

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Chagasova nemoc – americká trypanosomiáza

Bakalářská práce

2020

Terezie Polívková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Terezie Polívková**
Osobní číslo: **C17203**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Chagasova nemoc – americká trypanosomiáza**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Zpracujte literární rešerši na téma Chagasova nemoc – americká trypanozomiáza. Charakterizujte původce onemocnění a jeho životní cyklus.
2. Zaměřte se na obecnou charakteristiku onemocnění, mechanismy přenosu, klinické obrazy onemocnění, diagnostiku, léčbu a případnou prevenci a kontrolu.
3. Zaměřte se na výskyt onemocnění, geografickou distribuci, epidemiologii a případně na jednotlivé kauzistiky.
4. Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 7/2019.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Marcela Pejchalová, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Konzultant bakalářské práce: **Ing. Nikola Roulová**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2019**
Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2020**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2020

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 10. 6. 2020

.....
Terezie Polívková

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala paní Ing. Nikole Roulové za cenné rady, věcné připomínky a vstřícný přístup při konzultacích a vypracování mé bakalářské práce. Dále bych také chtěla poděkovat své rodině a blízkým za jejich podporu po celou dobu studia.

ANOTACE

Bakalářská práce se zabývá Chagasovou nemocí, tropickou parazitární chorobou známou též jako Americká trypanosomiáza. V úvodní části práce je charakterizován původce onemocnění, parazitický prvek *Trypanosoma cruzi*. V dalším textu práce jsou souhrnně zpracovány informace o mechanismech přenosu, klinickém obrazu onemocnění, diagnostice, léčbě a možné prevenci. V závěru se práce věnuje epidemiologii a geografickému rozšíření Chagasovy choroby, včetně možností kontroly onemocnění.

KLÍČOVÁ SLOVA

Chagasova nemoc, *Trypanosoma cruzi*, vektorový přenos, akutní fáze, chronická fáze

TITLE

Chagas disease – American trypanosomiasis

ANNOTATION

Bachelor thesis deals with the Chagas disease, a tropical parasitic disease, also known as American trypanosomiasis. The cause of the disease, the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi*, is characterized in the introductory part of the thesis. Information about the mechanisms of transmission, the clinical picture of the disease, diagnosis, treatment and possible prevention are summarized in the following parts. The epidemiology, geographical distribution of Chagas disease as well as disease control are described in the final part.

KEYWORDS

Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*, vector transmission, acute Chagas disease, chronic Chagas disease

OBSAH

| | |
|--|----|
| ÚVOD..... | 12 |
| 1 Rod <i>Trypanosoma</i> | 13 |
| 2 <i>Trypanosoma cruzi</i> | 15 |
| 2.1 Morfologie | 15 |
| 2.1.1 Buněčný povrch..... | 15 |
| 2.1.2 Membránové transportéry | 16 |
| 2.1.3 Bičík..... | 16 |
| 2.1.4 Cytoskelet..... | 17 |
| 2.1.5 Acidokalcisomy | 17 |
| 2.1.6 Jádro | 18 |
| 2.1.7 Mitochondrie | 18 |
| 2.1.8 Kinetoplast..... | 18 |
| 2.1.9 Glykosomy | 19 |
| 2.1.10 Rezervozomy | 19 |
| 2.2 Životní cyklus..... | 20 |
| 3 Ostatní zástupci..... | 27 |
| 4 Chagasova nemoc..... | 29 |
| 4.1 Historie..... | 29 |
| 4.2 Mechanismy přenosu | 30 |
| 4.2.1 Přenos prostřednictvím přenašečů | 30 |
| 4.2.2 Přenos prostřednictvím krevních transfúzí..... | 32 |
| 4.2.3 Přenos prostřednictvím transplantace orgánů..... | 33 |
| 4.2.4 Placentární nebo vrozený přenos | 33 |
| 4.2.5 Perorální přenos | 33 |
| 4.3 Klinický průběh..... | 34 |

| | | |
|-------|---|----|
| 4.3.1 | Akutní fáze onemocnění..... | 35 |
| 4.3.2 | Chronická fáze onemocnění | 37 |
| 4.3.3 | Patogeneze..... | 42 |
| 4.4 | Diagnostika | 43 |
| 4.4.1 | Diagnostika akutní fáze Chagasovy nemoci..... | 43 |
| 4.4.2 | Diagnostika chronické fáze Chagasovy nemoci | 45 |
| 4.5 | Léčba..... | 47 |
| 4.5.1 | Trypanocidní léčiva..... | 47 |
| 4.5.2 | Léčba srdeční formy chronické Chagasovy nemoci | 49 |
| 4.5.3 | Léčba trávící formy chronické Chagasovy nemoci | 49 |
| 4.6 | Prevence..... | 50 |
| 5 | Epidemiologie, geografické rozšíření a kontrola Chagasovy nemoci..... | 52 |
| 6 | ZÁVĚR..... | 58 |
| 7 | POUŽITÁ LITERATURA | 60 |

SEZNAM ILUSTRACÍ

| | |
|--|----|
| Obrázek 1 – Taxonomická klasifikace trypanosom..... | 14 |
| Obrázek 2 – Hlavní struktury a orgány nacházející se v epimastigotové formě <i>T. cruzi</i> | 20 |
| Obrázek 3 – Životní cyklus <i>T. cruzi</i> | 21 |
| Obrázek 4 – Proces vstupu <i>T. cruzi</i> do hostitelské buňky..... | 23 |
| Obrázek 5 – Interakce parazit-hostitelská buňka..... | 24 |
| Obrázek 6 – Dvě možné cesty vývoje amastigot v savčí hostitelské buňce..... | 26 |
| Obrázek 7 – Významné bezobratlé vektory z hlediska rizika přenosu Chagasovy nemoci.... | 31 |
| Obrázek 8 – Možnosti klinického průběhu Chagasovy nemoci | 35 |
| Obrázek 9A – Chagoma | 37 |
| Obrázek 9B – Romanův znak | 37 |
| Obrázek 10 – Klinické projevy srdeční formy chronické Chagasovy nemoci..... | 39 |
| Obrázek 11 – Klinické projevy trávicí formy chronické Chagasovy nemoci | 41 |
| Obrázek 12A – Replikující se forma epimastigot v krevní kultuře | 44 |
| Obrázek 12B – Trypomastigot v nátěru periferní krve pacienta s akutní infekcí | 44 |
| Obrázek 12C – Hnízdo amastigot v srdečním myocytu u pacienta s chronickou Chagasovou chorobou..... | 44 |
| Obrázek 13 – Imunochromatografický proužkový test PATH-Lemos..... | 46 |
| Obrázek 14A – Chemická struktura benznidazolu | 48 |
| Obrázek 14B – Chemická struktura nifurtimoxu..... | 48 |
| Obrázek 15 – Geografické rozložení počtu případů Chagasovy nemoci a hlavních přenašečů ve Střední a Latinské Americe | 54 |
| Obrázek 16 – Geografické rozložení čtyř nejčastěji se vyskytujících triatominových druhů v USA | 55 |
| Obrázek 17 – Současný odhadovaný počet přistěhovalců s infekcí <i>T. cruzi</i> v zemích bez endemického výskytu Chagasovy choroby | 57 |

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ATP – adenosintrifosfát

Ca²⁺ – vápenatý kation

CNS – centrální nervový systém

DNA – deoxyribonukleová kyselina

EKG – elektrokardiogram

ELISA – enzymově značená imunoanalýza s využitím pevné fáze

G6PD – glukóza-6-fosfátdehydrogenáza

GIPL – glykoinositolfosfolipid

Gp – glykoprotein

GPI – glykofosfatidylinositol

gRNA – vedoucí ribonukleová kyselina

GTPáza – guanosintrifosfátfosfohydroláza

HDL – lipoproteiny s vysokou hustotou

HIV – virus lidské imunitní nedostatečnosti

IF – imunofluorescence

IgG – imunoglobulin G

IL – interleukin

INF – interferon

kDNA – kinetoplastická deoxyribonukleová kyselina

MFS – mononukleární fagocytární systém

NADPH – nikotinamidadeninukleotitfosfát

P. – *Pastrongylus*

PCR – polymerázová řetězová reakce

Pi – ortofosfát

polyP – polyfosfát

Ppi – pyrofosfát

QRS – depolarizace komor

R. – *Rhodnius*

Rab – proteiny periferní membrány

RNA – ribonukleová kyselina

rRNA – ribozomální ribonukleová kyselina

T. – *Trypanosoma*

T. b. – *Trypanosoma brucei*

TcPV – parazitofornní vakuola

Th – pomocné T-lymfocyty

TLF – trypanosomový lytický faktor

TNF – tumor nekrotizující faktor

Tr. – *Triatoma*

tRNA – transférová ribonukleová kyselina

USA – Spojené státy americké

WHO – Světová zdravotnická organizace

ÚVOD

Chagasova nemoc neboli americká trypanosomiáza je tropická parazitická choroba, jejímž původcem je parazitický prvok *Trypanosoma cruzi*. Parazit svůj životní cyklus dokončuje v zadní části trávicího traktu bezobratlého vektoru – ploštice. Během sání krve na obratlovcích ploštice kálejí a vylučují infekční stádia, které do organismu obratlovců nejčastěji pronikají právě ránou po kousnutí. V obratlovcu poté *T. cruzi* dokončuje svůj vývoj a množí se v krevním řečišti, čímž dochází k rozvoji Chagasovy nemoci.

Klinický průběh onemocnění zahrnuje akutní a chronickou fázi, které se liší délkou inkubační doby, klinickými příznaky, a tím pádem i diagnostikou a léčebnými možnostmi. Jeden z hlavních problémů, který je spojen s Chagasovou nemocí, je častý asymptomatický průběh. Absence příznaků často neumožňuje včasnou diagnostiku a zahájení léčby, které jsou ale klíčové pro co nejvyšší úspěšnost vyléčení. Vůči Chagasově nemoci v současné době neexistuje žádná vakcína, a žádná z dosavadních možností léčby nemá 100 % úspěšnost. Proto stále probíhají výzkumy zaměřené na vývoj vakcíny a nových léčebných možností.

Chagasova nemoc je jednou z tzv. opomíjených tropických nemocí. Jedná se tedy o onemocnění, které postihuje především chudé oblasti s nízkou životní úrovní, špatnou hygienou a nedostatečnou lékařskou péčí. Chagasova nemoc je rozšířená především v Jižní Americe, ale vlivem migrace se rozšířila jak do celé Ameriky, tak i zbytku světa.

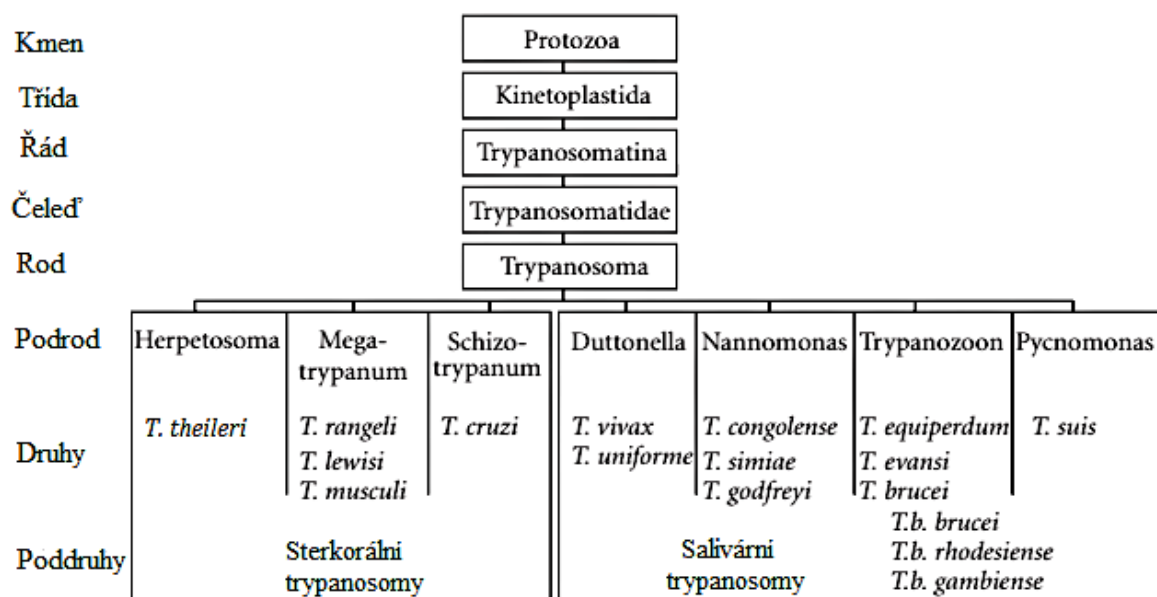
Cílem této bakalářské práce je poskytnout ucelené informace o Chagasově nemoci. Práce se věnuje původci onemocnění, parazitickému prvokovi *T. cruzi*, zaměřuje se na mechanismy přenosu a klinický obraz onemocnění. Dále se práce zabývá diagnostickými a léčebnými možnostmi a oblastí prevence, v neposlední řadě pak poukazuje na problémy spojené s výskytem Chagasovy nemoci a jejím celosvětovým rozšířením.

1 Rod *Trypanosoma*

Rod *Trypanosoma* je taxonomicky řazen do kmene Euglenozoa, třídy Kinetoplastea, řádu Trypanosomatida a čeledi Trypanosomatidae (Volf *et al.*, 2007). Taxonomická klasifikace trypanosom je uvedena na Obrázku 1.

Trypanosomy (20–30 μm x 1,5–3,5 μm) jsou krevní jednobuněční pohybliví parazitičtí prvoci, kteří přežívají v různých tělních a tkáňových tekutinách. Jejich pohyblivost je zajištěna zvlněným pohybem bičíku (Baral, 2010). Bičíkovci rodu *Trypanosoma* jsou všudypřítomní obligátní parazité schopní infikovat téměř všechny třídy obratlovců (Stevens *et al.*, 1999; Hamilton *et al.*, 2009; Fermino *et al.*, 2015; Kaufer *et al.*, 2017). Na rozdíl od ostatních zástupců čeledi Trypanosomatidae, kteří jsou převážně monoxenní tj. – mají jedno-hostitelský vývojový cyklus, se rod *Trypanosoma* vyznačuje digenetickým, tedy dvou-hostitelským životním cyklem (Hamilton *et al.*, 2009; Kaufer *et al.*, 2017). V životním cyklu se střídají obratlovci a krev sající bezobratlí hostitelé, jakými jsou vodní nebo suchozemské pijavice, mouchy tse-tse, klíšťaata nebo krev sající ploštice (Hamilton *et al.*, 2009).

Na základě způsobu přenosu prostřednictvím vektoru je rod *Trypanosoma* rozdělen do dvou hlavních skupin na sterkorální a salivární trypanosomy. K vývoji sterkorálních trypanosom dochází v trávicím traktu bezobratlého hostitele. K přenosu infekce na obratlovce pak dochází prostřednictvím výkalů (Baral, 2010). Mezi zástupce této skupiny patří *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma theileri* a *Trypanosoma melophagium* (Volf *et al.*, 2007). Salivární trypanosomy naproti tomu kolonizují pouze žaludek bezobratlého hostitele, ale nikdy nepřecházejí do trávicího traktu. Naopak migrují do slinných žláz vektoru, kde dochází k vývoji infekčních forem pro obratlovce. K jejich přenosu do obratlovců dochází pomocí slin v okamžiku kousnutí bezobratlého hostitele za účelem sání krve (Baral, 2010). Významní zástupci této skupiny jsou *Trypanosoma brucei*, a její poddruhy *Trypanosoma brucei brucei*, *Trypanosoma brucei rhodesiense*, *Trypanosoma brucei gambiense*. Mezi další zástupce se řadí *Trypanosoma evansi*, *Trypanosoma equiperdum*, *Trypanosoma congolense* a *Trypanosoma vivax* (Volf *et al.*, 2007).



Obrázek 1 – Taxonomická klasifikace trypanosom (upraveno dle Baral, 2010)

2 *Trypanosoma cruzi*

T. cruzi je nejdůležitějším zástupcem sterkorálních trypanosom a původce americké trypanosomiázy neboli Chagasovy nemoci. Infikuje nejen člověka, ale také dalších sto druhů divokých i domácích zvířat. Díky obrovské hostitelské variabilitě se může vyskytovat volně v přírodě nezávisle na člověku. Vyskytuje se především v mírném, subtropickém a tropickém pásu Jižní a Střední Ameriky (Volf *et al.*, 2007).

T. cruzi je přenášena pomocí krev sajících ploštic z čeledi zákeřnicovití (Reduviidae), zejména rody *Triatoma*, *Rhodnius* a *Panstrongylus* (Votýpka *et al.*, 2018). Ploštice se skrývají především v chudých venkovských obydlích, konkrétně v chatkách se stěnami zhotovenými z hlíny a palem s bambusovými nebo doškovými střechami. Ploštice vylézají v průběhu noci a sají na člověku, zejména na obličeji. Skus není bolestivý, ale způsobuje svědění (Volf *et al.*, 2007; Kowalska *et al.*, 2011). Během sání ploštice kálejí a vylučují infekční stádia pro obratlovce, která do lidského těla vstupují oděrkami v kůži, oční spojivkou nebo i ústní sliznicí po vypití nápojů kontaminovaných výkaly ploštic (Volf *et al.*, 2007). Kromě vektorového přenosu je možný i mimovektorový přenos krevními transfuzemi nebo při transplantaci orgánů. Tyto případy byly v minulosti ojedinělé, ale v dnešní době opět nabývají na významu (Kowalska *et al.*, 2011; Votýpka *et al.*, 2018). Dochází k nim zejména v regionech, kde jsou prováděny programy na eliminace vektorů, přičemž ale zůstává infikováno vysoké procento lidské populace. Dalším způsobem přenosu je tzv. vertikální přenos, který nastane při průniku *T. cruzi* do placenty séropozitivní matky, která následně infikuje embryo nebo plod během porodu v důsledku kontaktu krve matky se sliznicemi dítěte (Kowalska *et al.*, 2011).

2.1 Morfologie

2.1.1 Buněčný povrch

Jako buněčný povrch je chápána lipidová dvojvrstva a přidružené komponenty, které směřují k extracelulárnímu médiu a tvoří glykokalyx (de Souza, 2008; de Souza, 2009). Buněčný povrch je potažen glykofosfatidylinositol (GPI)-vázanými proteiny anebo volnými GPI glykolipidy. Tyto molekuly vytvářejí ochranné povrchové vrstvy anebo zprostředkovávají klíčové interakce hostitel parazit (Lopes *et al.*, 2010).

K první interakci parazita s hostitelem dochází právě prostřednictvím jeho buněčného povrchu. Této interakce se účastní buď složky přítomné přímo na buněčném povrchu parazita,

nebo složky syntetizované uvnitř buňky, které jsou do prostředí uvolňovány sekrečními vezikuly na buněčném povrchu (de Souza, 2008). Buněčný povrch intracelulárních parazitů, mezi které náleží i *T. cruzi*, nejprve interaguje s buněčnými povrchy hostitelského obratlovce, a následně s membránou parazitoformní vakuoly. Kromě toho buněčný povrch *T. cruzi* interaguje také s epitelovými střevními buňkami bezobratlého hostitele (de Souza, 2008; de Souza, 2009; Lopes *et al.*, 2010).

Cytoplazmatická membrána tvoří se svými složkami rozhraní mezi prvokem a vnějším prostředím (Lopes *et al.*, 2010). Není homogenní, pokud jde o hustotu a distribuci intramembranózních částic (de Souza, 2008). Buněčná membrána je podobná membráně jiných eukaryot, kromě skutečnosti, že jsou subpelikulární mikrotubuly pevně připojené k vnitřnímu povrchu membrány (Lopes *et al.*, 2010).

2.1.2 Membránové transportéry

Membránové transportéry jsou bílkoviny, vyznačující se vysokým obsahem alfa helikálních transmembránových segmentů. Jejich hlavním úkolem je zprostředkovat přenos různých sloučenin skrz biologické membrány. Pouze malé a relativně polární molekuly, jakými jsou kyslík, dusík a oxid uhličitý, mohou volně procházet lipidovou dvojrůstvou na buněčném povrchu. Všechny ostatní molekuly jsou buď příliš velké, anebo hydrofilní na to, aby mohly membránami proniknout. Právě u takových molekul se uplatňují membránové transportéry a usnadňují jejich průchod (Lopes *et al.*, 2010). Jedná se především o adenosintrifosfát (ATP)-vazebné kazetové transportéry a membránové kanály (Maslov *et al.*, 2019). Kromě toho se uplatňují i v dalších důležitých procesech, jako je přijímání živin, vylučování metabolitů, udržování gradientů iontů, přesun sloučeniny z jednoho intracelulárního oddělení do jiného a přijímání a vylučování léčiv (Lopes *et al.*, 2010).

2.1.3 Bičík

Bičík je pohyblivá organela, která umožňuje dopředný pohyb parazita pomocí vlnových rytmů svazku mikrotubulů uvnitř bičíku tzv. bičíkové axonemy (Lopes *et al.*, 2010). Všechny fáze *T. cruzi* jsou vybaveny jedním bičíkem. U cyklické fáze amastigota se jedná o extrémně krátký bičík (Maslov *et al.*, 2019). Bičík a tělo buňky jsou drženy v těsné blízkosti sítí cytoskeletálních a membránových spojení, která společně tvoří zónu připojení bičíku (Lopes *et al.*, 2010). Ta řídí morfologické změny buněčného tvaru *T. cruzi* během jejího životního cyklu (Maslov *et al.*, 2019). Bičík má typické pole devíti dvojic periferních mikrotubulových dubletů a jednoho centrálního páru (de Souza, 2009). Fibrilární struktura

uvnitř bičíku, známá jako paraflagelární nebo paraxiální tyč, je zvláštní struktura složená z velkého počtu bílkovin, která je zásadní pro přežití parazita (de Souza, 2008; Lopes *et al.*, 2010).

2.1.4 Cytoskelet

Cytoskelet je tvořen subpelikulárními mikrotubuly, které jsou rozmístěny v celé buňce, s výjimkou oblasti bičíkovitých kapes (Lopes *et al.*, 2010). Tyto subpelikulární mikrotubuly jsou navzájem spojeny s plazmatickou membránou a dalšími organelami prostřednictvím tenkých vláken (de Souza, 2008). Mikrotubuly společně s rozloženým intermikrotubulem tvoří šroubovicový obrazec podél osy buňky pod plazmatickou membránou. V cytoplazmě *T. cruzi* nikdy nebyly pozorovány mikrofilamenty, ale byla zjištěna přítomnost systému aktin-myosin (Lopes *et al.*, 2010). Ačkoli má aktin podobnou strukturu jako ve vyšších eukaryotách, nachází se zde značné rozdíly ve smyčkách odpovědných za oligomerizaci a interakci s bílkovinami vázajícími aktin (de Souza, 2009).

2.1.5 Acidokalcisomy

Acidokalcisomy jsou elektrondenzní kyselé organely, které slouží jako primární zásobník vápníku, a to ve formě vápenatých kationtů (Ca^{2+}). Poprvé byly popsány u *T. cruzi* a *T. brucei*. U trypanosomatid s intracelulárním životním cyklem, mezi něž patří i *T. cruzi*, jsou Ca^{2+} důležité pro řízení invaze do hostitelských buněk (Lopes *et al.*, 2010; Maslov *et al.*, 2019). Acidokalcisomy se taktéž vyznačují vysokou koncentrací fosforu, který se zde nachází ve formě fosfátů – ortofosfátu (Pi), pyrofosfátu (PPi) a polyfosfátu (polyP) (Lopes *et al.*, 2010; Lander *et al.*, 2016). Fosfor se může uplatňovat při reakci na stres v životním prostředí, diferenciaci anebo osmoregulaci (Lopes *et al.*, 2010). Dále v acidokalcisomech dochází ke skladování sloučenin hořčíku, sodíku, draslíku, zinku a železa (de Souza, 2009). Uplatňují se i při osmoregulaci a udržování homeostázy (Lopes *et al.*, 2010; Maslov *et al.*, 2019). Pokud je *T. cruzi* vystavena osmotickému šoku, acidokalcisomy se spojí se stažitelnou (kontraktilní) vakuolou, čímž se zvýší její osmolarita. Důsledkem je to, že voda z cytoplazmy vstupuje do vakuoly a může být vyloučena (Maslov *et al.*, 2019).

Morfologie a počet acidokalcisomů se mezi jednotlivými druhy, i mezi vývojovými stádii jednoho druhu liší. U *T. cruzi* se jedná o kulaté struktury s průměrem 0,2 μm , jejichž distribuce se mezi třemi vývojovými stádii parazita liší (Lopes *et al.*, 2010).

2.1.6 Jádro

Jádro je obaleno porézní membránou, která obklopuje jadérko a kondenzovaný chromatin rozptýlený v celé nukleoplasmě (Lopes *et al.*, 2010). Během procesu dělení zůstává jaderná membrána nedotčena, objevují se intranukleární mikrotubuly, chromatinové disperze a husté destičky (de Souza, 2008; Lopes *et al.*, 2010). V mezifázových buňkách se chromatin obvykle nachází na periférii jádra a je rozptýlen v celé jaderné matici. Během mitózy se však chromatin rozkládá a jádro vykazuje homogenní vzhled (de Souza, 2008). Co se týče genomu, tak *T. cruzi* vykazuje pozoruhodnou genetickou heterogenitu. Na základě genetických a biochemických znaků byly kmeny *T. cruzi* rozděleny do šesti konkrétních oddělených jednotek označených jako TcI až TcVI (de Souza *et al.*, 2011).

2.1.7 Mitochondrie

Mitochondrie obsahují systémy pro produkci energie oxidační fosforylací, syntetizují klíčové metabolity, shluky železa a síry a mohou být rezervoárem pro faktory, které zesilují signály pro programovanou buněčnou smrt. U trypanosomatid je separace replikované mitochondriální deoxyribonukleové kyseliny (DNA) přímo spojena se segregací bazálního těla bičíku a mitochondriální dělení se zdá být kontrolním bodem pro cytokinezi (Lopes *et al.*, 2010).

Mitochondrie představují jedinečnou a vysoce rozvětvenou organelu (de Souza, 2009). Mnoho mitochondriálních bílkovin je syntetizováno ve volných cytoplazmatických ribozomech, a až poté vstupují do mitochondrie. I v samotných mitochondriích však dochází k syntéze velkého množství bílkovin. Nicméně vzhledem k tomu, že trypanosomatidové mitochondriální genomy ztratily všechny geny transférové ribonukleové kyseliny (tRNA), musí do nich být dodána celá sada mitochondriální tRNA z cytoplazmy (Lopes *et al.*, 2010).

2.1.8 Kinetoplast

Kinetoplast je neobvyklá mitochondriální DNA zaobleného tvaru (Lopes *et al.*, 2010). Nachází se uvnitř mitochondriální matrice, kolmo k ose bičíku, a je vždy umístěn v blízkosti bazálního těla, se kterým je spojen vláknitými strukturami. Díky tomuto spojení poloha kinetoplastu určuje buněčnou oblast, ve které je umístěno bazální tělo, a v důsledku toho stanovuje původ bičíku. Kinetoplastická DNA (kDNA) představuje asi 30 % z celkové buněčné DNA, a od jaderné DNA se liší ve vztahové hustotě, poměru bází a stupni denaturace (de Souza, 2009; Lopes *et al.*, 2010). Kinetoplast je složen z kruhových molekul, které jsou uvolněny a vzájemně propojeny, aby vytvořily jednu síť. Existují dva typy DNA kroužků,

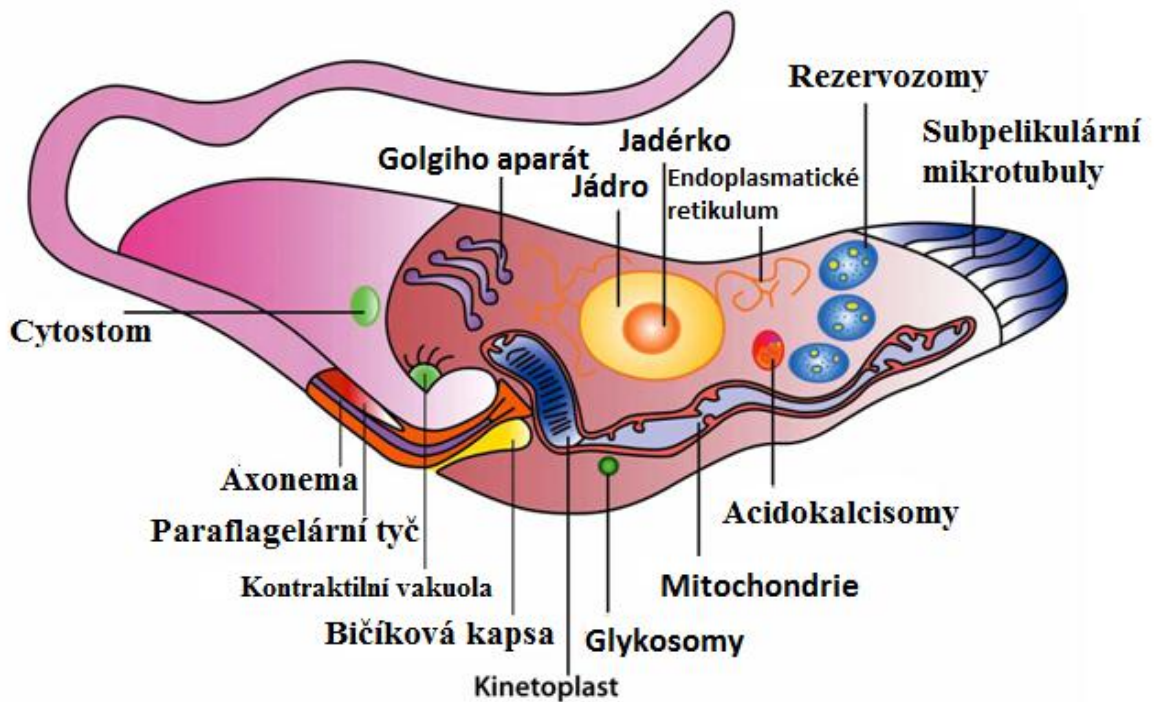
minikroužky a maxikroužky. Maxikroužky jsou totožné s mitochondriální DNA vyšších eukaryot – kódují dvě ribozomální RNA (rRNA) a několik podjednotek respiračních komplexů, a dále i některé vedoucí RNA (gRNA). Minikroužky kódují gRNA, které modifikují maxikruhové transkripty rozsáhlou inzercí nebo delecí uridinových zbytků v procesu zvaném jako editace RNA (Lopes *et al.*, 2010).

2.1.9 Glykosomy

Glykosomy jsou sférické struktury s hustou bílkovinou matricí obklopenou jednou fosfolipidovou dvojvrstvou, které neobsahují žádnou DNA (Lopes *et al.*, 2010). Všechny bílkoviny, které se nacházejí v glykosomech, jsou proto kódovány geny jádra. Dále se překládají na volných ribozomech a posttranslačně vstupují do glykosomů (de Souza, 2009). Ačkoli jsou glykosomy evolučně příbuzné peroxisomům vyšších eukaryot a glyoxysomům rostlin, liší se od peroxisomů tím, že zde probíhá hlavní cesta glykolýzy, tedy mechanismu přeměny glukózy na pyruvát (Lopes *et al.*, 2010; Acosta *et al.*, 2019). Glykosomy obsahují šest enzymů zapojených do rané fáze glykolytické dráhy a dva enzymy metabolismu glycerolu. Kromě toho jsou rovněž zapojeny do glukoneogeneze, tvorby nikotinamidadeninukleotitfosfátu (NADPH) prostřednictvím enzymů glukóza-6-fosfátdehydrogenáza (G6PD), hromadění purinů a metabolismu fosfátů (Maslov *et al.*, 2019).

2.1.10 Rezervozomy

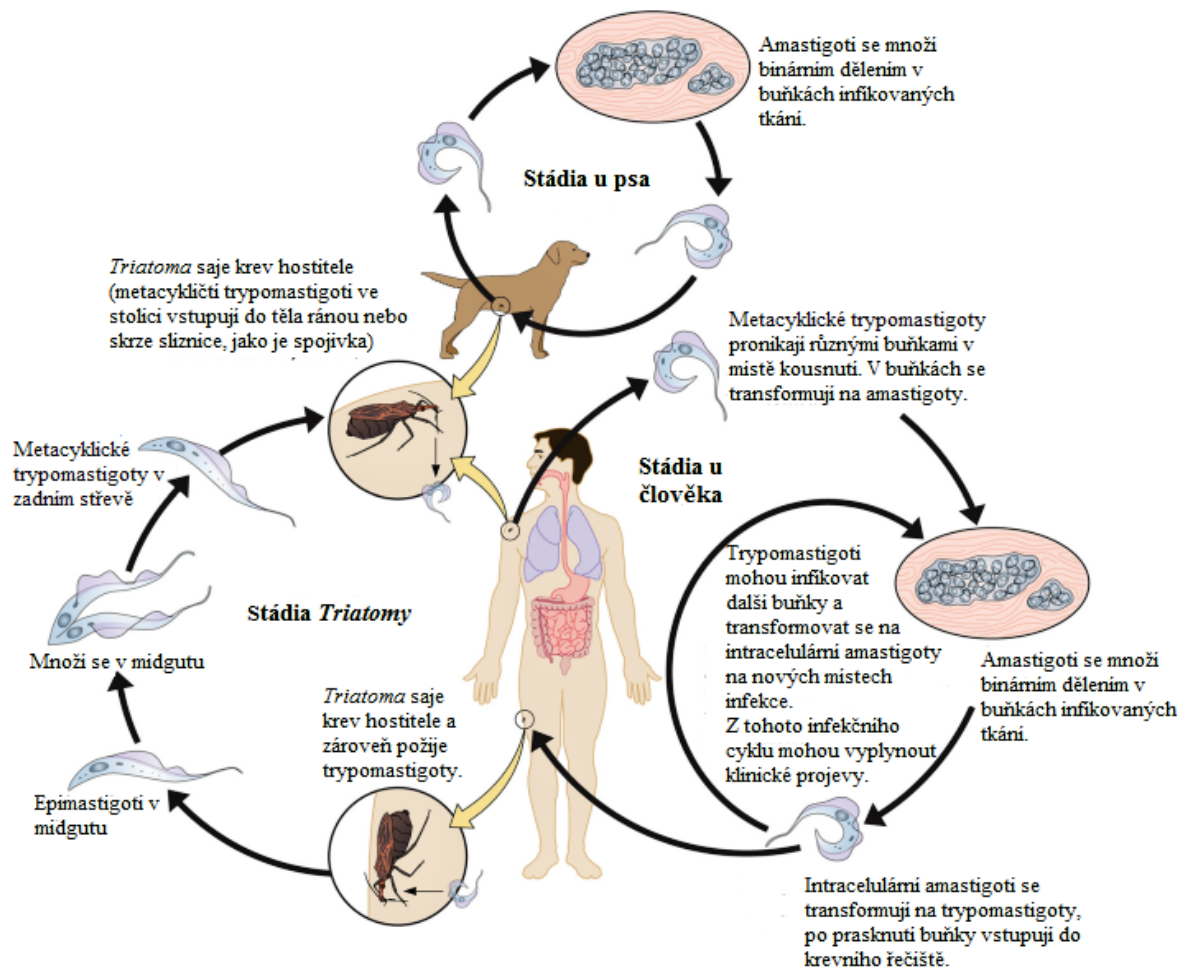
U *T. cruzi* jsou rezervozomy kulaté a elektrondenční kompartmenty umístěné v zadní části epimastigotových forem. Jsou hlavním místem pro ukládání bílkovin a lipidů, které jsou přijímány endocytózou a sekrečních bílkovin produkovaných parazitem. Díky přítomnosti lysozomálních bílkovin udržují kyselé pH. Organela je také považována za hlavní místo, kde probíhá degradace a recyklace bílkovin (Lopes *et al.*, 2010). Obsah rezervozomů se mění v průběhu diferenciaci *T. cruzi* na trypomastigotové formy, a nakonec dochází k jejich úplnému vymizení. Degradace obsahu rezervozomů je nezbytná pro získání energie (de Souza, 2008). Hlavní struktury a organely nacházející se v epimastigotové formě *T. cruzi* znázorňuje Obrázek 2.



Obrázek 2 – Hlavní struktury a orgány nacházející se v epimastigotové formě *T. cruzi* (upraveno dle Lopes *et al.*, 2010)

2.2 Životní cyklus

Jedním ze specifických rysů parazitických prvoků řádu Trypanosomatida je to, že během svého životního cyklu mění svůj tvar. Životní cyklus *T. cruzi* patří mezi nejsložitější, neboť se během něho nachází ve třech různých parazitických formách (de Souza *et al.*, 2010; Salassa and Romano, 2019). Epimastigoti a amastigoti jsou replikační stádia, která se nachází buď v lumen střeva hmyzích vektorů nebo v cytosolu infikovaných hostitelských buněk. Metacyklické trypomastigoty a trypomastigoti se nacházejí v krevním řečišti a představují infekční formy vzniklé z epimastigotů a amastigotů (Salassa and Romano, 2019). Celý životní cyklus *T. cruzi* je znázorněn na Obrázku 3.

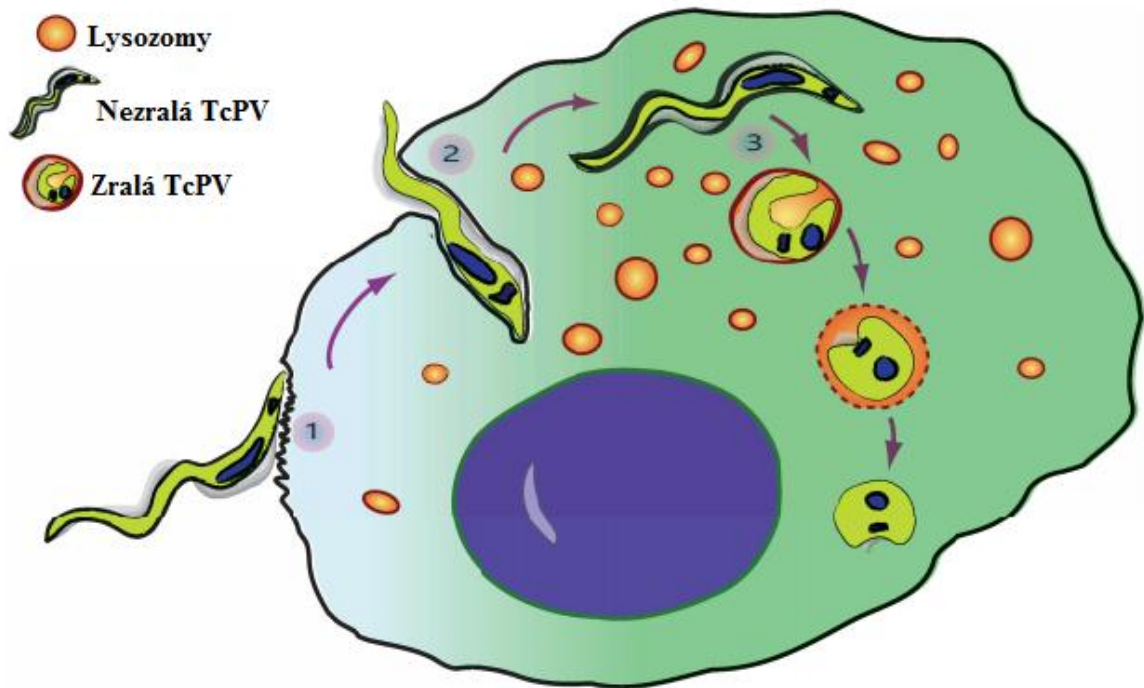


Obrázek 3 – Životní cyklus *T. cruzi* (upraveno dle Esch and Petersen, 2013)

Životní cyklus *T. cruzi* začíná tím, že se bezobratlý hostitel, v tomto případě ploštice z čeledi zákeřnicovití (Reduviidae), nakazí sáním krve na obratlovcí infikovaném trypomastigotovými formami, které cirkulují v krevním řečišti (de Souza 2002; de Souza *et al.*, 2010). Po požití je většina trypomastigot lyzována v žaludku hmyzu. Ty, které přežijí, se během několika dní buď transformují do sférické fáze známé jako sféromastigoti, nebo se diferencují na epimastigoty. Epimastigoti migrují do střeva hmyzího vektoru, kde se množí procesem binárního dělení a připojují se k perimikrovilárním membránám, které jsou vylučovány střevními buňkami zadního midgut. Tento adhezní krok je velmi důležitý pro spuštění procesu transformace neinfekčních epimastigot na vysoce infekční metacyklické trypomastigoty (de Souza *et al.*, 2010). Proces transformace se nazývá metacyklogeneze a probíhá v lumen střeva triatominového vektoru. Hlavním podnětem ke vzniku procesu je snížená dostupnost živin způsobená intenzivním množením epimastigot (Salassa and Romano, 2019). Adheze

epimastigot k perimikrovilárním membránám se účastní jednak povrchově exponované glykokonjugáty, tak i některé bílkoviny přítomné přímo v perimikrovilárních membránách. Rovněž bylo prokázáno, že se na procesu adheze podílejí i povrchové glykoinositolfosfolipidy (GIPL) parazita. Naopak některé sacharidy jsou schopné připojení *T. cruzi* zabránit (de Souza *et al.*, 2010). Vzniklé nedělicí se metacyklické trypomastigoty se v zadním střevě vektoru po dobu 3-4 týdnů ukládají ve výkalech a čekají, až budou společně se stolicí vyloučeny. K vylučování výkalů vektorem pak dochází obvykle během sání krve (Hemmige *et al.*, 2012). Infikovaný vektor během sání spouští uvolňování infekčních trypomastigot ve stolici. Trypomastigoti posléze vstupují do obratlovců skrze ránu od kousnutí, oděrkami v kůži, či oční spojivkou (Esch and Petersen, 2013).

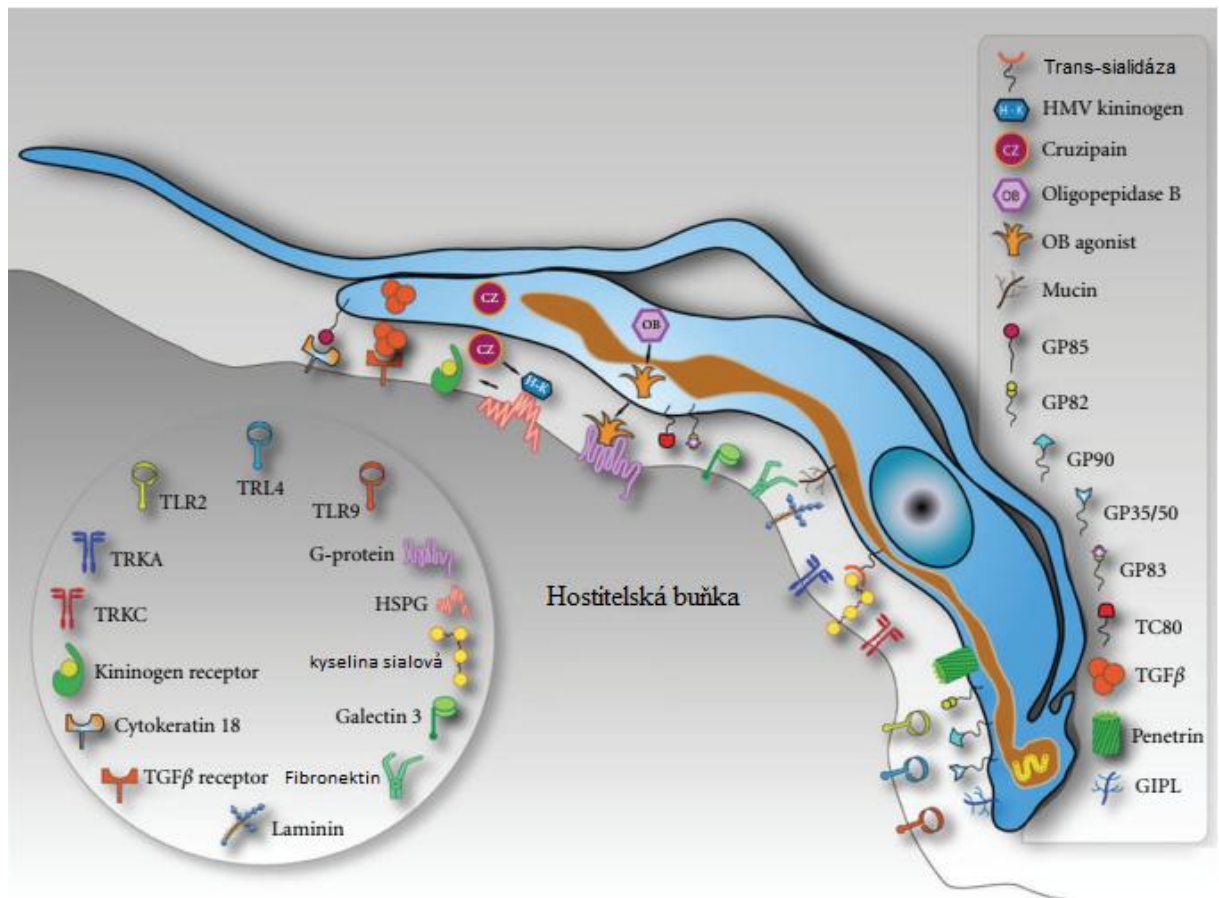
Jakmile trypomastigoti vstoupí do těla obratlovce, začnou napadat buňky, zejména makrofágy, fibroblasty a epiteliální buňky. Poté dochází k replikaci v blízkosti místa průniku a následné diferenciaci na intracelulární amastigoty (de Souza *et al.*, 2010). Obecně je proces interakce mezi hostitelskými buňkami a *T. cruzi* rozdělen do dvou kroků. Prvním procesem je adheze, která zahrnuje rozpoznání buněk a vazbu antigenů *T. cruzi* na receptory hostitelských buněk, které spouštějí signalizaci buněk. Druhým procesem je internalizace, která popisuje mechanismus, který vede k vytvoření parazitiformní vakuoly *T. cruzi* (TcPV) (Salassa and Romano, 2019). Tyto dva kroky lze snadno rozlišit, protože interakce prováděné při 4 °C neumožňují internalizace parazitů, a ti zůstávají připojeni k plazmatické membráně hostitelské buňky, což naznačuje, že proces internalizace probíhá pouze při teplotách vyšších než 18 °C (Barrias *et al.*, 2013). Proces vstupu *T. cruzi* do hostitelské buňky je zobrazen na Obrázku 4.



Obrázek 4 – Proces vstupu *T. cruzi* do hostitelské buňky (upraveno dle Salassa and Romano, 2019)

Adheze trypomastigot je řízena souborem molekul, přítomných na povrchu parazitů nebo vylučovaných během infekčního procesu, které se váží na specifické receptory v hostitelských buňkách. Schematický model zobrazující molekuly zapojené do procesu interakce parazit-hostitelská buňka a exponované na povrchu hypotetické hostitelské buňky a v trypomastigotech je uveden na Obrázku 5. Soubor těchto povrchových molekul a více možných hostitelských receptorů poskytuje *T. cruzi* jednodušší rozpoznání cílových buněk a usnadňuje jí s nimi kontakt, což vysvětluje, proč je parazit schopen infikovat téměř všechny typy savčích buněk (Salassa and Romano, 2019). Jednou z tříd molekul, které se účastní adheze, jsou muciny, hlavní povrchové glykoproteiny *T. cruzi*. Mnoho mucinů bylo popsáno jako ligandy *T. cruzi*, neboť jejich sacharidové zbytky jsou schopné interagovat se savčími buňkami. Mezi další molekuly podílející se na adhezi patří trans-sialidázy, glykoproteiny (gp82, gp80, gp35/50, gp85) a další. U savčích hostitelských buněk má pak jakákoli třída molekul přítomných na povrchu hostitelské buňky potenciál být ligandem receptoru *T. cruzi* (Barrias *et al.*, 2013). Přilnutí na buněčný povrch následně spustí její signální kaskádu, která vrcholí tvorbou TcPV. Existují dva procesy invaze trypomastigot do nefagocytárních buněk. První proces zahrnuje aktivaci lysozomální exocytózy, ten druhý je založen na indukci procesu podobného endocytóze. Společným znakem obou procesů je nepřítomnost výčnělků

plazmatické membrány a mikrofilamentů, nicméně se liší v původu membrány, která zpočátku obaluje parazita (Salassa and Romano, 2019).



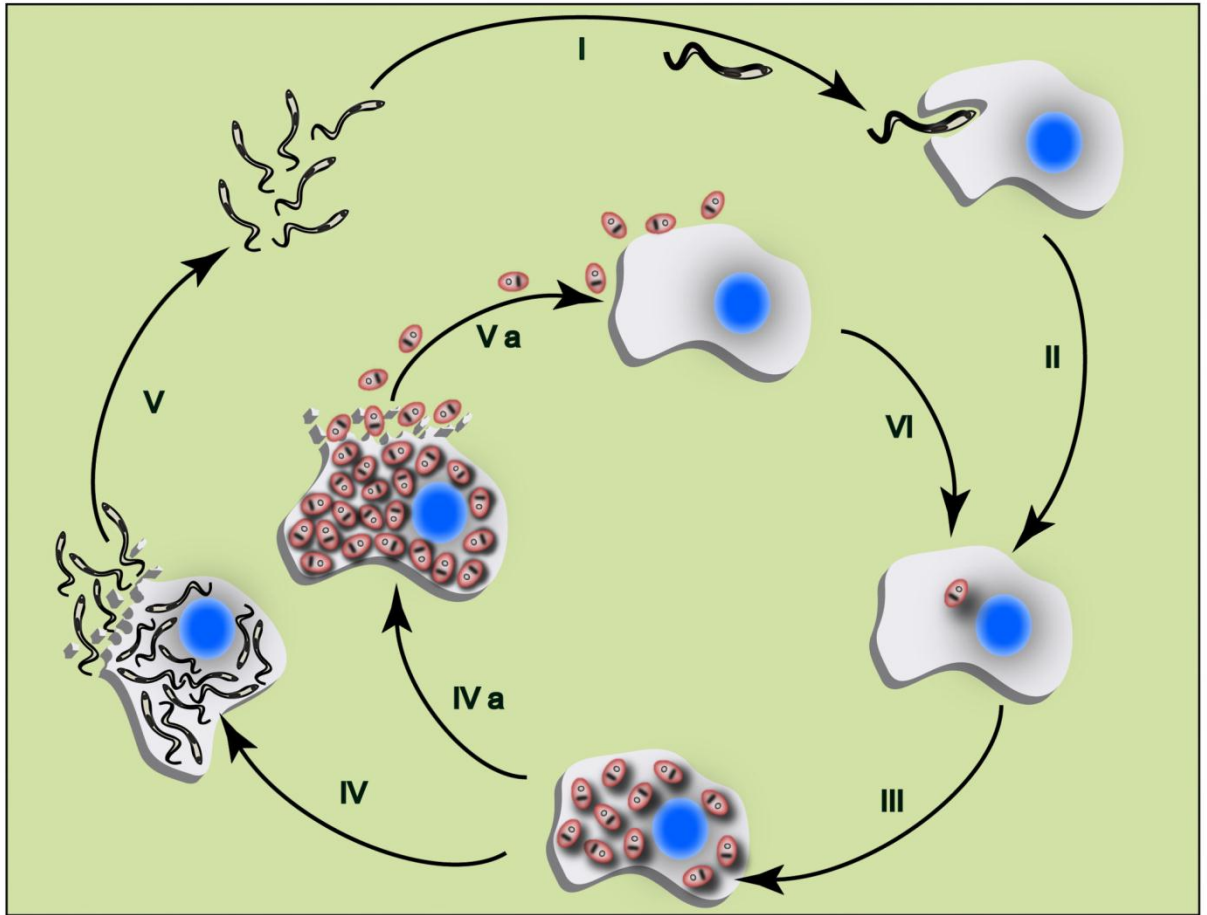
Obrázek 5 – Interakce parazit-hostitelská buňka (upraveno dle de Souza *et al.*, 2010)

U prvního procesu invaze parazité vyvolávají v hostitelských buňkách aktivaci signálních transdukčních drah, vedoucí ke zvýšení koncentrace cytosolických Ca^{2+} v obou buňkách. Ta usnadňuje mobilizaci lysozomů na buněčné periférii po narušení aktinového cytoskeletu hostitelské buňky interakcí s *T. cruzi* (Maeda *et al.*, 2012). Pozdější spojení lysozomů s hostitelskou plazmatickou membránou umožňuje vstup parazitů a vytvoření TcPV s lysozomálními charakteristikami. Naproti tomu u procesu podobnému endocytóze vstupuje nejvyšší podíl trypanomastigotů do hostitelských buněk invazací plazmatické membrány, která produkuje počáteční TcPV obohacenou o fosfoinositidy odvozené z plazmatické membrány, ale nikoli lysozomální markery (Salassa and Romano, 2019). Endocytární dráhy začínají rozpoznáváním přítomných a exponovaných molekul na buněčném povrchu a produktem, který bude internalizován (Barrias *et al.*, 2013). Tohoto procesu se účastní rovněž endocytární guanosintrifosfátfosfohydrolázy (GTPázy), jako je Rab5, Rab7, a dynamin. Byly popsány také

jiné formy vstupu *T. cruzi* do hostitelských buněk – např. fagocytóza nebo makropinocytóza (Salassa and Romano, 2019).

Při vstupu trypomastigot do hostitelské buňky dochází k procesu internalizace, jehož cílem je vznik TcPV (Salassa and Romano, 2019). Bylo prokázáno, že parazit může ovlivnit složení membrány TcPV, kdy např. po napadení svalových buněk byly přítomny glykokonjugáty v membráně TcPV. Lysozomy se brzy přesouvají na místo vstupu parazitů v nefagocytárních hostitelských buňkách, a s membránou přispívají k tvorbě TcPV. Přesunu lysozomů z perinukleární oblasti na periferii buněk se účastní mikrotubuly, kinezin a vápník. Pro tvorbu TcPV je nezbytný dynamin, neboť v případě, že je aktivita jeho GTPázy blokována inhibitorem dynasorem, je internalizace *T. cruzi* narušena (de Souza *et al.*, 2010). Metacyklické trypomastigoty jsou internalizovány hostitelskou buňkou v kompartmentu vázaném na membránu TcPV (Fernandes and Andrews, 2012). Ty následně unikají a transformují se na amastigoty, což je částečně vyvoláno kyselým pH, které vakuola získala díky lysozomálnímu okyselení, které způsobuje uvolnění hemolysinu *T. cruzi* (Esch and Petersen, 2013; Salassa and Romano, 2019).

Další vývoj vzniklých amastigot pak může pokračovat dvěma odlišnými cestami (Fernandes and Andrews, 2012). Obě cesty vývoje v savčích hostitelských buňkách znázorňuje Obrázek 6. Jednak se po devíti cyklech binárního dělení v cytosolu mohou diferencovat na trypomastigoty v krevním řečišti, které se následně uvolňují při prasknutí hostitelské buňky (Fernandes and Andrews, 2012; Hemmige *et al.*, 2012). Tito trypomastigoti infikují sousední buňky nebo se šíří lymfatickým a krevním řečištěm a následně infikují nové buňky (Hemmige *et al.*, 2012). Druhou cestou je jejich uvolnění z buňky po její degradaci v důsledku imunitní odpovědi. Uvolnění amastigoti pak mohou znovu napadat buňky fagocytózou, což přispívá k přetrvávání parazitů v hostiteli (Fernandes and Andrews, 2012). Na rozdíl od příbuzného druhu *T. brucei* se trypomastigoti *T. cruzi* v krevním řečišti již nereplikují (Esch and Petersen, 2013). Ačkoli může *T. cruzi* napadnout libovolnou savčí buňku, upřednostňuje především buňky kardiovaskulárního, retikuloendoteliárního, nervového a svalového systému, a buňky tukové tkáně (Hemmige *et al.*, 2012). Pro dokončení cyklu musí dojít k požití cirkulujících trypomastigot v krvi savců hmyzím vektorem, a k jejich transformaci na epimastigoty se závěrečnou diferenciací zpět na infekční trypomastigoty (Esch and Petersen, 2013).



Obrázek 6 – Dvě možné cesty vývoje amastigot v savčí hostitelské buňce (upraveno dle Fernandes and Andrews, 2012)

3 Ostatní zástupci

T. brucei s poddruhy *T. b. brucei*, *T. b. gambiense* a *T. b. rhodesiense* patří mezi nejdůležitější zástupce salivárních trypanosom. Prodělávají složitý vývoj v mouchách tse-tse neboli glosinách, který postupně zahrnuje trávicí trakt, sosák, a nakonec i slinné žlázy (Volf *et al.*, 2007).

T. b. brucei není infekční pro člověka, jelikož je lyzována lidským krevním sérem obsahující toxický typ lipoproteinů s vysokou hustotou (HDL), tzv. trypanosomový lytický faktor (TLF). Nicméně společně s jinými druhy trypanosom způsobuje u divokých, případně i domácích zvířat onemocnění zvané nagana (Volf *et al.*, 2007; Rojas and Matthews, 2019). Poddruhy *T. b. gambiense* a *T. b. rhodesiense* jsou původci lidské africké trypanosomiázy neboli spavé nemoci. V subsaharské Africe jsou přenášeny prostřednictvím mouchy tse-tse, a množí se v krevním řečišti savců (Herwaldt, 2017). Díky své odolnosti vůči účinkům lidského séra jsou schopné nakazit kromě zvířat i člověka. *T. b. gambiense* obvykle způsobuje chronickou infekci neboli západoafrickou spavou nemoc, zatímco *T. b. rhodesiense* způsobuje spíše akutní formu onemocnění, tzv. východoafrickou spavou nemoc (Volf *et al.*, 2007; Wiedemar *et al.*, 2019).

T. vivax je krevní parazit způsobující trypanosomiázu u zvířat, především skotu, ovcí a koz (Betancur Hurtado *et al.*, 2016; Yaro *et al.*, 2019). Patří do skupiny salivárních trypanosom a vyskytuje se zejména v Africe. Vyvíjí se sice v sosáku much tse-tse, avšak v důsledku kontaminativního přenosu při sání ovádů a jiného krev sajícího hmyzu došlo k jejímu rozšíření mimo území obývané mouchami tse-tse, dokonce až do Jižní Ameriky (Volf *et al.*, 2007). Onemocnění způsobené *T. vivax* je obvykle spojeno s anémií a přetrvávajícími horečnatými stavy, což má za následek snížení produkce, slabost postižených zvířat a příležitostně i úhyn. Má schopnost vyhýbat se hostitelskému imunitnímu systému, což ji umožňuje přetrvávat v hostiteli měsíce nebo roky (Betancur Hurtado *et al.*, 2016).

T. congolense je pravděpodobně nejrozšířenějším původcem onemocnění nagany v tropické Africe (Volf *et al.*, 2007; Peacock *et al.*, 2012). Tento druh trypanosomy člověka neinfikuje. Vývoj probíhá pouze ve stěvě a sosáku mouchy tse-tse, nikoliv však ve slinných žlázách (Volf *et al.*, 2007). Mezi hlavní klinické příznaky onemocnění patří úbytek hmotnosti, anémie a oslabení imunitního systému. Tento parazit významně brání zemědělskému rozvoji v subsaharské Africe (Peacock *et al.*, 2012).

T. evansi způsobuje onemocnění surra, které se vyskytuje u velbloudů, koní, skotu a buvolů. Zatímco většina trypanosom je přenášena vývojovým přenosem, kdy způsobují infekci a diferencují se ve střevech bezobratlých vektorů, *T. evansi* se přenáší pouze mechanicky. Tento parazit prochází hmyzím střevem a infikuje jiného hostitele, neboť ztratil schopnost diferenciaci v bezobratlém vektoru (Cooper *et al.*, 2017).

T. equiperdum způsobuje onemocnění dourina u koní, u kterého v případě neléčení dochází k úhynu postiženého zvířete. Vyskytuje se nejen v Africe, ale rovněž i v Asii a východní Evropě (Volf *et al.*, 2007). *T. equiperdum* je jedinou patogenní trypanosomou, která pro přenos nevyžaduje bezobratlý vektor. Mezi zvířaty se šíří pohlavním přenosem (Gillingwater, 2018). Charakteristickými příznaky douriny jsou paralýza rtu, otoky vulvy a kožní šrámy (Suganuma *et al.*, 2016).

4 Chagasova nemoc

Chagasova nemoc neboli americká trypanosomiáza je parazitární onemocnění způsobené prvokem *T. cruzi* (Rassi *et al.*, 2012; Carabarin-Lima *et al.*, 2013). Mimo hmyzí vektory je nemoc přenášena vrozeně, perorálně nebo prostřednictvím krevních transfúzí a transplantací orgánů (Barfield *et al.*, 2011). Onemocnění je rozšířeno po celé Americe s endemickým vektorovým přenosem ve všech zemích Jižní Ameriky, Střední Ameriky a Mexika, a s omezeným autochtonním přenosem ve Spojených státech amerických (USA) (Esch and Petersen, 2013). Světovou zdravotnickou organizací (WHO) je Chagasova nemoc klasifikována jako jedna z tzv. opomíjených tropických nemocí (Parker and Sethi, 2011; de Fuentes-Vicente *et al.*, 2018). Toto označení znamená, že přenos a šíření onemocnění je podmíněno chudobou, a že nemoc postihuje zejména zranitelné části populace, kterými jsou domorodci, venkovské skupiny, ženy, děti a starší lidé (Parker and Sethi, 2011). Pokud není Chagasova nemoc léčena, může vést až k závažným srdečním a trávicím komplikacím, což má za následek ztrátu výkonosti a nakonec smrt (Barfield *et al.*, 2011).

Infekce *T. cruzi* byla zjištěna také u dalších 150 druhů domácích, hospodářských a divokých zvířat (kočky, psi, prasata, hlodavci, vačnatci a pásovci). Značné znepokojení vyvolává rostoucí počet případů Chagasovy nemoci u psů, u kterých má onemocnění totožné klinické příznaky, které se vyskytují u člověka (Parker and Sethi, 2011).

4.1 Historie

K nakažení člověka *T. cruzi* došlo již brzy po osídlení Jižní Ameriky (Steverding, 2014). Nejstarší případ nakažení člověka *T. cruzi* odhalily paleoparazitologické studie v tkáni prekulumbijské mumie staré 9000 let (Parker and Sethi, 2011). *T. cruzi* byla rovněž nalezena v mumiích pozdních kultur. Od 16. století se opakovaně vyskytovaly zprávy od cestujících a lékařů, které popisovaly pacienty se symptomy nemoci připomínající americkou trypanosomiázu (Steverding, 2014).

Chagasova nemoc byla poprvé popsána v roce 1909 brazilským lékařem Carlosem Chagasem (Parker and Sethi, 2011). Tento brazilský hygienik a bakteriolog byl upozorněn na velký krev sající hmyz, který přežívá v místních obydlích. Během zkoumání hmyzu našel v zadní části jeho trávicího traktu značné množství trypanosom, které pojmenoval na počest svého mentora, brazilského lékaře a bakteriologa Oswalda Cruze. Následně proběhlo testování na opicích, které byly pokousány infikovanými vektory. K propuknutí klinických příznaků

došlo během 20 až 30 dnů, přičemž v krvi opic bylo detekováno vysoké množství trypanosom (Steverding, 2014). Průlom nastal v roce 1909, kdy byl Chagas povolán k prohlídce dvouleté dívky Bereniky se známkami akutní infekce včetně přetrvávající horečky a oteklé tváře (Gürtler *et al.*, 2008; Steverding, 2014). O čtyři dny později bylo v její krvi nalezeno značné množství trypanosom s podobnou morfologií jako u infikovaných opic. Chagas objevil nové parazitární onemocnění, které brzy neslo jeho jméno (Steverding, 2014). Během 40. let 20. století došlo díky rozsáhlejšímu využívání sérodiagnostických metod k odhalení vysoké prevalence americké populace lidskou trypanosomiázou. Tak značný rozsah rozšíření *T. cruzi* nebyl očekáván (Gürtler *et al.*, 2008). Testování sloučenin, které by byly vhodné k léčbě Chagasovy nemoci, začalo brzy po objevení onemocnění, avšak bez pozitivních výsledků. Trvalo dalších 50 let, než došlo k vývoji sloučenin, které bylo možné využít jako účinné látky pro léčbu americké trypanosomiázy, byly jimi nifurtimox a benznidazol (Steverding, 2014). Výrazný pokrok v prevenci šíření Chagasovy nemoci byl zaznamenán v 80. a 90. letech 20. století díky přísným kontrolám dárců krve (Gürtler *et al.*, 2008).

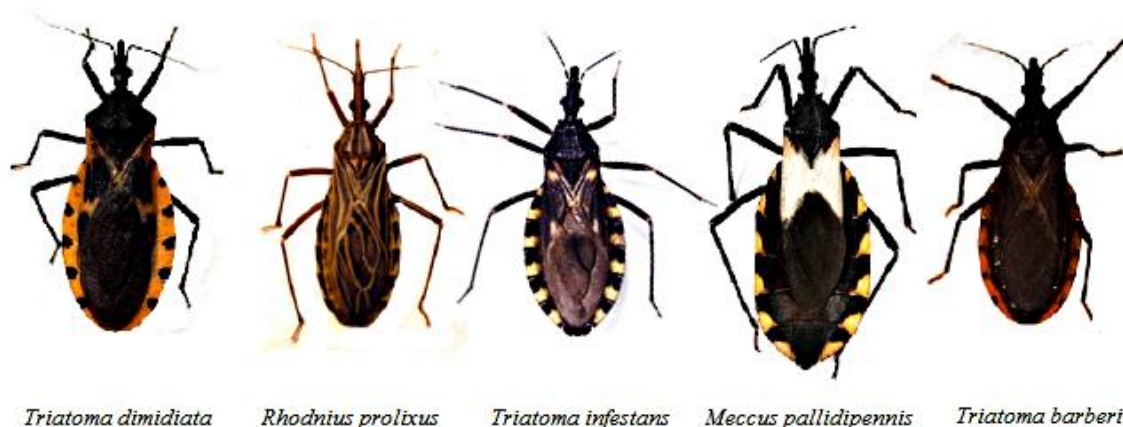
4.2 Mechanismy přenosu

Existuje několik možných mechanismů přenosu *T. cruzi* na člověka, přičemž obecně je lze rozdělit na primární a sekundární. Mezi primární mechanismy patří přenos prostřednictvím vektoru a krevní transfúze, dále perorální, placentární nebo vrozený přenos a přenos v průběhu porodu (Coura, 2015). Sekundární mechanismy přenosu jsou považovány za méně časté, a patří mezi ně transplantace pevných orgánů a kostní dřeně, přenos prostřednictvím kontaminovaných potravin, přenos manipulací s infikovanými zvířaty, sexuální přenos a přenos laboratorní chybou (Parker and Sethi, 2011; Coura, 2015). Ptáci a obojživelníci jsou vůči *T. cruzi* odolní, ale v některých případech mohou být významnými zdroji krve pro triatomový hmyz, který je striktně hematofágní (Rassi *et al.*, 2012).

4.2.1 Přenos prostřednictvím přenašečů

Chagasova nemoc se na lidskou populaci a více než 150 druhů domácích a divokých zvířat přenáší hlavně velkým hmyzem rodu *Triatoma*. Rod *Triatoma* je taxonomicky řazen do kmene členovců (Arthropoda), třídy hmyzu (Insecta), řádu polokřídílí (Hemiptera) a čeledi zákeřnicovití (Reduviidae) (Rassi *et al.*, 2012). V současné době se v Severní Americe vyskytuje okolo 40 druhů triatominového hmyzu, který je přirozeně infikován *T. cruzi*. Z epidemiologického hlediska nejdůležitější triatominové vektory patří do rodů *Rhodnius* (*Rhodnius prolixus*), *Triatoma* (*Triatoma infestans*) a *Pastrongylus* (*Pastrongylus megistus*)

(Carabarin-Lima *et al.*, 2013). Mezi další důležité přenašeče patří *Triatoma dimidiata*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata*, *Triatoma sordida*, *Triatoma maculata*, *Panstrongylus geniculatus*, *Rhodnius ecuadoriensis*, *Rhodnius pallescens* a *Meccus pallidipennis* (Coura, 2015; de Fuentes-Vicente *et al.*, 2018). Pět významných bezobratlých vektorů z hlediska rizika přenosu Chagasovy nemoci je uvedeno na Obrázku 7.



Obrázek 7 - Významné bezobratlé vektory z hlediska rizika přenosu Chagasovy nemoci (upraveno dle de Fuentes-Vicente *et al.*, 2018)

Nejdůležitějším a nejrozšířenějším přenašečem Chagasovy nemoci je *Tr. infestans* (Noireau, 2009). Vyskytuje se ve velké části Jižní Ameriky, ale pravděpodobně pochází z Bolívie, kde byl jeho výskyt zjištěn přímo v domácnostech, a dále v obydlených i neobydlených oblastech. Odtud se rozšířil do Argentiny, Chile, Paraguaye, Uruguaye a Brazílie, kde se jeho výskyt omezil výhradně na prostředí lidských obydlí (Coura, 2015). Adaptace *Tr. infestans* na domácí prostředí proběhla v důsledku domestikace divokých morčat, které jsou jedny z jeho přirozených hostitelů (Noireau, 2009). *Tr. infestans* se skrývá v prasklinách a štěrbinách špatně postavených doškových domů, z nichž vylézá v průběhu noci za účelem obstarání potravy, kterou je krev. Ve většině případů je tedy člověk pokousán během spánku, a to nejčastěji na obličeji. Z tohoto důvodu získal hmyz označení „líbající brouk“ (Parker and Sethi, 2011). Důležitým faktorem v interakcích mezi *T. cruzi* a triatominovým hmyzem je teplota. Parazit dokončí svůj vývoj při teplotě v rozmezí 23-28 °C, ale vyšší hustota epimastigot je ve střevě *Tr. infestans* pozorována při teplotě 28 °C (de Fuentes-Vicente *et al.*, 2018).

P. megistus lze v současné době považovat za nejdůležitějšího potenciálního přenašeče Chagasovy nemoci v Brazílii, a to vzhledem k jeho rozsáhlému geografickému rozšíření

po celé zemi (Coura, 2015). Výskyt *P. megistus* je spojován s vlhkými lesy, z nichž se pak mohou dospělci, zejména v období dešťů, šířit do lidských obydlí (Gorla and Noireau, 2017). Má vysokou náchylnost k *T. cruzi* a domácí adaptaci. *P. megistus* často rekolonizuje obydlí po zneškodnění *Tr. infestans* pomocí postřiku insekticidů (Coura, 2015; Flores-Ferrer *et al.*, 2018). Přírodní stanoviště *P. megistus* zahrnují divoká hnízda vačnatců v divokých ekotypech jihovýchodní a jižní Brazílie (Coura, 2015).

R. prolixus je jedním z nejvýznamnějších vektorů *T. cruzi*. Vzhledem k tomu, že se jedná o antropofilní druh, je striktně hematofágní. Navíc je známý svou schopností přijímat v krátkém čase obrovské množství potravy (Azambuja and Garcia, 2005). Mimo to má rychlý vývojový cyklus, vysokou hustotu výskytu, intenzivní pasivní rozložení a vysokou náchylnost k infekci a přenosu *T. cruzi* (Coura, 2015). Vývojový cyklus parazit dokončí obvykle při teplotách v rozmezí 24-27 °C (de Fuentes-Vicente *et al.*, 2018). Z epidemiologického hlediska je nejdůležitějším přenašečem v Kolumbii, Guyaně, Francouzské Guyaně, Surinamu a Venezuele (Guhl, 2007; Coura, 2015). Původně se vyskytoval v palmách, ale později se přizpůsobil životu v lidských obydlích (Coura, 2015).

4.2.2 Přenos prostřednictvím krevních transfúzí

Přenos *T. cruzi* prostřednictvím krevních transfúzí stále zůstává druhým nejčastějším mechanismem přenosu (Coura, 2015). Dochází k němu, pokud je dárce krve infikovaný parazitem. Po transfúzi infikované krve dochází u příjemce k propuknutí akutní nebo chronické formy Chagasovy nemoci. Všechny složky krve jsou infekční a *T. cruzi* zůstává životaschopná po dobu nejméně 18 dnů při teplotě 4 °C (Esch and Petersen, 2013). Riziko infekce *T. cruzi* po transfúzi jedné jednotky krve od infikovaného dárce je 10 až 20 % a závisí na množství parazitů v krvi dárce, podmínkách skladování, zpracování krve a úrovni vyšetřovacích metod krve zavedených v dané oblasti (Rassi *et al.*, 2012; Esch and Petersen, 2013). Po centrifugaci krve jsou infekční trypanostigoti obsaženi převážně v destičkové frakci krve. Z tohoto důvodu je vyšší riziko přenosu Chagasovy nemoci při transfúzi krevních destiček než jiných krevních komponent (Rassi *et al.*, 2012). Přenos prostřednictvím krevní transfúze je jednou z hlavních příčin infekcí v městských oblastech a neendemických zemích (Liu and Zhou, 2015). Nicméně přenos *T. cruzi* prostřednictvím krevních transfúzí se v důsledku přísné kontroly dárců krve snížil, a to zejména v Brazílii, Uruguayi, Chile a několika dalších zemích Jižní a Střední Ameriky (Coura, 2015).

4.2.3 Přenos prostřednictvím transplantace orgánů

K přenosu *T. cruzi* může dojít také transplantací pevného orgánu nebo kostní dřeně od chronicky nemocného dárce (Rassi *et al.*, 2012). Příjemci transplantátu se posléze mohou setkat s těžkým průběhem onemocnění, neboť následkem oslabení imunitního systému dochází k reaktivaci chronické Chagasovy nemoci. Imunitní systém pacientů po transplantaci orgánů, při které byli nakaženi *T. cruzi*, má totiž jen omezenou schopnost kontrolovat průběh infekce (Kun *et al.*, 2009). Přenos infekce od chronicky infikovaného dárce pevného orgánu nebo kostní dřeně se objevuje především v Latinské Americe. Kvůli velkému počtu přistěhovalců se často objevují infekce i v neendemických oblastech, jako USA, Kanada nebo v mnohých částech Evropy (Rassi *et al.*, 2010).

4.2.4 Placentární nebo vrozený přenos

K placentárnímu nebo vrozenému přenosu dochází, pokud je žena během těhotenství infikovaná *T. cruzi*, jenž se tak může dostat k plodu skrze placentární bariéru (Liu and Zhou, 2015). Výskyt vrozeného přenosu závisí na interakcích mezi *T. cruzi*, placentou, imunitním systémem matky a imunitní odpovědí plodu (Kemmerling *et al.*, 2019). Placentární přenos se u chronicky infikovaných žen vyskytuje minimálně v 5 % těhotenství v některých oblastech Bolívie a v 1 až 2 % těhotenství ve většině ostatních endemických zemí (Rassi *et al.*, 2012). Kromě obav z vrozené infekce zvyšuje Chagasova nemoc také riziko spontánního potratu a předčasné smrti novorozenců. Prevence placentárního přenosu sice není možná, ale včasné zachycení infekce u novorozenců a rychlé zahájení terapie výrazně snižuje nemocnost a smrtnost (Parker and Sethi, 2011). Vrozená Chagasova nemoc je typická akutní parazitární infekce. Asi u 60 % vrozeně infikovaných novorozenců je nemoc asymptomatická. Při narození se u infikovaných novorozenců vyskytuje vyšší četnost nízké porodní váhy a nižší hodnota Apgar skóre ve srovnání s neinfikovanými novorozenci. Taktéž je zvýšeno riziko předčasného narození. Někteří infikovaní novorozenci trpí velmi závažnými příznaky, které mohou vést až ke smrti (Kemmerling *et al.*, 2019).

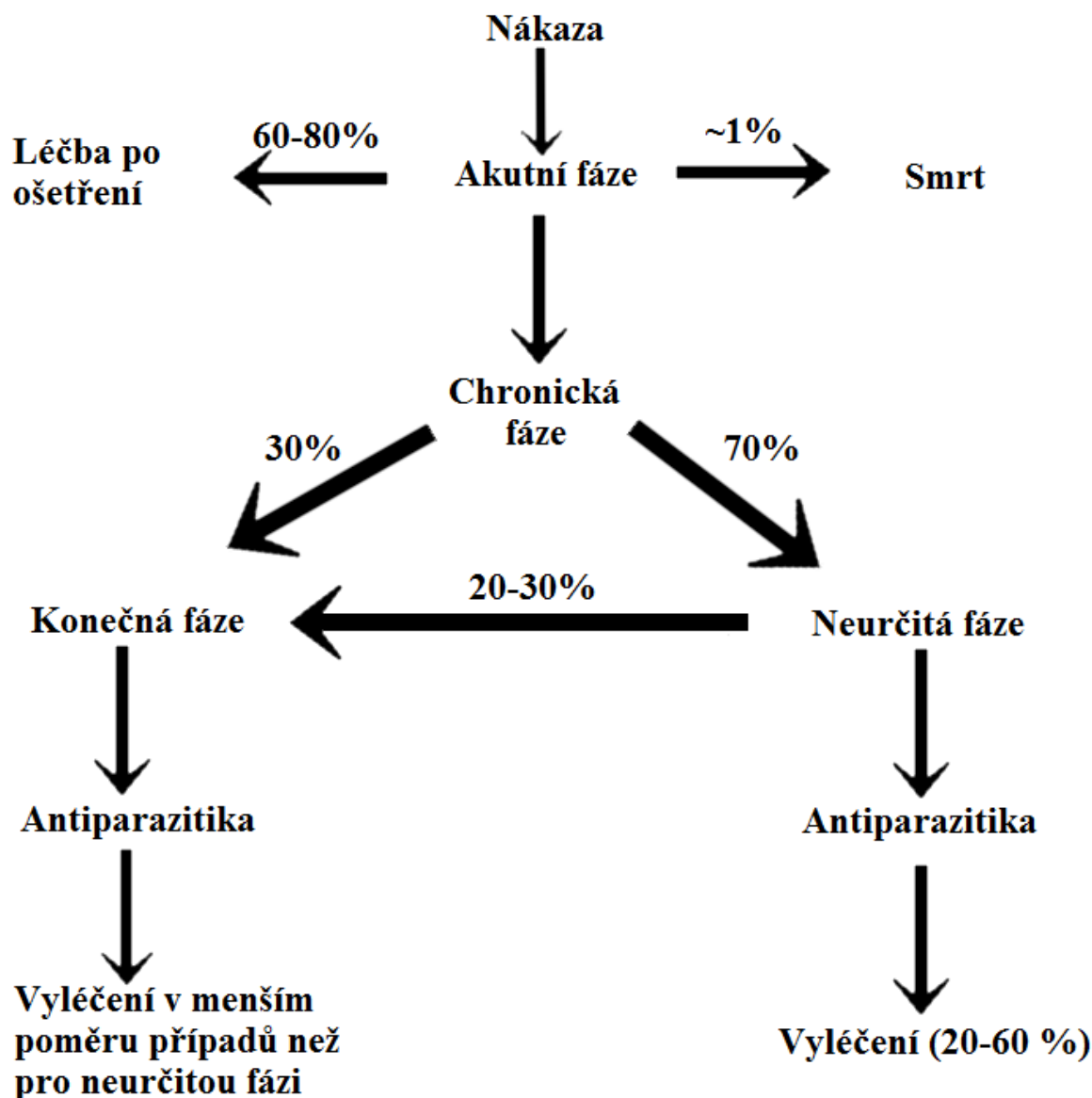
4.2.5 Perorální přenos

Perorální přenos *T. cruzi* je pravděpodobně nejčastějším mechanismem přenosu u volně žijících zvířat, jako jsou např. drobní primáti, vačice, skunkovití a mývalovití, kteří často v potravě přijímají hmyz, a to včetně triatominového hmyzu přenášejícího *T. cruzi* (Esch and Petersen, 2013; Coura, 2015). Také psi a kočky mohou pozřít hmyz a tím se podílet na přenosu. K přenosu *T. cruzi* dochází i v případě kontaminace vody, potravin nebo ovocných šťáv

získaných z bobulí cukrové třtiny, guavy nebo akátu (Parker and Sethi, 2011; Esch and Petersen, 2013). Voda může být infikovaná samotným triatomovým hmyzem, jejich výkaly, popřípadě výkaly infikovaných savců (Esch and Petersen, 2013). Tento způsob přenosu je obvykle zodpovědný za regionální ohniska akutní infekce v oblastech, kde se příliš nevyskytují přirozené hmyzí vektory (Rassi *et al.*, 2012). Perorální přenos se stává velkou hrozbou, neboť ohniska onemocnění bývají sporadická, obtížně předvídatelná, charakterizovaná vysokou úmrtností a nevykazující žádné známky poklesu frekvence nebo závažnosti (Liu and Zhou, 2015). Přenos Chagasovy nemoci je možný i mateřským mlékem z matky na dítě (Coura, 2015). Klinický obraz orální Chagasovy nemoci je s určitými rozdíly totožný s akutní formou onemocnění. Nákaza perorální cestou vede k akutnímu hořčnatému onemocnění, které se objevuje 3 až 22 dní po nákaze a je doprovázeno bolestmi kloubů, gastritidou se zvracením krve, krvácením z nosu až případným šokem (Esch and Petersen, 2013).

4.3 Klinický průběh

Klinický průběh Chagasovy nemoci obvykle zahrnuje akutní a chronickou fázi (Pérez-Molina and Molina, 2018). Po vniknutí *T. cruzi* do lidského hostitele následuje inkubační doba s délkou trvání 1 až 2 týdny, po které začíná akutní fáze onemocnění. Po akutní fázi přibližně 30 % pacientů vstupuje přímo do konečné fáze (Malik *et al.*, 2015). Zbývá většina pacientů vstupuje do neurčité fáze onemocnění, která zahrnuje rovnováhu mezi hostitelem a parazity bez poškození hostitele, a je potvrzena sérologickými a parazitologickými testy (Nunes *et al.*, 2013; Malik *et al.*, 2015). Většina infikovaných lidí v endemických oblastech se nachází v této fázi onemocnění, a přibližně 40 % z těchto pacientů může v tomto klinickém stavu přetrvávat až roky (Nunes *et al.*, 2013). Přibližně jedna třetina pacientů postupuje z neurčité fáze do fáze konečné, ve které dochází ke vzniku kardiologických příznaků (Malik *et al.*, 2015). Možnosti klinického průběhu Chagasovy nemoci znázorňuje Obrázek 8.



Obrázek 8 – Možnosti klinického průběhu Chagasovy nemoci (upraveno dle Malik *et al.*, 2015)

4.3.1 Akutní fáze onemocnění

Akutní fáze onemocnění trvá 4 až 8 týdnů a u většiny pacientů obvykle probíhá asymptomaticky, a to bez ohledu na mechanismus přenosu. To je pravděpodobně způsobeno tím, že zatížení organismu parazity je poměrně malé (Rassi *et al.*, 2010; Parker and Sethi, 2011). Po 90 dnech se množství *T. cruzi* v periferní krvi pacientů výrazně snižuje (Pérez-Molina and Molina, 2018).

Mezi příznaky, které se mohou vyvinout přibližně 8 až 10 dnů po invazi parazity nebo 20 až 40 dní po transfúzi krve infikované *T. cruzi*, patří přetrvávající horečka, malátnost, zvětšení jater, sleziny a lymfatických uzlin a subkutánní otok (lokalizovaný nebo

generalizovaný). Elektrokardiogram (EKG) může vykazovat sinusovou tachykardii, atrioventrikulární blokádu 1. stupně, nízké napětí QRS nebo primární změny T-vlny. Na rentgenovém snímku hrudníku mohou být různé stupně kardiomegalie (Rassi *et al.*, 2012). Těžké akutní onemocnění se vyskytuje u méně než 1 % pacientů a mezi klinické projevy patří akutní myokarditida, perikardiální výpotek anebo meningoencefalitida (Nunes *et al.*, 2013). K úmrtí pacienta dochází v 0,2 až 0,5 % případů a většinou je způsobeno srdečním selháním (Rassi *et al.*, 2012; Pérez-Molina and Molina, 2018). U většiny vrozeně infikovaných novorozenců je průběh onemocnění asymptomatický nebo pouze s mírnými příznaky. Zbývající menšina má závažné život ohrožující příznaky, mezi které patří myokarditida, meningoencefalitida a pneumonitida (Rassi *et al.*, 2010; Pérez-Molina and Molina, 2018). Potraviny nebo nápoje kontaminované trusem triatominového hmyzu po požití způsobují závažnější průběh onemocnění s vyšší smrtností než u onemocnění, které je přenášeno prostřednictvím vektoru. Akutní fáze onemocnění obvykle vymizí spontánně, nicméně neléčení pacienti zůstávají chronicky infikováni (Pérez-Molina and Molina, 2018).

Při přenosu prostřednictvím vektoru existuje několik dobře popsanych dermatologických projevů akutní fáze onemocnění (Hemmige *et al.*, 2012). Tyto lokální zánětlivé reakce v místech průniku parazita do lidského organismu slouží jako nejčasnější a nejtypičtější mukokutánní projevy manifestace Chagasovy nemoci (Parker and Sethi, 2011). Prvním z nich je chagoma (Obrázek 9A), což je fialový zánětlivý uzlík, který se týdnů vyvíjí v místě kousnutí a přetrvává několik týdnů poté, než dojde k jeho spontánnímu vymizení. Biopsií lze prokázat přítomnost amastigot a lymfocytů (Parker and Sethi, 2011; Hemmige *et al.*, 2012; Malik *et al.*, 2015). Dalším specifickým kožním projevem je Romanův znak (Obrázek 9B), který se objevuje v důsledku ukládání výkalů triatominového hmyzu obsahujícího parazity do spojivkového vaku. Po poškrábání čerstvě infikované rány od kousnutí si může pacient přenést trypomastigoty do spojivky (Hemmige *et al.*, 2012). U pacienta se rychle vyvine jednostranný otok víčka a konjunktivitida, která může být spojena s lymfadenitidou nebo dokonce s periorbitální celulitidou (Parker and Sethi, 2011; Hemmige *et al.*, 2012). V akutní fázi lze u malé části pacientů pozorovat nespecifickou a přechodnou vyrážku podobnou spalničkám nebo kopřivce (Parker and Sethi, 2011). Případná biopsie ukazuje na rozšíření subpapilárního svazku nervů nebo cév s otokem endoteliálních buněk v okolní pojivové tkáni a přítomnost lymfocytárních perivaskulárních infiltrátů, ovšem bez přítomnosti parazitů v lézích (Hemmige *et al.*, 2012).



9A

9B

Obrázek 9A – Chagoma (převzato z Rossi, 2003)

Obrázek 9B – Romanův znak (převzato z Rossi, 2003)

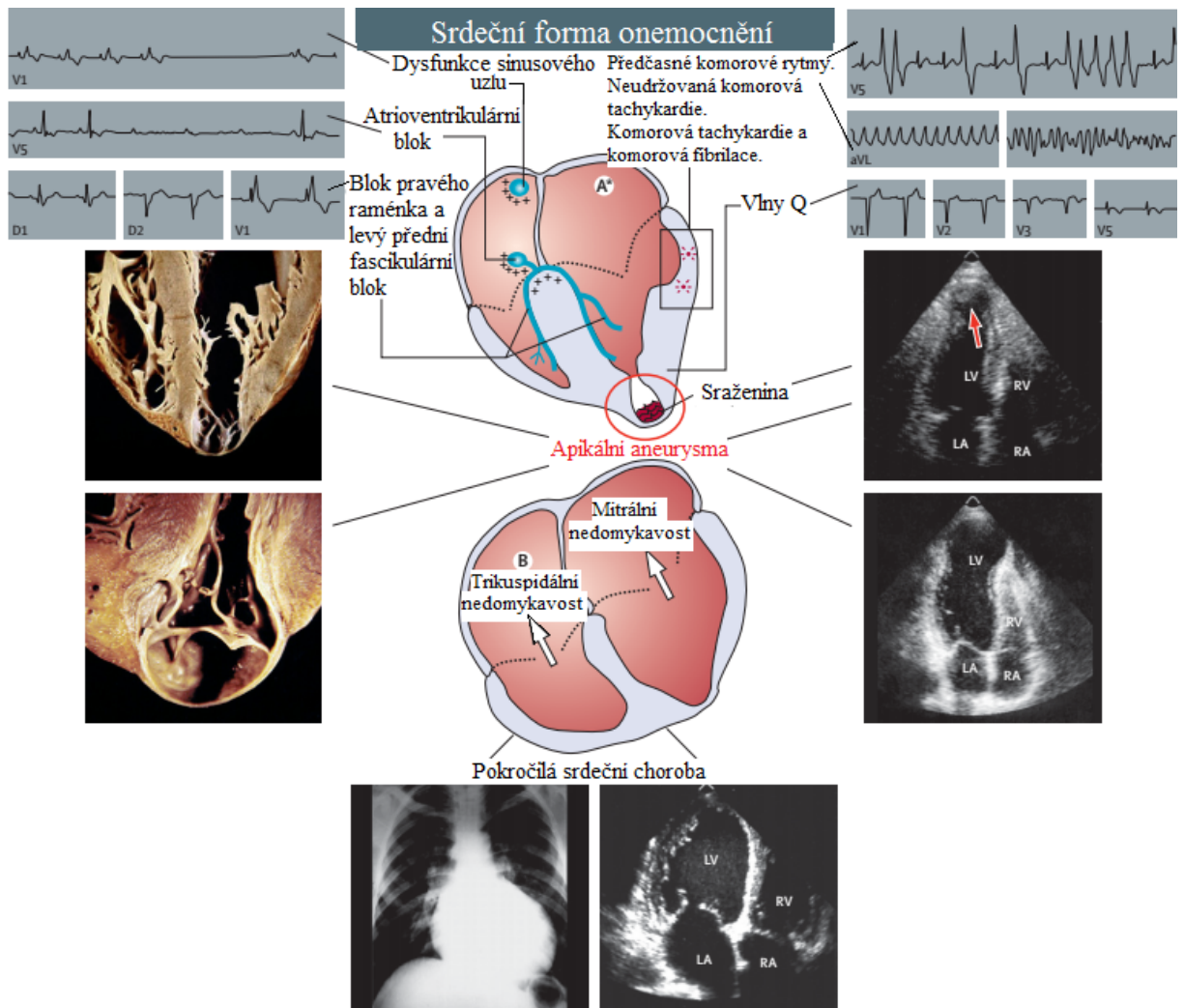
Výskyt akutní formy onemocnění se v důsledku snižování množství vektorů a přerušení přenosu krevními transfuzemi ve většině zemí Latinské Ameriky podstatně snížil. Nicméně akutní průběh Chagasovy nemoci může nastat i v důsledku přenosu *T. cruzi* prostřednictvím transplantovaného orgánu nebo po reaktivaci chronické infekce související s imunosupresivními stavy (Nunes *et al.*, 2013).

4.3.2 Chronická fáze onemocnění

Chronická fáze onemocnění začíná zhruba 2 až 3 měsíce po počáteční infekci, kdy klinické projevy akutního onemocnění vymizí prakticky u všech infikovaných jedinců i přesto, že infekce nebyla léčena trypanocidními léčivými (Rassi *et al.*, 2012). Chronická fáze Chagasovy nemoci může mít různý klinický projev od asymptomatického průběhu, až po těžké onemocnění končící smrtí (Rassi *et al.*, 2010). Nicméně většina pacientů (60 až 70 %) má neurčitou formu chronické Chagasovy nemoci, která probíhá zcela bez přítomnosti klinických příznaků. Tato forma je charakteristická přítomností protilátek proti *T. cruzi* v séru, normálním EKG a radiologickým vyšetřením hrudníku, jícnu a tlustého střeva (Rassi *et al.*, 2012). Pacienti s neurčitou formou onemocnění mají vynikající prognózu, a jejich střední délka života je podobná jako u zdravých jedinců (Nunes *et al.*, 2013). Zhruba 30 až 40 % infikovaných pacientů má konečnou formu chronické Chagasovy nemoci a může se u nich rozvíjet postižení orgánů, a to v průběhu 10 až 30 let po prodělání akutní infekce. Jedná se především o kardiomyopatii nebo zvětšení vnitřních orgánů (Rassi *et al.*, 2012; Pérez-Molina and Molina, 2018). U chronicky infikovaných pacientů, kteří mají narušenou

správnou funkci imunitního systému, např. virem lidské imunitní nedostatečnosti (HIV) nebo imunosupresivními léky, může dojít k reaktivaci Chagasovy nemoci. Nejčastějšími projevy reaktive jsou meningoencefalitida a léze centrálního nervového systému (CNS), které připomínají léze mozkové toxoplazmózy (Rassi *et al.*, 2012).

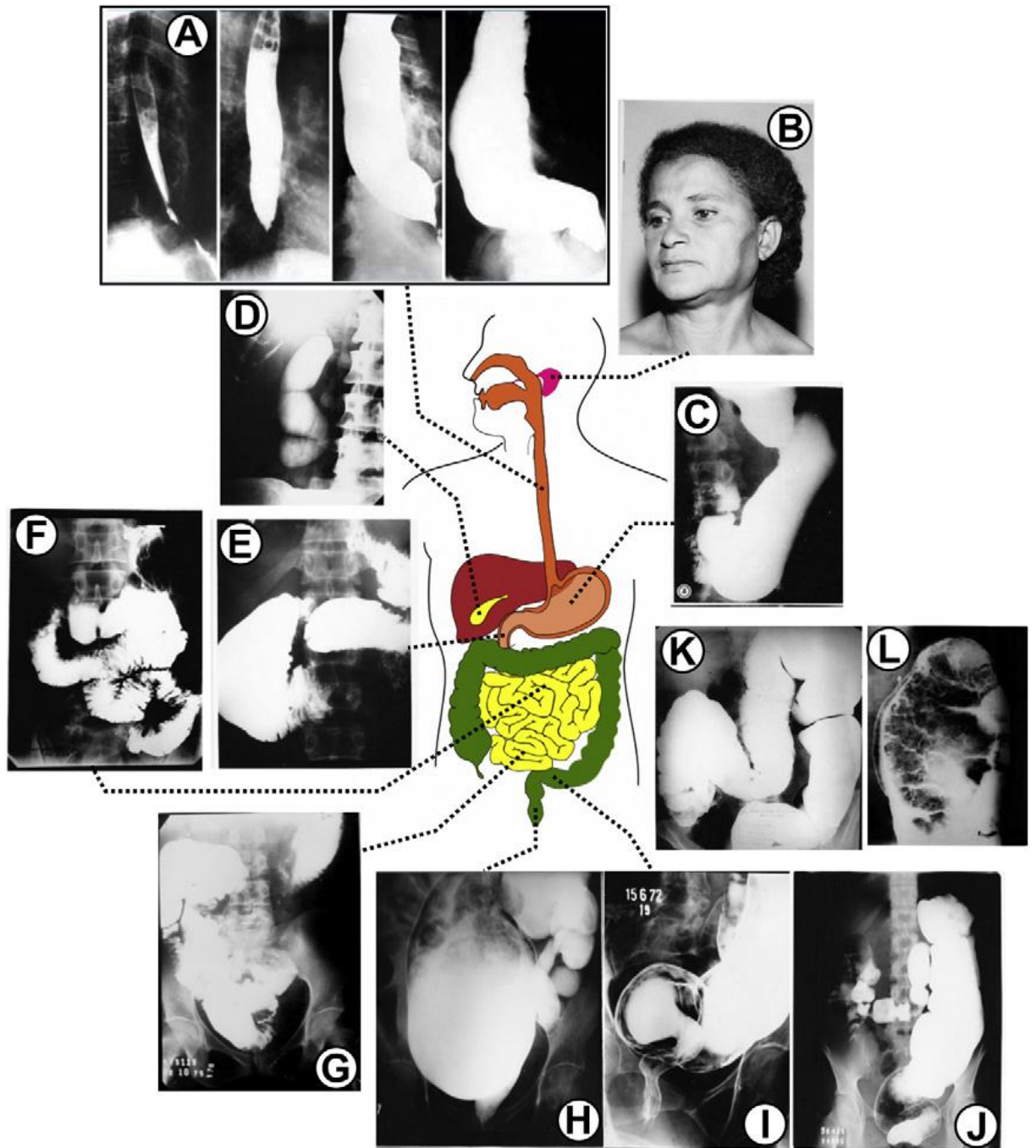
Onemocnění nebo poškození srdce je nejčastějším a také nejzávažnějším klinickým projevem chronické Chagasovy nemoci. Vyskytuje se u 14 až 45 % chronicky infikovaných pacientů a postihuje hlavně převodní systém srdeční a myokard (Pérez-Molina and Molina, 2018). Poškození myokardu v důsledku srdeční Chagasovy nemoci je postupující proces, který lze klasifikovat do stádií A, B, C a D. Stádium A je charakteristické normálním EKG a u pacientů se předpokládá, že mají neurčitou formu onemocnění. Stádium B obsahuje jisté abnormality na EKG, ukazuje na postup onemocnění a předchází vzniku symptomů srdečního selhání, které jsou charakteristické pro stadia C a D (Nunes *et al.*, 2013). Abnormality převodního systému srdečního, zejména raménkové blokády, jsou prvními příznaky srdečního postižení, následované komorovými extrasystolami, komorovou tachykardií, sinusovou bradykardií a srdečním blokem vysokého stupně (Parker and Sethi, 2011; Carabarin-Lima *et al.*, 2013). Dále se u pacientů vyvíjí dysfunkce levé komory, tromboembolické příhody, dilatační kardiomyopatie a postupné městnavé srdeční selhání. V důsledku toho pacienti pociťují palpitaci (bušení srdce), atypickou bolest na hrudi a dochází u nich k poruchám vědomí (Parker and Sethi, 2011). Nejčastější abnormality EKG jsou u pravého raménka a levého předního hemibloku, což je pro srdeční formu Chagasovy nemoci velmi typické. Další abnormality jsou předčasné komorové rytmy, změny ST-T vlny, abnormální vlny Q a nízké napětí QRS. Srdeční selhání je často pozdějším projevem manifestace Chagasovy nemoci (Rassi *et al.*, 2012). U pacientů existuje vysoké riziko náhlého úmrtí, jehož nejčastější příčinou jsou právě srdeční komplikace (Parker and Sethi, 2011). Srdeční selhání způsobené Chagasovou nemocí je spojeno s vyšší smrtností než srdeční selhání z jiných příčin (Rassi *et al.*, 2012). Klinické projevy srdeční formy Chagasovy nemoci jsou zobrazeny na Obrázku 10.



Obrázek 10 – Klinické projevy srdeční formy chronické Chagasovy nemoci (upraveno dle Rassi *et al.*, 2010)

Trávicí forma Chagasovy nemoci je charakteristická změnami v motorických, sekrečních a absorpčních funkcích jícnu a trávicího traktu (Rassi *et al.*, 2012). Dysfunkce se vyvíjí přibližně u 10 až 15 % chronicky infikovaných pacientů a vyplývají z poškození autonomních ganglií, které vedou k poruchám cévního zásobení tubulárních struktur trávicího traktu (Rassi *et al.*, 2010; Hemmige *et al.*, 2012). Variabilní klinický průběh trávicí formy chronické Chagasovy nemoci je způsoben jednak odlišnostmi v populaci parazitů, ale také zánětlivou reakcí a imunitní odpovědí hostitelského organismu (de Oliveira *et al.*, 2015). Léze střevního nervového systému jsou klíčové v patogenezi syndromů trávicí formy Chagasovy nemoci. Nejčastěji zasaženou strukturou je myenterický plexus, též Auerbachův plexus, který se nachází mezi podélnou a kruhovou svalovou vrstvou trávicího traktu. K poškození neuronů tohoto plexu dochází většinou v akutní fázi infekce, ale v chronické fázi nastává jejich pomalá ztráta. Ztráta inervace probíhá v různé míře, je nepravidelná a nesouvislá, a je pravděpodobně

ovlivněna jak samotným parazitem, tak organismem hostitele. Jícen a distální tlusté střevo jsou z důvodu své fyziologie nejčastěji ohroženými částmi trávicího traktu (Rassi *et al.*, 2012). Mezi dysfunkce patří především trvale zvětšený jícen (megaesofagus) nebo megakolon, tedy porucha průchodnosti tlustého střeva způsobená nehybností určitého úseku. Megaesofagus v závažných případech způsobuje poruchy polykání, bolest v jícnu a regurgitaci, dále se vyskytuje bolest v epigastriu, nadměrné slinění a s postupem nemoci i podvýživa (Rassi *et al.*, 2010). Pro potvrzení diagnózy a určení stádia onemocnění je nezbytné radiologické vyšetření jícnu. U pacientů s trvale zvětšeným jícnem se navíc vyskytuje vyšší riziko vzniku rakoviny jícnu (Rassi *et al.*, 2012). Megakolon se vyznačuje přetrvávající zácpou a může vést až k zauzlení a ischemii střev. Esovitá klička a konečník jsou rozšířeny téměř ve všech případech megakolonu, zatímco rozšíření více proximálních segmentů tlustého střeva je vzácné. U pacientů s megakolonem nebylo zjištěno zvýšené riziko vzniku rakoviny tlustého střeva a konečníku (Pérez-Molina and Molina, 2018). Prodloužená retence stolice v sestupném tračníku vede k tvorbě fekalomu (impaktované tuhé stolici), který může být diagnostikován pouhou palpací břicha pacienta jako elastický nádor. Rektální vyšetření odhalí fekalom v rektální ampuli. Dvanáctník, je po jícnu a tlustém střevě další část trávicího traktu, která nejčastěji vykazuje zvětšení. Naproti tomu zvětšení lačnicku nebo kyčelníku je velmi vzácné (Rassi *et al.*, 2012). Dalšími příznaky, které se vyskytují u trávicí formy Chagasovy nemoci, jsou poruchy vyprazdňování žaludku, snížená adaptivní relaxace žaludku, změny elektrického rytmu žaludku, chronická gastritida, hypertrofie pylorického svalu, změny střevní průchodnosti a poruchy funkce žlučníku (Rassi *et al.*, 2012; Carabarin-Lima *et al.*, 2013). Klinické projevy trávicí formy chronické Chagasovy nemoci jsou zobrazeny na Obrázku 11.



Obrázek 11 - Klinické projevy trávicí formy chronické Chagasovy nemoci (převzato z Rassi *et al.*, 2010). (A) – Megaesofagus (skupiny I, II, III a IV); (B) – Zvětšené žlázy u pacienta s megaesofagem; (C) – Zvětšený žaludek sdružený s megaesofagem skupiny IV; (D) - Zvětšený žlučník; (E) – Zvětšený dvanáctník; (F) – Zvětšený lačník; (G) – Zvětšený kyčelník; (H) – Zvětšený konečník; (I) – Zvětšená esovitá klička; (J) – Zvětšený sestupný tračník; (K) – Celkový megakolon; (L) – Fekalom.

4.3.3 Patogeneze

Chagasova nemoc představuje proliferativní a perzistentní onemocnění, k čemuž přispívá celá řada faktorů. Jedním z nich, který hraje velmi významnou roli, je sociálně-ekonomický faktor, a to včetně chudoby a nevyhovujících podmínek pro bydlení ve venkovských oblastech Latinské Ameriky. Nicméně k rozvoji onemocnění přispívají také jedinečné biologické vlastnosti *T. cruzi*, včetně velkého počtu savčích rezervoárů, genetické heterogenity parazita a složité kaskády interakcí *T. cruzi* s hostitelskými buňkami (Parker and Sethi, 2011).

Poškození orgánů a tkání během akutní infekce *T. cruzi* je způsobeno jednak samotným parazitem, ale i akutní imunitní zánětlivou reakcí organismu hostitele, která je vyvolána přítomností parazita (Rassi *et al.*, 2010). Počáteční infekce v místě vstupu *T. cruzi* do organismu je charakteristická přítomností infekčních trypomastigot v leukocytech a buňkách podkožních tkání. Mezi další typické znaky patří vznik intersticiálního edému, lymfocytární infiltrace a reaktivní hyperplazie sousedních lymfatických uzlin. Po rozšíření *T. cruzi* v organismu, ke kterému dochází přes lymfatický systém a krevní oběh, se parazité koncentrují zejména ve svalech a gangliových buňkách (Rassi *et al.*, 2012). Intracelulární shluky amastigot se nacházejí především v srdeční a kosterní tkáni, hladkých svalech, v CNS, gonádách a mononukleárním fagocytárním systému (MFS), a tvoří zde charakteristické pseudocysty (Rassi *et al.*, 2012; Pérez-Molina and Molina, 2018). Výsledkem je intenzivní zánětlivá odpověď s aktivní produkcí protilátek a aktivací vrozené imunity Th-1 lymfocytů. Dochází k produkci specifických cytosinů jako je tumor nekrotizující faktor alfa (TNF- α), interferon gama (IFN γ) a interleukin 12 (IL-12), které jsou důležité při kontrole parazitismu (Rassi *et al.*, 2010; Pérez-Molina and Molina, 2018). Imunitní odpověď Th-1 lymfocytů má ochrannou roli hlavně díky produkci oxidu dusnatého, který má silný trypanocidní účinek (Rassi *et al.*, 2010).

Během chronické fáze určuje průběh onemocnění rovnováha mezi přetrváváním infekce a imunitní odpovědí hostitele (Pérez-Molina and Molina, 2018). Pokud je imunologická odpověď neúčinná nebo paradoxně vede k poškození tkáně, zvyšuje se parazitní zátěž i tvorba zánětu. Naproti tomu správně provedená imunitní reakce, při které se snižuje parazitní zátěž a minimalizují zánětlivé důsledky, vede ke snížení poškození tkáně (Rassi *et al.*, 2010). Nejčastěji postižený orgán u jedinců s chronickou fází nemoci je srdce. Změny zahrnují ztenčení komorových stěn, biventrikulární zvětšení, apikální aneurysma a nástěnné tromby. Rozšířená destrukce kardiomyocytů, fibróza, otok, lymfocytární infiltrace myokardu a zjizvení převodního systému srdečního jsou často velmi dobře patrné, ale nález parazitů v tkáni

myokardu histologickými metodami je už obtížnější (Rassi *et al.*, 2012). Zánětlivé prostředí způsobené produkcí cytokinů a dalších cytotoxických mechanismů vedou k poškození tkáně, a nakonec až k těžké kardiomyopatii (Pérez-Molina and Molina, 2018).

4.4 Diagnostika

Volba vhodné diagnostické metody se odvíjí od fáze Chagasovy nemoci. V akutní fázi onemocnění, kdy parazité cirkulují v krevním řečišti, lze Chagasovu nemoc diagnostikovat přímou mikroskopií. V tomto případě jsou trypanomastigoti identifikováni na nátěru periferní krve. Konečnou diagnózu během akutní fáze onemocnění mohou poskytnout metody založené na polymerázové řetězové reakci (PCR) (Barfield *et al.*, 2011; Parker and Sethi, 2011).

V chronické fázi onemocnění, vzhledem ke snížení množství parazitů v periferní krvi, je detekce parazitů pomocí přímé mikroskopie nebo metod na principu PCR nespolehlivá. Z tohoto důvodu musí být diagnóza chronické Chagasovy nemoci provedena sérologicky, a to potvrzením přítomnosti anti-*T. cruzi* imunoglobulinů G (IgG) (Malik *et al.*, 2015). K potvrzení protilátek však musí být použity alespoň dva odlišné serologické testy (Parker and Sethi, 2011).

4.4.1 Diagnostika akutní fáze Chagasovy nemoci

Diagnostika akutní a vrozené formy Chagasovy nemoci se provádí přímou mikroskopickou detekcí trypanomastigot v krvi, příležitostně i v jiných tělních tekutinách, např. v mozkomíšním moku (Pérez-Molina and Molina, 2018). Mikroskopické vyšetření nesrážlivé krve nebo buffy coatu je nejjednodušším způsobem jak zachytit pohyblivé trypanomastigoty (Rassi *et al.*, 2012). Parazity lze pozorovat buď přímým vyšetřením čerstvé krve, nebo na krevních nátěrech obarvených dle Giemsky. Citlivost těchto metod se pohybuje v rozmezí 34 až 85 %. Zařazením koncentračních metod, jakými jsou mikrohematokrit nebo centrifugace, lze zvýšit diagnostickou výťažnost metod na více než 95 % (Pérez-Molina and Molina, 2018). Mikroskopickou detekci *T. cruzi* v periferní krvi a svalové buňce zobrazují Obrázky 12A, 12B a 12C. Další možnou diagnostickou metodou je inokulace krve do speciálních médií nebo myší. Nicméně tento postup nemusí být vždy přínosný pro aktuální průběh léčby akutní fáze onemocnění, neboť parazité se mohou objevit až za několik týdnů (Hemmige *et al.*, 2012). K identifikaci vrozené infekce se používá výhradně metoda hematokritu z důvodu její vysoké citlivosti a potřebě malého množství krve k vyšetření. Vyšetření pupečnickové krve nebo periferní krve novorozenců touto technikou se doporučuje během prvního měsíce života (Rassi *et al.*, 2010). Jsou-li výsledky počátečního testování

negativní, provádí se sérologické testování v 9. a 12. měsíci života (Parker and Sethi, 2011). Pokud existuje podezření na akutní infekci u imunodeficitního pacienta, je nutné vyšetřit tkáň. *T. cruzi* může být pozorována v perikardiální tekutině, kostní dřeni, mozku, kůži nebo v lymfatických uzlinách (Hemmige *et al.*, 2012).

Mezi nepřímé parazitologické metody patří PCR, která je citlivější než mikroskopické vyšetření nebo xenodiagnostika, a ukázala se jako velmi důležitá při diagnostice infekce způsobené přenosem z matky na dítě (Rassi *et al.*, 2010; Pérez-Molina and Molina, 2018). Metody založené na PCR mohou navíc poskytnout definitivní diagnózu Chagasovy nemoci během akutní fáze onemocnění. Nicméně, stejně jako přímá mikroskopie, jsou tyto metody omezeny množstvím parazitů v periferní krvi (Parker and Sethi, 2011). U pacientů s kožními lézemi, zejména v případě reaktivace Chagasovy nemoci, je diagnóza stanovena pomocí biopsie. Histologické vyšetření obvykle odhaluje hustý lymfohistiocytický infiltrát ve škáře a pokožce spolu s četnými intracelulárními amastigoty, které obsahují neobvyklé kinetoplasty a jsou přítomny v kožních makrofázích (Parker and Sethi, 2011).



12A

12B

12C

Obrázek 12A – Replikující se forma epimastigot v krevní kultuře (barvení dle Giemsa) (upraveno dle Bern *et al.*, 2019)

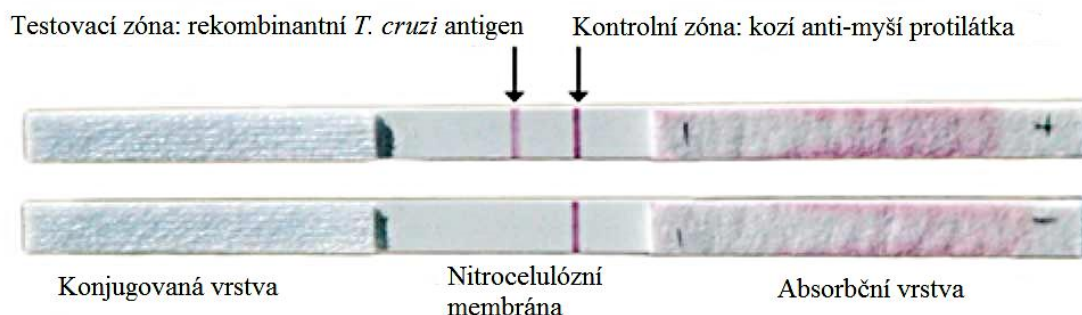
Obrázek 12B – Trypomastigot v nátěru periferní krve pacienta s akutní infekcí (barvení dle Giemsa) (upraveno dle Bern *et al.*, 2019)

Obrázek 12C – Hnízdo amastigot v srdečním myocyty u pacienta s chronickou Chagasovou chorobou (obarveno hematoxylinem a eosinem) (upraveno dle Bern *et al.*, 2019)

4.4.2 Diagnostika chronické fáze Chagasovy nemoci

Diagnostika chronické formy Chagasovy nemoci se provádí pomocí sérologické detekce protilátek IgG proti *T. cruzi*. Sérologické techniky jsou založeny na celých parazitárních antigenech a vyčištěných extraktech (konvenční testy) a na rekombinačních antigenech a syntetických peptidech (nekonvenční testy) (Pérez-Molina and Molina, 2018). Pro detekci protilátek lze využít různé metody. Nejčastěji se jedná o nepřímou hemaglutinaci, nepřímou imunofluorescenci (IF) a enzymově značenou imunoanalýzu s využitím pevné fáze (ELISA) (Malik *et al.*, 2015). Žádná z těchto metod však samostatně nemá dostatečnou citlivost a specifitu, aby mohla být použita pro stanovení konečné diagnózy. Proto musí být vždy současně používány dvě různé metody, aby byla zajištěna dostatečná přesnost diagnostiky (Bern *et al.*, 2007; Parker and Sethi, 2011; Rassi *et al.*, 2012). Sérologické testy se široce používají nejen pro klinickou diagnostiku a pravidelnou kontrolu darované krve, ale i v epidemiologických studiích (Hemmige *et al.*, 2012). Vzhledem k tomu, že PCR vykazuje vyšší citlivost než jiné parazitologické metody, používá se v případě neprůkazné sérologie, a také jako pomocná metoda při sledování průběhu léčby. PCR může identifikovat selhání léčby v důsledku pozitivní detekce DNA *T. cruzi*, ale již neposkytne informace o úspěšnosti léčby. Ani opakované negativní výsledky PCR nemusí znamenat, že došlo k vyléčení. V nejlepším případě takové výsledky ukazují na nepřítomnost parazitární DNA v okamžiku provedení testu (Rassi *et al.*, 2012).

Metoda ELISA sice vykazuje vysokou citlivost a specifitu, ale k této technologii většina pacientů žijících v chudých příměstských a venkovských oblastech nemá přístup. Naopak jednou z dostupných a široce používaných technik je imunochromatografický proužkový test, který slouží k detekci antigenů a protilátek, a je použitelný pro mnoho různých typů vzorků. Slouží k diagnostice Chagasovy nemoci v oblastech bez přístupu k dostatečně vybaveným klinickým laboratořím. Tyto testy jsou cenově dostupné, poskytují rychlé výsledky a téměř nevyžadují jakoukoli úpravu vzorku (Barfield *et al.*, 2011). Příklad imunochromatografického proužkového testu je zobrazen na Obrázku 13.



Obrázek 13 – Imunochromatografický proužkový test PATH-Lemos (upraveno dle Barfield *et al.*, 2011)

Při diagnostice chronické fáze Chagasovy nemoci poskytuje EKG počáteční důkaz srdečního postižení, i když jsou jeho nálezy nespecifické (Malik *et al.*, 2015). Pacienti s abnormalitami v EKG nebo se srdečními potížemi by měli podstoupit komplexní vyšetření srdce, včetně 24hodinového Holterova sledování, echokardiografie, zátěžového testu pro detekci arytmií a posouzení funkční kapacity a rentgen hrudníku (Parker and Sethi, 2011; Rassi *et al.*, 2012). EKG může prokázat jak strukturální, tak funkční změny v raných stádiích postižení srdce, včetně abnormalit pohybu stěny a diastolické dysfunkci (Malik *et al.*, 2015).

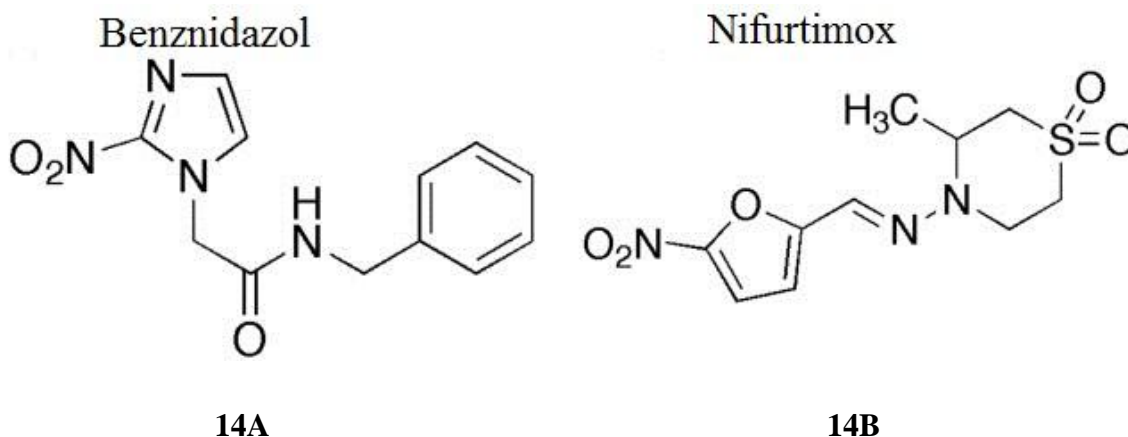
U pacientů se symptomy svědčícími o postižení trávicího traktu jsou nejčastějšími diagnostickými postupy polykání barya nebo baryový klystýr. Provedení baryového klystýru tlustého střeva se doporučuje vzhledem k tomu, že megakolon a zvětšený konečník se mohou objevit u téměř 20 % asymptomatických pacientů (Pérez-Molina and Molina, 2018). Po požití barya by měly být pořízeny snímky po 10 sekundách a poté po 5 a 10 minutách. Pokud jsou výsledky po požití barya neprůkazné, provádí se manometrie jícnu, která může odhalit jemnější změny (Bern *et al.*, 2007). Mezi příznaky, které indikují postižení trávicího traktu při chronické formě Chagasovy nemoci, patří chybějící peristaltika anebo refluxní choroba jícnu zjištěná manometrií jícnu, dále zjištění pomalého průchodu, retence kontrastu, dilatace jícnu nebo megaesofagu při polykání barya a nález megakolonu metodou baryového klystýru (Pérez-Ayala *et al.*, 2011).

4.5 Léčba

Cílem léčby je vyléčit akutní infekci, předcházet poškození orgánů při chronické infekci a zabránit úmrtí, jakmile dojde k manifestaci klinických příznaků (Rassi *et al.*, 2012). Léčba Chagasovy nemoci zahrnuje jednak specifickou antiparazitní terapii, tak i pomocnou terapii pro léčbu srdečního selhání (Nunes *et al.*, 2013). Léčba trypanocidními léčivy se vždy doporučuje pro všechny akutní, vrozené a reaktivované infekce, a dále pro pacienty s chronickým onemocněním, kteří jsou mladší 18 let (Rassi *et al.*, 2010; Pérez-Molina and Molina, 2018). U chronicky infikovaných pacientů ve věku 19 až 50 let, kteří nevykazují známky pokročilého srdečního postižení, by se měla trypanocidní léčba důkladně zvážit, neboť přestože může zpomalit šíření chronické infekce, stále zůstává předmětem zkoumání (Parker and Sethi, 2011; Nunes *et al.*, 2013). U pacientů starších 50 let musí být přínos léčby oproti potencionálnímu riziku toxicity použitého přípravku vždy posouzen individuálně. Nicméně je důležité zvážit fakt, že trypanocidní léčiva mohou u dospělých zpomalit postup nemoci, nebo dokonce zabránit vzniku kardiomyopatie (Parker and Sethi, 2011). Naopak trypanocidní léčba by neměla být indikována těhotným ženám a pacientům se závažnou ledvinovou nebo jaterní nedostatečností. Obecně by pak léčba neměla být nabízena pacientům s pokročilou srdeční formou chronické Chagasovy nemoci nebo pacientům s megaesofagem, kteří mají narušenou funkci polykání (Rassi *et al.*, 2010).

4.5.1 Trypanocidní léčiva

V současné době jsou pro léčbu Chagasovy nemoci dostupné nitroheterocyklické sloučeniny benznidazol a nifurtimox (Hemmige *et al.*, 2012; Nunes *et al.*, 2013). Obě sloučeniny jsou základem parazitární léčby již více než 50 let, ačkoli jejich bezpečnostní profil ani účinnost není zdaleka ideální (Pérez-Molina and Molina, 2018). Vysoké, téměř 100% účinnosti při léčbě Chagasovy nemoci obě léčiva dosahují pouze v případě, pokud se podají v rané fázi infekce, tedy na počátku akutní fáze. Účinnost obou přípravků se snižuje, čím déle je pacient infikován (Vardanyan and Hruby, 2016). Obě dvě léčiva vyžadují dlouhou dobu podávání a jejich použití s sebou nese značné riziko vedlejších účinků. Z těchto důvodů je nezbytné pacienta v průběhu terapie pečlivě sledovat (Nunes *et al.*, 2013). Chemické struktury benznidazolu a nifurtimoxu jsou znázorněny na Obrázcích 14A a 14B.



Obrázek 14A – Chemická struktura benznidazolu (upraveno dle Barrett and Croft, 2012)

Obrázek 14B – Chemická struktura nifurtimoxu (upraveno dle Barrett and Croft, 2012)

Benznidazol byl rozsáhle zkoumán klinickými studiemi, a vzhledem ke kratší době léčby a příznivějšímu charakteru vedlejších účinků ve srovnání s nifurtimoximem, je považován za lék první volby (Parker and Sethi, 2011; Rassi *et al.*, 2012). Benznidazol má značnou aktivitu během časně a akutní fáze infekce *T. cruzi* (Pérez-Molina and Molina, 2018). Doporučuje se, aby byl benznidazol podáván perorálně jednou denně po dobu 60 dnů, a to v dávce 5 až 7 mg/kg pro dospělé a 10 mg/kg pro děti (Bermudez *et al.*, 2016). Před zahájením léčby se u pacientů provede vyšetření celkového krevního obrazu, stanoví se jaterní profil a je provedeno sérologické vyšetření. Během léčby se pak u pacientů vyšetřuje celkový krevní obraz každé dva týdny (Hemmige *et al.*, 2012). Vyléčení je dosaženo téměř u všech pacientů s vrozeným onemocněním, které je léčeno během prvního roku života, a u 76 % pacientů s akutní formou onemocnění. Míra vyléčení chronické formy onemocnění je však mnohem nižší, u dětí do 13 let věku se pohybuje mezi 60 a 93 %, u dospělých je ještě nižší, a to v rozmezí 2 až 40 % (Pérez-Molina and Molina, 2018). Terapie benznidazolem je spojena s celou řadou nežádoucích účinků, přičemž nejčastěji se vyskytuje fotocitlivá, silně svědicí dermatitida. Mezi méně závažné obtíže dále patří poruchy chuti, nespavost, nevolnost, zvracení a úbytek hmotnosti. Ze závažných nežádoucích účinků byl hlášen výskyt syndromu přecitlivělosti, patologické zvětšení lymfatických uzlin a exfoliativní dermatitidy. Naopak neuropatie a deprese kostní dřeně jsou považovány za vzácné. Některé z méně závažných nežádoucích účinků na léčivo lze zmírnit podáváním antihistaminik anebo kortikosteroidů. V případě závažných nežádoucích účinků musí být léčba neprodleně přerušena (Parker and Sethi, 2011; Pérez-Molina and Molina, 2018).

V případě přerušení léčby benznidazolem kvůli jeho nepříznivým účinkům představuje nifurtimox relativně bezpečnou volbu pro sekundární terapii (Pérez-Molina and Molina, 2018). Doporučené denní dávky pro dospělé jsou 8 až 10 mg/kg ve třech rozdělených dávkách. Dětem je denně podáváno 15 až 20 mg/kg ve čtyřech rozdělených dávkách. Délka léčby se pohybuje mezi 60 až 90 dny, v některých případech je ji ale nutné prodloužit až na 120 dní (Hemmige *et al.*, 2012; Bermudez *et al.*, 2016). Nejběžnějšími vedlejšími účinky, které jsou spojeny s terapií nifurtimoxem jsou trávicí poruchy zahrnující hubnutí, nevolnosti, zvracení a bolesti břicha. Běžně se ale vyskytují i neurologické poruchy, a to včetně změn nálad a periferní neuropatie (Parker and Sethi, 2011; Hemmige *et al.*, 2012). U pacientů se po 4 až 6 týdnech léčby a následně po jejím dokončení provádí vyšetření krevního obrazu, stanovuje se jaterní profil a je provedeno serologické vyšetření. Každé dva týdny by měla být u pacientů zaznamenána hmotnost a vyšetřena přítomnost či nepřítomnost periferní neuropatie (Hemmige *et al.*, 2012).

4.5.2 Léčba srdeční formy chronické Chagasovy nemoci

Při léčbě srdeční formy chronické Chagasovy nemoci je hlavním terapeutickým cílem prevence náhlé smrti. Ta je obvykle způsobena komorovou fibrilací, které může, nebo nemusí předcházet komorová tachykardie (Nunes *et al.*, 2013). Stanovuje se míra rizika náhlé srdeční smrti a potenciálně účinná a život zachraňující léčba, která zahrnuje léky k prevenci a léčbě srdečního selhání, kardiostimulátory a transplantaci srdce (Rassi *et al.*, 2010). U pacientů s pokročilou srdeční formou chronické Chagasovy nemoci poskytuje použití kardiostimulátorů a implantovaných kardioverterů-defibrilátorů účinnou ochranu před arytmiemi a náhlou zástavou srdce (Parker and Sethi, 2011). Léčivo amiodaron může zvýšit přežití u pacientů s vysokým rizikem syndromu náhlé arytmiické smrti, a může být doporučeno jako léčba pro pacienty s trvalou nebo neudržitelnou komorovou tachykardií a myokardiální dysfunkcí (Pérez-Molina and Molina, 2018). Transplantace srdce je alternativou pro pacienty s kardiomyopatií v konečné fázi chronické Chagasovy nemoci (Rassi *et al.*, 2012). Značnou komplikací u příjemce transplantátu je však možná reaktivace infekce *T. cruzi* v důsledku dlouhodobé imunosupresivní terapie (Nunes *et al.*, 2013).

4.5.3 Léčba trávicí formy chronické Chagasovy nemoci

Trávicí příznaky jsou často léčeny symptomaticky s cílem usnadnit polykání, zmírnit zácpu a fekální impakci (hromadění zatvrdlé stolice v tlustém střevě) (Parker and Sethi, 2011). Počáteční stádium dysfunkce tlustého střeva může být léčeno bohatou stravou a dostatečným příjmem tekutin, projímadly a příležitostnými klystýry. Fekální impakce, která může nastat

v průběhu onemocnění, vyžaduje ruční vyprazdňování v celkové anestézii (Rassi *et al.*, 2010). V závažných případech, jako je např. megasyndrom, je nezbytná endoskopická nebo chirurgická léčba (Pérez-Molina and Molina, 2018). Léčba megaesofagu je zaměřena na zmírnění příznaků a na pomoc při průchodu potravy a tekutin přes poškozený dolní jícnový svěrač (Rassi *et al.*, 2010). Isosorbit dinitrát a nifedipin vyvolávají uvolnění dolních jícnových svěračů, nicméně léčba je spojena s řadou nežádoucích účinků a její působení po čase zcela vymizí. Tento druh terapie je proto využíván pouze jako dočasné řešení při čekání na konečnou léčbu, ke které se nejčastěji používají dva léčebné postupy, a to pneumatická dilatace balónem a laparoskopická myotomie. Endoskopická injekce botulotoxinu v oblasti svěrače je schopna zmírnit příznaky u pacientů s idiopatickou achalázií a megaesofagem, avšak doba trvání dosaženého účinku je omezená pouze na měsíce (Pinazo *et al.*, 2010; Rassi *et al.*, 2010).

4.6 Prevence

Vzhledem k tomu, že vůči Chagasově nemoci neexistuje žádná vakcína, je primární prevence zaměřena především na kontrolu vektorového přenosu, pravidelné kontroly dárců krve a orgánů a správné postupy v oblasti bezpečnosti potravin (Rassi *et al.*, 2010; Esch and Petersen, 2013; Pérez-Molina and Molina, 2018).

Prevence vrozeného přenosu spočívá především ve včasné diagnostice onemocnění a zahájení terapie před vlastním početím (Esch and Petersen, 2013). Léčba chronicky infikovaných žen před těhotenstvím sice nezaručuje jejich vyléčení, ale snižuje riziko vrozeného přenosu (Rios *et al.*, 2019). U již těhotných žen, které jsou infikovány *T. cruzi*, neexistuje žádná prevence vrozeného přenosu, která by nevedla k úmrtí plodu z důvodu potenciálních toxických účinků současně dostupné terapie (Esch and Petersen, 2013). Důležitá je taktéž pravidelná kontrola dětí narozených infikovaným matkám (Parker and Sethi, 2011).

Zvýšení životního standardu lidí žijících v endemických oblastech by mohlo výrazně omezit šíření Chagasovy nemoci. Jedním z vhodných řešení může být náhrada klasických hliněných chatrčí s palmovými listy, které slouží jako výborná skrýš pro ploštice, moderními zděnými budovami, jenž pro ně naopak nepředstavují dobré útočiště (Votýpka *et al.*, 2018). Pro prevenci je taktéž důležitá pravidelná aplikace insekticidů v domech a jejich okolí a používání ochranných sítí (Parker and Sethi, 2011). Cestovatelé by se měli vyvarovat spánku v chatrčích nebo hliněných obydlích, které mohou být zamořeny triatominovými vektory, používat repelenty proti hmyzu a vyhýbat se potenciálně kontaminovaným ovocným nebo třtinovým džusům, především od pouličních prodejců (Pérez-Molina and Molina, 2018).

Díky podrobným znalostem o imunitní odpovědi hostitelské buňky vůči invazi *T. cruzi* se předpokládá, že úspěšná vakcína musí vyvolat lytickou protilátkovou odpověď, tedy konkrétně produkci cytokinů a cytotoxických T-lymfocytů (Rios *et al.*, 2019). Obecně se uznává, že vakcína by měla obsahovat antigeny vůči všem parazitickým stádiím *T. cruzi* a měla by být využitelná nejenom v rámci profylaxe, ale i terapie. Vůči řízené infekci byla sledována účinnost různých parazitárních antigenů (Rios *et al.*, 2019). Mezi antigeny sledované pro rekombinační vakcíny patří trans-sialidáza, cysteinová proteináza a amastigotové povrchové proteiny. Rozsáhlé preklinické studie využívají řadu podjednotkových vakcín, které obsahují živé oslabené parazity, rekombinační bílkoviny, DNA nebo virové vektory s různou skladbou pomocných látek a nosičů od cytokinů, agonistů toll-like receptoru nebo nanočástic. U některých z těchto testovaných preparátů byla prokázána schopnost kontrolovat infekci vyvolanou *T. cruzi* u myši (dos Santos Virgilio *et al.*, 2014; Dumonteil *et al.*, 2019). Některé z těchto přípravků byly testovány jako preventivní vakcíny, jiné jako terapeutické vakcíny, které jsou schopny přesměřovat imunitní odpověď, aby se zvýšila její účinnost při kontrole parazitů u infikovaného hostitele. Dále byla u několika vakcínových produktů prokázána schopnost snížit množství parazitů v periferní krvi a parazitární zátěž v srdeční tkáni infikovaných zvířat. Na základě těchto poznatků bylo zřízeno konsorcium veřejného a soukromého sektoru, jehož cílem je vývoj terapeutické vakcíny proti Chagasově nemoci (Dumonteil *et al.*, 2019).

5 Epidemiologie, geografické rozšíření a kontrola Chagasovy nemoci

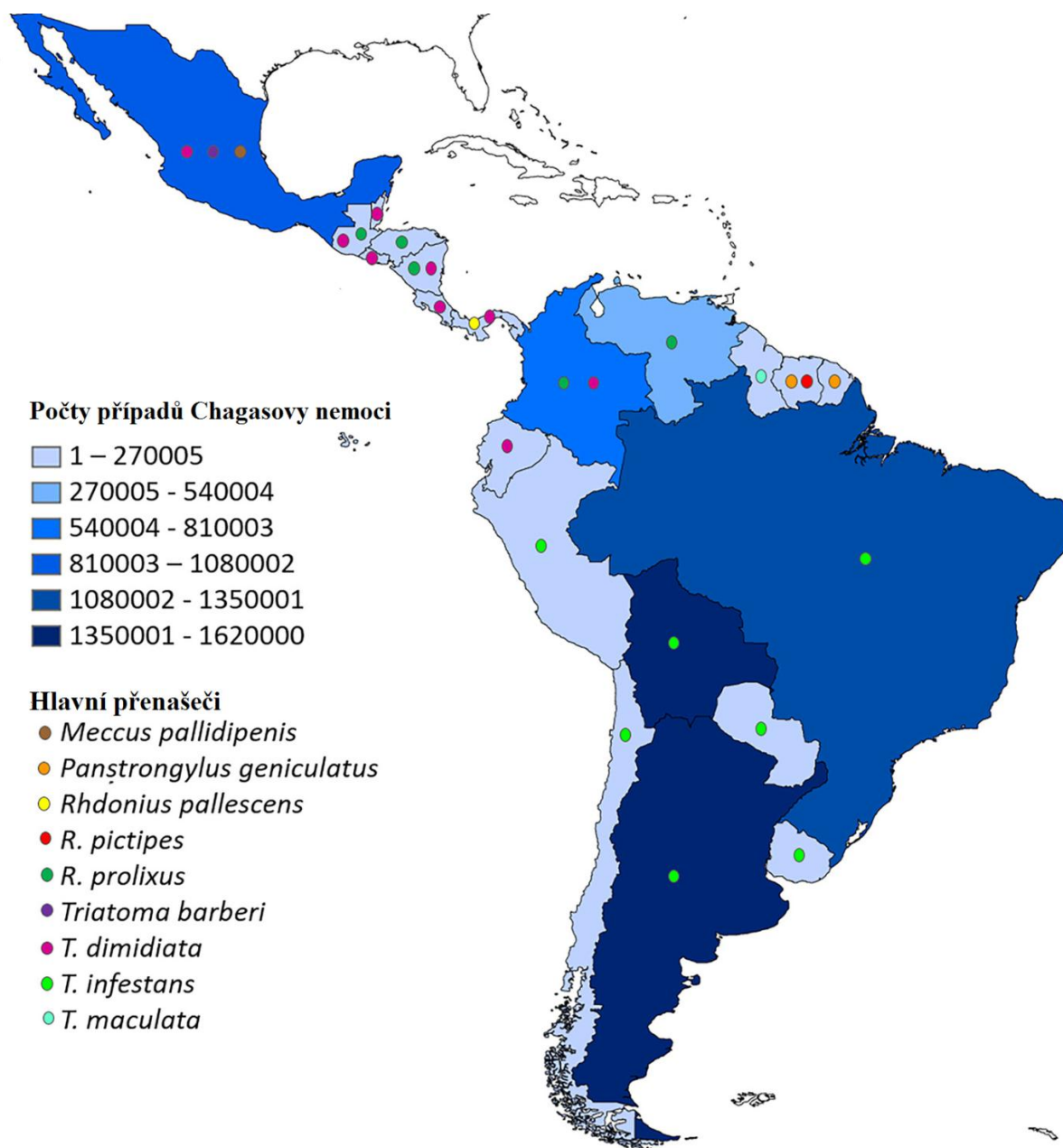
Historicky je výskyt Chagasovy nemoci spjat s chudou venkovskou populací v Mexiku, Střední a Jižní Americe (Parker and Sethi, 2011). Venkovské oblasti Latinské Ameriky jsou svým chudým charakterem předurčeny ke snadnému přenosu onemocnění a vysoké nemocnosti populace, neboť zde panují nedostatečné životní podmínky, které prospívají vektorům a vedou k obrovské promořenosti daných oblastí. Onemocnění se však stále častěji objevuje i ve velkých městech Latinské Ameriky, což je do značné míry důsledkem urbanizace a migrace venkovských obyvatel do průmyslových měst země za účelem hledání zaměstnání (Parker and Sethi, 2011; Rassi *et al.*, 2012; Carabarin-Lima *et al.*, 2013). Nicméně k rozšíření Chagasovy nemoci do dříve nepostížených oblastí napomohlo i dárčovství krve a vrozený přenos z infikovaných matek na jejich děti (Pérez-Molina and Molina, 2018). Ovšem z obecného hlediska lze právě migraci chronicky nemocných jedinců do velkých měst v Latinské Americe i mimo ni považovat za faktor, který vytvořil z Chagasovy nemoci problém veřejného zdraví celosvětového měřítko (Rassi *et al.*, 2012).

Chagasova nemoc je endemická ve 21 kontinentálních latinskoamerických zemích, od jižní části USA po sever Argentiny a Chile (Nunes *et al.*, 2013; Pérez-Molina and Molina, 2018). To koreluje s výskytem *T. cruzi*, který je omezen na Jižní Ameriku, Střední Ameriku a část Severní Ameriky. Naopak Karibské ostrovy jsou nákazy Chagasovou nemocí prosté (Rassi *et al.*, 2012).

Naprostá většina z 6 až 7 milionů lidí s diagnózou Chagasovy nemoci žije v Latinské Americe. Nicméně dalších 71 miliónu lidí v celé Americe je nemocí ohroženo, neboť jsou denně vystavováni přímému kontaktu s vektory. Právě vektorový přenos představuje v endemických zemích hlavní mechanismus přenosu (Flores-Ferrer *et al.*, 2018; Pérez-Molina and Molina, 2018; Rios *et al.*, 2020). Geografické rozložení počtu případů Chagasovy nemoci a hlavních přenašečů ve Střední a Latinské Americe je znázorněno na Obrázku 15.

Nejvyšší prevalence Chagasovy choroby je v Bolívii (6,1 případů na 100 obyvatel), Argentině (3,6), Ekvádoru (1,4), El Salvadoru (1,3) a Guatemale (1,2) (Pérez-Molina and Molina, 2018). V Bolívii se onemocnění vyskytuje v mnoha geografických oblastech země. Z tohoto důvodu zde byla zavedena rozsáhlá kontrolní opatření zaměřená jednak na odstranění vektorů pomocí insekticidů, ale i na kontrolu dárců krve a těhotných žen (Salm and Gertsch,

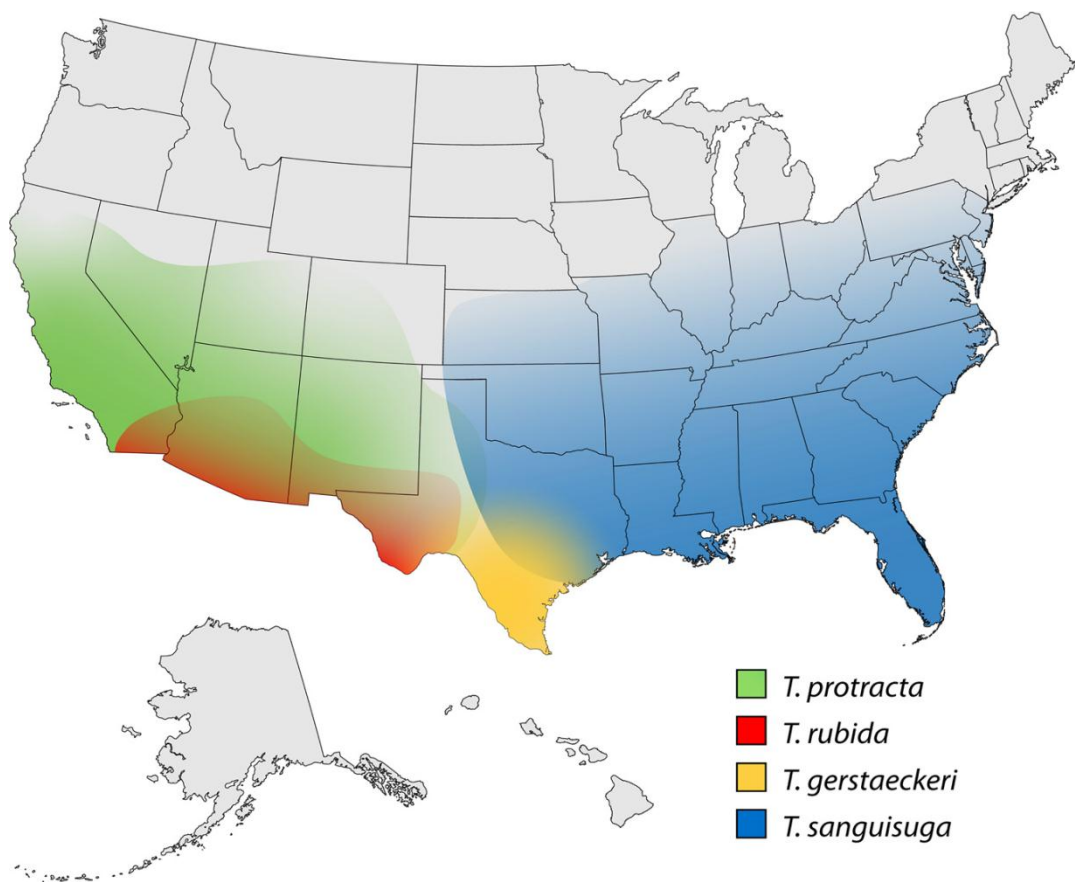
2019). V Argentině je cílem eliminovat výskyt hlavního vektoru *Tr. infestans*, a to pomocí postřiků pyreteroidními insekticidy a provádět pravidelné kontroly dárců krve. Zavedená opatření dokázala omezit výskyt a geografické rozšíření *Tr. infestans* ve většině oblastí, a tím i prevalenci americké trypanosomiázy. Nicméně v ekoregionu Gran Chaco, který se rozkládá na území jižní Bolívii, severovýchodní Argentiny a na částech Paraguaye, nadále zůstává promořenost vektorem a vektorový přenos na vysoké úrovni (Cardinal *et al.*, 2018; Bern *et al.*, 2019). V Paraguayi vedlo použití chemických regulačních činidel a entomologický dohled k výraznému snížení míry zamoření obydlí *Tr. infestans* a výskytu Chagasovy nemoci v endemických oblastech (Russomando *et al.*, 2017). Ekvádor byl jednou z prvních zemí, která zavedla přísná opatření ohledně Chagasovy nemoci. Díky zavedeným kontrolám byla výrazně snížena úroveň zamoření v pobřežních oblastech (Dumonteil *et al.*, 2016). Ve velké části Guatemaly došlo téměř k úplné eliminaci *R. prolixus*, který byl nejvýznamnějším vektorem v zemi. V El Salvadoru se nejrizikovější regiony nacházejí v západních oblastech Santa Ana, Achuachapán a Sonsonate, ovšem i v těchto místech byl *R. prolixus* z velké části vyloučen. Nicméně stále se zde nachází *Tr. dimidiata*, který je daleko náročnější na kontrolu než *R. prolixus* a pravděpodobně způsobuje většinu akutních případů onemocnění (Peterson *et al.*, 2019). V Mexiku je celkem 18 endemických oblastí, které se nacházejí na jihovýchodě země a ve všech případech se jedná o venkovské oblasti. Nejvyšší prevalence Chagasovy nemoci se však vyskytuje v severovýchodní části země a v centrální oblasti tropického regionu, který zahrnuje státy Hidalgo, San Luis Potosí, Veracruz a Tamaulipas (Carabarin-Lima *et al.*, 2013).



Obrázek 15 – Geografické rozložení počtu případů Chagasovy nemoci a hlavních přenašečů ve Střední a Latinské Americe (upraveno dle de Fuentes-Vicente *et al.*, 2018).

Do USA migrovalo odhadem 18 milionů rodáků z Mexika, Střední a Jižní Ameriky, čímž došlo k nárůstu případů Chagasovy nemoci (Parker and Sethi, 2011; Malik *et al.*, 2015). Odhaduje se, že v současnosti žije v USA nejméně 300 000 lidí infikovaných *T. cruzi*, což USA řadí na sedmé místo v počtu jedinců infikovaných *T. cruzi* na západní polokouli (Parker and Sethi, 2011; Malik *et al.*, 2015; Pérez-Molina and Molina, 2018). Ačkoli byly v USA zahájeny pravidelné kontroly dárců krve a orgánů, u předchozích příjemců krevních transfuzí a orgánů stále existuje riziko rozvoje Chagasovy nemoci, a to i bez historie cestování do endemických oblastí (Hemmige *et al.*, 2012). V USA se vyskytují dva hlavní vektory, první z nich

je *Triatoma sanguisuga*, který je rozšířen v Texasu na pobřeží Atlantiku a na sever od Illinois. Druhým vektorem je *Triatoma protracta*, který se vyskytuje v oblastech od Texasu po Kalifornii (Bern *et al.*, 2019). Nicméně vektorový přenos je v USA vzácný, a to z důvodu lepších životních podmínek, které výrazně snižují riziko kontaktu mezi přenašečem a člověkem (Bern *et al.*, 2011). Kromě toho jsou severoameričtí přenašeči relativně málo infikováni *T. cruzi*, a často se vyprazdňují až 30 minut nebo déle po sání krve, čímž se snižuje efektivita sterkorálního přenosu na hostitele (Bern *et al.*, 2011; Rassi *et al.*, 2012). Geografické rozložení čtyř nejčastěji se vyskytujících triatominových druhů v USA znázorňuje Obrázek 16.



Obrázek 16 – Geografické rozložení čtyř nejčastěji se vyskytujících triatominových druhů v USA (převzato z Bern *et al.*, 2019)

V posledních dvou desetiletích došlo k rozsáhlé migraci lidí latinskoamerického původu nejenom do USA, ale také do Evropy, Kanady, Austrálie, Japonska a na Nový Zéland. To vedlo ve zvýšení výskytu *T. cruzi* v těchto zemích a Chagasova nemoc se zde stala závažným zdravotním problémem (Basile *et al.*, 2011; Rios *et al.*, 2020). V zemích, kde není výskyt Chagasovy choroby endemický, je za šíření infekce zodpovědný mimovektorový přenos (Jackson *et al.*, 2014).

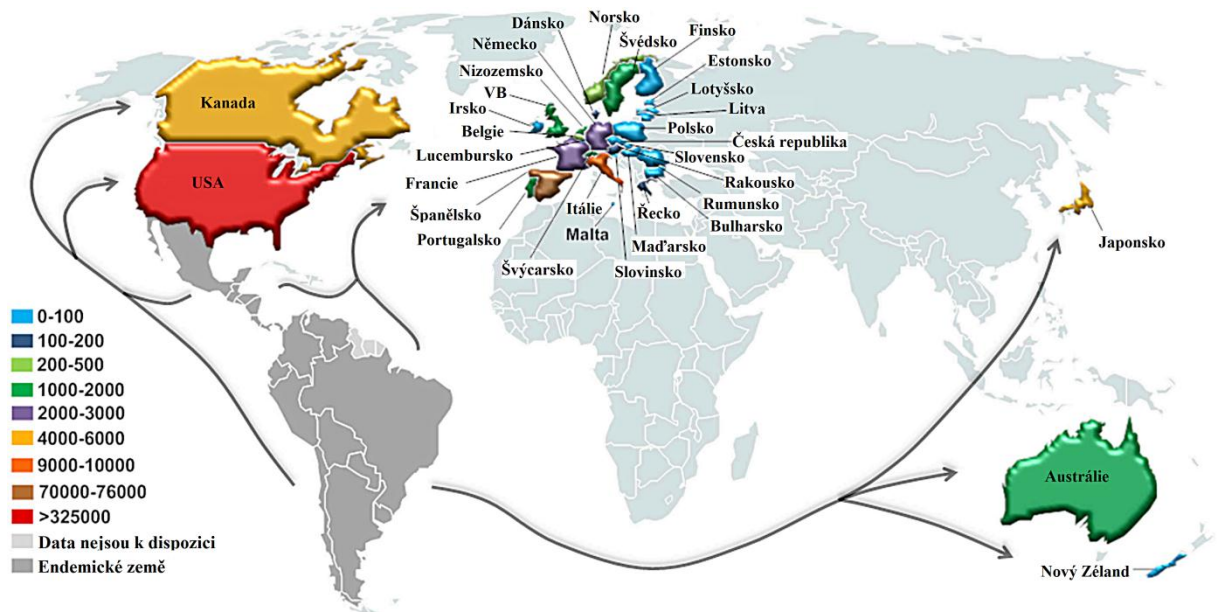
V Evropě je většina migrantů z oblastí endemického výskytu Chagasovy nemoci soustředěna ve Španělsku, Itálii, Francii, Velké Británii a Švýcarsku (Rios *et al.*, 2020). V Evropě je celkový počet migrantů z Latinské Ameriky odhadován na více než 3,5 milionu, přičemž u 77 000 až 100 000 z těchto migrantů se předpokládá, že jsou infikováni *T. cruzi* (Liu and Zhou, 2015). Zdaleka největší populace takto infikovaných přistěhovalců žije ve Španělsku. Většina z nich pochází z Ekvádoru, Argentiny, Bolívie a Peru (Rassi *et al.*, 2012). Sérologické studie příležitostně prováděné v Evropě zjistily, že prevalence *T. cruzi* u přistěhovalců pocházejících z Latinské Ameriky je 4,2 %. Nejvyšší míra výskytu infekce, a to 18,1 %, byla ale zaznamenána u přistěhovalců z Bolívie (Rios *et al.*, 2020). Současný odhadovaný počet přistěhovalců s infekcí *T. cruzi* v neendemických zemích je znázorněn na Obrázku 17.

Ve většině evropských zemí téměř chybí programy pro kontrolu a léčbu Chagasovy nemoci (Rios *et al.*, 2020). Nicméně evropské země s velkou populací latinskoamerických přistěhovalců již začaly zavádět opatření k zabránění přenosu Chagasovy nemoci prostřednictvím krevních transfúzí. Evropská legislativa navíc zabraňuje lidem s potvrzenou diagnózou darovat krev. Bohužel u většiny infikovaných jedinců probíhá onemocnění asymptomaticky a lidé si ho nejsou vědomi (Rassi *et al.*, 2012). Ve Španělsku, Itálii, Velké Británii a Francii je povinná kontrola dárců krve z Latinské Ameriky. Ve Švédsku a Portugalsku je dokonce dárcovství krve u přistěhovalců z endemických oblastí zakázáno (Liu and Zhou, 2015; Rios *et al.*, 2020).

V Kanadě je přítomno odhadem 157 000 latinskoamerických migrantů, z nichž je asi 5 500 infikováno *T. cruzi*. Převážná většina z nich pochází z Kolumbie, Argentiny a El Salvadoru (Lidani *et al.*, 2019). V Austrálii neustále roste počet obyvatel latinskoamerického původu, jejich počet je odhadován na 116 000 lidí, z nichž je asi 3 000 infikováno *T. cruzi* (Hemmige *et al.*, 2012; Jackson *et al.*, 2014; Liu and Zhou, 2015). Většina migrantů pochází především z Chile, Brazílie, Argentiny a Kolumbie (Jackson *et al.*, 2014). Na Novém Zélandu podle odhadů žije asi 82 lidí infikovaných *T. cruzi* z celkových 3 500 latinskoamerických migrantů pocházejících většinou z Bolívie, Brazílie a Chile (Lidani *et al.*, 2019). V Japonsku je odhadována přítomnost asi 372 000 migrantů, z nichž jsou infikovány asi 4 000 (Liu and Zhou, 2015; Lidani *et al.*, 2019).

Žádná země západního Pacifiku nemá ve zdravotnictví příslušná opatření pro systematickou identifikaci jedinců ohrožených infekcí *T. cruzi*. Neexistuje žádný program

pro pravidelnou kontrolu těhotných žen v ohrožení, jejich dětí a zbytku rodiny v případě pozitivních výsledků v jiné zemi. Žádné národní doporučení se netýká testování dárců krve a orgánů nebo osob se současnou a předpokládanou imunosupresí s rizikem reaktivace infekce (Jackson *et al.*, 2014).



Obrázek 17 – Současný odhadovaný počet přistěhovalců s infekcí *T. cruzi* v zemích bez endemického výskytu Chagasovy choroby (upraveno dle Lidani *et al.*, 2019).

6 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo popsat Chagasovu nemoc a parazitického prvoka *Trypanosoma cruzi*, který je jejím původcem.

První část práce je věnována rodu *Trypanosoma*, jeho obecné charakteristice a nejběžnějším zástupcům tohoto rodu. Největší část je věnována popisu *T. cruzi*, její morfologii, a především jejímu životnímu cyklu, který patří mezi nejsložitější. Práce popisuje jednotlivá vývojová stádia parazita a cestu vývoje v bezobratlém vektoru a následně v lidském hostiteli. V životním cyklu *T. cruzi* probíhá několik důležitých interakcí mezi parazitem a hostitelskou buňkou, kterými jsou adheze, internalizace a transformace v parazitoformní vakuolu. Tento proces je v práci detailně popsán a doplněn vhodnými ilustracemi.

Druhá část práce je věnována Chagasově nemoci, její obecné charakteristice, mechanismům přenosu, diagnostice, léčbě a prevenci. Klinický průběh Chagasovy nemoci má dvě fáze, akutní a chronickou, které se liší v množství parazitů cirkulujících v krevním řečišti, klinickými příznaky, možnostmi diagnostiky a způsobu léčby. Typickým příznakem akutní infekce je zánětlivé ložisko v místě vstupu parazita do hostitelského organismu, které je klíčové v diagnostice onemocnění. Ve většině případů probíhá akutní onemocnění asymptomaticky, nebo je doprovázeno jen mírnými příznaky, které jsou totožné mnoha jiným chorobám. Mezi použitelné diagnostické metody v akutní fázi onemocnění patří přímá mikroskopická detekce parazitů v krvi, případně i v jiných tělních tekutinách, metoda PCR nebo histologické vyšetření. K léčbě akutní infekce slouží trypanocidní léčiva, jimiž jsou benznidazol a nifurtimox, nicméně léčba může být toxická. U většiny nakažených klinické příznaky vyskytující se v akutní fázi onemocnění spontánně ustoupí, nicméně u 20 až 30 % nemocných může nemoc časem přejít do chronické fáze, při níž dochází k závažnému poškození srdce a trávicího traktu. Dochází k nevratným poškozením srdce, jícnu a tlustého střeva. Diagnostika chronické fáze infekce je ve srovnání s akutní fází daleko obtížnější, neboť vzhledem k nízké hladině parazitů v krevním řečišti nelze použít metodu přímé mikroskopie ani metodu PCR. Proto se v tomto případě provádí sérologická detekce protilátek IgG proti *T. cruzi*. Nejčastějšími metodami k detekci protilátek jsou nepřímá aglutinace, nepřímá IF a ELISA. Nicméně léčebné možnosti chronické Chagasovy nemoci jsou hlavně symptomatické.

Onemocněním je celosvětově postiženo kolem 6–8 miliónu osob. Chagasova nemoc zůstává značným problémem v endemických zemích, a to především v chudých venkovských

oblastech Latinské Ameriky s vysokým stupněm promoření vektory a nedostatečnou zdravotní péčí. K celosvětovému šíření Chagasovy nemoci přispívá zejména migrace nakažených jedinců z endemických oblastí. V neendemických zemích pak často chybí programy pro kontrolu a léčbu Chagasovy nemoci. Navíc vůči Chagasově nemoci v současné době stále není dostupná vakcína.

7 POUŽITÁ LITERATURA

1. ACOSTA, H., BURCHMORE, R., NAULA C., GUALDRÓN-LÓPEZ, M., QUINTERO-TROCONIS, E., CÁCERES, A. J., MICHELS, P. A. M., CONCEPCIÓN, J. L., QUIÑONES, W. Proteomic analysis of glycosomes from *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. *Molecular and Biochemical Parasitology* [online]. 2019, **229**, s. 62-74 [cit. 2020-02-12]. DOI: 10.1016/j.molbiopara.2019.02.008. ISSN 0166-6851. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166685118302421>
2. AZAMBUJA, P., GARCIA, E. S. *Trypanosoma rangeli* interactions within the vector *Rhodnius prolixus*: a mini review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* [online]. 2005, **100**(5), s. 567-572 [cit. 2020-03-07]. DOI: 10.1590/S0074-02762005000500019. ISSN 0074-0276. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16184237>
3. BARAL, T. N. Immunobiology of African Trypanosomes: Need of Alternative Interventions. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* [online]. **2010** [cit. 2020-02-12]. DOI: 10.1155/2010/389153. ISSN 1110-7243. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2010/389153/>
4. BARFIELD, C. A., BARNEY, R. S., CRUDDER, C. H., WILMOTH, J. L., STEVENS, D. S., MORA-GARCIA, S., YANOVSKY, M. J., WEIGL, B. H., YANOVSKY, J. A Highly Sensitive Rapid Diagnostic Test for Chagas Disease That Utilizes a Recombinant *Trypanosoma cruzi* Antigen. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* [online]. 2011, **58**, s. 814-817 [cit. 2020-02-28]. DOI: 10.1109/TBME.2010.2087334. ISSN 0018-9294. Dostupné z: <http://ieeexplore.ieee.org/document/5601750/>
5. BARRETT, M. P., CROFT, S. L. Management of trypanosomiasis and leishmaniasis. *British Medical Bulletin* [online]. 2012, **104**(1), s. 175-196 [cit. 2020-03-31]. DOI: 10.1093/bmb/lds031. ISSN 0007-1420. Dostupné z: <https://academic.oup.com/bmb/article-lookup/doi/10.1093/bmb/lds031>
6. BARRIAS, E. S., DE CARVALHO, T. M. U., DE SOUZA, W. *Trypanosoma cruzi*: Entry into Mammalian Host Cells and Parasitophorous Vacuole Formation. *Frontiers in Immunology* [online]. 2013, **4** [cit. 2020-02-21]. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00186. ISSN 1664-3224. Dostupné z: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2013.00186/abstract>
7. BASILE, L., JANSÁ, J. M., CARLIER, Y., SALAMANCA, D. D., ANGHEBEN, A., BARTOLONI, A., SEIXAS, J., VAN GOOL, T., CAÑAVATE, C., FLORES-

- CHÁVEZ, M., JACKSON, Y., CHIODINI, P. L., ALBAJAR-VIÑAS, P. Chagas disease in European countries: the challenge of a surveillance system. *Eurosurveillance* [online]. 2011, **16**(37) [cit. 2020-04-12]. DOI: 10.2807/ese.16.37.19968-en. ISSN 1560-7917. Dostupné z: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/ese.16.37.19968-en>
8. BERMUDEZ, J., DAVIES, C., SIMONAZZI, A., PABLO REAL, J., PALMA, S. Current drug therapy and pharmaceutical challenges for Chagas disease. *Acta Tropica* [online]. 2016, **156**, s. 1-16 [cit. 2020-03-31]. DOI: 10.1016/j.actatropica.2015.12.017. ISSN 0001-706X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001706X15301947>
9. BERN, C., MONTGOMERY, S. P., HERWALDT, B. L., RASSI, A., MARIN-NETO, J. A., DANTAS, R. O., MAGUIRE, J. H., ACQUATELLA, H., MORILLO, C., KIRCHHOFF, L. V., GILMAN, R. H., REYES, P. A., SALVATELLA, R., MOORE, A. C. Evaluation and Treatment of Chagas Disease in the United States. *Journal of the American Medical Association* [online]. 2007, **298**(18) s. 2171-2181 [cit. 2020-03-26]. DOI: 10.1001/jama.298.18.2171. ISSN 0098-7484. Dostupné z: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.298.18.2171>
10. BERN, C., KJOS, S., YABSLEY, M. J., MONTGOMERY, S. P. *Trypanosoma cruzi* and Chagas' Disease in the United States. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 2011, **24**(4), s. 655-681 [cit. 2020-04-12]. DOI: 10.1128/CMR.00005-11. ISSN 0893-8512. Dostupné z: <http://cmr.asm.org/cgi/doi/10.1128/CMR.00005-11>
11. BERN, C., MESSENGER, L. A., WHITMAN, J. D., MAGUIRE, J. H. Chagas Disease in the United States: a Public Health Approach. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 2019, **33**(1), [cit. 2020-03-25]. DOI: 10.1128/CMR.00023-19. ISSN 0893-8512. Dostupné z: <http://cmr.asm.org/lookup/doi/10.1128/CMR.00023-19>
12. BETANCUR HURTADO, O. J., JIMENEZ CASTRO, P. D., GIRALDO-RÍOS, C. Reproductive failures associated with *Trypanosoma (Duttonella) vivax*. *Veterinary Parasitology* [online]. 2016, **229**, s. 54-59 [cit. 2020-03-15]. DOI: 10.1016/j.vetpar.2016.09.017. ISSN 0304-4017. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401716303806>
13. CARABARIN-LIMA, A., GONZÁLEZ-VÁZQUEZ, M. C., RODRÍGUEZ-MORALES, O., BAYLÓN-PACHECO, L., ROSALES-ENCINA, J. L., REYES-LÓPEZ, P. A., ARCE-FONSECA, M. Chagas disease (American trypanosomiasis) in Mexico: An update. *Acta Tropica* [online]. 2013, **127**(2), s. 126-135 [cit. 2020-02-28].

- DOI: 10.1016/j.actatropica.2013.04.007. ISSN 0001-706X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001706X13001058>
14. CARDINAL, M. V., SARTOR, P. A., GASPE, M. S., ENRIQUEZ, G. F., COLAIANNI, I., GÜRTLER, R. E. High levels of human infection with *Trypanosoma cruzi* associated with the domestic density of infected vectors and hosts in a rural area of northeastern Argentina. *Parasites and Vectors* [online]. 2018, **11**(1) [cit. 2020-04-06]. DOI: 10.1186/s13071-018-3069-0. ISSN 1756-3305. Dostupné z: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-018-3069-0>
 15. COOPER, C., CLODE, P. L., PEACOCK, C., THOMPSON, R. C. A. Host-Parasite Relationships and Life Histories of Trypanosomes in Australia. *Advances in Parasitology* [online]. 2017, **97**, s. 47-109 [cit. 2020-02-21]. DOI: 10.1016/bs.apar.2016.06.001. ISSN: 0065-308X. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/305747110_Host_Parasite_Relationships_and_Life_Histories_of_Trypanosomes_in_Australia
 16. COURA, J. R. The main sceneries of Chagas disease transmission. The vectors, blood and oral transmissions – A comprehensive review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* [online]. 2015, **110**(3), s. 277-282 [cit. 2020-02-28]. DOI: 10.1590/0074-0276140362. ISSN 0074-0276. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4489464/>
 17. DE FUENTES-VICENTE, J. A., GUTIÉRREZ-CABRERA, A. E., FLORES-VILLEGAS, A. E., LOWENBERGER, C., BENELLI, G., SALAZAR-SCHETTINO, P. M., CÓRDOBA-AGUILAR, A. What makes an effective Chagas disease vector? Factors underlying *Trypanosoma cruzi* –triatomine interactions. *Acta Tropica* [online]. 2018, **183**, s. 23-31 [cit. 2020-02-28]. DOI: 10.1016/j.actatropica.2018.04.008. ISSN 0001-706X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001706X17314158>
 18. DE OLIVEIRA, A. P., BERNARDO, C. R., DE SILVEIRA CAMARGO, A. V., RONCHI, L. S., BORIM, A. A., DE MATTOS, C. C. B., DE CAMPOS JR., E., CASTIGLIONI, L., NETINHO, J. G., CAVASINI, C. E., BESTETTI, R. B., DE MATTOS, L. C., CUNHA-NETO, E. Genetic Susceptibility to Cardiac and Digestive Clinical Forms of Chronic Chagas Disease: Involvement of the CCR5 59029 A/G Polymorphism. *PLoS ONE* [online]. 2015, **10**(11) [cit. 2020-03-19]. DOI: 10.1371/journal.pone.0141847. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0141847>

19. DE SOUZA, W. Basic Cell Biology of *Trypanosoma cruzi*: Host Cell Interaction. *Current Pharmaceutical Design* [online]. 2002, **8**(4), s. 269-285 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.2174/1381612023396276. ISSN 1381-6128. Dostupné z: <http://cmr.asm.org/lookup/doi/10.1128/CMR.00067-12>
20. DE SOUZA, W. An Introduction to the Structural Organization of Parasitic Protozoa. *Current Pharmaceutical Design* [online]. 2008, **14**(9), s. 822-838 [cit. 2020-02-27]. DOI: 10.2174/138161208784041123. ISSN 1381-6128. Dostupné z: <https://search.proquest.com/docview/215125375/41F5572283C44291PQ/1?accountid=17239>
21. DE SOUZA, W. Structural organization of *Trypanosoma cruzi*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* [online]. 2009, **104**(1), s. 89-100 [cit. 2020-02-27]. DOI: 10.1590/S0074-02762009000900014. ISSN 0074-0276. Dostupné z: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762009000900014
22. DE SOUZA, W., DE CARVALHO, T. M. U., BARRIAS, E. S. Review on *Trypanosoma cruzi*: Host Cell Interaction. *International Journal of Cell Biology* [online]. 2010 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.1155/2010/295394. ISSN 1687-8876. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/ijcb/2010/295394/>
23. DE SOUZA, R. T., LIMA, F. M., BARROS, R. M., SANTOS, M. F., CORDERO, E. M., RUIZ, J. C., GOLDENBERG, S., TEIXEIRA, M. M. G., DA SILVEIRA, J. F. Genome Size, Karyotype Polymorphism and Chromosomal Evolution in *Trypanosoma cruzi*. *PLoS ONE* [online]. 2011, **6**(8) [cit. 2020-02-12]. DOI: 10.1371/journal.pone.0023042. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0023042>
24. DOS SANTOS VIRGILIO, F., PONTES, C., DOMINGUEZ, M. R., ERSCHING, J., RODRIGUES, M. M., VASCONCELOS, J. R. CD8 T Cell-Mediated Immunity during *Trypanosoma cruzi* Infection: A Path for Vaccine Development? *Mediators of Inflammation* [online]. 2014, **2014** [cit. 2020-04-03]. DOI: 10.1155/2014/243786. ISSN 0962-9351. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/mi/2014/243786/>
25. DUMONTEIL, E., HERRERA, C., MARTINI, L., GRIJALVA, M. J., GUEVARA, A. G., COSTALES, J. A., AGUILAR, H. M., BRENIÈRE, S. F., WALECKX, E., TANOWITZ, H. B. Chagas Disease Has Not Been Controlled in Ecuador. *PLoS ONE* [online]. 2016, **11**(6) [cit. 2020-04-06]. DOI: 10.1371/journal.pone.0158145. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0158145>

26. DUMONTEIL, E., HERRERA, C., BUEKENS, P. A therapeutic preconceptional vaccine against Chagas disease: A novel indication that could reduce congenital transmission and accelerate vaccine development. *PLoS Neglected Tropical Diseases* [online]. 2019, **13**(1) [cit. 2020-04-03]. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006985. ISSN 1935-2727. Dostupné z: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0006985>
27. ESCH, K. J., PETERSEN, C. A. Transmission and Epidemiology of Zoonotic Protozoal Diseases of Companion Animals: Host Cell Interaction. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 2013, **26**(1), s. 58-85 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.1128/CMR.00067-12. ISSN 0893-8512. Dostupné z: <http://cmr.asm.org/lookup/doi/10.1128/CMR.00067-12>
28. FERMINO, B. R., PAIVA, F., SOARES, P., TAVARES, L. E., VIOLA, L. B., FERREIRE, R. C., BOTERO-ARIAS, R., DE-PAULA, C. D., CAMPANER, M., TAKATA, C. S. A., TEIXEIRA, M. M. G., CAMARGO, E. P. Field and experimental evidence of a new caiman trypanosome species closely phylogenetically related to fish trypanosomes and transmitted by leeches. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* [online]. 2015, **4**(3), s. 368-378 [cit. 2020-02-27]. DOI: 10.1016/j.ijppaw.2015.10.005. ISSN 2213-2244. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213224415300195>
29. FERNANDES, M. C., ANDREWS, N. W. Host cell invasion by *Trypanosoma cruzi*: a unique strategy that promotes persistence. *FEMS Microbiology Reviews* [online]. 2012, **36**(3), s. 734-747 [cit. 2020-02-21]. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2012.00333.x. ISSN 0168-6445. Dostupné z: <https://academic.oup.com/femsre/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6976.2012.00333.x>
30. FLORES-FERRER, A., MARCOU, O., WALECKX, E., DUMONTEIL, E., GOURBIÈRE, S. Evolutionary ecology of Chagas disease; what do we know and what do we need? *Evolutionary Applications* [online]. 2018, **11**(4), s. 470-487 [cit. 2020-04-06]. DOI: 10.1111/eva.12582. ISSN 1752-4563. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/eva.12582>
31. GILLINGWATER, K. In vitro and in vivo efficacy of diamidines against *Trypanosoma equiperdum* strains. *Parasitology* [online]. 2018, **145**(7), s. 953-960 [cit. 2020-03-15]. DOI: 10.1017/S0031182017002098. ISSN 0031-1820. Dostupné z: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0031182017002098/type/journal_article
32. GORLA, D., NOIREAU, F., 2017. Geographic Distribution of Triatominae Vectors in America. In: TELLERIA, J., TIBAYRENC, M., editoři. *American Trypanosomiasis*

- Chagas Disease: One Hundred Years of Research*. 2. vydání. Academic Press, s.197-221. ISBN 978-0-12-801029-7.
33. GUHL, F. Chagas disease in Andean countries. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* [online]. 2007, **102**, s. 29-38 [cit. 2020-03-07]. DOI: 10.1590/S0074-02762007005000099. ISSN 0074-0276. Dostupné z: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762007000900006
 34. GÜRTLER, R. E, DIOTAIUTI, L., KITRON, U. Commentary: Chagas disease: 100 years since discovery and lessons for the future. *International Journal of Epidemiology* [online]. 2008, **37**(4), s. 698-701 [cit. 2020-02-28]. DOI: 10.1093/ije/dyn134. ISSN 0300-5771. Dostupné z: <https://academic.oup.com/ije/article-lookup/doi/10.1093/ije/dyn134>
 35. HAMILTON, P., ADAMS, E., NJIOKOU, F., GIBSON, W., CUNY, G., HERDER, S. Phylogenetic analysis reveals the presence of the *Trypanosoma cruzi* clade in African terrestrial mammals. *Infection, Genetics and Evolution* [online]. 2009, **9**(1), s. 81-86 [cit. 2020-02-27]. DOI: 10.1016/j.meegid.2008.10.011. ISSN 1567-1348. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567134808002165>
 36. HEMMIGE, V., TANOWITZ, H., SETHI, A. *Trypanosoma cruzi* infection: a review with emphasis on cutaneous manifestations. *International Journal of Dermatology*[online]. 2012, **51**(5), s. 501-508 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.1111/j.1365-4632.2011.05380.x. ISSN 0011-9059. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-4632.2011.05380.x>
 37. HERWALDT, B. L., 2017. Protozoa and Helminths. In: WOOLEY, D. P., BYERS, K. B., editoři. *Biological Safety – Principles and Practices*. 5. vydání. Washington, DC: ASM Press, s. 105-145. ISBN 978-1-55-581620-9.
 38. JACKSON, Y., PINTO, A., PETT, S. Chagas disease in Australia and New Zealand: risks and needs for public health interventions. *Tropical Medicine and International Health* [online]. 2014, **19**(2), s. 212-218 [cit. 2020-04-12]. DOI: 10.1111/tmi.12235. ISSN 1360-2276. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/tmi.12235>
 39. KAUFER, A., ELLIS, J., STARK, D., BARRATT, J. The evolution of trypanosomatid taxonomy. *Parasites nad Vectors* [online]. 2017, **10**(1) [cit. 2020-02-27]. DOI: 10.1186/s13071-017-2204-7. ISSN 1756-3305. Dostupné z: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-017-2204-7>
 40. KEMMERLING, U., OSUNA, A., SCHIJMAN, A. G., TRUYENS, C. Congenital Transmission of *Trypanosoma cruzi*: A Review About the Interactions Between the

- Parasite, the Placenta, the Maternal and the Fetal/Neonatal Immune Responses. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2019, **10** [cit. 2020-03-08]. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01854. ISSN 1664-302X. Dostupné z: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2019.01854/full>
41. KOWALSKA, A., KOWALSKI, P., TORRES, M. Á. T. Chagas disease – american trypanosomiasis. *Polish Annals of Medicine* [online]. 2011, **18**(1), s. 156-167 [cit. 2020-02-27]. DOI: 10.1016/S1230-8013(11)70035-2. ISSN 1230-8013. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1230801311700352>
42. KUN, H., MOORE, A., MASCOLA, L., STEURER, F., LAWRENCE, G., KUBAK, B., RADHAKRISHN, S., LEIBY, D., HERRON, R., MONE, T., HUNTER, R., KUEHNERT, M. Transmission of *Trypanosoma cruzi* by Heart Transplantation. *Clinical Infectious Diseases* [online]. 2009, **48**(11), s. 1534-1540 [cit. 2020-03-11]. DOI: 10.1086/598931. ISSN 1058-4838. Dostupné z: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/598931>
43. LANDER, N., CORDEIRO, C., HUANG, G., DOCAMPO, R. Polyphosphate and acidocalcisomes. *Biochemical Society Transactions* [online]. 2016, **44**, s. 1-6 [cit. 2020-02-27]. DOI: 10.1042/BST20150193. ISSN 0300-5127. Dostupné z: <https://portlandpress.com/biochemsoctrans/article/44/1/1/65355/Polyphosphate-and-acidocalcisomes>
44. LIDANI, K. C. F., ANDRADE, F. A., BAVIA, L., DAMASCENO, F. S., BELTRAME, M. H., MESSIAS-REASON, I. J., SANDRI, T. L. Chagas Disease: From Discovery to a Worldwide Health Problem. *Frontiers in Public Health* [online]. 2019, **7** [cit. 2020-04-12]. DOI: 10.3389/fpubh.2019.00166. ISSN 2296-2565. Dostupné z: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpubh.2019.00166/full>
45. LIU, Q., ZHOU, X. Preventing the transmission of American trypanosomiasis and its spread into non-endemic countries. *Infectious Diseases of Poverty* [online]. 2015, **4**(1) [cit. 2020-03-08]. DOI: 10.1186/s40249-015-0092-7. ISSN 2049-9957. Dostupné z: <http://idpjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40249-015-0092-7>
46. LOPES, A. H., SOUTO-PADRÓN, T., DIAS, F. A., GOMES, M. T., RODRIGUES, G. C., ZIMMERMANN L. T., ALVES E SILVA, T. L., VERMELHO, A. B. Trypanosomatids: Odd Organisms, Devastating Diseases. *Open Parasitology Journal* [online]. 2010, **4**(1), s. 30-59 [cit. 2020-02-11]. DOI: 10.2174/1874421401004010030. ISSN 1874-4214. Dostupné z: <http://benthamopen.com/ABSTRACT/TOPARAJ-4-30>

47. MAEDA, F. Y., CORTEZ, C., YOSHIDA, N. Cell signaling during *Trypanosoma cruzi* invasion. *Frontiers in Immunology* [online]. 2012, **3** [cit. 2020-02-21]. DOI: 10.3389/fimmu.2012.00361. ISSN 1664-3224. Dostupné z: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2012.00361/abstract>
48. MALIK, L. H., SINGH, G. D., AMSTERDAM, E. A. The Epidemiology, Clinical Manifestations, and Management of Chagas Heart Disease. *Clinical Cardiology* [online]. 2015, **38**(9), s. 565-569 [cit. 2020-03-17]. DOI: 10.1002/clc.22421. ISSN 0160-9289. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/clc.22421>
49. MASLOV, D. A., OPPERDOES, F. R., KOSTYGOV, A. Y., HASHIMI, H., LUKEŠ, L., YURCHENKO, V. Recent advances in trypanosomatid research: genome organization, expression, metabolism, taxonomy and evolution. *Parasitology* [online]. 2019, **146**(1), s. 1-27 [cit. 2020-02-27]. DOI: 10.1017/S0031182018000951. ISSN 0031-1820. Dostupné z: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0031182018000951/type/journal_article
50. NOIREAU, F. Wild *Triatoma infestans*, a potential threat that needs to be monitored. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* [online]. 2009, **104**, s. 60-64 [cit. 2020-03-07]. DOI: 10.1590/S0074-02762009000900010. ISSN 0074-0276. Dostupné z: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762009000900010
51. NUNES, M. C. P., DONES, W., MORILLO, C. A., ENCINA, J. J., RIBEIRO, A. L. Chagas Disease: An overview of clinical and epidemiological aspects. *Journal of the American College of Cardiology* [online]. 2013, **62**(9), s. 767-776 [cit. 2020-03-17]. DOI: 10.1016/j.jacc.2013.05.046. ISSN 0735-1097. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S073510971302250X>
52. PARKER, E. R., SETHI, A. Chagas Disease: Coming to a Place Near You. *Dermatologic Clinics* [online]. 2011, **29**(1), s. 53-62 [cit. 2020-02-28]. DOI: 10.1016/j.det.2010.08.011. ISSN 0733-8635. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733863510001361>
53. PEACOCK, L., COOK, S., FERRIS, V., BAILEY, M., GIBSON, W. The life cycle of *Trypanosoma (Nannomonas) congolense* in the tse-tse fly. *Parasites and Vectors* [online]. 2012, **5**(1) [cit. 2020-03-15]. DOI: 10.1186/1756-3305-5-109. ISSN 1756-3305. Dostupné z: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-5-109>

54. PÉREZ-AYALA, A., PÉREZ-MOLINA, J. A., NORMAN, F., MONGE-MAILLO, B., FARO, M. V., LÓPEZ-VÉLEZ, R. Gastro-intestinal Chagas disease in migrants to Spain: prevalence and methods for early diagnosis. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* [online]. 2011, **105**(1), s. 25-29 [cit. 2020-03-26]. DOI: 10.1179/136485910X12851868780423. ISSN 0003-4983. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1179/136485910X12851868780423>
55. PÉREZ-MOLINA, J. A., MOLINA, I. Chagas disease. *The Lancet* [online]. 2018, **391**, s. 82-94 [cit. 2020-03-17]. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)31612-4. ISSN 0140-6736. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673617316124>
56. PETERSON, J. K., YOSHIOKA, K., HASHIMOTO, K., CARANCI, A., GOTTDENKER, N., MONROY, C., SALDAÑA, A., RODRIGUEZ, S., DORN, P., ZÚNIGA, C. Chagas Disease Epidemiology in Central America: an Update. *Current Tropical Medicine Reports* [online]. 2019, **6**(2), s. 92-105 [cit. 2020-04-06]. DOI: 10.1007/s40475-019-00176-z. ISSN 2196-3045. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s40475-019-00176-z>
57. PINAZO, M. J., CAÑAS, E., ELIZALDE, J. C., GARCÍA, M., GASCÓN, J., GIMENO, F., GOMEZ, J., GUHL, F., ORTIZ, V., POSADA, E. J., PUENTE, S., REZENDE, J., SALAS, J., SARAVIA, J., TORRICO, F., TORRUS, D., TREVIÑO, B. Diagnosis, management and treatment of chronic Chagas' gastrointestinal disease in areas where *Trypanosoma cruzi* infection is not endemic. *Gastroenterología y Hepatología* [online]. 2010, **33**(3), s. 191-200 [cit. 2020-03-31]. DOI: 10.1016/j.gastrohep.2009.07.009. ISSN 0210-5705. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0210570509004968>
58. RASSI, A. JR., RASSI, A., MARIN-NETO, J. A. Chagas disease. *The Lancet* [online]. 2010, **375**, s. 1388-1402 [cit. 2020-03-11]. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60061-X. ISSN 0140-6736. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014067361060061X>
59. RASSI, A. JR., RASSI, A., MARCONDES DE REZENDE, J. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). *Infectious Disease Clinics of North America* [online]. 2012, **26**(2), s. 275-291 [cit. 2020-02-28]. DOI: 10.1016/j.idc.2012.03.002. ISSN 0891-5520. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891552012000116>

60. RIOS, L. E., VÁZQUEZ-CHAGOYÁN, J. C., PACHECO, A. O., ZAGO, M. P., GARG, N. J. Immunity and vaccine development efforts against *Trypanosoma cruzi*. *Acta Tropica* [online]. 2019, **200** [cit. 2020-04-03]. DOI: 10.1016/j.actatropica.2019.105168. ISSN 0001-706X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001706X19303572>
61. RIOS, L., CAMPOS, E. E., MENON, R., ZAGO, M. P., GARG, N. J. Epidemiology and pathogenesis of maternal-fetal transmission of *Trypanosoma cruzi* and a case for vaccine development against congenital Chagas disease. *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Basis of Disease* [online]. 2020, **1866**(3) [cit. 2020-04-05]. DOI: 10.1016/j.bbadis.2019.165591. ISSN 0925-4439. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092544391930314X>
62. ROJAS, F., MATTHEWS, K. R. Quorum sensing in African trypanosomes. *Current Opinion in Microbiology* [online]. 2019, **52**, s. 124-129 [cit. 2020-03-15]. DOI: 10.1016/j.mib.2019.07.001. ISSN 1369-5274. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1369527418301164>
63. ROSSI, M. A. Chagas heart disease clinical-pathological correlation. *Frontiers in Bioscience* [online]. 2003, **8**, s. 94-109 [cit. 2020-03-18]. DOI: 10.2741/948. ISSN 1093-9946. Dostupné z: <https://www.bioscience.org/2003/v8/e/948/list.htm>
64. RUSSOMANDO, G., COUSIÑO, B., SANCHEZ, Z., FRANCO, L. X., NARA, E. M., CHENA, L., MARTÍNEZ, M., GALEANO, M. E., BENITEZ, L. Chagas disease: national survey of seroprevalence in children under five years of age conducted in 2008. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* [online]. 2017, **112**(5), s. 348-353 [cit. 2020-04-06]. DOI: 10.1590/0074-02760160407. ISSN 0074-0276. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5398161/>
65. SALASSA, B. N., ROMANO, P. S. Autophagy: A necessary process during the *Trypanosoma cruzi* life-cycle. *Virulence* [online]. 2019, **10**(1), s. 460-469 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.1080/21505594.2018.1543517. ISSN 2150-5594. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21505594.2018.1543517>
66. SALM, A., GERTSCH, J. Cultural perception of triatomine bugs and Chagas disease in Bolivia: a cross-sectional field study. *Parasites and Vectors* [online]. 2019, **12**(1) [cit. 2020-04-06]. DOI: 10.1186/s13071-019-3546-0. ISSN 1756-3305. Dostupné z: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-019-3546-0>
67. STEVENS, J. R., NOYES, H. A., DOVER, G. A., GIBSON, W. C. The ancient and divergent origins of the human pathogenic trypanosomes, *Trypanosoma brucei* and

- T. cruzi*. *Parasitology* [online]. 1999, **118**(1), s. 107-116 [cit. 2020-02-27]. DOI: 10.1017/S0031182098003473. ISSN 0031-1820. Dostupné z: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0031182098003473/type/journal_article
68. STEVERDING, D. The history of Chagas disease. *Parasites and Vectors* [online]. 2014, **7**(1) [cit. 2020-02-28]. DOI: 10.1186/1756-3305-7-317. ISSN 1756-3305. Dostupné z: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-7-317>
69. SUGANUMA, K., NARANTSATSRAL, S., BATTUR, B., YAMASAKI, S., OTGONSUREN, D., MUSINGUZI, S. P., DAVAASUREN, B., BATTSETSEG, B., INOUE, N. Isolation, cultivation and molecular characterization of a new *Trypanosoma equiperdum* strain in Mongolia. *Parasites and Vectors* [online]. 2016, **9**(1) [cit. 2020-03-15]. DOI: 10.1186/s13071-016-1755-3. ISSN 1756-3305. Dostupné z: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-016-1755-3>
70. VARDANYAN, R., HRUBY, V., 2016. *Synthesis of Best-Seller Drugs*. 1. vydání. Academic Press. ISBN: 978-0-12-411492-0.
71. VOLF, P., HORÁK, P., 2007. *Paraziti a jejich biologie*. 1. vydání. Praha: Triton. ISBN 978-80-7387-008-9.
72. VOTÝPKA, J., KOLÁŘOVÁ, I., HORÁK, P., 2018. *O parazitech a lidech*. 1. vydání. Praha: Stanislav Juhaňák-Triton. ISBN 978-80-7553-350-0.
73. WIEDEMAR, N., ZWYER, M., ZOLTNER, M., CAL, M., FIELD, M. C., MÄSER, P. Expression of a specific variant surface glycoprotein has a major impact on suramin sensitivity and endocytosis in *Trypanosoma brucei*. *FASEB Bio Advances* [online]. 2019, **1**(10), s. 595-608 [cit. 2020-03-15]. DOI: 10.1096/fba.2019-00033. ISSN 2573-9832. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1096/fba.2019-00033>
74. YARO, M., MUNYARD, K. A., MORGAN, E., ALLCOCK, R. J. N., STEAR, M. J., GROTH, D. M. Analysis of pooled genome sequences from Djallonke and Sahelian sheep of Ghana reveals co-localisation of regions of reduced heterozygosity with candidate genes for disease resistance and adaptation to a tropical environment: infection by kinetoplastids of the genus *Trypanosoma* is related to landscape metrics of habitat edge. *BMC Genomics* [online]. 2019, **20**(1) [cit. 2020-02-11]. DOI: 10.1186/s12864-019-6198-8. ISSN 1471-2164. Dostupné z: <https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-019-6198-8>