

Univerzita Karlova
Pedagogická fakulta

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2017

Dvořáková Adéla

Univerzita Karlova
Pedagogická fakulta
Katedra biologie a environmentálních studií

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Jednobuněčná eukaryota způsobující nákazy člověka
Unicellular Eukaryotes As A Cause of Human Infections Diseases

Adéla Dvořáková

Vedoucí práce: Mgr. Dagmar Říhová

Studijní program: Specializace v pedagogice

Studijní obor: BI – VZ

2017

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Mgr. Dagmar Říhové za odborné vedení a trpělivost, kterou mi věnovala v průběhu mého zpracovávání. Poděkování patří i mým rodičům a přátelům, kteří mne v průběhu mého studia podporovali.

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Jednobuněčná eukaryota způsobující nákazy člověka zpracovala pod vedením vedoucí práce samostatně za použití v práci uvedených pramenů a literatury. Dále prohlašuji, že tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Praze dne 20. července 2017

.....

Podpis

Abstrakt

Tato bakalářská práce představuje rešerši, zaměřenou na jednobuněčné eukaryotické parazity působící lidská onemocnění.

V první části bakalářské práce je rozebírána buněčná a cytoskeletální stavba prvoků. Druhá část je věnována tropickým a střevním jednobuněčným parazitům (plazmodia, trypanozomy, leishmánie a kokcidie) a jejich životním cyklům. Zmíněna je rovněž krátce historie zkoumání a popisu onemocnění; rovněž přenašeči konkrétních chorob.

V poslední části bakalářské práce čtenář nalezne kazuistiku nákazy leishmaniózou u českého pacienta ZP.

Klíčová slova: prvoci, tropický parazit, střevní parazit

Abstract

This bachelor thesis is focused on unicellular eukaryotic parasites causing human protozoan diseases.

First part deals with general cell and cytoskeleton morphology of protozoa. Second part focuses on tropical and intestinal unicellular parasites (from genera *Plasmodium*, *Trypanozoma*, *Leishmania*, and *Coccidia*) and their life cycles. The history of describing protozoan diseases and discovering the way of transmission are also provided.

The thesis is supplemented with case report of leishmaniosis caused by *Leishmania guayanensis*.

Key words: protozoa, tropical parasites, intestinal parasites

Obsah

1	Úvod	8
2	Systematické postavení jednobuněčných	9
3	Buněčná stavba jednobuněčných eukaryot.....	11
4	Cytoskeletární struktury	18
5	Výběr konkrétních prvků.....	22
5.1	Zimničky a malárie.....	22
5.1.1	Stavba buňky	23
5.1.2	Životní cyklus plazmodia	24
5.1.3	Vektoři malárie.....	25
5.1.4	Léčba malárie	26
5.2	Trypanozomy.....	30
5.2.1	Stavba buňky	32
5.2.2	Trypanozomy Africké	33
5.2.3	Americké trypanozomy	36
5.3	Ničivky (leishmanie)	39
5.3.1	Životní cyklus.....	40
5.3.2	Stavba Buňky	41
5.3.3	Vektoři	41
5.3.4	Kožní leishmaniózy.....	42
5.3.5	Viscerální leishmaniózy	43
5.3.6	Kožně slizniční formy	43
5.3.7	Viscerální formy.....	44
5.3.8	Kazuistika.....	45
5.4	Kokcidie	50
5.4.1	Epidemiologie a prevalence	52
5.4.2	Klinický obraz.....	53
5.4.3	Léčba	53
5.4.4	Prevence	54

5.4.5	Svalovka (rod <i>Sarcocystis</i>)	54
5.4.6	Toxoplazmóza obecná (<i>Toxoplasma gondii</i>)	55
	Závěr	61
	Seznam použité literatury.....	62

1 Úvod

Bakalářskou práci zaměřenou na jednobuněčná eukaryota (tzv. prvoky) působící nákazy člověka jsem si vybrala z důvodu velkých otazníků v léčbě onemocnění, což je zapříčiněno důmyslným adaptováním se těchto parazitů na život v člověku.

Studium těchto prvků je velice důležité, ať už za účelem jejich složitého a neustále měnícího se systému, tak za účelem léčby nejrůznějších onemocnění, které u člověka vyvolávají. Pro mou bakalářskou práci jsem si zvolila zimničky, které jsou nebezpečné svými vysokými horečkami, u trypanozom je to spavá nemoc, leishmánie jsou proslulé svými kožními lézemi, a střevní kokcidie, které mohou ovlivňovat i lidskou povahu.

Tropické skupiny prvků jsem zvolila z důvodu mého zájmu o cestování do tropických a subtropických zemí světa, kde se tyto parazité hojně vyskytují a zdejším lidem způsobují nemalé zdravotní potíže. Střeví prvoky jsem ve své bakalářské práci zmínila z důvodu nových objevů, jak na lidský organismus působí.

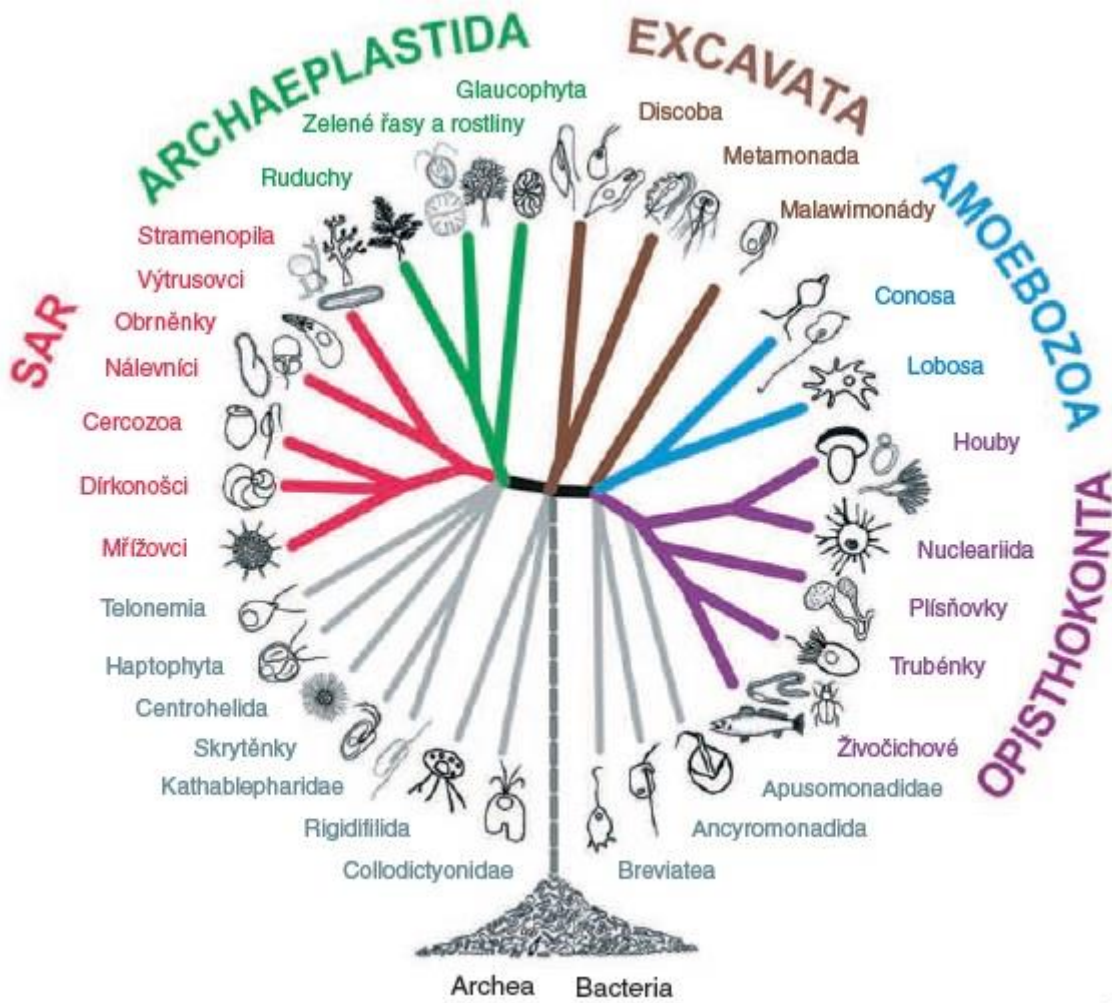
Cílem mé bakalářské práce je rešerše literárních pramenů v oblasti vybraných tropických a střevních jednobuněčných parazitů. Ve své práci jsem se zaměřovala na historii, výskyt, buněčnou stavbu prvoka a následnou léčbu člověka.

2 Systematické postavení jednobuněčných

Aristoteles zde zmiňuje systematiku živočichů v díle *Historia animalium*. Za první ucelený systém se dá pokládat dílo od Carla Linného *Systema natura*, která člení přírodu na tři říše: kameny (Lapises), rostliny (Vegetabile) a živočichy (Animalia). V tomto systému se odráží Linného víra v Boha a tvůrce všeho živého. Hlavním významem tohoto systému je ale zavedením binomické nomenklatury, tedy jednotnému způsobu nazývání organismů pomocí rodového a druhového jména (Mikešová et al., 2016)

Již Linné zaznamenal velké problémy v řazení bakterií a prvoků (tehdy nerozlišitelných) do systému. Velký pokrok v poznávání jednobuněčných organismů umožnil vývoj mikroskopické techniky, kdy v se roce 1632-1723 Antony van Leeuwenhoek zabýval stavbou jednoduchých jednoočkových mikroskopů . Richard Owen vyčlenil pro jednobuněčné organismy ro ku 1858 samostatnou skupinu Protozoa (Mikešová et al., 20016). Výraznou změnu způsobil objev principu elektronové mikroskopie, umožňující použití do té doby nedosažitelných tisícinásobných zvětšení, kterému následovalo zjištění množství v systematice dobře využitelných struktur (ať už povrchových či v případě transmisní elektronové mikroskopie ultrastrukturních). Britský evoluční biolog Thomas Cavalier-Smith v roce 1981 (Smith,1981) představil své pojetí vnitřní systematiky skupiny Eukaryota, které rozdělil na sedm říší: Fungi, Animalia, Biliphyta, Viridiplantae, Euglenozoa, Protista a Chromista. Tento systém byl zajímavý tím, že tyto skupiny byly rozděleny na základě buněčné stavby, nikoli však na způsobu výživy (na kterém je založen značně rozšířený systém Roberta Whittakera (Whittaker 1969). Následně v Cavalier-Smithově systému z roku 1993 dochází k dalším změnám (Smith, 1993). Podle sekvencí rRNA je systém rozdělen na šest eukaryotických říší: Protozoa, Plantae, Animalia, Fungi, Chromista a Archezoa. Do poslední jmenované skupiny byla zařazena anaerobní eukaryota (zdánlivě primárně bez mitochondrie), jako jsou například mikrosporídie, giardie a trichomonády (Roger 1999). Dnes je známo, že skupina Archezoa neexistuje (Mikešová et al., 2016), proto byl systém eukaryot o pět let znovu pozměněn a Archezoa postavena na úroveň podříše v rámci skupiny Protozoa. Velkým problémem v Cavalier-Smithově systému (z roku 1993), byla nepřítomnost monofylie, která zahrnuje společného předka a všechny jeho potomky a je definovaná přítomností sdílenýchspolečných znaků a novinek. Kanadský biolog Sina a kolektiv roku 2005 spolu s českými odborníky představil systém superskupin, avšak i tento koncept po testování jinými

vědeckými skupinami musel být aktualizován (např. Mikešová et al., 2016). Nejnovější systém jednobuněčných eukaryot charakterizuje obrázek 1.



1

Obrázek 1 Nejnovější systém eukaryot. Převzato z práce Mikešové et al., 2016

3 Buněčná stavba jednobuněčných eukaryot

Buňka jednobuněčných eukaryot se například od buňky živočišné nijak zásadně neliší, přesto je třeba si uvědomit, že jednobuněční parazité čelí miliardám hostitelských buněk. Musí tedy čelit imunitní odpovědi. U mnohých skupin můžeme v jejich buňkách pozorovat jisté adaptace, které bych v této kapitole chtěla zmínit.

Každá buňka je obalena **plasmatickou membránou**. Ta je tvořena lipidovou dvojvrstvou, obsahující řadu membránových proteinů, je tenká a světlá (Alberts et al., 1998). U některých prvoků jsou povrchové membrány zmnoženy. Tak např. extracelulární stadia většiny sporozoi mají membrány dvě (Jírovec et al., 1977). Vnější strana membrány je někdy pokryta pláštěm zvaným glykokalyx, který je představován sacharidovými složkami proteoglykanů a polysacharidů. U některých parazitických prvoků je tato složka zesílená. Například rod *Trypanosoma* a malarická plazmodia mohou glykokalyx výrazně obměňovat a tím unikat imunitní odpovědi hostitele (Alberts et al., 2008).

Obvykle se u prvoků nachází jediné **jádro**, u některých skupin (například rod *Giardia*) dochází ke **zdvojení jádra**. V elektronovém mikroskopu představuje jádro nejvýraznější organelu. Je obklopeno dvojitou membránou a s cytosolem komunikuje prostřednictvím jaderných pórů. Součástí jádra je dobře viditelné jadérko (Freeman, 2008). U nálevníků můžeme pozorovat dva typy jader: makronukleus se zapojuje do výživových aktivit v buňce. Mikronukleus zajišťuje reprodukční funkce a může se vyskytovat v buňce vícekrát. Jaderný dualismus (jak je jev běžně označován) je typický právě pro nálevníky. Kromě klasifikace jader dle velikosti se můžeme také setkat i s jinou klasifikací, a to rozdělení na: vezikulární či kompaktní jádra. Nukleoplasma u vezikulárních jader obsahuje tzv. endosomy a karyosomy, které neobsahují DNA. U kompaktních jader můžeme chromozomy pozorovat, a tyto se dále uplatňují například v meioze. Toto označení se používá nejčastěji u druhů, které infikují člověka (Burton et al., 2013).

Endoplasmatické retikulum navazuje na jadernou obálku. Dělí se na drsné endoplasmatické retikulum, na které se vážou ribozomy a probíhá zde proteosyntéza. Na hladkém endoplasmatickém retikulu dochází k syntéze lipidů. Někteří prvoci endoplasmatické retikulum nemají zřetelné, například u parazitické měňavky *Entamoeba histolytica* se jej na ultrastrukturních snímcích nepodařilo nalézt. Analýza genomu této améby však ukázala, že

proteiny typické pro endoplazmatické retikulum a Golgiho aparát se zde nacházejí, a že tudíž obě struktury v buňce přítomny, avšak v redukované, či nezvyklé formě (Hausmann et al., 2003).

Golgiho aparát se vyskytuje u většiny jednobuněčných organismů, s výjimkou některých bičíkatých prvoků (*Chilomastix*, *Diplomonadida*). Aparát se skládá ze soustav sloupečků a měchýřků. Golgiho aparát má výraznou polaritu, která je uplatňována na okrajích této organely. Kde dochází k odškrabování drobných měchýřků. Hlavní funkcí této organely je úprava produktů syntetizovaných ribozomů ribozomy na endoplazmatickém retikulu. Nápadně je vyvinut u řádů *Trichomonadida* a *Hypermastigida*, kde tvoří tzv. parabazální aparát (Karp, 2008).

Lyzosomy jsou váčkovité organely pokryté jednoduchou membránou. V buňce jejich funkce spočívá ve vnitrobuněčném trávení z okolí přijatých látek a v odstraňování opotřebovaných organel (Karp, 2008). Lyzosomy jsou také charakteristické svým vnitřním kyselým prostředím. Obsahují totiž kyselé hydrolázy, které dodávají organely kyselého pH. Tyto „trávicí“ organely mají pH obvykle okolo hodnot 4,0–5,5. Nicméně existují i lyzosomy, které mají neutrální pH. Podle studií je to zapříčiněno kyselinou O-acetylestereovou a glykosylasparaginázou (Butor et al., 1995).

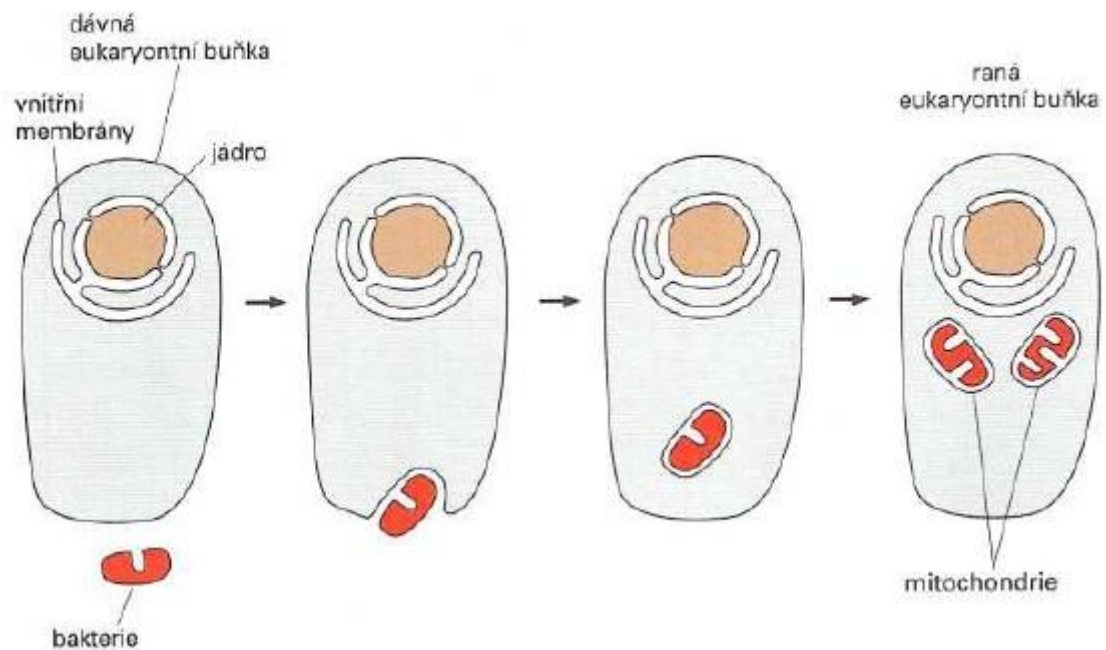
K odstraňování vody z buňky a udržování stabilní osmotické rovnováhy slouží především u volně žijících sladkovodních prvoků **kontraktilní vakuoly**. Jsou to membránové struktury, jež mají osmoregulační funkci (Jíra, 2009). Kontraktilní vakuoly můžeme pozorovat u většiny měňavek, a to například u zástupců rodu *Acanthamoeba*, ale také u zástupců skupiny Ciliophora (tedy nálevníků), konkrétně u parazitického zástupce *Balantidium coli*.

Mitochondrie jsou přítomny prakticky ve všech eukaryotických buňkách, výjimku tvoří skupina nepatogenních prvoků rodu *Monocercomonoides*, kteří mitochondrii sekundárně zcela ztratili (Karnkowska et al., 2015). Mitochondrie jsou membránou ohraničené organely, které převádějí energii do forem ATP, které mohou být použity pro řízení buněčných reakcí. Na vnitřní membráně se nachází mitochondriální krysty, na kterých dochází k tvorbě ATP v dýchacím řetězci. Na mitochondriální matrix je uchycen jeden kruhový chromozóm, tvořený dvoušroubovicí DNA. Jsou zde také přítomné enzymy – acetylkoenzym A, který se v Krebsově cyklu štěpí na redukované koenzymy NADPH+H, FADH₂, které jsou dále využity v dýchacím řetězci na vnitřní membráně mitochondrií (obrázek 3). Původ mitochondrie vysvětluje endosymbiotická teorie, podle které byly delta-proteobakterie

pohlčeny eukaryotní buňkou, ve které přetrvaly a vytvořily si s ní symbiotický vztah (obrázek 1) (Bivort et al., 2007; López-Garcia, Moreira, 2015).



Obrázek 2 Příčný řez mitochondrií. Na obrázku také můžeme vidět zprohýbanou vnitřní membránu, na které probíhá buněčná respirace. Převzato z Alberts et al., 1994.



Obrázek 3 Endosymbioza mitochondrie. Převzato z Albertse, 1996.

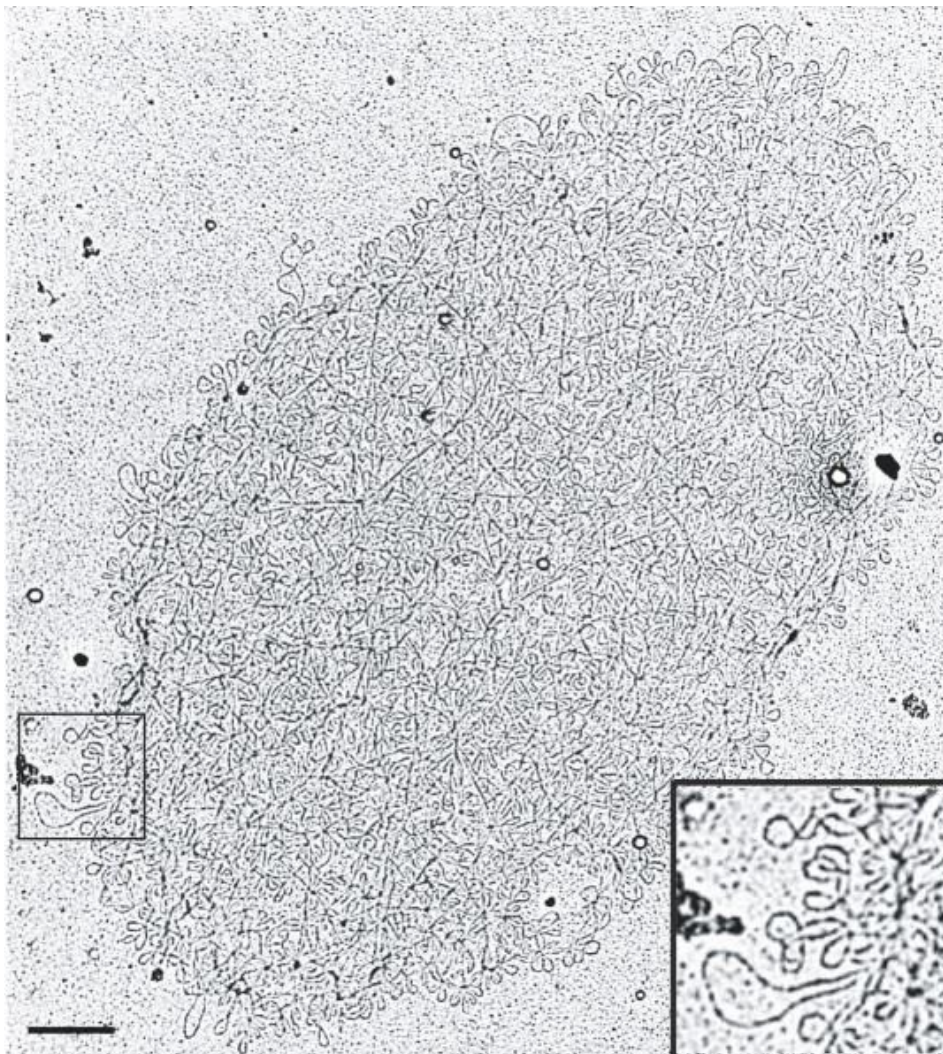
U některých, především anaerobních prvoků, se mitochondrie zdánlivě nevyskytují (jedinou skutečnou výjimkou je výše zmiňovaný prvek rodu *Monocercomonoides*, který je prvním známým sekundárně amitochondriálním organismem (Karnkowska et al., 2015).

V devadesátých letech minulého století (Roger 1999) proto vznikla tzv. hypotéza Archezoa. Zdánlivě amitochondriální jednobuněčná eukaryota byla spojena do jediné vývojové (fylogenetické) větve nazvané Archezoa s domnělým společným předkem, který vznikl před endosymbiotickou událostí, dávající vznik mitochondrii. Mezi Archezoa byli řazeni prvoci ze skupin Fornicata, Parabasalia, Preaxostyla, Microsporidia, Pelobiontida a rod *Entamoeba* (Silberman et al., 2002). Tato hypotéza byla následně zamítnuta, jelikož v jádrech domnělých archezoí byla nalezena DNA mitochondriálního původu. Později se začaly nalézat organely, které jsou od mitochondrie odvozené – hydrogenozómy či mitozómy (Roger et al., 1999; Morrison et al., 2001).

U parazitických prvoků žijících v extrémních podmínkách může docházet k významným změnám mitochondrie. U některých z nich se totiž vyvinuly anaerobní mitochondrie: takové formy této organely, které neprodukují ATP. Například pro skupinu Parabasala s převahou parazitických druhů, které jsou přizpůsobeny k životu v anaerobním, či na kyslík chudém prostředí, je charakteristická přítomnost hydrogenosomu. Tato organela je opatřena dvojitou membránou stejně jako mitochondrie. V dřívější dobách neodhalily, že hydrogenosom obsahuje DNA. Tato organela si ale zachovala genom, který je homologní s mitochondriální DNA (mtDNA) (Müller et. al., 2012). V hydrogenosomech vede metabolismus glykolýzou získaného pyruvátu ke tvorbě ATP, molekulárního vodíku a dalších koncových produktů (Embley, Martin, 2000). Mitosom je organela vyskytující se v buňkách původců průjemových onemocnění měňavky *Entamoeba histolytica*, lamblie *Giardia intestinalis* a mikrosporidií. V mitosomu se rovněž nalézají geny a proteiny mitochondriálního původu, kde dochází ke tvorbě železosírných center. Ostatní funkce zůstávají nejasné.

Kinetoplast je dobře barvitelné tělíčko, které se nachází v mitochondrii u prvoků třídy Kinetoplastidea – česky označovaných jako bičivky či kinetoplastidi. Kinetoplast obsahuje specificky uspořádanou mitochondriální DNA, která se označuje coby kinetoplastová DNA (kDNA) a je typická pro všechny zástupce této vývojové linie. Na rozdíl od jiných typů DNA v buňkách eukaryot, kDNA je organizována do obří sítě propojených kroužků dvou velikostí. Při pozorování pod elektronovým mikroskopem se kDNA podobá kroužkové košili (Vargas-

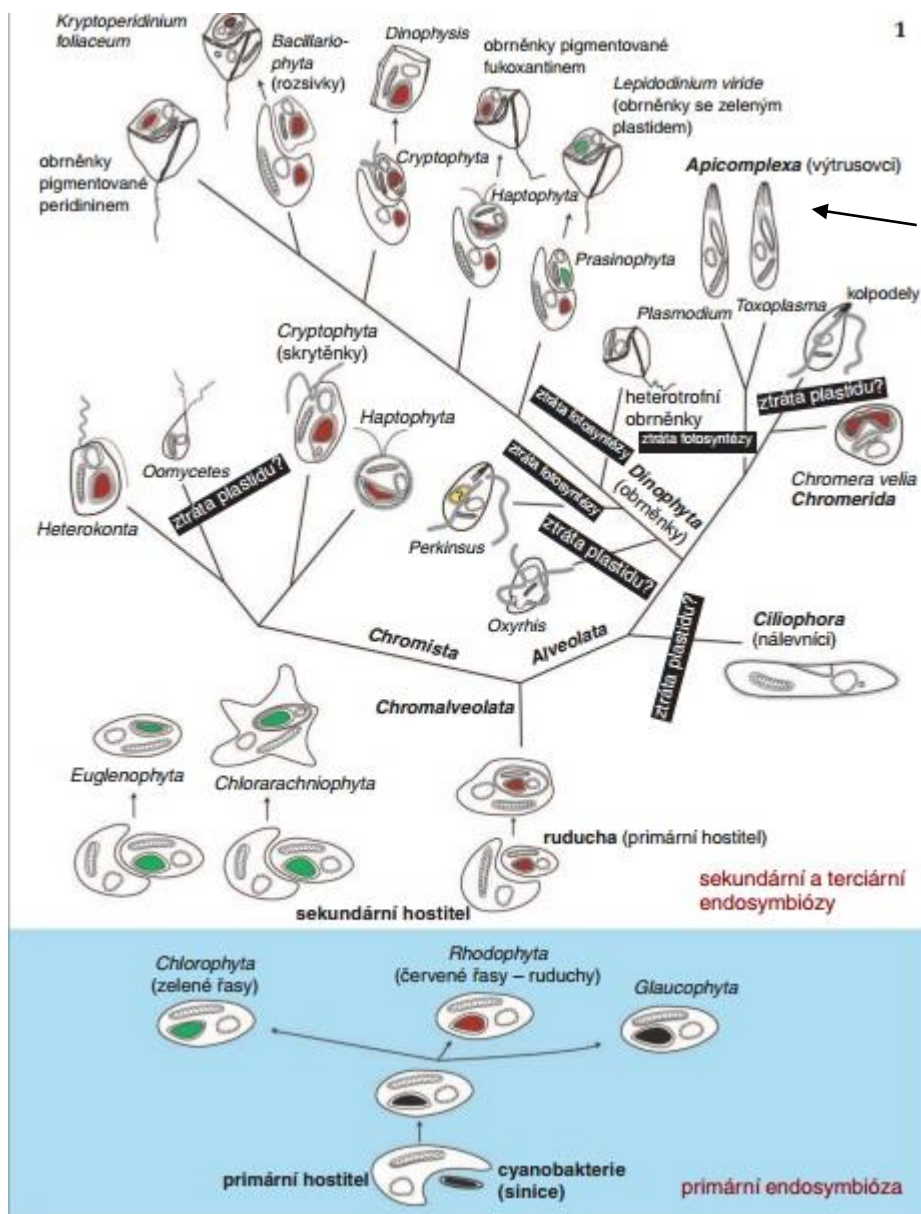
Parada, 2010), (obrázek 4). Kinetoplast se nachází blízko bazálního tělíska (viz Kapitola o cytoskeletu-kapitola 4, strana 17) a protože DNA v něm obsažená se nachází mimo jádro, říká se jí také extranukleární kinetoplastová DNA. Tato DNA je složena ze sítě katenovaných (v konkrétním pořadí propojených) kruhových molekul dvou velikostí. V tzv. minikroužcích jsou zapsány geny kódující zvláštní druh RNA (označovány jsou guide RNA, zkráceně gRNA). Guide RNA opravuje transkripty genů z velkých kruhových molekul (tzv. maxikroužků) v procesu RNA editingu (Volf, Horák a kol. 2007). Pomocí radioaktivního tymidinu a autoradiografie bylo prokázáno, že kinetoplast je samoreplikovatelná organela a její dělení předchází dělení jádra (Vargas-Parada., 2010); jedná se tedy jen o velmi specifický typ mitochondriální DNA.



Obrázek 2 Elektronová mikrofotografie izolované kDNA. Ve zvětšeném čtverci můžeme pozorovat charakteristickou strukturu kDNA. Převzato z Vargas-Parada, 2010.

V následujícím textu se budu zabývat fotosyntetickými a z nich odvozenými plastidy, protože ač je to překvapivé, takové organely se vyskytují i u parazitických prvoků (např. u skupiny Apicomplexa).

Plastidy jsou membránou ohraničené organely, které zastávají různé funkce, od skladování různých látek až po fotosyntézu. Vznik plastidů stejně jako vznik mitochondrií vysvětluje endosymbiotická teorie. Dlouho přetrvával názor, že k takovému složitému ději, jako je primární endosymbióza, mohlo dojít pouze jednou. Později se ale potvrdilo, že došlo ke druhé primární endosymbióze a to mezi sinicí a krytenkou *Paulinella chromatophora*. Sekundární endosymbióza probíhala u zelených i červených řas. U zelených řas došlo k endosymbióze pravděpodobně dvakrát (Euglenophyta a Chlorarachniophyta). U červených řas došlo k endosymbióze pravděpodobně jednou. Ne všechny plastidy s více membránami však vychází ze sekundární endosymbiózy. Například čtyřmembránové plastidy obrněnek, které jsou zřejmě odvozeny ze skupiny SAR (např. od rozsivek a skrytěnek), v tomto případě spadají již do terciární endosymbiózy. U obrněnek můžeme pozorovat plastidy pigmentované fukoxantinem, která pochází z endosymbionta ze skupiny Haptophyta. V buňce obrněnky druhu *Kryptoperidinium foliaceum* můžeme dokonce pozorovat téměř kompletní rozsivku s jádrem i mitochondrií (viz Obrázek 5), (Oborník, 2009).

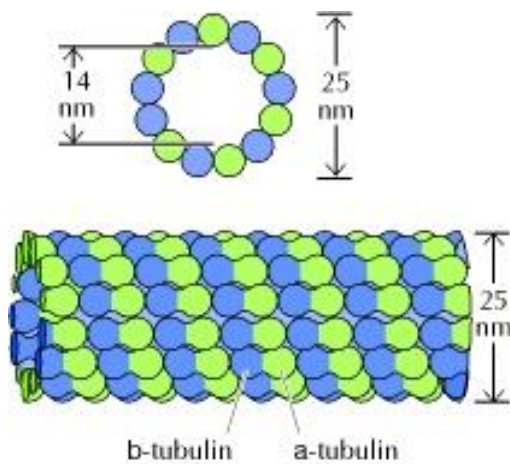


Obrázek 3 Grafické znázornění endosymbiotické teorie vzniku plastidů; převzato z práce Oborníka (2009). Šipka znázorňuje vznik výtrusovců, ve kterých se vyskytuje organela zvaná apikoplast, kterou se budu dále více zabírat v kapitole o výtrusovcích.

4 Cytoskeletární struktury

Cytoskelet je dynamická soustava bílkovinných vláken, které v buňce zprostředkovávají podpůrné a pohybové funkce. Jsou rozeznávány tři základní typy cytoskeletálních vláken: mikrotubuly, mikrofilamenta a intermediální filamenta.

Mikrotubuly jsou trubicovité útvary, jejichž základní stavební jednotkou je globulární protein tubulin, který se skládá ze dvou jednotek (monomerů) α a β (obrázek 5). Stěnu mikrotubulu tvoří podlouhlé protofilamenty, které se sestavují polymerizací monomerů. Systém mikrotubulů je důležitou součástí cytoskeletu, účastní se transportu v buňce a tvorby centriol a bazálních tělísek bičíků (Jíra, 2009). Každá molekula α a β tubulinu obsahuje vazebné místo pro GTP (guanosintrifosfát). Hydrolyzací GTP vzniká GDP (guanosindifosfát), který způsobí rozpad protofilamentu a dojde k depolymerizaci, který způsobí dynamické chování mikrotubulů (Karp, 2008). Důležitou funkci mají také proteiny obecně nazývané molekulární motory: dynein a kinezin. V interakci s mikrotubuly a dalšími buněčnými kompartmenty (např. vāčky) umožňují pohyb. Umožňují rovněž pohyb eukaryotického bičíku. Vnitřní část bičíku – tzv. axonema – má charakteristické uspořádání (Obrázek 6), v němž jsou mikrotubuly uspořádány dle vzorce $9 \times 2 + 2$ (Hausmann et al., 2003).

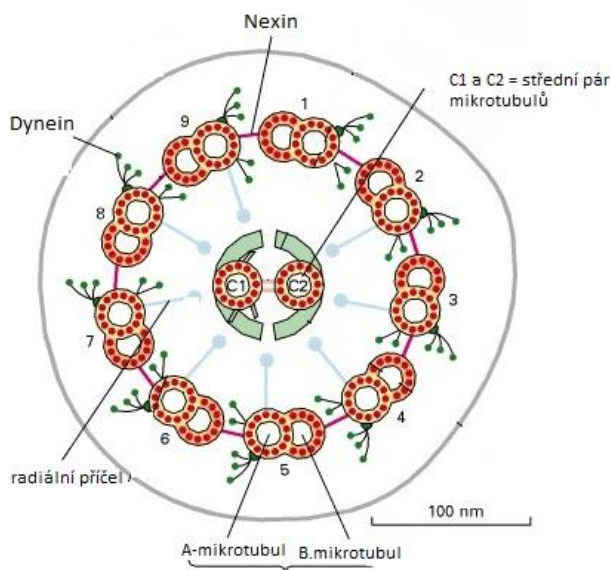


Obrázek 4 Struktura mikrotubulu, nahoře průřez vláknem a dole podélný pohled zvnějšku. Alfa a beta tubulin (pro názornost reprezentován zelenými a modrými kuličkami) je sestaven okolo dutého jádra. Převzato z Coopera, 2000.

Bičíky jsou nitkovité útvary o průměru 0,2 μm . Vychází z kinetosomů nacházejících se v kortexu. U bičíků můžeme pozorovat dva základní pohyby. Tzv. bití se může odehrávat buď v jedné rovině, nebo údery opisují šroubovici. Bičík vytvoří sinusoidní vlnu, která způsobí

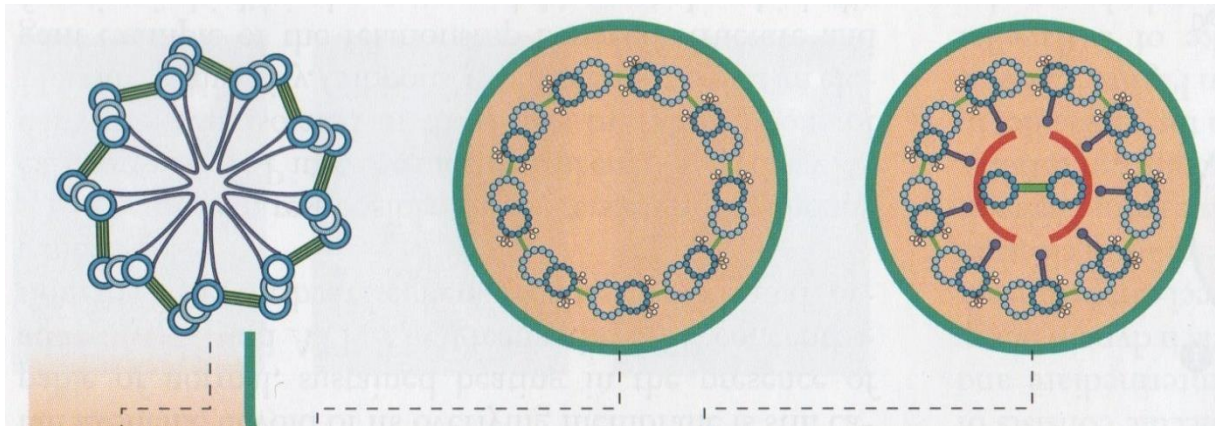
vodní proud, díky němuž se prvek pohybuje vpřed (Hausmann, Hülsmann, 2003). Jádrem bičíku se nazývá axonema (Obrázek 6). Obsahuje uspořádaný systém mikrotubulů, které prochází celou organelou. Mikrotubuly jsou zde uspořádány kruhově po devíti dvojicích okolo centrální dvojice (tzv. $9 \times 2 + 2$ uspořádání – Obrázek 7) (Hausmann, Hülsmann, 2003). Dvojice, tzv. dublety A- a B-tubulů, jsou propojeny proteinem nexinem. Na A-tubulech jsou upevněna dyneinová raménka, která jsou od sebe vzdálena 24 nm, a dotýkají se sousedního B-tubulu. Bičík se pohybuje na základě vzájemného pohybu sousedních párů mikrotubulů vyvolaných pohybem dyneinových ramének.

Vyjma bičíku jsou molekulární motory využívány i při buněčném transportu: protein dynein „kráčí“ k záporně nabitému konci mikrotubulů a kinesin ke kladně nabitému vláknku (Karp, 2007). Protofilamety se polymerizují vždy na (+) konci. Když dojde ke změně GTP na GDP, struktura je nestabilní a protofilamenty se začnou zkracovat a dochází k depolymerizaci (Akhmanova, Steinmetz, 2008).



Obrázek 5 Diagram průřezu bičíku se znázorněnými dyneinovými raménky. Převzato a upraveno z Lodish et al. (2000).

Bazální tělíska jsou místem ukotvení bičíku v buňce a jedná se o pozměněné centrioly. Zajišťují správnou orientaci bičíků tak, aby jejich pohyb probíhal správným směrem. Mohu být také zapojeny do procesů při dělení buňky (Marshall, 2008). Bazální tělíska jsou oválného tvaru a měří 0,25 μm . Jsou složena z devíti tripletů mikrotubulů ve vzorci $9(3) + 0$ (Obrázek 8 vlevo) (Kilburn, Winey, 2008).

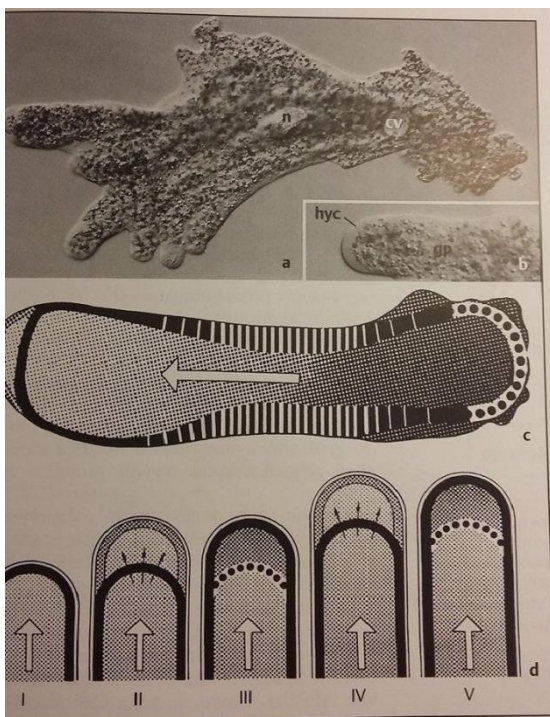


Obrázek 8 Na obrázku vlevo můžeme vidět bazální tělísko ve srovnání s axonemou (vpravo). Veprostřed se nachází přechodová zóna mezi bazálním tělískem a axonemou. Převzato a upraveno z Karpa, 2008.

Bičkový váček se vyskytuje se u leishmanií a trypanozom. Představuje diferencované ústrojí buněčné membrány, a je místem endocytózy i sekrece proteinů do vnějšího prostředí. Váček udává polaritu buňky, která je důležitá při klouzání mikrotubulů, zapříčiňující pohyb bičíku. Toto ústrojí má také schopnost akumulovat výživné látky získané z hostitele (Jíra, 2009).

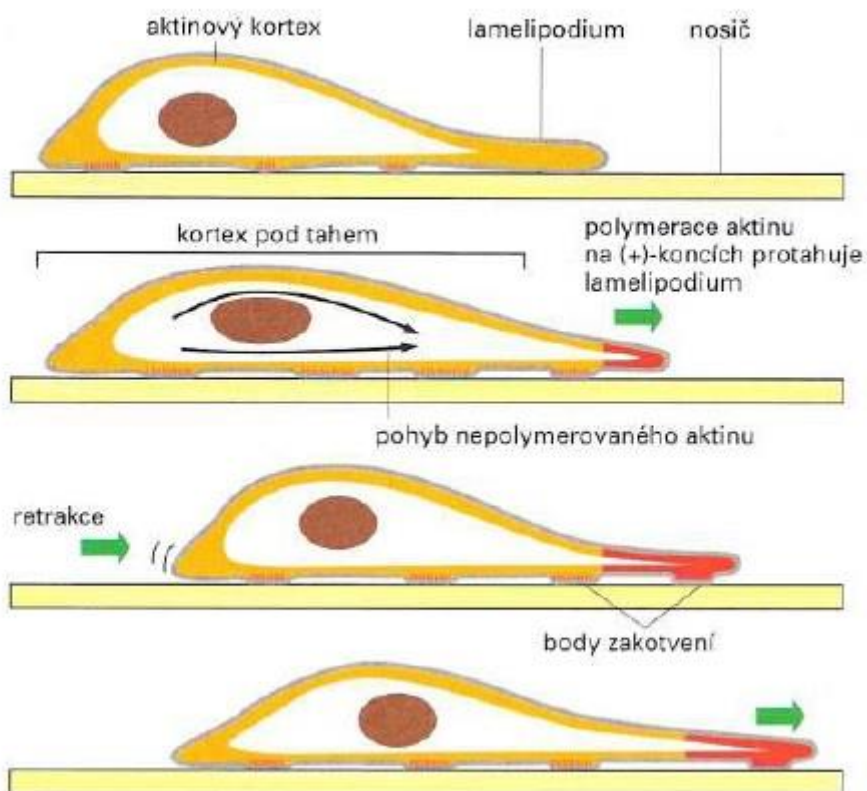
Mikrofilamenta jsou vláknité útvary, tvořící svazky a vlákna. Jsou užší než mikrotubuly (4–10 nm), což se odráží i v jejich označení. Jejich hlavní složkou je globulární protein aktin. Polymerizace aktinu je dotována hydrolyzačním štěpením z ATP na ADP. Mikrofilamenta se podílí na proudění protoplazmy, kontrakčních pohybech, amébovém pohybu a na buněčném dělení (Hausmann et al., 2003).

Améboidní pohyb neboli měňavkovitý pohyb je typický způsob lokomoce některých prvků pomocí panožek. Na špičce panožky můžeme pozorovat hyalinní čapku, za kterou se nachází hyalinní vrstva, která obklopuje zbytek buňky. Při natahování panožky uvnitř proudí cytoplazma do míst, kam se panožka vychlípje. Jedná se o tzv. endoplazmu naplněnou



Obrázek 9 Měňavka, celkový pohled (a). Na výřezu označeném b je dobře patrná hyalinní čepička panožky. Výřez označený písmenem c ukazuje model proudění cytoplazmy. Ve směru bílé šipky se nachází endoplazma, na straně opačné je ektoplazma. Přerušovaná černá vrstva představuje mikrofilamenta v kontrakci. Převzato z Hausmanna et al. 2003.

množstvím granulí, takže se v mikroskopu jeví výrazně zrnitě. Endoplazma v kortikálních oblastech panožky se postupně přeměňuje v čirou ektoplasmu (obrázek 9) (Hausmann et al., 2003). Motorem měňavkového pohybu je však směrovaná polymerizace aktinových vláken. Stejně jako tubulin, i aktinová vlákna jsou velmi dynamickým systémem. Na jednom konci se vlákno neustále rozpadá – depolymeruje, na opačném konci naopak dochází k jeho narůstání polymerizací. Při vychlipování panožky (viz obrázek 10) dochází ke směrované polymerizaci aktinového skeletu na špičce panožky, což tlačí na membránu a způsobuje její prohnutí ven. Na opačném konci měňavky naopak dochází k depolymerizaci mikrofilament a vchlipování cytoplazmatické membrány i celé zadní části buňky, která je tak v podstatě přitahována vpřed (Alberts et al., 2003). Aktin se neúčastní pouze měňavkovitého pohybu jednobuněčných eukaryot, je důležitý i při svalové kontrakci živočichů, kde působí ve spolupráci s proteinem myozinem.



Obrázek 10 Model pohybu buňky pomocí aktinových vláken. Převzato z Albertse et al.,2003

Intermediální filamenta byla identifikována pouze v živočišných buňkách. Jsou to poměrně silná vlákna, která buňce poskytují mechanickou pevnost (Karp, 2008). Průměr intermediálních filament dosahuje 10 nm, a vlákno samotné tvoří dvě dvoušroubovice (Karp, 2007).

V dalších kapitole se budu rozebírat tropické, parazitické prvoky – zimničky (rod *Plasmodium*). Podle nového systému spadají zimničky do superskupiny SAR mezi výtrusovce (Matějček et al., 2016). Kapitola bude věnována morfologii a buněčné stavbě těchto prvoků, popisu působení onemocnění i jeho léčbě.

V této kapitole se konkrétně věnuji zimničce třetidenní (*Plasmodium vivax*), zimničce tropické (*Plasmodium falciparum*), zimničce čtvrtodenní tropické (*Plasmodium malariae*) a plasmodiu oválném (*Plasmodium ovale*)

5 Výběr konkrétních prvoků

5.1 Zimničky a malárie

Zimničky jsou parazitičtí prvoci, kteří se vyskytují převážně v tropických a subtropických oblastech světa. U organismu napadeného tímto prvokem propuká nemoc zvaná malárie, která je charakteristická opakujícími se horečnatými záchvaty. Zimničky mají velmi zajímavý životní cyklus, ve kterém člověk zaujímá funkci mezihostitele. Definitivními hostiteli jsou samičky komára rodu *Anopheles*, kteří zároveň slouží jako přenašeči – vektorů (Hausmann, Hülsmann, 2003).

Název pochází z italského mal' aria (špatný vzduch). Ve starověké Číně přibližně okolo roku 2700 před naším letopočtem se o malárii můžeme dočíst v lékařských spisech Nei Ching, které vydal císař Huang Ti. Ve 4. století před naším letopočtem byla v Řecku malárie zodpovědná za velkou úmrtnost obyvatel. Několik římských spisovatelů této doby připisovali malárii k místům, kde se vykytovaly bažiny (Centers for Disease Control and Prevention, 2016). Po příchodu do Nového světa se španělští misionáři dozvěděli o léčivé kůře stromu, kterou používají indiáni na utišení horeček. Touto kůrou byla vyléčena hraběnka Chinchón, po které byl tento strom s léčivými účinky pojmenován.

První a nejjasnější informace o léčbě malárie popisuje Julius Wagner-Jauregg v letech 1920–1950, který popisoval toto onemocnění jako neuropsychické (Faure, 2014). V roce 1947

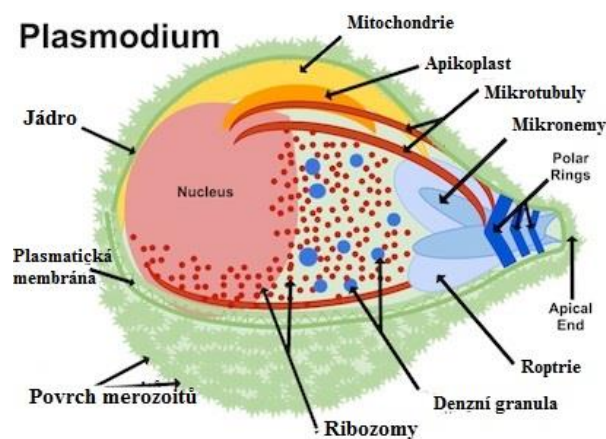
prováděl Cyril Garnahm pokusy na afrických opicích, při kterých zkoumal stádia zimničků v játrech (Faure, 2014).

5.1.1 Stavba buňky

Tito prvoci patří mezi vnitrobuněčné parazity řazené do skupiny výtrusovci (Apicomplexa). Latinský název je odvozen od apikálního komplexu, který je pro zástupce výtrusovců typický a je složen ze tří částí (viz obrázek 11): roptrií, denzních granul a mikronem (Richard et al., 2010). Mikronemy jsou orgány, které vylučují proteiny důležité pro rozpoznání hostitele. Roptrie mají obdobnou funkci jako mikronemy. Denzní granula se podílejí na modulování organel v hostitelské buňce (Richard et al., 2010)

V apikálním komplexu můžeme pozorovat i cytoskeletární složky, jako je například kuželovitý konoid. Skládá se z mikrotubulů stočených do spirály. Dále je to komplex pólového prstence, který se považuje na centrum organizující mikrotubuly (Hausmann, Hülsmann, 2003).

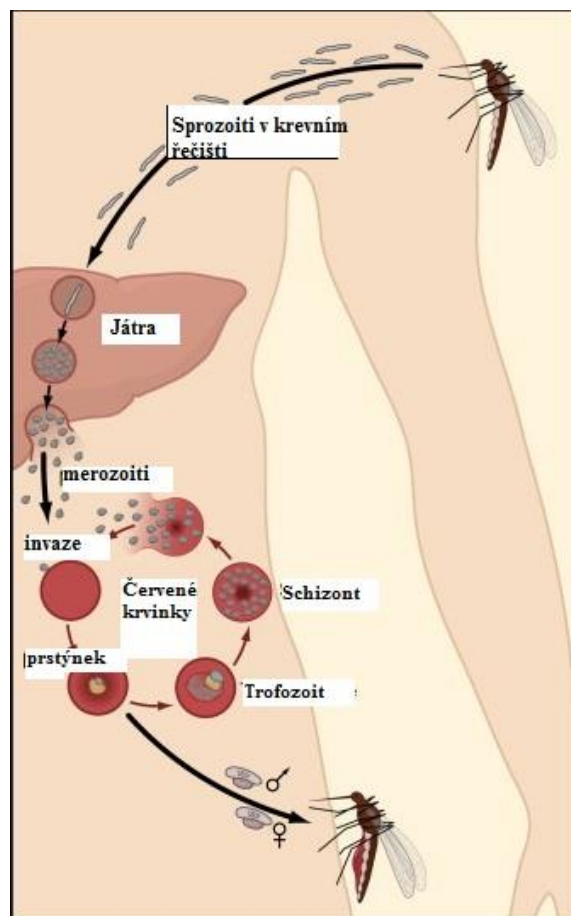
Dalším z rysů těchto prvoků je apikoplast, plastid obalený čtyřmi membránami (Gillen, Sherwin 2013). I přes chybějící fotosyntetickou funkci je pro tyto prvoky nepostradatelný, neboť je v těsné blízkosti a kontaktu s mitochondrií, což naznačuje, že jeho funkce je energeticky značně náročná a pro životaschopnost buňky nezbytná. Při zkoumání apikoplastových genů byla zjištěna jistá shodnost s geny chloroplastů. Tato skutečnost by mohla vést k novým přístupům v boji proti těmto prvokům (Hypša et al., 2002).



Obrázek 11 Buněčná stavba plazmodia. Převzato a upraveno z práce Gillen, Sherwin (2013).

5.1.2 Životní cyklus plazmodia

Životní cyklus plazmodia (viz obrázek 12) začíná ve chvíli, kdy krevsající komáři do hostitele se slinami injikují sporozoity – jednojaderné formy zimničky. Sporozoiti se dostávají do jaterních buněk, kde dochází k nepohlavnímu namnožení tzv. **schizogonií**. Tato fáze je pro jednotlivé druhy zimniček mírně odlišná. *Plasmodium vivax* a *P. ovale* zde navíc můžou vytvořit tzv. hypnozoity – formy plasmodia, které můžou v organismu latentně přebývat bez příznaků malárie. *Plasmodium falciparum*, *P. malariae* a *P. knowlesi* se zde vyvinou v meronty (až 1mm). Následuje další nepohlavní **fáze erythrocytární**, ve které se meronti dostávají do červených krvinek. Probíhá další nepohlavní dělení, které ukončuje lýze erythrocytu. Při té se do těla dostávají toxické látky a antigeny, následně se aktivuje imunitní systém a makrofágy, které produkují protizánětlivé složky, způsobí známé horečnaté stavy (Burton et al., 2013). Meronti mohou tento proces zopakovat, nebo se přemění na sexuální formy – mikrogametocyty (samčí buňky, obsahující ribozomy, mitochondrie a plastidy a nemají téměř žádné endoplasmatické retikulum) a makrogamety (samičí buňky, obsahují sekreční vezikuly, které chrání prvoka před prostředím ve střevě komára). Pokud nyní komár naseje krev hostitele, gametocyty se vyvíjí dále v jeho střevě (mezenteronu) a začíná **fáze gametocytogonie**. Mikrogametocyty zde prochází jaderným dělením a mění se v osmi bičíkatá stádia – mikrogamety. Makrogametocyty dozrávají v makrogamety. Spojením mikrogamety a makrogamety vzniká zygota, která je diploidní a mění se v červovitou **ookinetu**, která proniká epitelem komářího střeva a na vnější straně se uchytlí, mění se v oocystu, ta se po přibližně 20 dnech zvětšuje a formuje se do sporoblastu, ve kterých vznikají sporozoiti, které se shromažďují ve slinách komára (Jíra, 2009).



Obrázek 12 Obecný životní cyklus zimničkové. Převzato a upraveno z práce Cowman, Crab (2006)

5.1.3 Vektoři malárie

Malárii přenáší samičky dvoukřídleho hmyzu řádu Diptera – čeleď komárovití (Culicidae). Tento hmyz je střední velikosti a typického štíhlého těla (až 6 mm), se štíhlými nohama a dlouhým sosákem. Tělo komára se skládá z hlavy (caput), hrudi (thorax) a zadečku (abdomen). Druhý pár křídel je redukován na kyvadélka, tzv. haltery (Jíra, 2009).

Do čeledi komárovitých patří 3200 druhů a poddruhů. Z toho 430 druhů jsou zástupci rodu *Anopheles* a pouze 70 z nich je schopných přenášet malarická plazmodia.

5.1.4 Léčba malárie

Hlavním kritériem při léčbě malárie je co nejdříve eliminovat u pacienta akutní malarický záchvat, za kterým jsou zodpovědné nepohlavní formy plazmodií. Látky, které jsou v tomto ohledu účinné, se nazývají schizocidní nebo supresivní (Fendrich 2005). Mezi látky, které ničí krevní schizonty patří chlorochin, chinin, meflochin, atovaquon a artemisiny. K prevenci návratu onemocnění se používá primachin, který působí na hypnozoity v jaterních buňkách (Vaništa, 2005).

Chlorochin je antimalarikum, které snižuje syntézu DNA prvoka a způsobuje alkalizaci potravních vakuol – tím blokuje metabolické pochody prvoka. Toto antimalarikum je účinné proti všem typům malárií s výjimkou rezistentních forem *P. falciparum* a *P. vivax*, které se vyskytují v jihovýchodní Asii a Latinské Americe. Látka je používána pro akutní léčbu.

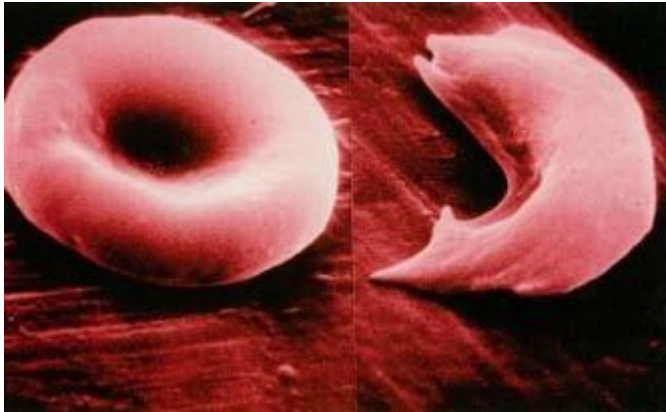
Chinin je alkaloid, který je účinný proti erytrocytárním formám. Je odvozen z kůry chininovníku a jedná se o nejstarší používané antimalarikum. Jeho mechanismus v léčbě malárie přesto dosud není znám.

Doxycyklin a klindamycin jsou antibiotika, které jsou často používána spolu s chininem na rezistentní formy *P. falciparum*. Tyto léky jsou neúčinnější v oblastech Thajska, Barmy a Kambodži.

Meflochin je lékem proti schizontům u *P. falciparum* a *P. vivax*. Byl vyvinut v USA za vietnamské války. Má velice pomalý nástup účinku (Fendrich 2005).

Zajímavou ochranu před malárií představuje vrozená, genetická choroba **srpkovitá anémie**. Toto onemocnění je způsobeno mutací genu pro hemoglobin. Pokud k této mutaci dojde, vzniká hemoglobin kódovaný alelou S. V případě zdravého hemoglobinu vzniká homozygot (označován AA). Tento jedinec netrpí srpkovitou anémií, ale je nejnáchylnější k nákaze plasmodii. Úplným opakem je jedinec s alelami SS. Lidé s těmito alelami trpí srpkovitou anémií a také na tuto nemoc umírají – nejčastěji na selhání orgánů a infarkty, avšak neohrožuje je malárie. Kombinace heterozygotů AS je nejvíce vyrovnaná, co se týče rezistence vůči nákaze malárií a propuknutím srpkovité anémie. Jejich krev obsahuje jen zhruba 25–40 % hemoglobinu S (Gillham, 2011).

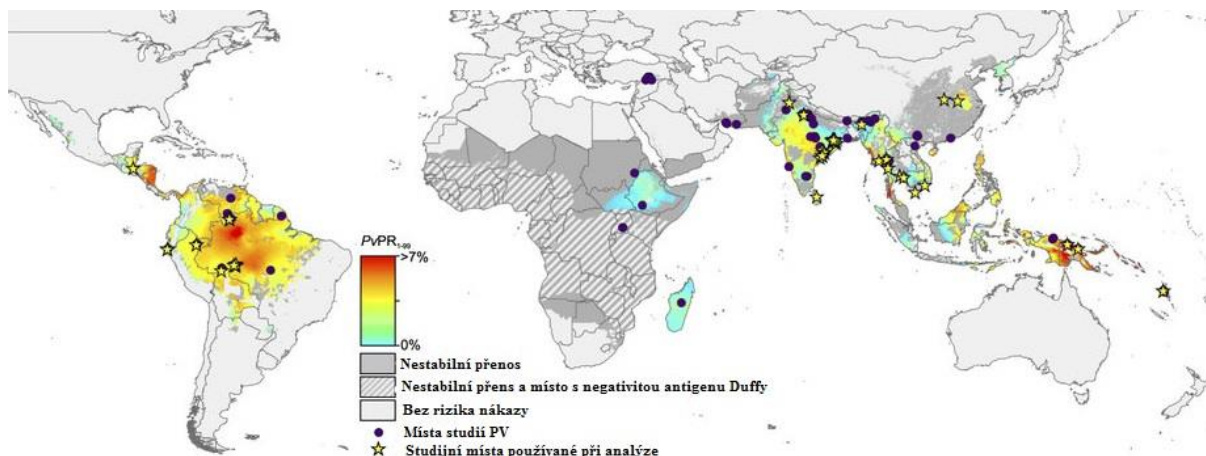
Příčinou této nemoci je změna konformace kyslíkového přenašeče v krvi, hemoglobinu. U dospělého člověka se hemoglobin skládá ze čtyř bílkovinných řetězců – 2 alfa a 2 beta, na který se vážou čtyři molekuly hemu, které nesou čtyři molekuly kyslíku. Změnu hemoglobinu způsobuje mutace na řetězci beta. Když se mutovaného hemoglobinu nalézá v krvi hodně, dochází k deformaci a krvinky získávají typický srpkovitý tvar (viz obrázek 13) (Brdička, 1994).



Obrázek 13 Vlevo - zdravá červená krvinka, vpravo – červená krvinka napadená srpkovitou anémií. Převzato z www.humanillnesses.com (URL1)

Zimnička třetidenní (Plasmodium vivax)

Tento prvok je nejčastější příčinou lidské malárie – zimničky třetidenní v Asii, Latinské Americe a ve střední Africe (viz obrázek 14). Název vyplývá z opakujících se stavů horečky a úlevy; obvykle po 3 dnech se horečnaté stavy vrací. Zde mohou horečky přesáhnout i 40 °C. Prvok parazituje výhradně na mladých erythrocytech. Velkou zajímavostí je, že většina domorodých obyvatel centrální Afriky má na erythrocytech zvláštní antigen Duffy, který brání vniknutí merozoitů do erythrocytů, tudíž nemoc nepropukne (Liu et al., 2014). Antigen Duffy působí jako receptor na látky zvané chemokiny. Jsou to látky, které přitahují buňky imunitního systému na konkrétní místa v těle (Rogers, 2014). Hlavními vektory jsou zde *Anopheles gambiae* a *Anopheles funestus* (Jíra, 2009).



Obrázek14 Mapa rozšíření zimničky *Plasmodium vivax*. Převzato a upraveno z práce Battle et al., (2015)

Asie patří mezi regiony s největší plochou rozšíření tohoto prvoka. Asijská lidská populace je také v největším ohrožení nákazou malárií, jelikož je zde nízká prevalence antigenu Duffy (Imwong et al., 2007). Přenos tohoto prvoka je zde odhadován na rozloze 9 milionů km² (což je 45 % celkové rozlohy Asie). V Číně je *Plasmodium vivax* nejrozšířenějším druhem.

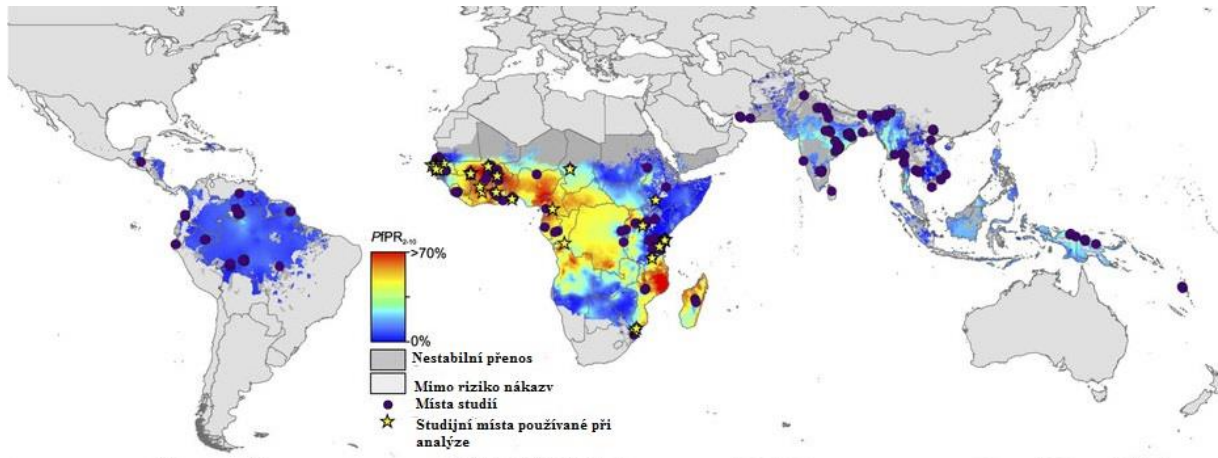
V letech 2004 až 2012 bylo téměř 80 % hlášených případů nakažením tímto prvokem zejména z centrální Číny v provinciích Anhui a Henan (Feng et al., 2015). Jako vektorů zde působí *Anopheles subpictus* a *An. barbirostris* (Battle et al., 2012).

Jižní Amerika patří mezi země, kde se tento prvok vykytuje rovněž často, avšak hustota zalidnění je zde výrazně nižší než v Asii a proto je americká populace v menším nebezpečí. Výskyt tohoto prvoka je soustředěn nejvíce do bažinatých území okolo řeky Amazonky. Zde je malárie přenášena nejčastěji komáry druhů *Anopheles albimanus*, *An. albitarsis*, *An. darlingi* a *An. aquasalis* (Battle et al., 2012).

Zimnička tropická (*Plasmodium falciparum*)

Ze všech druhů zimničků je tento prvok nejvíce patogenní, jelikož napadá všechna stádia krvinek a to jak mladé, tak staré. Během několika dní je procento napadených krvinek velmi vysoké a pro neléčeného člověka může nákaza končit fatálně. Zimnička tropická způsobuje tropickou malárie, při které nemusí být periodičnost horeček patrná, ale pohybuje se nepravidelně od 24 do 49 hodin. Choroba rovněž může probíhat bez horečky, nebo se může projevit jako obdoba zimničky třetidenní. Vyskytuje se v Africe, na Srí –Lance, v Indii a jižní Americe (viz obrázek 15). Zimničku přenáší *Anopheles gambiae*, *A. albimanus* a *A. freeborni*.

Zajímavostí je, že tento prvek nevytváří hypnozoity, které by mohly způsobit návrat nemoci po vyhubení krevních forem (Forstl, 2003).



Obrázek 15 Výskyt zimničky *Plasmodium falciparum* ve světě. Převzato a upraveno z práce Battle et al., (2015).

Zimnička čtvrtodenní tropická (Plasmodium malariae)

Tento prvek způsobuje čtyřdenní zimnici – kvartánu. Záchvaty připomínají terciánu, ale horečka je zde většinou nižší (nepřesahuje 40°C) a přichází po 72 hodinách. Tato zimnička byla coby původce malárie identifikována jako první armádním lékařem Charlesem Laveranem v roce 1907. Tento parazit napadá převážně starší krvinky a to přibližně 0,2 % celkové populace krvinek (Burton et al., 2013). Vyskytuje se nejvíce v subsaharské Africe (viz obrázek 14), kde nejčastějším vektorem je *Anopheles funestus* a *A.gambie*. V jihozápadním Pacifiku malárii přenáší *A. farauti*.

Plazmodium oválné (Plasmodium ovale)

Poslední z malarických prvků bylo popsáno *Plasmodium ovale* v roce 1900 na amerických námořnících, kteří se vraceli z Filipín (Collins, Jeffery, 2005). Tato zimnička je méně častá a vyskytuje se na západním pobřeží Afriky, též také ve střední a východní Africe (viz obrázek 16). Tento prvek způsobuje terciánu ovale, která se podobá klinickému obrazu terciánu, a dává přednost spíše mladším erytrocytům. Horečky jsou stejně silné, ale nehořčnaté stavy s recidivami jsou častější. Parazit může vyvolávat sekundární infekci, jelikož může vytvářet v játrech latentní formy – hypnozoity. Nemoc se může objevit i po 255 dnech po prvním

nakažení. Mezi nejčastější vektory patří *Anopheles albimanus*, *A. atroparvus* a *A. dirus* (Collins, Jeffery, 2005).



Obrázek 16 Světový výskyt malárií. Modře - *P.malariae*, žlutě - *P.ovale*, oranžově - *P.vivax*, červeně - *P.falciparum*. Převzato z práce Shokoples et al. 2013.

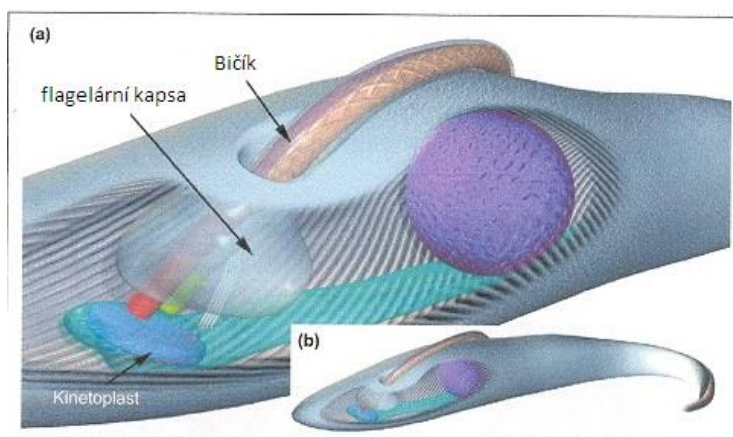
5.2 Trypanozomy

Zástupci rodu *Trypanosoma* infikující člověka se dají rozdělit do dvou skupin podle geografického rozšíření a charakteristické patogenity¹. Africká skupina způsobuje **spavou nemoc**. Tuto nemoc přenáší hmyz čeledi Glossinidae – bodalkovití, neboli mouchy tse-tse. Tento název znamená v překladu „moucha zabíjející skot“ (Burton et al., 2013). Na americkém kontinentu způsobují trypanozomy **Chagasovu chorobu**, přenášenou krevsajícími plošticemi čeledi Reduviidae.

¹ Nebezpečným parazitem koní, mul a oslů v Asii, severní a jižní Africe a jižní Americe je *Trypanozoma equiperdum*, která způsobuje pohlavně přenosnou chorobu – Dourine (www.oie.int)

Jako první popsal příznaky spavé nemoci arabský historik Ibn Khaldun v Súdánu v 15. století. V 15. až 19. století, kdy probíhal obchod s otroky, byl výskyt spavé nemoci až alarmující. Násilné přemísťování otroků z vnitrozemí Afriky bylo vedeno přímo přes biotopy bodalek. Prvky v krvi však objevil až G. Nepveu v letech 1891–1898. David Bruce – chirurg britské armády, studoval nemoc surra (nákaza *Trypanosoma evansi* u skotu) v Zululand (dnes jihoafrická provincie), u které hledal bakteriální příčinu. V krvi dobytka ale našel trypanozomy. Upozornil také na to, že dobytek se nějaký čas vyskytoval na územích, kde se vyskytují mouchy tse-tse, které by mohly tuto nemoc přenášet.

Trypanozomy jsou 20–30 µm velké a obývají lymfatické uzliny, posléze se dostávají do krevního řečiště (první stádium nemoci), následně se mohou dostat do CNS, kde nastává meningoencefalická fáze, neboli spavá nemoc (Beneš, 2009). Podle umístění kinetosomu, flagelární kapsy a kinetoplastu můžeme jedince trypanozom rozdělit do několika morfologických skupin (viz obrázek 17). **Amastigot** je forma, která nemá vyčnívající bičík. U **promastigotů** vychází bičík z předního konce buňky. **Epismastigoti** mají bičík usazený do prostřed buňky, kde vytváří undulující membránu. **Trypomastigot** také vytváří undulující membránu, bičík je ale vsazen do zadní části buňky. **Opistomastigoti** mají bičík vybíhající z flagelární kapsy a probíhá dlouhým kanálkem na konec těla. Forma **paramastigot** má bičík, který vychází také z dlouhého kanálku, ale jeho volná část je krátká (Hausmann, Hülsmann, 2003).



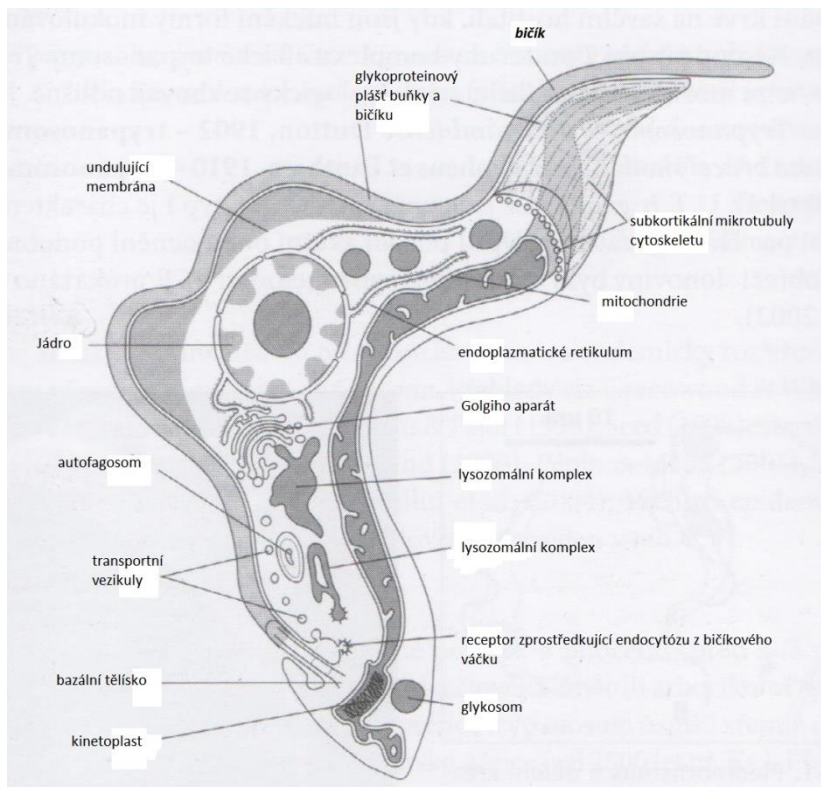
Obrázek 17 Na obrázku je počítačová kresba procyklické formy *Trypanosomy brucei* a jejich struktur. Převzato a upraveno z Jíry 2009.

5.2.1 Stavba buňky

Jádro se u trypanozom nachází uprostřed buňky, nachází se zde i jádérko (viz obrázek 18). Téměř přes celou buňku prvoka vede trubicovitá mitochondrie, která obsahuje velmi malé množství krist, které jsou nefunkční. Energetické centrum buňky se nachází v glykosomech, jelikož zde probíhá glykolýza. (Jíra, 2009). V glykosomech se také nachází enzym kataláza, která se zapojuje do metabolismu peroxidu, enzymy β -oxidace a také část biosyntézy etherových lipidů.

Kinetoplast je část mitochondrie, ve které se nachází velké množství DNA – až 30 % DNA celé buňky, které se zde nachází v podobě malých a velkých kruhovitých molekul, tzv. minikroužků a maxikroužků. Maxikroužky obsahují mitochondriální DNA. Velice zajímavá je ale struktura a především funkce minikroužků. Při transkripci kinetoplastidové DNA uložené v maxikroužcích do RNA totiž dochází ke tvorbě „nesmyslných“ transkriptů, které nelze translatovat do funkčního proteinu. To je možné až po editaci transkriptu, ke které dochází vložením či vymazáním jednotlivých konkrétních bazí. Tento proces – posttranskripční editace – je umožněn „průvodcovskou“ RNA (guide RNA, zkráceně gRNA), která je kódována právě v minikroužcích. Za její pomoci jsou chybějící nukleotidy do primárního transkriptu vloženy a pořadí bazí změněno, tedy editováno. Tento proces byl dlouhá léta bezvýsledně studován. Výsledky přinesl až B. Blum roku 1992, který si všiml mezi editovanými transkripty nové molekuly RNA – gRNA), která dokáže nukleotidy bezchybně vkládat do upravované RNA (Lukeš, 1994).

Trypanozomy napadají lymfatické uzliny, mozkomíšní mok a krev hostitele. V pokročilém stádiu napadají CNS, trypanozomy vstupují do likvoru hematoencefalickou bariérou.



Obrázek 18 Stavba buňky trypomastigotu *Trypanosoma brucei*. Převzato a upraveno z práce Jíry, 2009

V další kapitole se budu věnovat africkým trypanozomiázám, které způsobují spavou nemoc.

5.2.2 Trypanozomy Africké

Trypanozoma spavičná (*Trypanosoma brucei gambiense*)

Tento prvok vyskytující se ve 24 zemích západní a střední Afriky (obrázek 19) způsobuje spavou nemoc. 97 % případů spavé nemoci způsobuje právě tento poddruh. Lidé mohou být nakaženi měsíce nebo dokonce roky bez závažných příznaků onemocnění. Při prvním stádiu nemoci se trypanozomy dostávají do lymfatických uzlin, kde se množí a dále se dostávají do krevního řečiště. Při druhém stádiu nemoci se parazit může dostat až do CNS, kde způsobuje leptomeningitidu (zánět měkkých mozkových plen). Pacient při této fázi trpí bolestmi hlavy a spánkovou inverzí, která dala název této chorobě (Beneš 2009). Přenašečem je zde bodalka *Glossina palpalis*, která obývá říční biotopy.

Tento druh trypanozomy vyskytující se na západu Afriky přenášejí tzv. říční glosiny. Jde předpokládat, že se tyto prvoci vyskytují poblíž vodních toků, březích jezer a mangrovových bažin. U *T. brucei gambiense* neboli u gambijské formy propukají spíše mírnější horečky, které postupně většinou do 39 °C. Trypanozomy se dostávají do mozku až po 1–2 letech a bez důkladné léčby může způsobit smrt do 1–6 let.

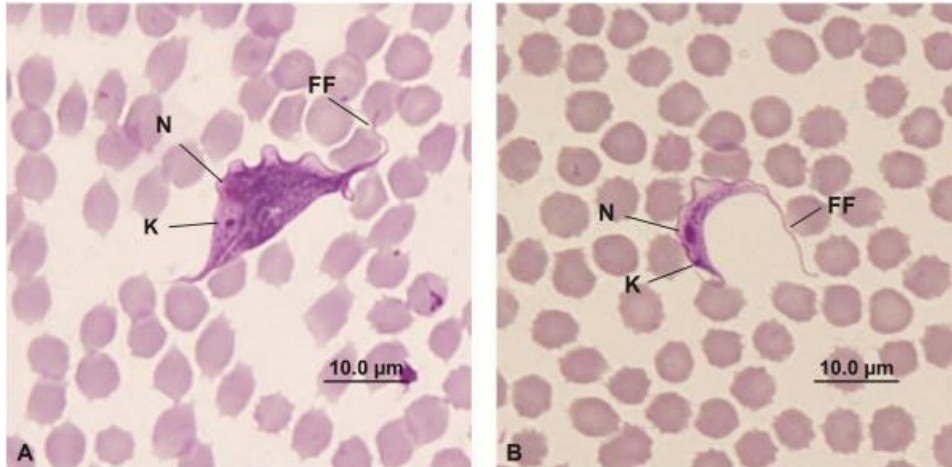


Obrázek 19 Výskyt trypanozomy spavičné. Nejtmavší území představuje Demokratická republika Kongo, kde v roce 2014 bylo zjištěno více jak 1000 případů spavé nemoci. Převzato a upraveno z <http://www.who.int/>

Životní cyklus trypanozomy spavičné začíná bodnutím mouchy rodu *Glossina*. Tím se do krve člověka dostávají metacyklické formy – trypomastigoti, které jsou oválné s krátkým bičíkem. Člověk může pozorovat v místě bodnutí svědící nebo bolestivý otok. Jakmile trypomastigoti proniknou do lidského oběhového systému, transformují se na štíhlé trypomastigoty (viz obrázek 20). Ti se rychle šíří v hostiteli a mohou se dostat i do mozkomíšního moku. Hostitel v takovém případě mívá příznaky spojené s rychlým rozšířením trypanozom – horečky, bolest kloubů, nespavost, nevolnost; také jsou zvětšeny šijové uzliny. V lidském krevním oběhu se mohou vyskytovat dva typy trypomastigotů: první je dlouhý, úzký s volným bičíkem prodloužený v undulující membránu. Druhá forma je krátká a tlustá, s krátkým vyčnívajícím bičíkem. Při opětovném bodnutí moucha tse-tse nasaje krev spolu s „tlustou“ formou trypomastigotů. Ti mají v mitochondrii nápadné kristy a funkční elektron-transportní řetězec přizpůsobený tak, aby přežily pobyt ve střevě mouchy. V jeho střední části se prvok transformuje na procyklické trypomastigoty, které se množí binárním dělením. Tito následně opouští střevo mouchy, mění se na epimastigoty a putují do slinných

žláz. Zde probíhá další binární dělení, vytvoří se znovu metacyklické forma a celý cyklus se opakuje (Burton et al., 2013).

Tento životní cyklus je obdobný i pro druhý poddruh, *Trypanosoma brucei rhodesiense*, který způsobuje východoafrickou spavou nemoc.



Obrázek 20 Na obrázku A (vlevo) se nachází široká forma trypomastigota, na obrázku B (vpravo) se nachází štíhlá forma trypomastigota. FF – volný bičík, N – jádro, K – kinetoplast. Převzato z práce Thompsona (2013).

Vektoři

Přenašečem tohoto prvoka je moucha patřící do čeledi Glossinidae patřící mezi dvoukřídly hmyz, podřádu krátkorohých, nadčeleď Hippoboscoidea (Marquard et al., 2005). Dospělci mohou měřit 6–14 mm a bodavě sací ústrojí představuje sklerotizovaný sosák měřící 3,2–4,2 mm. Sosák je složen z horního pysku s potravním kanálkem se slinným kanálkem a ze spodního pysku. Krev sají samičky i samečci. Samičky tohoto druhu nekladou vajíčka, jako většina much, ale jsou živorodé. Vždy kladou jen jednu larvu, která se dále vyvíjí v děloze. Larva si žíví sekretem z mléčných žláz. Vývoj v kukle trvá okolo 4–5 týdnů.

Trypanozoma rhodéská (*Trypanosoma brucei rhodesiense*)

Stejně jako trypanozoma spavičná je i trypanozoma rhodéská původcem spavé nemoci v Africe. Tento prvok se vyskytuje ve 13 zemích východní a jižní Afriky. Velkým rozdílem mezi tímto a předchozím poddruhem je důležitost ne-lidských, živočišných hostitelů při udržování a šíření infekce. T. rhodéská je primárně infekcí zvířat, která příležitostně infikuje člověka. T. spavičná je primárně lidský parazit, který jen příležitostně infikuje zvířata

(Welburn, Bardosh, Coleman, 2016). Trypazonoma rhodéská způsobuje tzv. rhodéskou formu spavé nemoci, kterou přenáší suchomilné glosiny ze skupiny *G. morsitans*. Ty se vyskytují na zalesněných savanách a kolem východního pobřeží (Jíra, 2009). Horečky této formy doprovázejí náhlé třesavky a teplota mnohdy přesahuje i 40 °C a bez léčby může nastat smrt už po jednom měsíci.

Klinický obraz

První fáze může být u člověka zcela bez příznaků, ve druhé fázi, kdy se prvok dostává do centrální nervové soustavy a propuká meningoencefalitida, koma, letargie a porucha spánku (Roger, 1999).

5.2.3 Americké trypanozomy

Trypazonoma americká (*Trypanosoma cruzi*)

Tento prvok vyskytující se na americkém kontinentu (viz obrázek 21) způsobuje Chagasovu nemoc. Výskyt je soustředěn ve venkovských oblastech Latinské Ameriky, kde jsou vhodné podmínky pro bezobratlého přenašeče z čeledi zákeřnicovitých ploštic podčeledi Triatominae. Inkubační doba je okolo 7–14 dnů. Při akutní fázi, která se objevuje nejčastěji u kojenců, jsou typické příznaky horečky, obecné neprospívání a průjemy. Chronická fáze, při které pacient trpí na poruchy rytmu srdce, fibrilaci síní a bolestmi břicha, se projeví až po několika letech. Až 30 % osob v Americe je postiženo chronickou kardiomyopatií, která je mnohdy příčinou smrti (Beneš, 2009).



Obrázek 21 Výskyt trypanozomy americké (červeně). Převzato a upraveno z: www.infectionlandscapes.org (URL3)

Téměř všechny charakteristické rysy životního cyklu trypanozomy americké popsal Carlos Chagas v roce 1909. Cyklus se významně liší od trypanozom přenášených bodalkami. Jakmile ploštice pohltní cirkulující trypomastigoty z infikovaného hostitele, transformují se na epimastigotní formy. Ty migrují do střeva ploštice a tam se transformují na infekční metacyklické trypomastigoty, které se vylučují exkrementem vektoru. Trypomastigoti vstupují do hostitele přes ránu z bodnutí, nebo přes slizniční membrány hostitele (viz obrázek 20). V hostiteli napadají skoro všechny typy buněk. Po dokončení vývoje v buňkách se dostávají do cytoplazmy, kde se diferencují na intracelulární amastigotní formu, ta se replikuje a mění se na trypomastigotní formu, která se uvolní do krevního oběhu. Tyto prvoci mohou infikovat vektory, nebo mohou iniciovat nové replikační cykly (Bern et al., 2011).

Vektoři

Přenašeč americké trypanozomy je ploštice čeledi zákeřnicovitých, podčeledi Triatominae (Marquard et al., 2005). Jsou to dravé tropické ploštice dorůstající 5 milimetrů. Na hrudi se nachází tři páry kráčivých nohou složených z pěti článků. Jsou to noční živočichové, ale sát krev mohou i ve dne. Krev sají obě pohlaví (Bern et al., 2011). Ze 126 druhů zákeřnicovitých ploštic je 105 žijících na americkém kontinentu.

Klinický obraz

Klinický obraz můžeme rozdělit do tří fází. První z nich je fáze primární, ve které se po bodnutím ploštice vytvoří zarudlý svědící otok v podkožní tkáni (šankr) měřící 2–3 cm. Otok trvá přibližně 3 týdny. Škrábání otoku může dospět až k sekundární bakteriální infekci. Další fáze je hematolymfatická, která je charakteristická tím, že se trypanozomy dostávají do krevních a lymfatických cest. Tato fáze je spojena s horečkami (přibližně 38 °C), bolestí hlavy, svalů a kloubů. Mízní uzliny se zvětšují a jsou viditelné a tuhé – Winterbottomův příznak. Při této fázi trypanozomy napadají také srdce – EKG vykazuje kardiomyopatii. Mohou se také dostavit infekce plic. Při meningoencefalické fázi se dostávají poruchy vědomí a spánku. U nemocného můžeme pozorovat křeče, stres a poruchy prostorové orientace a také poruchy čítí – Kerandelův příznak (Jíra, 2009)

Léčba

Způsob léčby **spavé nemoci** závisí na stupni onemocnění. Léky užívané v první fázi mají méně negativních vedlejších účinků, jsou vůči pacientovi šetrnější. Čím dříve je nemoc identifikována, tím lepší je vyhlídka na léčení. Pro úplné dokončení léčby je třeba pacienta až 24 měsíců sledovat a provést laboratorní vyšetření tělesných tekutin včetně mozkomíšního moku získaného lumbální punkcí.

Pro léčbu spavé nemoci se používá celkem pět léků, které poskytuje a distribuuje WHO do endemických zemí.

Léky pro první fázi onemocnění: **Pentamidin**: objeven v roce 1940, používaný k léčbě *T.brucei gambiense*. **Suramin** je lék používaný proti trypanozomě rhodéské – vyvolává ale nežádoucí účinky jako jsou alergické reakce. Tato látka se akumuluje v kinetoplastech trypanozomu a způsobí štěpení minikroužků, které způsobí až zánik kinetoplastu (WHO, 2017) (URL4)

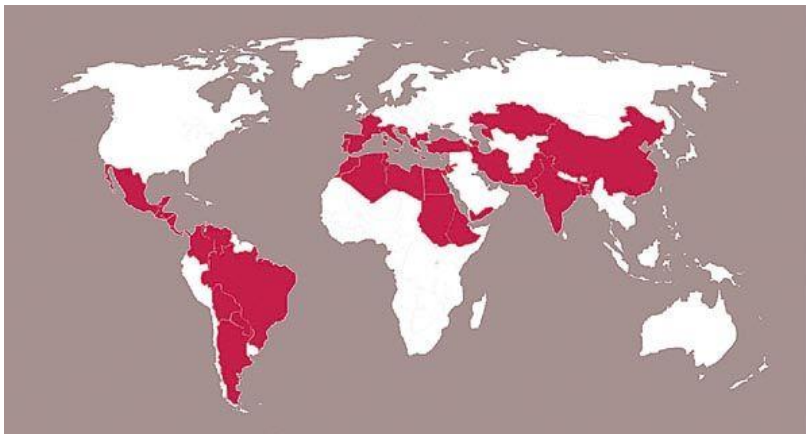
Léky pro druhou fázi onemocnění: **Melarsoprol** je používán pro léčbu trypanozomy spavičné a rhodéské, má ale mnoho nežádoucích účinků a v centrální Africe byla pozorována zvýšená odolnost parazita vůči tomuto léčivu. Melarsoprol má stejný mechanismus účinku jako Pentamidin. **Eflornithin** je účinný pouze na trypanozomu spavičnou. Látka inhibuje enzymy (ornithin dekarboxylázu), který je důležitý v biosyntéze trypanozomy (WHO, 2017).

Pro léčbu **Chagasovy choroby**, způsobované trypanozomou americkou, je využíván **Nifurtimox** (WHO, 2017). A je teprve používán v klinických studiích a to výhradně v kombinaci s ostatními antimalariky. Při podání Nifurtimox produkuje volné radikály, které trypanozomy zahubí (WHO,2017). Bohužel i tento lék působí toxicky i na lidské buňky (Barret et al., 2007).

5.3 Ničivky (leishmanie)

Tito parazité napadající člověka jsou rozšířeni v tropických a subtropických oblastech paleotropického a neotropického světa (viz obrázek 22). U chorob působených leishmaniemi lze sledovat tři základní formy. Formu **kožní**, která je rozšířena od východní Indie a Střední Asie až k Sahelu. Formu **viscerální** lze pozorovat u chudého obyvatelstva, nebo v hustě osídlených oblastech světa v Indii a Číně. Forma **slizničně-kožní** neboli mukokutánní tvoří léze ve vrstvách sliznice.

Parazit je přenášen pouze samičkou komárovi podobných zástupců čeledi flebotomovití, kterým se česky někdy říká koutule. Jelikož jsou flebotomové špatní letci, je velká pravděpodobnost je pozorovat v norách hlodavců, skalních štěrbinách a termitištích (Jíra, 2009)



Obrázek 22 Rozšíření leishmanií. Převzato z práce Sohrabi et al., 2012.

Při výzkumech roku 1975, bylo zjištěno, že fosilní nálezy se nedají srovnávat s recentními druhy (Stuckenberg, 1875), přesto jsou flebotomové z fosilního záznamu známi již z roku 1972, kdy se předpokládalo, že tento druh mohl nákazu přenášet již před 30 milióny let (Hennig, 1972).. Na peruánských nádobách jsou také patrné zmínky o deformacích obličeje vředy v období předkolumbovské Ameriky. V roce 1903 W.B. Leishman a C. Donovan rozpoznali amastigotní formy a následně pojmenovali tohoto prvoka *Leishmania donovan*. V roce 1910 byla vynalezena G. Vianou terapie kožních forem pomocí injekcí antimonových preparátů. (Beneš, 2009). Pomocí antimonové terapie se leishmaniózy dnes už neléčí, jelikož toxicita této látky byla velmi vysoká.

5.3.1 Životní cyklus

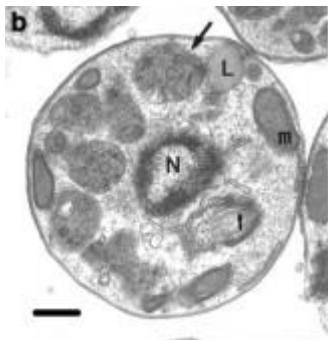
Životní cyklus leishmanií začíná bodnutím flebotomem a následným nasátím krve hostitele. Tím se do střeva vektora dostanou amastigotní formy prvoka, které se dostávají do střev. Zde po 12–14 hodinách dochází k přeměně na promastigotní formy. Následný vývoj ve vektorovi trvá přibližně 5–8 týdnů. Prvok zde přežívá na mikroklcích střeva. Když prvoci ve střevě dokončí svůj vývoj do metacyklických forem, migrují do slinných žláz vektora. Při dalším bodnutí savčího hostitele se metacyklické promastigotní formy dostávají do kůže hostitele. Zde probíhá další transformace a binární dělení v parazitiformních vakuolách. Po namnožení se savčí buňka rozpadá a paraziti se uvolňují. V této fázi jsou buď znovu nasáti vektorem a celý cyklus se opakuje; nebo jsou prvoci pohlcováni buňkami imunitního hostitele – makrofágy, ve kterých se ale rovněž úspěšně množí. Když v této fázi dokáže imunitní systém hostitele včas zareagovat na přítomnost tohoto prvoka, ohraničí se vstupní brána parazita a vzniká **kožní leishmanióza** (viz obrázek 23). Pod kožní leishmaniózu můžeme zařadit formu onemocnění nazývanou *leishmania recidivans*, která se vyznačuje nepřítomností nekróz, malým počtem prvoků a nedostačujícím spontánním hojením. Druhou formu kožní leishmaniózy je tzv. difúzní (diseminovaná) kožní leishmanióza, která tvoří léze na uších nebo po celém těle (Jíra, 2009). Této formě se více zabývám v kapitole Kazuistika (str. 44). Pokud ale imunitní systém nezareaguje, parazit se nadále šíří do lymfatických uzlin, jater, sleziny. Tyto orgány zduřejí a dochází k jejich poruchám a vzniká **viscerální leishmanióza** (Lucius et al., 2017).



Obrázek 23 Ukázka kožní leishmaniózy. Na obrázku vidíme kožní lézi neboli leishmaniom. Převzato z www.infectionlandscapes.org (URL5)

5.3.2 Stavba Buňky

Stejně jako parazitické prvoci v předešlých kapitolách, i leishmánie ke svému životu potřebují specifické orgány, které jim umožňují přežít v hostiteli. K přeměně metacyklických promastigotů je zapotřebí organel zvaných megasomy, což jsou orgány podobné lysosomu, obsahují cysteinovou proteinázu. Někdy megasomy přesahují velikost jádra a podle Nakamury (2005) by mohly megasomy být zapojeny do infekčnosti prvoka. V buňkách, kde byla velká koncentrace cysteinových proteináz, došlo u zvířat k propuknutí nemoci a tvorbě lézí a u prvoků, kde koncentrace byla malá, mnohdy se léze vůbec nevytvořily. Megasomy také dopomáhají prvoku ke zničení hostitelských imunitních buněk. Speciálně u *L. mexicana* se vyskytuje organela zvaná proteasom, která má význam při podélném dělení leishmanií. Proteasom v leishmaniích má také velkou souvislost s růstem promastigotů. Při zkoumání této organely bylo zjištěno, že lactacystin dokáže tuto organelu inhibovat. Parazit i tak do těla hostitele vnikl, ale výrazně prvoka omezilo v jeho intracelulárním prostředí (Silva-Jardim et al., 2004). Lactacystin je však předmětem zkoumání a tyto studie jsou prováděny na myších nikoli na lidech, pro intenzivní léčbu nebyla tato látka použita. Velmi zajímavou organelou je fagosom (viz obrázek 24), který zastává svoji funkci ve fázi, kdy makrofág pohltí amastigotní formu parazita. Fagosom vytvoří strukturu, tzv. fagolysosom, která brání makrofágovi parazita zničit (McMahon-Pratt, 2014).



Obrázek 24 Amastigot a jeho buněčné struktury. N- jádro, M- mitochondrie, f - fagosom, šipka směřuje na megasom. Převzato a upraveno z práce McMahon- Pratt, 2014.

5.3.3 Vektoři

Přenašeči leishmanií patří mezi dvoukřídlý hmyz, oddělení Psychomorpha, čeleď Psychodidae a tohoto prvoka přenášejí pouze rody flebotomus (česky také koutule) (viz obrázek 25). Dospělí jedinci flebotomů dorůstají do 1,3–3,5 mm. Tykadla mají dlouhá tvořená 16 články. Obě pohlaví se živí rostlinnými šťávami, ale krev sají jen samice. Flebotomové

během vývoje procházejí holometabolií –proměnou úplnou, tedy se stádii vajíčka, larvy, kukly a dospělce. Ve snůšce se nachází 30–70 vajíček. Žijí převážně v teplých zoogeografických zónách. Vektory leishmanií můžeme rozdělit do dvou skupin. První skupinu tvoří přenašeči Starého světa – rod *Phlebotomus* vyskytující se v aridních oblastech stepích a savanách Afriky, Jihoafrické republiky, Středního východu, indického subkontinentu a Číny. Druhou skupinu tvoří zástupci rodu *Lutzomyia*, kteří obývají tropické lesy Střední a Jižní Ameriky (Marquardt et al., 2005).



Obrázek 25 Samice rodu *Phlebotomus* s nasátou krví. Převzato z práce Sádlové a Votýpky (2014).

V další kapitole se budu věnovat leishmaniózám Starého světa, které se vyskytují v kožní a viscerální formě.

5.3.4 Kožní leishmaniózy

V místě bodnutí komárem se zprvu začne vytvářet skvrna, která se mění v pupen, který ale hostitele nesvědčí ani nebolí. Rychle se však začne měnit ve vřed. Vznik boláku doprovázejí žádné celkové příznaky. Někdy je patrné zduření regionálních uzlin. Léze může být jediná, ale z důvodu opakovaného sání vektora se jich po těle hostitele může objevit i vyšší množství. Vřed se hojí po několika měsících staženou jizvou. Může ale docházet k recidivující formě, kde kolem léze dochází k šíření leishmanií v kůži a vznikají stále nová ložiska. Po nákaze vzniká specifická imunita, avšak opětovné nakažením jiným druhem leishmanie je možné (McMahon-Pratt et al., 2010). Kožní příznaky způsobují především tři druhy leishmanií:

Leishmania tropica Tento druh leishmanie se vyskytuje ve městech Středomoří, Blízkého východu, Střední Asie, Indie, Pákistánu, východní Afriky a Turecka. Je přenášen flebotomem *Phlebotomus sergenti*. Po bodnutí vzniká na místech bodnutí charakteristický plochý, suchý a dlouho se hojící bolák.

Leishmania major - dříve nazývána leishmanie větší, se vyskytuje ve Středomoří, na Středním východě, západní Asii, Indii, Pákistánu a africkém venkově. Kožní boláky jsou vlhké a rychle se hojící. Výjimečně zduří regionální uzliny. Tohoto parazita přenáší *Phlebotomus papatasi*.

Leishmania aethiopica – leishmánie etiopská se, jak už z názvu vyplývá, vyskytuje v Etiopii, Súdánu a Jemenu. Zajímavostí tohoto prvoka je, že se vyskytuje i v horských oblastech do nadmořské výšky 1500 m n.m. Přenašečem je *Phlebotomus longipes* a *P. pedifer*.

5.3.5 Viscerální leishmaniózy

Pokud se leishmánie dostávají i do lymfatických uzlin, jater a jiných orgánů, nastává viscerální forma. Ročně se nakazí půl milionu lidí a 50 000 z nich nákaze podlehne. Nejčastěji se příznaky projeví po 3–8 měsících od nákazy. Onemocnění začíná pozvolna horečkou, která se dostavuje většinou večer. Dále se objevuje únava, občasné nechutenství či zvracení. Při neléčení této nákazy hostitel do jednoho roku až tří let umírá (Beneš, 2005). Viscerální leishmaniózu působí především následující dva druhy ničivek:

Leishmania donovani – někdy nazývána leishmanie útrobní, se vyskytuje ve východní Africe. Hlavními přenašeči jsou *Phlebotomus orientalis* a *P. martini*, kteří žijí v savanových oblastech. V povodí řeky Gangy a Brahmaputry šíří nákazu *P. argentipes* a v Číně *P. chinensis*.

Leishmania infantum – neboli leishmanie dětská. Vektory tohoto prvoka jsou flebotomové *P. ariasi* a *P. perniciosus*.

V další kapitole se věnuji leishmaniózám Nového světa, které způsobují mimo kožních a viscerálních i slizničně- kožní formy onemocnění.

5.3.6 Kožně slizniční formy

U kožně slizničních forem můžeme pozorovat velmi nepříjemné eroze obličejových chrupavek a nosní přepážek. Dochází zde ke zkapalnění tkání (likvefakce). Léze se začínají tvořit ve sliznici nosu, vzniká endarteriitida (zánět vnitřních vrstev tepenných stěn) a trombózy (Jíra, 2009). Sliznice se začnou překrvovat a vznikají destrukce tkání. Zřejmě tato forma je následek metastázy z kožní léze, která se může vyskytovat i jinde na těle. Původcem jsou především dva druhy ničivek:

Leishmania braziliensis – u tohoto prvoka bylo zjištěno, že se jen velmi zřídka hostitel zbavuje všech parazitů, hostitel zůstane dlouhodobým rezervoárem pro přenašeče. Lidé s touto formou onemocnění se také musí vypořádat s deformací obličeje. Prvok ničí obličejové chrupavky. Tohoto parazita přenáší rod *Lutzomyia* (Beneš, 2009).

Leishmania guyanensis – tento parazit se vyskytuje v Guyaně, Surinamu a severní Amazonii, způsobuje mnohačetné léze, následně prvok může časně šířit nákazu podél lymfatických cév.

5.3.7 Viscerální formy

Leishmania chagasi – tento prvok se vyskytuje ve střední a jižní Americe a zejména v severovýchodní Brazílii. Hlavním přenašečem je *Lutzomyia longipalpis*. Tento druh leishmání se vyskytuje převážně u dětí (Chappuis et al., 2007).

Léčba

U viscerálních forem lze medikovat **amphotericin B** (0,5–1 mg/kg), dávkování se ale může v různých oblastech lišit. Ve Středomoří u *L. infantum* se podává množství 3 mg/kg.

K nejnovějším lékům proti těmto prvokům patří **miltefosin** v dávce 2,5 mg/kg. Dříve se používaly antimonové přípravky, které jsou ale velmi toxické a účinek není také nijak velký.

U kožních forem je zapotřebí chirurgický zákrok lézí (tzv. excize). Dále se používají **termoterapie** nebo **kryoterapie**, což je mražení kožních lézí tekutým dusíkem. U leishmání Starého světa se používají antimykotika – ketoconazol, fluconazol či itraconazol. Celou léčbu je dobré doplňovat antimykotickými krémy. U kožně slizničních forem se podává **pětimocný antimon** a **amphotericin B** (Mihál et al., 2005).

Většina léků působí na leishmanie jako chemoterapeutika, velkým problémem je ale toxicita léků, která může vážně poškodit orgány člověka. Velké naděje vědci vkládají do výzkumu nanočástic, které by mohly být šancí pro vyléčení člověka bez větších vedlejších účinků (Sohrabi et al., 2012).

Mechanismu účinku na leishmanie je znám pouze u léku miltefosin, kdy pravděpodobně dochází k přímému působení na metabolismus membránových lipidů v buňkách parazitů. Ovlivňuje tak permeabilitu membrány a šíření transdukce (Mihál et al., 2005).

V další kapitole se budu věnovat konkrétnímu případu nakažením leishmanie. Podařilo se mi najít člověka, který si tímto onemocněním následnou léčbou prošel a poskytl mi všechny informace, které jsou tímto onemocněním spojené.

5.3.8 Kazuistika

Pacient ZP (věk 25 let; voják z povolání) se zúčastnil ve dnech 1.4–22.4. 2016 vojenského cvičení ve Francouzské Guyaně, tzv. „Jungle Course“ – kurzu přežití v džungli. Během celého pobytu v Guyaně se pohyboval v těžkém, zaplaveném a bahnitým terénu. Po pěti týdnech od návratu pozoroval menší vřídek na hřbetu levé ruky. Ránu, ze které posléze začal vytékat i hnis, ošetřoval jodisolem a fucidinem. Rána se i přesto zvětšovala a navíc došlo ke zvětšení lymfatických uzlin. Dne 10.6. byl pacient poslán do VN Brno na chirurgii s podezřením na otravu krve. Službu konající lékař pojal podezření na leishmaniózu a pacient ZP byl poslán na infekční oddělení FN Bohunice. Zde byly provedeny odběry krve a předepsán Doxycycline (3×100 mg). Po pěti dnech se pacientův stav zhoršil a byl zde hospitalizován. Po odběru tkáně z vředu (viz obrázek 26) mu bylo podáno 7×240 mg gentamycinu, po kterém se vřed na ruce zmenšil. Vzorky biopsie vředu byly odeslány na histologii FN Bulovka.



Obrázek 26 Fotografie vředu ze dne 15.6. 2016

Dne 28. června NRL potvrdila pozitivní výsledky testu leishmaniózy, avšak bez přesného druhového učení. 30. června pacient ZP nastoupil na hospitalizaci s medikací liposomálního

amphotericinu. Dále byl léčen Abelcetem (2,5 mg/kg); 14. a 21. den léčby byla navíc podána antirelapsová dávka. Další vyšetření zjistila pouze hraniční velikost jater, bez další zjištěné patologie. Při prvním podání amphotericinu však pacient dostal horečky (okolo 38 °C) a bolesti hlavy. 4. července 2016 byl pacient propuštěn domů; 14. června byla podána další dávka amphotericinu a byly provedeny nové hematologické odběry, při kterých byla zjištěna vzestupná aktivita aminotransferáz (enzymy, které jsou v organismu sledovány při jaterních testech). Byl podán znovu Abelcet (200 mg/500 ml). Při podání se pacientům stav opět zhoršil (třesavka, teplota 38°C, bolesti hlavy). Přesto byl pacient druhý den propuštěn z hospitalizace. Plánovaná poslední dávka amphotericinu byla podána 21. července 2016, opět následovalo zvýšení teploty, bolesti hlavy a nevolnosti. Znovu byly provedeny odběry krve a všechny sledované parametry byly tentokrát v normě. Vřed samotný (viz obrázek 27) byl ošetřován mastí framykoinem a sterilním krytím, jelikož začal hnisat. Konkrétní druh leishmanie dosud nebyl určen; po konzultaci s vojenskými lékaři z Francouzské Guayany bylo okruh možných původců onemocnění zúžen na dva druhy ničivek, které se v dané oblasti vyskytují: *Leishmania braziliensis* a *Leishmania guyanensis*.



Obrázek 27 Fotografie vředu ze dne 9.8. 2016



Obrázek 28 Foto začínajících uzlinek na ruce. 10.8. 2016

Definitivně byl druh ničivky determinován až 10. srpna 2016; jednalo se o *Leishmania guyanensis*. 11. srpna 2016 byl nasazen lék IMPAVIDO 50 mg 3× denně, užíván po dobu 28 dnů. Pacientovi bylo po léčích mírně nevolno, větší viditelné účinky nepozoroval. Testy provedené 30. srpna ukázaly na zhoršení sledovaných ledvinových parametrů, subjektivní zhoršení stavu však pacient pozorovat až 4. září 2016 (zvracení). O pár dnů později se však jeho stav zlepšil, byť se cítil oslabeně a jeho váha poklesla o 4 kg. 8. září byla léčba IMPAVIDem dokončena a následně byla provedena excize tkáně. Dne 10. září 2016 začala z rány vytékat bílá tekutina, proto bylo poranění ošetřované Betadine mastí. Stejná bílá tekutina vytékala i z menších uzlinek na paži a proto byl nasazen Cotrimoxazol Al forte. 25. září 2016 pacient zaznamenal růst malých uzlinek na různých úsecích postižené ruky (Obrázek 28).. Proto byl 29. září proveden kontrolní odběr. Na levé ruce (postižené leishmaniózním vředem) byla naměřena teplota 37,2 °C; v pravém podpaží byla naměřena teplota normální. Výsledky biopsie ze 14. září neprokázaly přítomnost leishmanií, proto byl odebrán nový vzorek z jiného vředu na předloktí a poslán do Prahy. Ani kontrolní pracoviště přítomnost ničivek ve tkáni neprokázalo, a rána byla stále ošetřována Fucidinem a mastí Betadine. Dne 12. října 2016 pacient ZP podstoupil další odběry, po kterých byla léčba uzavřena.

Dne 28. října 2016 se ale pacientův zdravotní stav znovu zhoršil a bylo mu naordinována antibiotikum (Dalcin 300 mg) kvůli stafylokokové superinfekci. Navíc pozoroval rozsev uzlinek na levé ruce, a tak navštívil FN v Brně. Výsledky krevních testů nevykázaly žádné odchylky od normálního stavu a proto mu byla předepsána kortikosteroidní mast. 1 prosince 2016 při naplánované kontrole byl proveden stěr ke kultivaci a podány nové léky (Benemicin 300 mg a Dalacin C 300 mg). 7. prosince 2016 byla provedena další excize tkáně vředu na hřbetě ruky z důvodu podezření recidivy leishmaniózy. 9. prosince 2016 se na původním místě vytváří nová léze, podobná ulceraci, která se objevila při začátku nemoci (viz obrázek 29).



Obrázek 29 Fotografie hřbetu ruky ze dne 9.12. 2016

Biopsie ze 7. prosince 2016 prokázala opětovný výskyt leishmáníí (relapsi onemocnění). 20. prosince 2016 byl pacientovi podán nitrožilně Pentacarinát ve čtyřech dávkách. Po dobu hospitalizace byla provedena i kontrola sliznic z důvodu obavy rozšíření leishmáníe do sliznice (mukokutánní forma). Dle projevů byla pacientovi ZP sdělena definitivní diagnóza: diseminovaná kožní leishmanióza. Léze se po čtyřech dávkách pentacarinátu zajizvily. Poslední fotografie rány pacienta ZP pochází z 20. ledna 2017. Je na ní jasně viditelná začínající léze, která byla následně léčena úspěšnou kryoterapií.

Ošetřující lékaři následně u pacienta ZP zjistili nákazu tzv. Leishmanie-RNA virem. Je to dvouřetězcový virus, obsažený v buňkách ničivek (lze o něm říci, že je vlastně prokaryotickým endosymbiontem) a výrazně dopomáhá k prodloužení přežití parazitů a tím vede k recidivě onemocnění (Bourreau et al., 2016). Studie tohoto viru jsou prováděny ve velké většině jen na myších a vliv na člověka není dobře prozkoumán. V jedné z mála studií (Bourreau et al., 2016), ve kterých byli zkoumáni lidé, vyšlo, že 31 nakažených bez RNA viru leishmanie neměli po medikaci pentamidinem žádný relaps. U 32 nakažených s RNA virem leishmanie byl pozorován relaps u dvanácti z nich (Bourreau et al., 2016). Bohužel tato vzácná diagnóza je předmětem bádání a účinná léčba není známa.

V dalších kapitolách se budu věnovat střevním nákazám.

5.4 Kokcidie

Prvoci patřící do této skupiny napadají sliznice a trávicí trubice hostitele. Životní cyklus může být buď jednohostitelský (jako tomu je u rodu *Cryptosporidium*), nebo dvouhostitelský (rod *Sarcocystis*). Kokcidie patří do monofyletické superskupiny SAR, která vznikla spojením taxonů Stramenopila, Alveolata a superskupinou Rhizaria (Macháček et al., 2016). Hlavní charakteristikou kokcidií je tvorba odolných **oocyst**, které jsou vylučovány z těla hostitele s výkaly. Oocysta je robustní struktura, která je odolná vůči mechanickému poškození, zároveň ale musí dovolovat sporozoitům excystaci ve střevě dalšího hostitele. Dříve se vědci domnívali, že žaludeční šťávy způsobí otvory ve stěně oocysty, a tak se sporozoiti dostanou snadno do dalších částí trávicího traktu. Podle nejnovějších studií (Belli et al., 2006) bylo toto tvrzení vyvráceno. Pokusným zvířatům byly oocysty podány injekčně, a tudíž neprocházely trávicím traktem. Sporozoiti byli v uměle nakaženém organismu i za těchto podmínek prokázáni (Belli et al., 2006)

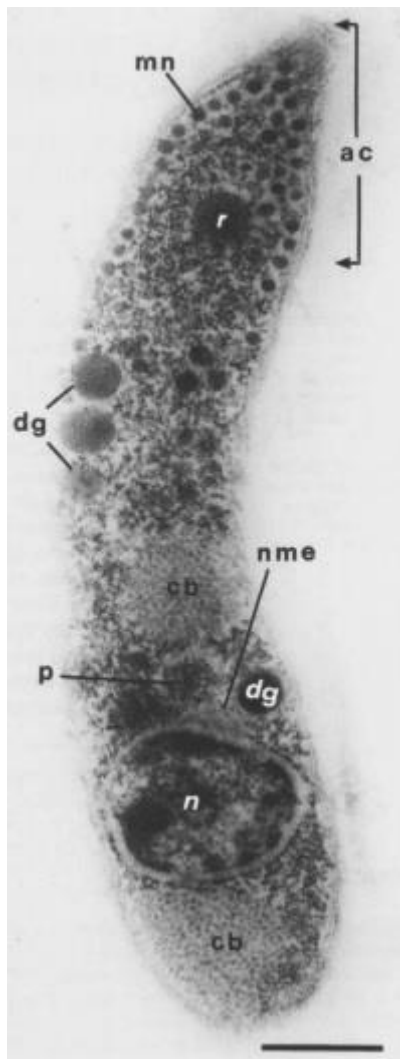
Sporocysty jsou další charakteristickou strukturou kokcidií, které můžeme pozorovat u svalovek. Uvnitř sporocyst se nacházejí infekční sporozoiti, které po „vylíhnutí“ ze sporocysty začínají infikovat střeva hostitele. Buňka tohoto prvoka je tedy charakteristická tím, že v jedné oocystě se nachází dvě sporocysty a nich jsou vždy 4 sporozoiti, které napadají stěnu střeva.

Cryptosporidium parvum

Tento prvok způsobující průjemové onemocnění se přenáší fekálně-orální cestou. Jeho oocysty jsou dokumentovány z koprolitů lidského původu datovaných okolo před 4300 př. Kr., nalezených na středoseverním pobřeží Peru. Parazit sám byl objeven v roce 1912 americkým parazitologem E. E. Tyzerevem ve střevech myši a o 17 let později byla popsána jeho morfologie a životní cyklus. První případy lidské kryptosporidiózy byly zaznamenány až v roce 1976 (Current, Garcia, 1991).

Charakteristické struktury pro toho prvoka se nachází v přední části buňky (apikální oblast), kde se vyskytují orgány zásadní pro průnik parazita do hostitelské buňky. Orgány sporozoitů (viz obrázek 30) – rhoptrie, mikronemy a denzní granule obsahují proteiny a glykoproteiny, které jsou vpraveny do parazitoformní vakuoly, která zajišťuje přilnutí

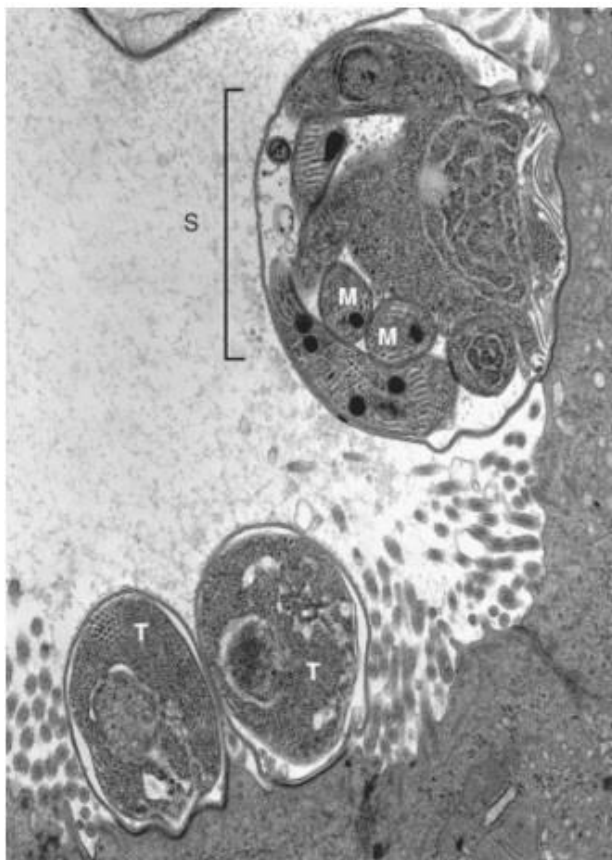
k hostitelské buňce. Dále tyto orgány produkují lektiny označené Gal/GalNAc (galaktóza-N-acetylgalaktosamin). Přilnutí parazita je naopak inhibováno sacharidy a glykoproteiny, například cytochalazinem B nebo D. Další zajímavou strukturou je organela anglicky označovaná *feeder organelle*, která se nachází nad přichytnou ploškou. Pomocí této orgány parazit přijímá výživné látky (Tetley, 1998).



Obrázek 30 Na obrázku se nachází sporozoit a jeho nejdůležitější orgány. Cb- Krystaloidní tělesa, n- jádro, dg- denzní granule, nme-jaderná membrána, p- plastid, r – rhoptrie, ac- zužující se přední část buňky. Převzato z práce Tetley, 1998.

Člověk se tímto prvokem může nakazit například v bazénu fekálně-orální cestou. Do těla se dostane rezistentní oocysta, uvnitř které se nachází 4 sporozoiti. Oocysta putuje do střev hostitele, kde probíhá excystace – jev, při kterém se infekční sporozoiti dostávají ven z cysty. Sporozoiti se dostávají ven z oocysty a napadají buňky střeva (viz obrázek 31) a vytvoří zde

strukturu tzv. přichytnou plošku neznámého původu. Tato struktura dokáže porušit cytoskelet hostitelské buňky. Mikrovili, které se normálně nacházejí na sliznici střeva, se v místě přichycení tohoto prvoka vůbec nevyskytují. Také epitel sliznice je v přítomnosti této struktury výrazně zkrácen (Elliot, Clark, 1999). Zde se prvoci množí zprvu pouze nepohlavně – schizogonií a pak i pohlavně, tzv. gametogonií. Během první fáze pohlavního rozmnožování se tvoří mikrogamonti a makrogamonti. Po splynutí se vytváří dva typy oocyst – oocysty se silnou stěnou jsou z těla vylučovány stolicí. Oocysty s tenkou stěnou, které nejsou z těla vylučovány, slouží k autoinfekci a excystace se může opakovat. Oocysta se silnou stěnou je ihned po opuštění těla infekční, cyklus se tedy také může hned zopakovat (Jíra, 2009).



Obrázek 31 *Cryptosporidium parvum* na epitelu střeva. T – Trofozoiti, S- Schizont obsahující merozoity-M. Převzato a upraveno z práce Farris et al., 2010.

5.4.1 Epidemiologie a prevalence

Nákaza se vyskytuje celosvětově a mimo člověka napadá i celou řadu savců a přežvýkavců. Kryptosporidie jsou nejčastější příčinou akutních průjmů kojenců a batolat, v jižních Čechách způsobují až 5,8 % dětských průjmů a celkově se ročně nakazí až 22 miliónů osob na světě (Beneš, 2009). Infekční dávka se může pohybovat od 10–100 oocyst. Nákaza postihuje všechny věkové kategorie. Nejvíce jsou ale ohroženi osoby s imunologickými potížemi – s

leukémií, nemocní po transplantaci kostní dřeně, ale i nemocní cukrovkou. Průběh nemoci u těchto osob může mít až fatální následky, jelikož jejich imunitní systém nezareaguje včas a prvok může v těle napáchat nevratné škody – velké poškození stěn střeva, kvůli kterému střevo málo absorbuje živiny, což vede k osmotickému průjmu (průjem vznikající zvýšeným obsahem nevstřebatelných látek v trávenině).

Velkým problémem je kryptosporidium pro osoby nakažené virovým onemocněním AIDS. Sliznici střeva chrání lektinová vrstva, která podporuje správné fungování a střev a hlavně vstřebávání živin. U osob nakažených AIDS je patrný deficit této vrstvy, proto u těchto osob dochází ke chronickým, vodnatým průjmům, které mohou přetrvávat roky. Mead (2002) uvádí, že 32 z 61 dospělých nakažených AIDS, zemřelo po šesti měsících od nakažení tímto prvokem a u dvaceti byla kryptosporidióza uvedena jako přispívající příčina jejich úmrtí.

5.4.2 Klinický obraz

Inkubační doba této nemoci je 7–10 dnů. Kryptosporidióza je příčinou vodnatého průjmu, který se projevuje častou stolicí (až 10× denně) po několik dnů až měsíců. Vodnatá stolice obsahuje zbytky střevní sliznice a obzvláště u dětí způsobuje rychlou dehydrataci. Průjmy mohou být doprovázeny nechutenstvím, zvracením, anorexií a zvýšenými teplotami (Beneš, 2009).

5.4.3 Léčba

Účinná léčba proti tomuto prvoku zatím není známa. Dříve se k léčbě zkoušely chemoterapeutika pyrimethamin, sulfadiazin a spiramycin, ale nemají žádoucí účinek. Příznivé jsou ale studie nitazoxanidemu. Konkrétně studie provedená v Mali navrhla tento lék jako účinný proti tomuto parazitu (Mead, 2002). Paranomycin se používá k léčbě u osob nakažených AIDS, účinnost je velmi malá díky špatné biologické odpovědi.

Proč je ale léčba u tohoto prvoka tak náročná? Zdá se, že *C. parvum* má přirozenou odolnost vůči farmakoterapii. K tomu přispívá několik faktorů: parazit má jedinečné umístění v hostitelské buňce, které může ovlivnit koncentraci léčiv. V tomto prvoku se nachází transportní proteiny (CpABC), které přenášejí chemoterapeutika z parazita i do hostitelské buňky, tudíž léčba není efektivní (Mead, 2002).

5.4.4 Prevence

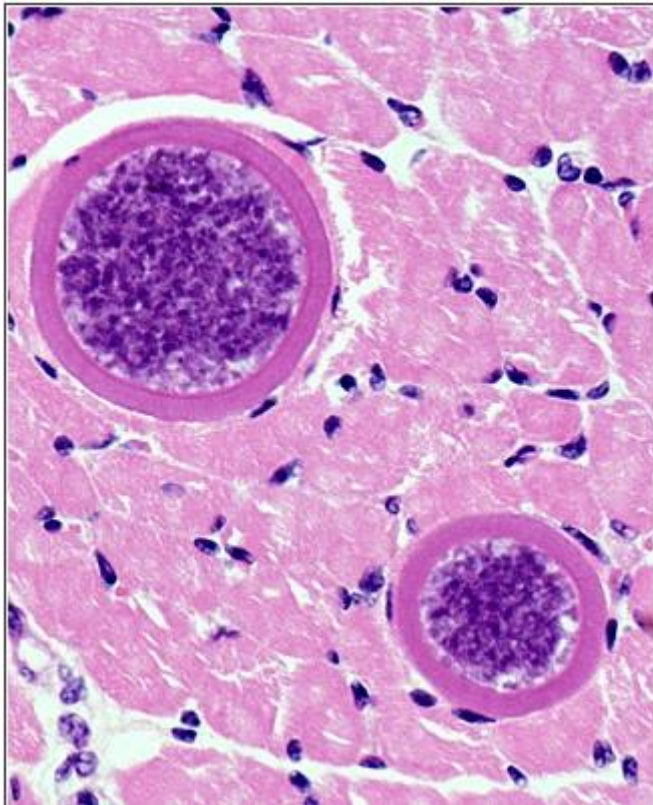
V místech, kde se tento parazit se vyskytuje, se nedoporučuje používat dezinfekční přípravky, jelikož je na ně prvek přizpůsoben a oocysty i tak přežívají. Doporučuje se místa sterilizovat horkou parou. Dále pít převážně převařenou vodu a dodržovat hygienu při styku s nakaženými. Místo klasického chloru do bazénů se doporučuje používat oxid chloričitý², který oocysty sice neničí, ale alespoň inaktivují (WHO, 2016).

5.4.5 Svalovka (rod *Sarcocystis*)

Další významnou kokcidií je prvek manifestující se průjmovým onemocněním s mírným průběhem. Původcem je cystotvorný parazit, tzv. svalovka (*Sarcocystis*). Člověk se tímto prvokem nakazí alimentárně, tedy přes tepelně neopracovanou svalovinu. V roce 1843 byly sarkocysty poprvé zkoumány na myších Meischerem. V roce 1865 byly popsány i na prasatech a pojmenovány Meischnerovy váčky. Teprve až v 70. letech minulého století byl podrobně popsán životní cyklus svalovek (Koudela, 2005).

Životní cyklus začíná, když se býložravý či masožravý mezihostitel infikuje sporocystami vyskytující se v potravě, či v kontaminované vodě. Sporocysty putují do tenkého střeva, kde se uvolní sporozoiti, kteří pronikají sliznicí tenkého střeva a v cévních endotheliích se formují v merozoity. Ty napadají svalové tkáně a tvoří cysty (viz obrázek 32). Zralé cysty mají vřetenovitý tvar a vyskytují se v buňce trvale. Cysty obsahují různé přepážky (septa), kde se nachází infekční bradyzoity, kterých může být až několik set tisíc. Jejich konoid je tvořen 20 mikrotubuly a několika apikálními prstenci. Zde se také nachází dvě rhoptrie. Z takto napadeného svalu, který je špatně tepelně upraven, mohou pocházet pozřené cysty. V člověku se dostávají až do tenkého střeva, kde bradyzoiti vystupují z roztržených cyst a pronikají do epitelu střeva. V epitelu se dělí na mikro- a makrogametocyty, ty se následně spojí a vytvoří oocystu, která je následně vyloučena se stolicí. Cysty jsou schopné infikovat dalšího hostitele i po roce pobytu v mezihostiteli. Cysty lze zničit pouze teplotou nad 60 °C, nebo hlubokým zmražením až na -20 °C (Jíra, 2009).

² Oxid chloričitý (ClO₂) je silné oxidační činidlo s širokou biocidní účinností. Nereaguje s dusíkem nebo amoniakem. Je to oranžově zabarvený plyn krystalizující při teplotě -59 °C (Singh et al., 2002).



Obrazek 32 Svalovka zapouzřřená v tkáni svalu. Převzato www.neuromuscular.wustl.edu

Celosvětově je incidence střevní sarkocytózy odhadována na 6–10 %. Toto onemocnění je častější v zemích, kde se hojně konzumuje syrové maso. Sarcocystóza je onemocnění přechodné. Nemoc je léčena antiparazitními látkami jako je metronidazol či cotrimoxazol. Jedná se o antibiotika s mechanismem účinku přes blokaci enzymů, které jsou nutné pro tvorbu kyseliny listové. Dodatečně mohou být medikovány kortikosteroidy ke snížení zánětu (Fayer, 2004).

Klinický obraz

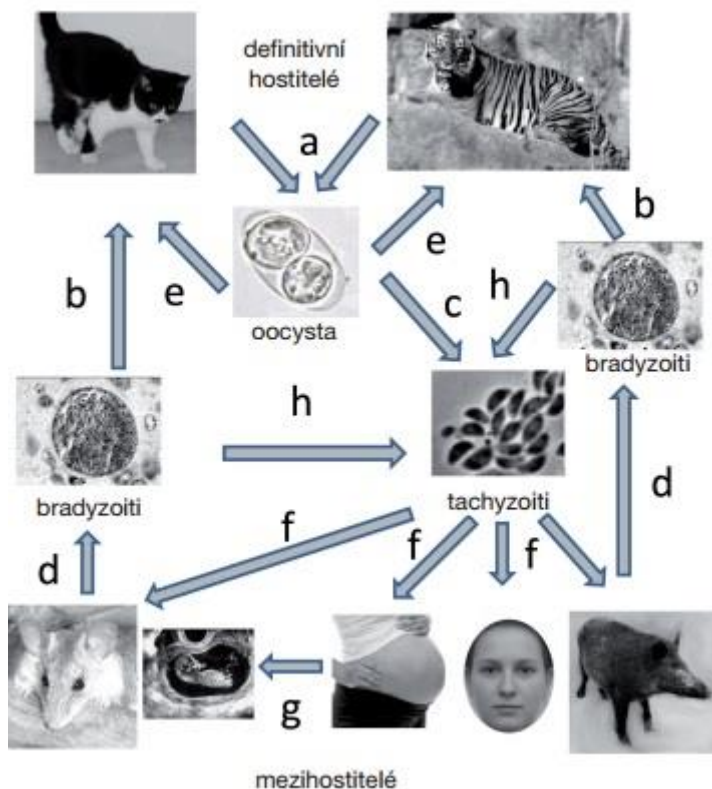
Klinický obraz u člověka je spojen s průjmovitým onemocněním různého stupně a je intenzivní podle velikosti požití infekční dávky oocyst.

5.4.6 Toxoplazmóza obecná (*Toxoplasma gondii*)

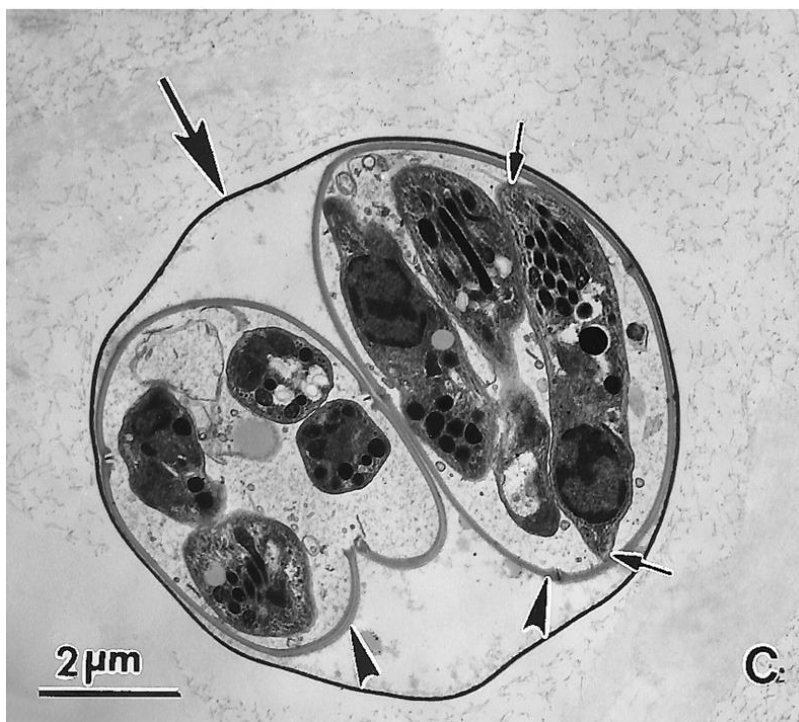
Tento parazitický prvek byl poprvé objeven v roce 1908 u saharského hlodavce gundi (*Ctenodactylus gundi*). Jím působené tkáňové cysty v oku jedenáctiměsíčního chlapce, postiženého hydrocefalem a degenerativními ložisky v oblasti žluté skvrny, popsal v roce 1923 český oftalmolog Josef Janků. První sérologický test zavedli v roce 1948 A. B. Sabin a Harry A. Feldman. *Toxoplasma* je dvouhostitelský parazit, který ve svém životním cyklu

střídá několik vývojových forem. Konečným hostitelem je kočka domácí (*Felis catus*) a mezhostitelé se nejčastěji rekrutují z nejrůznějších druhů teplokrevných živočichů, mezi které patří i člověk (Jíra, 2009). „Původní“ mezhostitelé představují potenciální kořist kočky, člověk v původním životním cyklu nefiguroval.

Konečný hostitel se nakazí požitím svaloviny mezhostitele, ve které se nachází bradyzoiti (viz obrázek 33). Společně s trusem jsou pak z jeho střeva uvolňovány oocysty, kterými se nakazí další mezhostitelé požitím kontaminované potravy. Takto se může nakazit coby mezhostitel rovněž člověk, například se špatně omytou zeleninou (hlavně ředkvičky a mrkev). Z oocyst se ve střevě mezhostitele uvolňují tachyzoiti a pronikají do tkání celého těla, především do svalů. Ve svalech se tachyzoiti přemění na bradyzoity, kteří v těle zůstávají až do jeho smrti. Pokud mezhostitele uloví nějaký dravec, v jeho těle se zpět přemění v tachyzoity. Jestliže zvíře navíc pozřela kočkovitá šelma, změní se v merozoity a dále v gametocyty, které v těle kočky splývají a vytváří oocysty (viz obrázek 34). Člověk se může nakazit také bradyzoity, které se nacházejí v nedostatečně tepelně upraveném masě (Dubey, 2009).



Obrázek33 Životní cyklus koccidie kočičí (*Toxoplasma gondii*). Převzato z práce Flegra (2011).



Obrázek 34 Oocysta *T. gondii*. Velká šipka – tenká stěna oocysty, Malé šipky – dvě sporocysty se sporozoity. Převzato a upraveno z práce Dubey et al., 1998.

I u toxoplazmy se vyskytují sekreční orgány napomáhající průniku do hostitelské buňky. Stejně jako u ostatních výtrusovců to jsou rhoptrie, mikronemy a denzní tělíska. Při průniku se vysouvá konoid a sekrety jmenovaných organel jím prochází ven z buňky parazita. Přítomen je i pro výtrusovce typický apikoplast (Hypša et al., 2002).

Toxoplazmózou je nakažena asi třetina populace na Zemi. Avšak jen u malé části obyvatelstva se vyvine závažné onemocnění. V České republice je infikováno okolo 45 % žen a 35 % mužů (Prášil, 2009). Člověk se může nakazit přes vodu kontaminovanou oocystami, konzumací nedopečeného masa, transplacentárně při akutní infekci či transplantací orgánu. Průběh nákazy je ovlivněn dávkou a virulencí parazitů. Při akutní primární nákaze je průběh většinou bez příznaků. Někdy bývají zvětšeny lymfatické uzliny. Někdy může akutní fázi doprovázet horečka, bolest svalů či bolesti v krku. Choroba může mít několik typů projevu:

Oční toxoplazmóza se získává důsledkem postnatálně získané infekce. Projevuje se zamženým viděním a vytváří se zánětlivé žlutobílé pláty s neostrými okraji. Naopak **kongenitální (vrozená) toxoplazmóza** vzniká jen tehdy, když u těhotné ženy probíhá akutní infekce. Infekce se dostává do řady orgánů včetně placenty. K této formě dochází, jen když se žena léčí cytostatiky, nebo je nakažena virem AIDS. **Neurotoxoplazmóza** neboli

toxoplazmová encefalitida se vyskytuje především u osob nakažených AIDS nebo poruchou CNS (Prášil, 2009).

Dle Flegra (2011) způsobuje choroba způsobená toxoplazmou u lidí tři základní formy.

Akutní propuká hned po nákaze parazitem a příznaky jsou stejné jako u většiny viróz. Ve velké většině případů akutní toxoplazma samovolně odezní a přejde do své **latentní fáze**, kdy se v těle vyskytují jen klidová stádia. Nejobávanejší je forma **kongenitální**, kterou jsou postiženi novorozenci, jejichž matka se nakazila až v průběhu těhotenství.

Čím dříve se žena v těhotenství nakazí, tím menší je pravděpodobnost, že se infekce dostane až k plodu. Ženy, které se infikují v prvním trimestru, mají toto riziko 25%; ve druhém trimestru 54% a ve třetím trimestru 65%. Děti, které se narodí matkám nakaženým v prvním trimestru, často umírají v prvním týdnu/měsíci života. Děti, které se narodily matkám nakaženým ve třetím trimestru, sice porod přežijí, ale u 75-95 % se později prokáží následky **kongenitální infekce** (chorioretinitída, mentální či psychomotorické retardace) (Palička et al., 1998)

Latentní toxoplazmóza u těhotných žen je na veřejnosti prezentována jako život neohrožující onemocnění. Nicméně je doprovázena jistými specifickými změnami. Na rozdíl od akutní formy, latentní forma nemá velký dopad na zdraví potomstva, ale bylo zjištěno, že v 16. týdnu těhotenství toxoplazma-positivních matek jsou plody méně vyvinuté než u zdravých ženy. Dalším rizikem u těhotných žen nakažených latentní toxoplazmózou je, že prvek může oslabit mechanismus spontánního potratu, který je za normálních podmínek důležitý pro eliminaci embryí s vývojovými vadami (Kaňková et al., 2015). Takové ženy jsou však chráněny před přenosem prvoka na dítě.

Prevence

Pravidelné odstraňování kočičího trusu, vyvarování se konzumace syrového masa.

Vyvarování se kontaktu s kočkami. Obzvláště opatrné by měly být těhotné ženy, které toto onemocnění mohou přenášet na plod, kdy postižení má fatální následky - hydrocefalus, intracerebrální kalcifikace a chorioretinitída.

Léčba

Nejčastěji používaným lékem je **pyrimethanin**, který se podává v kombinaci s jinými chemoterapeutiky. Gravidní žena tento lék kombinuje se sulfadiazinem a **ramyzinem**.

Klindamycin dobře proniká do očních tkání, proto je používán při léčení oční toxoplazmózy. **Klarithomycin** se používá pro terapii neurotoxoplazmózy, doporučuje se též i u oční formy (Prášil, 2009).

Toxoplasma v České republice

K jednomu z nejznámějších českých výzkumníků toxoplazmy patří pan profesor Jaroslav Flegr, který se ve svých studiích zaměřuje především na vliv parazita na psychiku člověka.

V jedné ze studií, kdy se testovala přítomnost tohoto prvoka u lidí, připojil pan profesor i psychologický dotazník, který měl zpočátku zkoumat jen reakce na nečekané podněty – například reakce na pavouka, lekání na nečekaný hluk atd. Člověk, který trpí tímto onemocněním, by měl mít tyto reakce zpomalené. Stejně tak jako myš, která je napadena tímto prvokem reaguje na podněty pomaleji a tím ji kočka může snáze chytit a sežrat. Do dotazníku byl zařazen i Cattelův šestnáctifaktorový osobnostní test, který zkoumá společenskost, vřelost, psychickou vyzrálost, dominanci a inteligenci. Ve výsledcích se ukázalo, že toxoplazma-pozitivní osoby se liší v reakcích na nečekané podněty při srovnání se zdravou kontrolou. Mnohem zajímavější výsledky však přinesly odpovědi z Cattellova osobnostního dotazníku. V závěru vyšlo, že toxoplazma-pozitivní muži jsou podezřívavější, méně ochotní respektovat společenské normy. Měli také nízké hodnoty faktoru A, který říká, že infikovaní muži jsou méně vřelí a společenší. Naopak nakažené ženy více respektují společenské normy a vykazovaly mírně vyšší inteligenci (Flegr, 2011).

Otázkou je, jakým mechanismem parazit dokáže měnit chování hostitele? Studie prováděné na zvířatech potvrdily, že nakažené myši mají v mozku zvýšenou hladinu neurotransmiteru dopaminu. Z výsledků těchto studií bylo odvozeno, že u člověka funguje obdobný mechanismus. Bohužel měření dopaminu v mozku člověka by bylo velice složité a proto se místo něj využívá Cloningerův sedmifaktorový dotazník, který zkoumá pomocí 238 otázek čtyři povahové dimenze, které vyhledávají nové podněty, tendenci vyhýbat se nepříjemným věcem, závislost na odměně a vytrvalost. Dále tři charakterové dimenze – sebeřízení, kooperativa a sebezpřesah. Z výsledků tohoto dotazníku vyplynulo, že nakažení lidé mají nižší úroveň faktoru vyhledávající nové podněty. Tedy lze vyvodit, že i u infikovaného člověka je vyšší hladina dopaminu v mozku.

Mezi další velice zajímavé studie (Flegr et al., 2014) patří zkoumání tohoto prvoka v latentní fázi u těhotných žen. Na rozdíl od akutní formy, která způsobuje fatální deformace plodu, je

latentní fáze mírnější. Ve studii se testovala souvislost mezi prevalencí toxoplazmózy a incidencí endokrinních poruch. Ve studii bylo testováno 1250 těhotných žen, a byla zaměřena na funkci štítné žlázy, konkrétně produkci TSH hormonu a tyroxinu. Do studie bylo i zahrnuto screeningové chromozomální vyšetření. Po vyhodnocení výsledků se zjistilo, že z 1250 žen bylo 283 nakaženo latentní toxoplazmózou. U 49 nakažených žen bylo prokázáno onemocnění štítné žlázy. Bohužel u této studie nebyl detekován jakýkoli účinek latentní toxoplazmózy na nemoc štítné žlázy, ale bylo zjištěno, že ženy s latentní toxoplazmózou mají zvýšené TPOAb (tyreoidální protilátky).

K zajímavým výsledkům se došlo i ve studii, kde se testovala souvislost krevních skupin a Rh faktoru s toxoplazmózou (Flegr, 2008). Zjistilo se, že nejmenší riziko nákazy vykazují osoby s krevní skupinou 0 a naopak největší riziko nákazy mají lidé s krevní skupinou AB. Ve studii se také mimo jiné zjistilo, že i u nenakažených osob parazitem jsou rozdíly ve výkonnosti v psychomotorickém testu, ve kterém se zkoumaly reakce subjektů. Lidé s Rh-negativním faktorem, kteří nejsou nakaženi toxoplazmózou, mají pomalejší reakce než nenakažení lidé s Rh-positivním faktorem. Velmi zajímavá je situace u toxo-positivních osob: u Rh-negativních byla výkonnost mnohem nižší než u Rh-positivních, zatímco výkonnost Rh-positivních nakažených i nenakažených byla skoro stejná. Situace u Rh-negativních (nakažených a nenakažených) vykazovala veliké rozdíly. To naznačuje, že nákaza u Rh-negativních způsobí velký propad ve výkonnosti.

Závěr

Hlavní cílem mé bakalářské práce byl prostudování dostupné odborné literatury o vybraných jednobuněčných eukaryotických parazitech (Plazmodia, Trypanozomy, Leishmanie a kokcií). Práce tak představuje rešerši základních poznatků z oblasti buněčné stavby a morfologie zvolených zástupců, věnuje se i životním cyklům a areálu výskytu, dopadu na hostitelský organismus a rovněž léčbě.

Při zpracovávání rešerše jsem zjistila, že k velkým pokrokům při studiích prvoků došlo s příchodem moderních metod elektronové mikroskopie, díky které se můžou blíže zkoumat organely, které jsou zásadní při léčbě nálezů způsobených těmito prvoky. Dříve byli parazitičtí prvoci pokládáni za mnohdy amitochondriální, dnes díky elektronové mikroskopii a metodám molekulární biologie víme, že tato organela se v prvocích přeměnila na obdobu mitochondrie, hydrogenosom či mitosom.

Díky kazuistice uvedené v kapitole o leishmáních jsem na vlastní oči viděla, jak fatální následky může nákaza tropickými parazitickými prvoky mít a že nakažení hrozí i občanům České republiky při výjezdech do zahraničí. Je až neuvěřitelné, jak moc a jakou rychlostí tyto prvoci dokážou napadat lidský organismus. Úmrtnost na nemoci jimi působené záleží na včasné diagnostice a podání správných léčiv, což v rozvojových zemích jako je Afrika, Jižní Amerika či přelidněná Asie může být velký problém. Proto si myslím, že zvýšení povědomí o těchto „zabíjácích“ je velice důležité a doufám, že k němu přispěje i má bakalářská práce.

Seznam použité literatury

- AKHLMANOVA, Anna a Michael STEINMETZ. Tracking the ends: a dynamic protein network controls the fate of microtubule tips. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [online]. 2008, **2008**(9), 309-322 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1038/nrm2369. Dostupné z: <https://www.nature.com/nrm/journal/v9/n4/full/nrm2369.html>
- ALBERTS, Bruce. *Molecular biology of the cell*. 2nd ed. New York: Garland Publishing, 1989. ISBN 0-8240-3695-6.
- ALBERTS, Bruce. *Molecular biology of the cell*. 5th ed. New York: Garland Publishing, 2008. ISBN 978-0-8153-4111-6.
- BATTLE, Katherine a Peter GETHING. The Global Public Health Significance of Plasmodium vivax. *Advances in Parasitology* [online]. 2012, **2012**(80), 1-113 [cit. 2017-06-27]. Dostupné z: <http://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1365&context=publichealthresources>
- BATTLE, Katherine, Ewan CAMERON a Carlos GUERRA. Defining the relationship between Plasmodium vivax parasite rate and clinical disease. *Malaria Journal* [online]. 2015, **191**(14), 1-14 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1186/s12936-015-0706-3. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4429942/>
- BELLI, Sabina I., Nicholas C. SMITH a David J. P. FERGUSON. The coccidian oocyst: a tough nut to crack!. *Trends in Parasitology* [online]. 2006, **22**(9), 416–423 [cit. 2017-06-27]. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2006.07.004>. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2006.07.004>
- BENEŠ, Jiří. *Infekční lékařství*. Univerzita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Na Bulovce, Klinika infekčních nemocí 3. LF UK: Galén, 2009. ISBN 978-80-7262-644-1.
- BERN, Caryn, Diana MARTIN a Robert GILMAN. *Acute and Congenital Chagas Disease* [online]. 2011, **2011**(75), 19-47 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1016/B978-0-12-385863-4.00002-2. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123858634000022?via%3Dihub>
- BIVORT, Benjamin, Chun-Chung CHEN, Fabrizio PERRETTI, Giacomo NEGRO, Thomas PHILIP a Yaneer BAR-YAM. Metabolic implications for the mechanism of mitochondrial endosymbiosis and human hereditary disorders. *Journal of Theoretical Biology* [online].

2007, **248**(1), 26-36 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1016./j.jtbi.2007.04.017. Dostupné z: <https://www.scribd.com/document/131951052/Metabolic-Implications-for-the-Mechanism-of-Mitochondrial-Endosymbiosis>

BOGOTISH, Burton a Thomas OELTMANN. *Human parasitology*. 4th Edition. USA: Academic Press, 2012. ISBN 978-0-12-415915-0.

BRDIČKA, Radim. Srpkovitá anémie. *Vesmír* [online]. 1994, **144**(73) [cit. 2017-06-27]. Dostupné z: <http://casopis.vesmir.cz/clanek/srpkovita-anemie>

BUTOR, Cécile, Gareth GRIFITHS, Nathan ARONSON a Ajit VARKI. *Co-localization of hydrolytic enzymes with widely disparate pH optima: implications for the regulation of lysosomal pH* [online]. 1995, (108), 2213-2218 [cit. 2017-06-27]. Dostupné z: <http://jcs.biologists.org/content/joces/108/6/2213.full.pdf>

COLLINS, William a Geoffrey JEFFERY. Plasmodium ovale: parasite and disease. *Clinical Microbiology reviews* [online]. 2005, **18**(3), 570–581 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1128/CMR.18.3.570-581.2005. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1195966/>

COWMAN, Alan a Brendan CRABB. Invasion of red blood cells by malaria parasites. *Cell* [online]. 2006, **124**(4), 755-766 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1016/j.cell.2006.02.006. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16497586>

CURRENT, W.L. a L.S. GARCIA. Cryptosporidiosis. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 1991, **4**(3), 325–358 [cit. 2017-06-27]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC358202/>

DUBEY, J.P. *Medical Microbiology* [online]. 4th ed. Texas: Galveston, 1996 [cit. 2017-06-27]. ISBN 0-9631172-1-1. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7752/>

ELLIOT, David A. a Douglas P. CLARK. Cryptosporidium parvum Induces Host Cell Actin Accumulation at the Host-Parasite Interface. *Infection and Immunity* [online]. 2000, **68**(4), 2315–2322 [cit. 2017-06-27]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC97419/>

EMBLEY, Martin a William MARTIN. Eukaryotic evolution, changes and challenges. *Nature* [online]. 2006, **440**, 623-630 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1038/nature04546. Dostupné z: <http://www.nature.com/nature/journal/v440/n7084/full/nature04546.html>

FARRIS, Alton B., Martin K. SELIG a G. Petur NIELSEN. Ultrastructural Diagnosis of Infection. *Diagnostic Pathology of Infectious Disease* [online]. 2010, **2010**, 77–98 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1016/B978-1-4160-3429-2.00005-5. Dostupné z:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781416034292000055>

FAURE, Eric. Malarial pathocoenosis: beneficial and deleterious interactions between malaria and other human diseases. *Frontiers in Physiology* [online]. 2014, **2014**(5), 441 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.3389/fphys.2014.00441. Dostupné z:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4240042/>

FAYER, Ronald. Sarcocystis spp. in Human Infections. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 2004, **17**(4), 894–902 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1128/CMR.17.4.894-902.2004. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC523554/>

FENDRICH, Zdeněk. Malárie a její léčba. *Klinická farmakologie* [online]. 2009, **2005**(19), 89-94 [cit. 2017-06-27]. Dostupné z: <https://www.klinikafarmakologie.cz/pdfs/far/2005/02/03.pdf>

FENG, Liling, Xiaoli LUO, Yaofang ZHOU, Xingbo GUO a Guoqiao LI. Fast elimination of malaria by infectious source eradication with artemisinin-based compound. *Science China* [online]. 2016, **59**(1), 78-80 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1007/s11427-015-4990-5. Dostupné z: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s11427-015-4990-5.pdf>

FLEGR, Jaroslav, M. NOVOTNÁ a J. HAVLÍČEK. Toxoplasma and reaction time: role of toxoplasmosis in the origin, preservation and geographical distribution of Rh blood group polymorphism. *Parasitology* [online]. 2008, **2008**(135), 1253–1261 [cit. 2017-06-28]. Dostupné z: <https://web.natur.cuni.cz/flegr/pdf/rh.pdf>

FLEGR, Jaroslav, Šárka KAŇKOVÁ, Lucie PROCHÁZKOVÁ, Pavel CALDA, Drahomíra SPRINGER a Eliška POTLUKOVÁ. Effects of Latent Toxoplasmosis on Autoimmune Thyroid Diseases in Pregnancy. *Plos One* [online]. 2014, , 1-7 [cit. 2017-06-28]. DOI: 10.1371/journal.pone.0110878.

FLEGR, Jaroslav. *Pozor, Toxo!*. Praha: Academia, 2011. ISBN 978-80-200-2022-2.

FOSRTL, Miroslav. *Praktický atlas lékařské parazitologie*. Hradec králové: Nucleus, 2003. ISBN 80-86225-38-0.

- GILLEN, Alan a Frank SHERWIN. The Genesis of Malaria. *Answers in Genesis* [online]. 2013, **2013** [cit. 2017-06-27]. Dostupné z: <https://answersingenesis.org/biology/disease/the-genesis-of-malaria/>
- GILLHAM, Nicholas. *Genes, Chromosomes, and Disease*. USA: Pearson Education, 2011. ISBN 978-0-13-707544-7.
- HENNIG, Willi. Psychodidae (Phlebotominae), mit einer kritischen Übersicht über das phylogenetische System der Familie und die bisher beschriebenen Fossilien (Diptera). *Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde* [online]. 1972, **241**, 1-67 [cit. 2017-06-27].
- HORÁK, Petr a Petr VOLF. *Paraziti a jejich biologie*. Praha: Triton, 2007. ISBN 978-80-7387-008-9.
- HÜLSMANN, Norbert a Klaus HAUSMANN. *Protozoologie*. Praha: Academia, 2003. ISBN 80-200-0978-7.
- CHAPPUIS, François, Shyam SUNDAR a Asrat HAILU. Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control? *Nature Reviews* [online]. 2007, **2007**, S7-S16 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1038/nrmicro1748. Dostupné z: http://www.nature.com/nrmicro/journal/v5/n11_supp/full/nrmicro1748.html
- JÍROVEC, Otto. *Parazitologie pro lékaře*. 3rd. Praha: Avicenum, 1977. ISBN 0521475740.
- KAŇKOVÁ, Šárka, Jaroslav FLEGR a Pavel CALDA. The influence of latent toxoplasmosis on women's reproductive function: four cross-sectional studies. *Folia Parasitologica* [online]. 2015, , 1-6 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.14411/fp.2015.041. Dostupné z: <https://web.natur.cuni.cz/flegr/pdf/fertility.pdf>
- KARNKOWSKA, Anna, Vojtěch VACEK a Zuzana ZUBÁČOVÁ. A Eukaryote without a Mitochondrial Organelle. *Current Biology* [online]. 2016, **2016**(26), 1274-1284 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1016/j.cub.2016.03.053. Dostupné z: [http://www.cell.com/current-biology/abstract/S0960-9822\(16\)30263-9](http://www.cell.com/current-biology/abstract/S0960-9822(16)30263-9)
- KARP, Gerald. *Cell and molecular biology*. 5th edition. United States of America: Concepts and experiments, 2008. ISBN 978-0-470-04217-5.
- KILBURN, Chandra a Mark WINEY. Basal bodies. *Current Biology* [online]. **18**(2), R56 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1016/j.cub.2007.10.057. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2007.10.057> showArticle Info

KOUDELA, Břetislav. Nález svalovek ve svalovině divokých prasat. *Myslivost* [online]. 2007, **2007**(7) [cit. 2017-06-27]. Dostupné z: <http://www.myslivost.cz/Casopis-Myslivost/Myslivost/2007/Cervenec---2007/Nalez-y-svalovek-ve-svalovine-divokych-prasat>

LIU, Weimin, Katharina SHAW a Lindsay PLENDERLEITH. African origin of the malaria parasite *Plasmodium vivax*. *HHS Public Acces* [online]. 2014, **2014**(5), 1-25 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1038/ncomms4346. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4089193/>

LODISH, Harvey, Arnold BERK, Chris KAISER, Monty KRIEGER, Matthew SCOTT, Anthony BRETSCHER a Hidde PLOEGH. *Molecular cell biology*. 6th edition. United States of America: W. H. Freeman and Company, 2008. ISBN 978-0-7167-7601-7.

LÓPEZ-GARCÍA, Purificación a David MOREIRA. Open questions on the origin of eukaryotes. *Trends in Ecology Evolution* [online]. 2015, (8), 697-708 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1016/j.tree.2015.09.005. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4640172/>

LUCIUS, Richard, Brigitte FRANK, Richard LANE, Robert POULIN, Craig ROBERTS a Richard GRENSIS. *The Biology od Parasites*. 1. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2017. ISBN 978-3-527-32848-2.

LUKEŠ, Julius. Editování RNA. *Vesmír* [online]. 1994, **1994**(7) [cit. 2017-06-27]. Dostupné z: <http://casopis.vesmir.cz/clanek/editovani-rna>

MACHÁČEK, Tomáš, Kateřina MIKEŠOVÁ, Libuše TURJANICOVÁ a Vladimír HAMPL. Proměny vyšší systematiky eukaryot a její odraz ve středoškolské biologii. *Živa* [online]. 2016, **2016**, 27-30 [cit. 2017-06-27].

MARQUARDT, William. *Biology of Disease Vectors*. 2nd Edition. USA: Academic Press, 2004. ISBN 9780080494067.

MCMAHON-PRATT, Diane. Megasomes in leishmania. *Research Gate* [online]. 2010, **2010**, 131-148 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1007/978-3-642-12863-9_6. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/226344644_Megasomes_in_Leishmania

MEAD, Jan R. Cryptosporidiosis and the challenges of chemotherapy. *Drug Resistance Updates* [online]. 2002, **5**(1), 47-57 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1016/S1368-7646(02)00011-0. Dostupné z: [http://www.drugjournal.com/article/S1368-7646\(02\)00011-0/fulltext](http://www.drugjournal.com/article/S1368-7646(02)00011-0/fulltext)

MEDEMA, Gertjan, Peter TEUNIS a Mirjam BLOKKER. *WHO Guidelines for Drinking Water Quality* [online]. 2006 [cit. 2017-06-27]. Dostupné z:

http://www.who.int/water_sanitation_health/gdwqrevision/cryptodraft2.pdf

MIHÁL, Vladimír, Dagmar POSPÍŠILOVÁ, Martina SUKOVÁ a Jan STARÝ. Pokrok v léčbě viscerální leishmaniózy. *Klinická farmakologie* [online]. 2009, **2005**(19), 100-105 [cit. 2017-06-27]. Dostupné z: <https://www.klinickafarmakologie.cz/pdfs/far/2005/02/05.pdf>

MIKEŠOVÁ, Kateřina, Libuše TURJANICOVÁ a Vladimír HAMPL. Proměny vyšší systematiky eukaryot a její odraz ve středoškolské biologii. *Živa* [online]. 2016, **2016**(1), 4 [cit. 2017-06-27]. Dostupné z: <http://ziva.avcr.cz/2016-1/promeny-vyssi-systematiky-eukaryot-a-jeji-odraz-ve-stredoskolske-biologii.html>

MÜLLER, Miklós a Marek MENDEL. Biochemistry and Evolution of Anaerobic Energy Metabolism in Eukaryotes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* [online]. 2012, **76**(2), 444-495 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1128/MMBR.05024-11. Dostupné z: <http://mbr.asm.org/content/76/2/444.full>

OBORNÍK, Miroslav a Václav HYPŠA. Phylogenetic analyses suggest lateral gene transfer from the mitochondrion to the apicoplast. *Gene* [online]. 2002, **285**(1-2), 109-118 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1016/S0378-1119(02)00427-4. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(02\)00427-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(02)00427-4)

OBORNÍK, Miroslav. Endosymbióza jako akcelerátor evoluce. *Živa* [online]. 2009, **2009**(2), 50-52 [cit. 2017-06-27]. Dostupné z: <http://ziva.avcr.cz/files/ziva/pdf/endosymbioza-jako-akcelerator-evoluce.pdf>

PALIČKA, Pavel, Hedviga SLABÁ a Kamil ZITEK. Aktivní ovlivňování výskytu kongenitální toxoplazmózy v populaci. *PRAKTICKÁ GYNEKOLÓGIA* [online]. 1998, **5**(1), 23-27 [cit. 2017-06-27]. Dostupné z: <https://www.sav.sk/journals/gynek/full/pg198e.pdf>

PRÁŠIL, Petr. Současné možnosti diagnostiky a terapie toxoplazmózy u HIV negativních pacientů. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství* [online]. 2009, **15**(3), 83-90 [cit. 2017-06-27]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/267205488_Soucasne_moznosti_diagnostiky_a_terapie_toxoplazmozy_u_HIV_negativnich_pacientu

RICHARD, Dave, Christopher MACRAILD a David RIGLAR. Interaction between Plasmodium falciparum Apical Membrane Antigen 1 and the Rhoptry Neck Protein Complex

Defines a Key Step in the Erythrocyte Invasion Process of Malaria Parasites. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 2010, **285**(19), 14815–14822 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1074/jbc.M109.080770. Dostupné z: 10.1074/jbc.M109.080770

ROGER, Andrew J. Reconstructing Early Events in Eukaryotic Evolution. *The American Naturalist* [online]. 1999, **1999**(S4), 146-163 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1086/303290. Dostupné z: <http://www.journals.uchicago.edu/doi/pdfplus/10.1086/303290>

SÁDLOVÁ, Jovana a Jan VOTÝPKA. Jak zničit ničivku. *Vesmír* [online]. 2014, **280**(93) [cit. 2017-06-27]. Dostupné z: <http://casopis.vesmir.cz/clanek/jak-znicit-nicivku>

SHOKOPLES, Sandra, Shamir MUKHI, Allison SCOTT a Stephanie YANOW. Impact of Routine Real-Time PCR Testing of Imported Malaria over 4 Years of Implementation in a Clinical Laboratory. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. 2013, **51**(6), 1850-1854 [cit. 2017-07-11]. DOI: 10.1128/JCM.00195-13. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/236105085_Impact_of_Routine_Real-Time_PCR_Testing_of_Imported_Malaria_over_4_Years_of_Implementation_in_a_Clinical_Laboratory

SILBERMAN, Jeffrey, Alastair SIMPSON, Jaroslav KULDA, Ivan ČEPIČKA, Vladimír HAMPL, Patricia JOHNSON a Andrew ROGER. Retortamonad Flagellates are Closely related to Diplomonads - Implications for the History of mitochondrial Function in Eukaryote Evolution. *Molecular Biology and Evolution* [online]. 2002, **19**(5), 777-786 [cit. 2017-06-27]. DOI: 11961110. Dostupné z: <https://academic-oup-com.ezproxy.is.cuni.cz/mbe/article-lookup/doi/10.1093/oxfordjournals.molbev.a004135>

SILVA-JARDIM, Izaltina, M. FÁTIMA HORTA a F. Juarez RAMALHO-PINTO. The *Leishmania chagasi* proteasome: role in promastigotes growth and amastigotes survival within murine macrophages. *Acta Tropica* [online]. 2004, **2004** [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1016/j.actatropica.2004.03.007. Dostupné z: https://www.researchgate.net/profile/Maria_Fatima_Horta/publication/8473572_The_Leishmania_chagasi_proteasome_Role_in_promastigotes_growth_and_amastigotes_survival_within_murine_macrophages/links/00b7d5286848b3833c000000.pdf

SOHRABI, Yahya, Matyáš ŠÍMA a Marie LIPOLDOVÁ. Leishmaniáza. *Vesmír* [online]. 2012, **660**(91) [cit. 2017-06-27]. Dostupné z: <http://casopis.vesmir.cz/clanek/leishmaniaza>

STUCKENBERG, B. R. New fossil species of Phlebotomus and Haematopota in Baltic Amber (Diptera: Psychodidae, Tabanidae). *ANNALS OF THE NATAL MUSEUM* [online]. 1875, **22**(2), 455-464 [cit. 2017-06-27].

TETLEY, Laurence, Samantha M.A. BROWN, Vincent MCDONALD a Graham H. COOMBS. Ultrastructural analysis of the sporozoite of *Cryptosporidium parvu*. *Microbiology Society* [online]. 1998, **144**(12), 3249-3255 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1099/00221287-144-12-3249. Dostupné z:

<http://mic.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/00221287-144-12-3249#tab2>

THOMPSON, Craigh. Morphological polymorphism of *Trypanosoma copemani* and description of the genetically diverse *T. vegrandis* sp. nov. from the critically endangered Australian potoroid, the brush-tailed bettong. *Parasites and Vectors* [online]. 2013, **121**(6), 1-13 [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1186/1756-3305-6-121.

VANIŠTA, Jiří. Farmakoterapie malárie v České republice. *Klinická farmakologie* [online]. 2005, **2005**(19), 95-99 [cit. 2017-06-27]. Dostupné z:

<https://www.klinickafarmakologie.cz/pdfs/far/2005/02/04.pdf>

VARGAS-PARADA, Laura. Kinetoplastids and Their Networks of Interlocked DNA. *Nature Education* [online]. 2010, **63**(3) [cit. 2017-06-27]. Dostupné z:

<https://www.nature.com/scitable/topicpage/kinetoplastids-and-their-networks-of-interlocked-dna-14368046>

WELBURN, Susan Christina, Kevin Louis BARDOSH a Paul Gerard COLEMAN. Novel Financing Model for Neglected Tropical Diseases: Development Impact Bonds Applied to Sleeping Sickness and Rabies Control. *Neglected Tropical Diseases* [online]. 2016, **2016** [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005000. Dostupné z:

<http://journals.plos.org/plosntds/article/file?id=10.1371/journal.pntd.0005000&type=printable>

WHITTAKER, R.H. New Concepts of Kingdoms of Organisms. *Science* [online].

1969, **1969**(10) [cit. 2017-06-27]. DOI: 10.1126/science.163.3863.150. Dostupné z:

http://science.sciencemag.org/content/163/3863/150?ijkey=d4e0f4b7776aacd4503cd501d1b3371c110f9a4d&keytype2=tf_ipsecsha

Webové stránky:

URL1: <http://www.humanillnesses.com/original/Se-Sy/Sickle-cell-Anemia.html>

URL2: http://www.who.int/trypanosomiasis_african/country/en/

URL3: <http://www.infectionlandscapes.org/search?q=Trypanosoma+cruzi>

URL4: http://www.who.int/trypanosomiasis_african/drugs/en/

URL5: <http://www.infectionlandscapes.org/>