoíto utiliza a los leucocitos para migrar y diseminarse *in vivo*. Sin embargo, no es claro si las células CD11c+ caracterizadas *in vitro* participan en la diseminación *in vivo*, ya que se ha encontrado que después de la inoculación del parásito por la vía natural, las células CD11c+ se encuentran solamente en órganos linfoides secundarios y no en sangre. En ese mismo reporte se describió que los parásitos adquieren patrones diferentes de distribución intravacuolar cuando son mantenidos en condiciones *in vitro* que cuando se encuentran infectando al animal (14).

Toxoplasma también puede inducir modificaciones en la distribución y funcionalidad de un tipo de unión intercelular conocido como unión comunicante o unión tipo gap. Las uniones comunicantes funcionan como canales intercelulares entre dos células adyacentes a través de los cuales se transfiere información química. Los canales están constituidos por los conexones, los cuales son los comple-

jos multi-proteicos que se organizan transitoriamente mediante la agrupación de 6 proteínas, conocidas como conexinas, presentes en las membranas basolaterales y que permiten el paso de moléculas menores a 5 kDa. La infección de astrocitos con *Toxoplasma* produce una disminución en la expresión y acoplamiento de las conexinas entre las células parasitadas, alterando en consecuencia la comunicación intercelular (15).

Conclusión. *Toxoplasma* es un patógeno altamente invasivo capaz de infectar y proliferar en cualquier célula nucleada generando en consecuencia un quiste tisular, en el cual permanece de forma latente durante largo tiempo e inclusive durante toda la vida del individuo. La diseminación tisular del parásito, es un proceso que le permite alcanzar sitios inmunológicamente privilegiados como placenta y cerebro, en donde desencadena una serie de patologías que ponen en riesgo la vida del individuo. El mecanismo por el cual el parásito se disemina a través del organismo no es claro. Dada la capacidad móvil y de virulencia del parásito es posible que éste posea mecanismos o herramientas útiles para migrar tanto por la vía paracelular así como por la vía transcelular, diseminándose dentro de células permisivas propias del organismo infectado, como los leucocitos. Es posible también que *Toxoplasma* pueda distribuirse en el organismo como taquizoíto extracelular. A la fecha no hay reportes que indiquen la forma de diseminación del parásito en el individuo infectado. Su conocimiento permitirá el diseño de estrategias farmacológicas anti-toxoplásicas.

Agradecimientos. Los autores agradecen el apoyo a CONACYT # 60864 y # 37713-N (para RMF). SMH está apoyada por la beca doctoral # 169932 de CONACYT, México.

REFERENCIAS

1. Galván ML, Mondragón FR (2001) Toxoplasmosis humana. Ediciones Cuéllar, Guadalajara, Jal, Mex, p 196.
2. Cintini C (2008) Clinical and diagnostic management of toxoplasmosis in the immunocompromised patient. *Parasitología* 50: 45-50.
3. Cuppari AF, Sánchez V, Ledesma B, Frank FM, Goldman A, Angel SO, Martin V (2008) *Toxoplasma gondii* protease inhibitor-1 (TgPI-1) is a novel vaccine candidate against toxoplasmosis. *Vaccine* 26: 5040-5045.
4. Velasco-Castrejón O, Salvatierra-Izaba B, Valdespino JL, Sedano-Lara AM, Galindo-Virgen S, Magos C, Llausas A, Tapia-Conyer R, Gutiérrez, G, Sepúlveda J (1992) Epidemiología de la Toxoplasmosis en México. *Salud Pública Méx* 34: 222-229.
5. Vela-Amieva M, Cañedo-Solares I, Gutiérrez-Castrejón P, Pérez-Andrade M, González-Contreras C, Ortíz-Cortés J, Ortega-Velázquez V, Galván-Ramírez ML, Ruiz-García M, Saltigerl-Simentel P, Ordaz-Favila JC, Sánchez C, Correa D (2005) Short report: neonatal screening pilot study of *Toxoplasma gondii* congenital infection in Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 72(2): 142-144.
6. Patrón SA, Mondragón M, González S, Ambrosio JR, Guerrero BAL, Mondragón R (2005) Identification and purification of actin from the subpellicular network of *Toxoplasma gondii* tachyzoites. *Int J Parasitol* 35: 883-894.
7. Frixione E, Mondragón R, Meza I (1996) Kinematic analysis of *Toxoplasma gondii* motility. *Cell Motil Cytoskeleton* 34: 152-163.
8. Mondragón R, Frixione E (1996) Ca(²⁺)-dependence of conoid extrusion in *Toxoplasma gondii* tachyzoites. *J Eukaryot Microbiol* 43(2): 120-127.
9. Alexander DL, Mital J, Ward GE, Bradley, Boothroyd JC (2005) Identification of the moving junction complex of *Toxoplasma gondii*: A collaboration between distinct secretory organelles. *PLoS Pathog* 1: e 17.
10. Mercier C, Adjoble KD, Däubener W, Delauw MF (2005) Dense granules: Are they key organelles to help understand the parasitophorous vacuole of all apicomplexa parasites? *Int J Parasitol* 35: 829-849.
11. Sinai AP, Joiner KA (2001) The *Toxoplasma gondii* protein ROP2 mediates host organelle association with the parasitophorous vacuole membrane. *J Cell Biol* 154: 95-108.
12. Mondragón R, Howe DK, Dubey JP, Sibley LD (1998) Genotypic analysis of *Toxoplasma gondii* isolates from pigs. *J Parasitol* 84: 639-641.
13. Barragán A, Sibley D (2002) Transepithelial migration of *Toxoplasma gondii* is linked to parasite motility and virulence. *J Exp Med* 12: 1625-1633.
14. Tardieu I, Ménard R (2008) Migration of Apicomplexa across biological barriers: The *Toxoplasma* and *Plasmodium* Rides. *Traffic* 9: 627-635.
15. Campos de Carvalho AC, Roy C, Hertzberg EL, Tanowitz HB, Kessler JA, Weiss LM, Wittner M, Dermietzel R, Gao Y, Spray DC (1998) Gap junction disappearance in astrocytes and leptomeningeal cells as a consequence of protozoan infection. *Brain Research* 790: 304-314.