

CHAGASOVA BOLEZEN IN UČINKOVINE ZA NJENO ZDRAVLJENJE

CHAGAS DISEASE AND DRUG SUBSTANCES FOR ITS TREATMENT

AVTOR / AUTHOR:

Nina Vokič, mag. farm.¹

Doc. dr. Gregor Gomišček, univ. dipl. fiz.²

Prof. dr. Marija Sollner Dolenc, mag. farm.¹

¹ Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

² Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta,
Inštitut za biofiziko, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

² Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta,
Zdravstvena pot 5, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: marija.sollner@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

Trypanosoma cruzi je predstavnik skupine bičkarjev, te pa širše uvrščamo med praživali, najmanjše in najenostavnejše enocelične evkariontske mikroorganizme. *T. cruzi* je eno-

POVZETEK

Chagasova bolezen, ki jo povzroča protozojski parazit *Trypanosoma cruzi*, predstavlja veliko breme javnega zdravja v Latinski Ameriki in potencialno grožnjo državam po vsem svetu. Okužba, ki se na človeka prenese najpogosteje preko okužene stene, se v najhujši, kronični obliki izrazi kot kardiomiopatija z motnjami srčnega ritma in pojavom srčne odpovedi, nekateri okuženi pa razvijejo prebavne, nevrološke ali kombinirane spremembe, ki prav tako zahtevajo ustrezno zdravljenje. Kljub dejstvu, da so bolezen prvič odkrili že pred več kot sto leti, sta danes za njeno zdravljenje na voljo le dve registrirani zdravili – benznidazol in nifurtimoks, pri čemer velja benznidazol za zdravilo prve izbire. Ta učinkovina je nitroimidazolni antiparazitik, ki poleg tega, da pri zdravljenju ne daje zadovoljivih rezultatov, izkazuje tudi številne neželene učinke. Zdravljenje Chagasove boleznine torej predstavlja velik terapevtski izziv, ki so se ga z namenom odkritja učinkovitejših zdravil lotili tako z iskanjem novih tarč kot tudi z raznimi modifikacijami že registriranih učinkovin. Raziskave so trenutno osredotočene na tri ciljne tarče – CYP51, kruzipain in DNA parazita, kar poleg opisa Chagasove boleznine, njene razširjenosti in trenutnega načina zdravljenja predstavljamo v tem članku.

KLJUČNE BESEDE:

Chagasova bolezen, tripanocidne učinkovine, *Trypanosoma cruzi*

ABSTRACT

Chagas disease, caused by the *Trypanosoma cruzi* parasite, represents a major burden for public health in Latin America and a potential threat to other countries around the world. The infection is transmitted to a person via an infected triatomine bug and it is in the worst, chronic form often manifested as cardiomyopathy with heart rhythm disorders and cardiac failure, some infected people develop gastrointestinal, neurological or combined changes, which also require appropriate treatment. Despite the fact that disease was first discovered more than a century ago, only two registered drugs – benznidazole and nifurtimox – are available for its treatment today, where benznidazole is known as the first choice me-

dication. As nitroimidazole antiparasitic agent, benzimidazole does not only give unsatisfactory results but also has numerous side effects. Thus, the treatment of Chagas disease is a major therapeutic challenge. With the aim of discovering more effective medicines, scientists have started searching for new targets as well as various modifications of the already registered substances. The research is currently focused on three targets – CYP51, cruzipain and the DNA of the parasite, which, in addition to the description of Chagas disease, its prevalence and current treatment, is presented in this article.

KEY WORDS:

Chagas disease, trypanocidal substances, *Trypanosoma cruzi*

celičar mikroskopske velikosti in se je sposoben samostojno prehranjevati in razmnoževati. Pri gibanju si pomaga z bičkom, ki je skoraj v celoti zrasel s celično membrano vzdolž parazita, tako da tvori ondulirajočo membrano (1-3). *T. cruzi* je endemični parazit na področju Srednje in Južne Amerike in povzročča Chagasovo bolezen, katere potek je nepredvidljiv in se lahko konča tudi s smrtjo. Gre za endemično bolezen, pred desetletji omejeno le na revnejše predele Latinske Amerike, danes pa se je predvsem zaradi globalizacije in migracije njen epidemiološki profil precej spremenil. Statistični podatki sicer kažejo, da število okuženih še vedno prevladuje v Braziliji in Argentini, vendar se je bolezen že razširila v Severno Ameriko, Avstralijo in Evropo, in število obolelih na teh področjih ni več zanemarljivo. To so pretežno kronični bolniki, ki pa predstavljajo tveganje za prenos okužbe preko transfuzije in presaditve organov. V neendemičnih državah predstavljajo največji delež okuženih predvsem migranti (4,5).

2 OPIS BOLEZNI

Chagasova bolezen se razvije po okužbi s *T. cruzi*. Ta znotrajcelični parazit se na človeka najpogosteje prenese preko stenic iz poddružine triatomskih žuželk. Stenice se prehranjujejo s krvjo sesalcev. Če se med krvnim obrokom okužijo, lahko *T. cruzi* prenesejo na naslednjo žrtev. Za okužbo so dovzetni številni sesalci, človek je le naključni

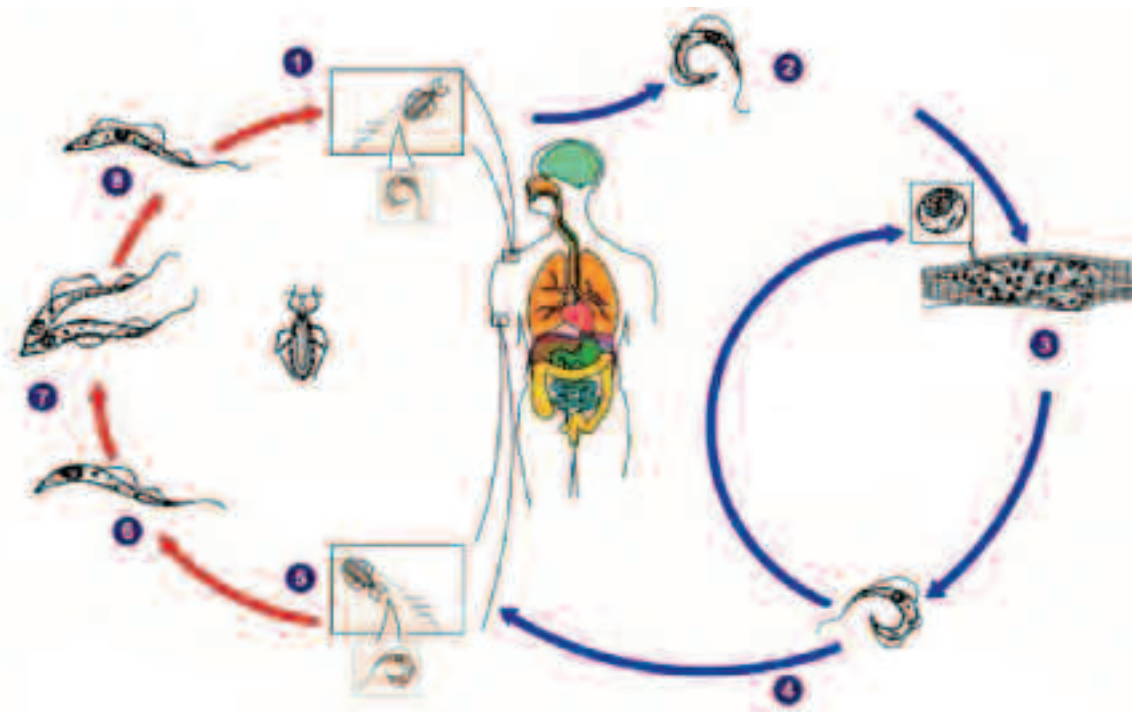
gostitelj (5-7). Okužba se v primeru človeka največkrat prenese z iztrebki in urinom okuženih stenic. Te namreč med hranjenjem na človeški koži odložijo izločke, te pa nato preko ranic na koži, ust, veznic ali oči vnesemo v telo. Okužba se lahko preko ugriza stenic, transfuzije okužene krvi in s presaditvijo okuženih organov prenaša tudi v nosečnosti na plod, z materinim mlekom in kontaminirano hrano (5-8).

Incubacijska doba bolezni je 7 do 15 dni, po tem času se navadno razvijejo prvi vidni znaki okužbe. V zgodnjem akutnem stadiju so praviloma zelo blagi in vključujejo vročino, otečene bezgavke, glavobol, abdominalne bolečine in bolečine v mišicah. V hujših primerih lahko pride do povečanja jeter in vranice, miokarditisa in meningoencefalitisa. Bolj specifična znaka bolezni sta šagom, sinonim za rdečino na koži na mestu ugriza z otečenimi bezgavkami, in znak Romaña, ki se pokaže po 1-2 tednih po okužbi kot oteklina okoli očesa in vnetje očesne veznice. Akutna faza traja 2 do 4 mesece. V tej fazi ostane večina bolnikov asimptomatskih ali pa imajo izražene le blage simptome bolezni (6-9). Akutni fazi sledi latentna faza, za katero je značilna odsotnost kliničnih simptomov in organskih poškodb. Čeprav so v tem obdobju okuženi povsem brez težav, ostanejo prenašalci bolezni. Pri nekaterih posameznikih lahko latentna faza traja do konca življenja, v 20 do 30 % primerov pa se po nekaj desetletjih latence bolezni razvije v kronično (7-9). Do 30 % kroničnih bolnikov razvije kardiomiopatije z motnjami srčnega ritma, motnjami prevajanja električnega signala in druge srčne spremembe, vidne na EKG (7-10). 10 % jih razvije prebavne, nevrološke ali mešane spremembe, ki prav tako zahtevajo ustrezno zdravljenje. Poseben primer so bolniki z oslabiljenim imunskim sistemom, pri katerih lahko pride do hudega poslabšanja bolezni. Po oceni WHO, ki Chagasovo bolezen uvršča med zapostavljene tropske bolezni (NTD, *neglected tropical diseases*), je na svetu do 8 milijonov okuženih oseb. Od teh jih do 30 % trpi za posledicami kronične okužbe. Okužba s parazitom po ocenah vsako leto zahteva okrog 10.000 smrtnih žrtev. Ker se bolezen hitro širi po vsem svetu, gre po mnenju mnogih za pretečo nevarnost in breme ne le revnih, nerazvitih držav, ampak tudi razvitega dela sveta (1,6,7,9).

2.1 RAZVOJNI KROG ZAJEDAVCA

Za *T. cruzi* je značilen zapleten življenjski krog, ki vključuje dva gostitelja (stenice ter sesalce) in več različnih razvojnih faz zajedavca (slika 1) (1,3,5). Stenica se med krvnim obrokom okuži s tripomastigoti, prisotnimi v krvi sesalskega gostitelja. Ti se naselijo v njen prebavni trakt, kjer se dife-





Slika 1: Življenjski cikel zajedavca *T. cruzi* (prirejeno po 1).

1: Stenica, okužena s *T. cruzi*, ob krvnem obroku preko blata izloči metaciklične tripomastigote. 2: Tripomastigoti na mestu ugriza (ranice, mukozne membrane) krožijo v krvi in vstopajo v različne celice gostitelja. 3: Znotraj celic se preobrazijo v amastigote, ki se množijo v celicah in poškodovanih tkivih. 4: Intracelični amastigoti se spremenijo v tripomastigote, izstopijo iz celic in se razširijo po krvnem obtoku. 5: Stenice se med krvnim obrokom okužijo s tripomastigoti, prisotnimi v krvi sesalskega gostitelja. 6: Tripomastigoti se naselijo v prebavni trakt stenice in preobrazijo v epimastigote. 7: Epimastigoti se v prebavilih stenice razmnožujejo s postopkom binarne cepitve. 8: Epimastigoti se v zadnjem delu črevesja stenice pretvorijo v infektivne metaciklične tripomastigote.

Figure 1: *Trypanosoma cruzi* lifecycle (adapted from 1).

1: *T. cruzi* infected triatomine bug excretes metacyclic trypomastigotes at the site of the bite. 2: Trypomastigotes circulate in the blood at the bite site (wounds, mucous membranes) and enter different host cells. 3: Inside the cells, they are converted into amastigotes, which multiply in cells and damaged tissues. 4: Intracellular amastigotes turn into trypomastigotes, exit the cells and spread through the bloodstream. 5: The triatomine bug is infected with the trypomastigotes present in the blood of the mammalian host during a blood meal. 6: Trypomastigotes settle into the digestive tract of the triatomine bug and transform into epimastigotes. 7: Epimastigotes are reproduced in the gastrointestinal tract by binary cleavage. 8: Epimastigotes are transformed into the infective metacyclic trypomastigotes in the back of the intestine.

rencirajo v epimastigote. Epimastigoti so milimetrskih velikosti, vretenaste oblike in sposobni razmnoževanja s procesom binarne cepitve. Po 10 do 15 dneh se premaknejo v zadnji del črevesja stenice, kjer se pretvorijo v infektivne metaciklične tripomastigote in izločijo z blatom. Tripomastigoti so stopnja parazita milimetrskih velikosti z bičkom, ki pa se niso sposobni razmnoževati.

Da bi preživel in tako nadaljeval svoj življenjski krog, morajo vstopiti v gostitelja. Vstop v sesalske celice je zapleten proces, ki vključuje začetno vezavo parazita na površinske dele celice in nato aktivacijo molekule Tc-Tox, ki zajedavcu omogoča prekinitev vakuolne membrane, izhod iz vakuole in vstop v citoplazmo gostiteljske celice (1,4). V njej izgubijo

biček in se preobrazijo v amastigote, ki v okuženih celicah rastejo in se množijo. Z razmnoževanjem amastigotov nastanejo psevdociste, znotraj katerih se po petih dneh amastigoti diferencirajo nazaj v tripomastigote. Psevdociste se razširijo v različna tkiva, največ jih najdemo v srčni mišici, skeletnih mišicah in v gladkih mišicah črevesja. Po poku psevdociste pa se tripomastigoti sprostijo v krvni obtok in se razširijo po celotnem telesu. Sproščeni tripomastigoti so dveh oblik. Bolj aktivna oblika je potrebna za potek znotrajceličnega razvojnega kroga v gostitelju, manj aktivna oblika tripomastigotov pa okuži stenice, ko pičijo prenašalca. Tako je razvojni krog zajedavca sklenjen (1,4,9).

3 TRIPANOCIDNE UČINKOVINE ZA ZDRAVLJENJE CHAGASOVE BOLEZNI

Znanstveniki še vedno niso dokazali, katere stopnje v razvoju zajedavca so glavna tarča tripanocidnih učinkovin. Posamezne razvojne stopnje se razlikujejo v sestavi membrane, kar bi lahko bil eden izmed razlogov za različno učinkovitost zdravil [10]. V več raziskavah so dokazali, da tripanosomi poleg lastno sintetiziranega ergosterola za svoj obstoj obvezno potrebujejo tudi holesterol. Tega ne znajo sintetizirati sami, zato jih pridobijo iz celic gostitelja s privzemom in kopičenjem delcev LDL v lizosomom podobnih organelih, imenovanih rezervosomi (11,12). Privzemanje eksogenega holesterola v celicah epimastigotov naj bi tej razvojni stopnji omogočilo preživetje v obdobjih lipidnega stradanja (12). Poznano raznolikost v membranski sestavi različnih razvojnih stopenj *T. cruzi* bi lahko v prihodnjih raziskavah bolje izkoristili za proučevanje interakcij med parazitom in tripanocidnimi učinkovinami. Tripanocidne učinkovine so antiparazitiki, ki svojo učinkovitost izkazujejo z delovanjem na različne tarče. Ker je *T. cruzi* parazit s kompleksnim življenjskim ciklom in se je zmožen uspešno izogibati imunskemu sistemu gostitelja, je iskanje učinkovitih tarč dolgotrajno in zapleteno (13-15). Raziskave o novih terapijah oz. učinkovinah so se skoraj popolnoma ustavile proti koncu dvajsetega stoletja, delno zaradi neizvajanja vladnih zavezanosti o pomoči pri iskanju novih učinkovitih zdravil proti *T. cruzi* v večini latinskoameriških držav in delno zaradi slabe finančne spodbude v farmacevtski industriji (13,14). Za zdravljenje bolezní sta tako že dolgo na voljo le dve zdravilni učinkovini, nifurtimoks oz. *N*-(3-metil-1,1-dioxido-4-tiomorfolinil)-1-(5-nitro-2-furil)metanimin (NF) ter benznidazol oz. *N*-benzil-2-(2-nitro-1*H*-imidazol-1-il)acetamid (BNZ) (slika 2). Tarča delovanja teh nitroheterocikličnih spojin je predvsem DNA, ki jo te spojine poškodujejo zaradi tvorbe radikalov (13,14).



Slika 2: Strukturni formuli tripanocidnih učinkovin benznidazola (1) in nifurtimoksa (2).

Figure 2: Structural formulas of antitrypanosomal drugs benznidazole (1) and nifurtimox (2).

Raziskave so pokazale, da je njuna aktivnost večja v času akutne faze bolezní, pri kroničnem zdravljenju pa je njuna uporabnost omejena. Oba sta najbolj učinkovita pri mladih bolnikih v zgodnjih fazah okužbe. Stopnja ozdravljenja se približa 100 % pri kongenitalno okuženih novorojenčkih in v akutnih primerih preseže 60 %. Kontraindicirana sta v nosečnosti, pri napredovalem srčnem popuščanju in bolnikih z jetrnimi ali ledvičnimi zapleti.

3.1 NIFURTIMOKS

Nifurtimoks uporabljamo za zdravljenje Chagasove bolezní že vse od leta 1965. WHO ga uvršča na seznam osnovnih učinkovin, ki so potrebne za zdravljenje, tako kot benznidazol, ki je pri zdravljenju Chagasove bolezní zdravilo prve izbire. Osnovni predlagani mehanizem delovanja nifurtimoksa temelji na njegovi pretvorbi s parazitovimi nitroreduktazami, pri čemer nastajajo radicalske zvrsti, ki so različne, če nastajajo v aerobnih ali anaerobnih pogojih. V odsotnosti kisika spontano nastaneta nitritni in imidazolni radikal, v kisikovi prisotnosti pa se z oksidacijo tvorijo superoksidni anion in druge reaktivne kisikove zvrsti (ROS). Stopnja toksičnosti, ki jo povzročajo ti produkti, je odvisna od sposobnosti celic za njihovo detoksifikacijo (13,14). Pri sesalcih se lahko varno pretvorijo v manj reaktivne produkte, kar pomeni, da ima nifurtimoks zelo omejeno neposredno toksičnost za človeške celice. *T. cruzi* pa ima manjše sposobnosti za odstranjevanje nastalih radikalov in ROS, kar vodi do lipidne peroksidacije in poškodb celičnih membran, pa tudi do aktivacije znotrajceličnih encimov. Vsi ti procesi povzročijo smrt zajedavca (1,13,16,17). Za zdravljenje akutne in tudi kronične faze bolezní je dnevni odmerek za odrasle 8 do 10 mg/kg telesne mase, za otroke (do 16. leta) pa od 12,5 do 20 mg/kg telesne mase, kar kaže na boljšo toleranco učinkovine pri mlajši populaciji. Čas jemanja nifurtimoksa je od 90 do 120 dni (18,19). Zaželen je čim krajši čas jemanja zdravila, da se pacienti izognejo neželenim učinkom, ki jih je precej. Od pogostih kožnih izpuščajev do strupenosti za centralni živčni sistem, vključno z zmedenostjo, motnjami ravnovesja, ataksijo in nistagmusom, pozabljivostjo, nespečnostjo in razdražljivostjo. Razvijejo se lahko psihoze, epileptični napadi in tresenje. Poročajo tudi o eozinofiliji, levkopeniji, impotenci, šibkosti mišic in periferni nevropatiji. Še posebno moramo biti pozorni na gastrointestinalne učinke na začetku zdravljenja, ki se kažejo s slabostjo, bruhanjem, lahko tudi z anoreksijo, zato priporočajo, da se dnevni odmerek razdeli in se celotnega zaužije v štirih deljenih odmerkih. Nifurtimoks je kontraindiciran pri osebah s hudimi boleznimi jeter



ali ledvic in pri osebah z nevrološkimi in psihiatričnimi motnjami (18). Vrsta neželenih učinkov in dolg čas jemanja so tudi vzrok, da je benznidazol, ki ga predstavljamo v naslednjem podpoglavju, zdravilo prve izbire pri zdravljenju Chagasove bolezni (19).

3.2 BENZNIDAZOL

Benznidazol je nitroimidazolni antiparazitik, ki je na podlagi dolgoletne uporabe in izkušnje zdravilo prve izbire za zdravljenje Chagasove bolezni (1,4-7). Njegov osnovni mehanizem delovanja prav tako kot pri nifurtimoksu temelji na tvorbi radikalskih vrst oz. nastajanju ROS in inhibiciji antioksidativnih sistemov *T. cruzi*. Selektivna toksičnost temelji na slabšem odstranjevanju teh reaktivnih spojin pri *T. cruzi* v primerjavi s človeškimi celicami (1,13,16,17). Sodeč po podatkih v literaturi naj bi benznidazol opisano toksično delovanje izkazoval na vse tri razvojne faze parazita (1,20), najbolj toksičen pa je za obliko tripomastigotov ($IC_{50} = 12 \mu M$) (20-22). Največja učinkovitost benznidazola se kaže med akutno fazo bolezni, kjer je stopnja uspešnosti zdravljenja do 80 %, in v primeru prirojene Chagasove bolezni, kjer je njegova učinkovitost 90-odstotna (2,17)]. Nasprotno je ta odstotek pri dalj časa nezdravljenih in kronično obolelih manj kot 10 % (2). Čeprav se v poznih stadijih bolezni učinkovina ni obnesla, njeno uporabo na podlagi kliničnih preizkušanj vseeno priporočajo, saj se je izkazalo, da kronični bolniki, izpostavljeni benznidazolu, dosežejo znatno zmanjšanje pojavljanja sprememb v EKG in manjšo pogostost poslabšanja njihovega kliničnega stanja. Benznidazol se je prav tako izkazal za učinkovitega pri zdravljenju reaktiviranih okužb, ki se pojavljajo pri bolnikih z oslabilnim imunskim sistemom, pri nosečnicah pa njegove uporabe zaradi potencialne teratogenosti ne priporočamo (8-10,23). Benznidazol uporabljamo peroralno, v dveh ali treh odmerkih dnevno in jemljemo 60 dni. Običajni dnevni odmerek za odrasle je 5 do 7 mg/kg telesne mase, odmerek za otroke pa znaša 10 mg/kg telesne mase (2-6,24). Po nekaterih podatkih pri kronično obolelih zadostuje 30-dnevno zdravljenje. Skrajšan režim se uvaja tudi zaradi številnih neželenih učinkov benznidazola (11,15,25). Najpogosteje se pojavijo preobčutljivost v obliki izpuščajev, vročina, glavobol (celo v 10 %), motnje prebave in spanja ter granulocitopenija. Zaradi teh pojavov zdravljenje v 10 do 30 % primerov prekinemo (4-6,24). Poleg toksičnih učinkov uporabo benznidazola omejuje tudi slaba biološka uporabnost, ki je posledica slabe vodotopnosti učinkovine. Z namenom izboljšanja njenih farmakokinetičnih lastnosti in s tem te-

rapevske uporabnosti so razvili kar nekaj novih formulacij. Največkrat omenjeni sta mikroemulzija, ki se je izkazala za stabilnejšo in učinkovitejšo od nestabilnih suspenzije in emulzije, ter raztopina benznidazola, pripravljena iz vode in PEG 400, ki sta povečala vodotopnost učinkovine za 20-krat ter pomembno povečala njeno biološko uporabnost (26). Med najnovejše in najbolj obetavne raziskave formulacij prištevamo nove dostavne sisteme, ki omogočajo izboljšanje prehoda preko membrane, topnosti in učinkovitosti. Sem štejemo predvsem pripravo nanodelcev z metodo precipitacije in uporabo ciklodekstrinov (26,27).

3.3 TRIPANOCIDNE UČINKOVINE ZA ZDRAVLJENJE CHAGASOVE BOLEZNI V RAZVOJU

Zaradi omenjenih številnih pomanjkljivosti benznidazola so poskušali sintetizirati njegove analoge, ki bi ob večji varnosti izkazovali tudi večjo učinkovitost. Med novo sintetiziranimi spojinami namesto nitroimidazolnega največkrat zasledimo prisotnost oksadiazolnega ali triazolnega fragmenta v molekuli (28,29). Dejstvo, da benznidazol v svoji strukturi vsebuje nitroimidazolni fragment, je nakazalo tudi možno sintezo spojine s furoksanskim obročem, za katerega je že desetletja znano, da ima različne biološke aktivnosti. Za spojine z benzofuroksanskim jedrom namreč velja, da izkazujejo tako protimikrobne kot tudi antiparazitske učinke (30,31). Učinek na novo sintetizirane molekule s takim jedrom, 6-(metil)benzo[c](2-karbamoilhidrazon)-1-*N*-oksid-1,2,5-oksadiazola (BZFS), kot potencialne tripanocidne učinkovine, so preverili eksperimentalno. Testi *in vitro* so pokazali, da ima spojina na epimastigote in tudi na amastigote določenih sevov *T. cruzi* večjo toksičnost kot benznidazol (32). Po drugi strani pa so testiranja *in vivo* na miših pokazala, da BZFS ni mutagen. Ti rezultati so pritegnili pozornost raziskovalcev in spodbujajo nadaljnje proučevanje omenjene spojine, prav tako pa tudi iskanje možnih mehanizmov delovanja podobnih tripanocidnih učinkovin z benzofuroksanskim ogrodjem (33). Bolj točnega in podrobnega mehanizma njihovega delovanja na tripanosomske celice še niso dokončno razjasnili, zato ostajajo osrednja tema številnih novih raziskav (13-15,32,33). Razširitev parazita na neendemična področja je v zadnjih letih povzročila zanimanje številnih znanstvenikov za raziskovanje življenjskega ciklusa *T. cruzi* in iskanje novih možnosti za zdravljenje Chagasove bolezni (13,16). Kljub prizadevanju je nabor na novo odkritih tarč in učinkovin, ki delujejo nanje in so terapevtsko sprejemljive, sorazmerno

majhen (preglednica 1). Raziskave so trenutno osredotočene na tri ciljne tarče: CYP51, kruzipain in DNA parazita (10,14,34).

CYP51 je encim, ki katalizira demetilacijo lanosterola in s tem ustvari pomemben prekurzor za nastanek ergosterola. Raziskave v zadnjih dveh desetletjih so pokazale, da *T. cruzi* kot večina gliv za preživetje in proliferacijo celic v vseh stopnjah svojega življenjskega cikla zahteva specifične steroide, zlasti ergosterol (10-13). Ker ergosterol predstavlja osnovno sestavino membran gliv, se je porodila ideja o možni uporabi protiglivnih učinkovin za zdravljenje Chagasove bolezni (10,14,15). Ugotovili so, da ima večina klinično uporabljenih inhibitorjev sinteze ergosterola (npr. terbinafin, ketokonazol, itrakonazol) le zaviralne učinke pri obolelih s Chagasovo boleznijo, ne morejo pa preprečiti napredovanja bolezni (35). Raziskave kažejo, da naj bi skupina protiglivnih triazolov, vključno s posakonazolom in vorikonazolom, obetala boljše rezultate (14,35). Po teh spoznanjih je bilo na novo odkritih kar nekaj obetajočih azolnih derivatov s podobnimi lastnostmi. Ravukonazol v obliki predzdravila (E12-24) in TAK-187 izkazuje močno tripanocidno aktivnost, poleg tega sta pokazala spodbudne rezultate v obeh, akutni in kronični okužbi v mišjih gostiteljih. Zaenkrat sta obe učinkovini končali prvo fazo kliničnih testiranj in sta dobri kandidatki za uspešno zdravljenje Chagasove bolezni (10,14). Poleg klasičnih antimikotičnih učinkovin, ki zavirajo sintezo ergosterola, se v njegovo nastajanje vpletajo tudi nekatere druge učinkovine. Presenetljivo je bilo odkritje, da amiodaron, ki ga sicer uporabljamo kot antiaritmično

zdravilo pri bolnikih z napredovalo Chagasovo boleznijo, izkazuje tripanocidno delovanje *in vitro* in *in vivo* (14,36). Njegova glavna mehanizma delovanja sta motnja homeostaze kalcijevih ionov in zaviranje sinteze ergosterola. To pojasnjuje sinergistične učinke s posakonazolom, sočasna uporaba teh dveh učinkovin naj bi namreč povečala učinkovitost protiparazitnega zdravljenja (14,15). Vse bolj je zanimiva tudi skupina učinkovin, ki inhibira glavno cisteinsko proteazo *T. cruzi*, imenovano kruzipain (33,37). Med temi spojinami najpogosteje navajajo K777, za katerega pa v literaturi srečamo različne podatke o njegovi varnosti za vstop v prvo fazo kliničnih testiranj, kar ne govori v prid njegovi možni uporabi v terapiji (14,37,38,39).

Poleg naštetih učinkovin so v razvoju tudi številne druge, o katerih pa je za zdaj malo podatkov o njihovi terapevtski uporabnosti (14,37). Vedno bolj pogosto pri novejših načinih zdravljenja Chagasove bolezni omenjajo še modifikacije že obstoječih učinkovin (benznidazola, nifurtimoksa) in njihove kombinacije (35,37,40).

Zaradi težav pri zdravljenju Chagasove bolezni je toliko bolj pomembno, da se ljudje ne okužijo s parazitom. Preprečevanje okužb je danes na splošno osredotočeno na zmanjšanje števila insektov, ki predstavljajo vektor za širjenje parazita, ter zmanjšanje njihovega stika z ljudmi. To sicer dosegajo z uporabo različnih oblik insekticidov, poskrbeti pa bi morali tudi za izboljšanje stanovanjskih in sanitarnih pogojev življenja ljudi, kar je naloga inštitucij, ki skrbijo za varovanje javnega zdravja v posameznih državah, kjer se parazit endemično pojavlja.

Preglednica 1: Potencialne nove učinkovine za zdravljenje Chagasove bolezni in njihove tarče (14,36-38).

Table 1: Potential new active ingredients for the treatment of Chagas disease and their targets (14,36-38).

UČINKOVINA	UPORABA	CILJ TERAPIJE	TARČA/MEHANIZEM DELOVANJA	FAZA KLINIČNEGA TESTIRANJA
Posakonazol	antimikotik	vse faze bolezni	CYP51	II
E12-24	ni še v uporabi	vse faze bolezni	CYP51	končana faza I, sledi faza II
TAK-187	ni še v uporabi	vse faze bolezni	CYP51	končana faza I
Amiodaron	srčna aritmija	kronična faza bolezni	homeostaza Ca ²⁺ in sinteza ergosterola	že terapevtsko uporabno zdravilo, vendar z drugo indikacijo
K777	ni še v uporabi	še neznani	kruzipain	v pripravi na fazo I?

4 ZAKLJUČEK

Čeprav je Chagasova bolezen izvorno endemična in je bila pred desetletji omejena le na revnejše predele Latinske Amerike, se je danes predvsem zaradi globalizacije in migracije njen epidemiološki profil precej spremenil. Bolezen, predvsem v kronični obliki, se je že razširila na območja Severne Amerike, Avstralije in v Evropo. Zaradi resnosti izidov predvsem kronične oblike te bolezni in majhnega števila učinkovin za njeno zdravljenje je raziskovanje novih tarč in seveda novih učinkovin, ki bi nanje delovale, nujno. Inštitucije, ki skrbijo za varovanje javnega zdravja v posameznih državah in globalno, bi morale tej problematiki nameniti vsaj tolikšno pozornost kot vse večji rezistenci bakterij na obstoječa zdravila in spodbujati raziskovalce k odkrivanju bolj učinkovitih zdravil in načinov zdravljenja te bolezni.

5 ZAHVALA

Avtorji se zahvaljujemo prof. dr. Regini Marii Barretto Cicarelli, Univerza Sao Paolo, Brazilija za podporo pri pisanju članka.

6 LITERATURA

1. CDC Centers for Disease Control and Prevention [internet]. Parasites – American Trypanosomiasis (also known as Chagas disease) [updated 2018 Apr 10, cited 2018 Oct 2]. Available from: <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/index.html>.
2. Martins AV, Gomes AP, de Mendonça EG, Fietto JLR, Santana LA, de Almeida Oliveira MG et al. Biology of *Trypanosoma cruzi*: An update. *Infection*. 2012 Mar;16(1):45-58.
3. Rossi MA, Ramos SG, Bestetti RB. Chagas' heart disease. *Clinical-pathological correlation*. *Front Biosci*. 2003 Jan;8:94-109.
4. Bizjak T, Saletinger R. Južnoameriška tripanosomoza – Chagasova bolezen. *Medicinski razgledi*. 2011;50:9-16.
5. Bonney KM. Chagas disease in the 21 Century: a public health success or an emerging threat? *Parasite*. 2014 Mar;21:1-10.
6. Perez-Molina JA, Molina I. Chagas disease. *The Lancet*. 2018 Jan;391(10115):82-94.
7. Angheben A, Boix L, Buonfrate D, Gobbi F, Bisoffi Z, Pupella S, et al. Chagas disease and transfusion medicine: A perspective from non-endemic countries. *Blood Transfus*. 2015 Oct;13(4):540-550.
8. Nunes MC, Donnes W, Morillo CA, Encina JJ, Ribeiro AL. Chagas Disease: an Overview of Clinical and Epidemiological Aspects. *J Am Coll Cardiol*. 2013 Aug;62(9):767-776.
9. World Health Organization [Internet]. Chagas disease (American trypanosomiasis) [updated 2019, cited 2019 Mar 26]. Available from: <https://www.who.int/chagas/en/>.
10. Urbina JA. Ergosterol biosynthesis and drug development for Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009 Jul;104(1):311-318.
11. Pereira MG, Nakayasu ES, Sant'Anna C, De Cicco NN, Atella GC, de Souza W, et al. *Trypanosoma cruzi* Epimastigotes Are Able to Store and Mobilize High Amounts of Cholesterol in Reservosome Lipid Inclusions. *PLoS ONE*. 2011 Jul; 6(7):e22359.
12. Pereira MG, Visbal G, Salgado LT, Vidal JC, Godinho JLP, De Cicco NNT, et al. *Trypanosoma cruzi* Epimastigotes Are Able to Manage Internal Cholesterol Levels under Nutritional Lipid Stress Conditions. *PLoS ONE*. 2015 Jun;10(6):e0128949.
13. Clayton J. Chagas disease: Pushing through the pipeline. *Nature*, 2010 Jun;465(7301):12-15.
14. Sales Junior PA, Molina I, Fonseca Murta SM, Sanchez-Montalva A, Salvador F, Correa- Oliveira R, et al. Experimental and Clinical Treatment of Chagas Disease: A Review, *Am J Trop Med Hyg*. 2017 Nov;97(5):1289-1303.
15. Zingales B, Miles MA, Moraes CB, Luquetti A, Guhl F, Schijman AG, et al. Drug discovery for Chagas disease should consider *Trypanosoma Cruzii* strain diversity. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2014 Sep;109(6):828-833.
16. Edwards DI. Nitroimidazole drugs-action and resistance mechanisms I. mechanisms of action. *J Antimicrob Chemother*. 1993 Jan;31(1):9-20.
17. Mital A. Synthetic Nitroimidazoles: Biological Activities and Mutagenicity Relationships. *Sci. Pharm*. 2009 Aug;77(3):497-520.
18. Drugs.com [Internet]. Nifurtimox (Systemic) [updated 1995 Apr 25, cited 2019 Mar 26]. Available from: <https://www.drugs.com/mmx/nifurtimox.html>.
19. Forsyth CJ, Hernandez S, Olmedo W, Abuhamidah A, Traina MI, Sanchez D R, et al. Safety Profile of Nifurtimox for Treatment of Chagas Disease in the United States. *Clinical Infectious Diseases*. 2016 Jul;63(8):1056-1062.
20. Vinaud MC, Nogueira KS, Fraga CM, la Costa TL, de Castro AM. Benznidazole induces in vitro anaerobic metabolism in *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 2017 Nov;7(12):727-731.
21. Santos Filho JM, Moreira DR, de Simone CA, Salgado Ferreira R, McKerrow JH, Santana Meira C. Optimization of anti-*Trypanosoma cruzi* oxadiazoles leads to identification of compounds with efficacy in infected mice. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2012 Aug; 20(21):6423-6433.
22. Sartorelli P, Carvalho C, Reimao JQ, Lorenzi H, Tempone AG. Antitrypanosomal Activity of a Diterpene and Lignans Isolated from *Aristolochia cymbifera*. *Planta Med*. 2010 Sep; 76(13):1454-1456.
23. Viotti R, Alarcon de Noya B, Araujo-Jorge T, Grijalva MJ, Guhl GF, Lopez MC, et al. Towards a Paradigm Shift in the Treatment of chronic Chagas Disease. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 Nov;58(2):635-639.
24. HIGHLIGHTS OF PRESCRIBING INFORMATION, BENZNIDAZOLE TABLETS [Internet] [updated 2017 Aug, cited 2019 Apr 11]. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2017/2095701bl.pdf.

25. Soy D, Aldasoro E, Guerrero L, Posada E, Serret N, Mejia T, et al. Population Pharmacokinetics of Benznidazole in Adult Patients with Chagas Disease. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Mar;59(6):3342-3349.
26. Ferraz LRM, Alves AEG, Nascimento DDS, Amariz IAE, Ferreira AS, Costa S PM, et al. Technological innovation strategies for the specific treatment of Chagas disease based on Benznidazole. *Acta Tropica*, 2018 Sep;185:127-132.
27. Scalise ML, Arrua EC, Rial MS, Esteva MI, Salomon CJ, Fichera LE. Promising Efficacy of Benznidazole Nanoparticles in Acute Trypanosoma Cruzi Murine Model: In-Vitro and In-Vivo Studies. *Am J Trop Med Hyg.* 2016 Aug;95(2):388-393.
28. Papadopoulou MV, Bloomer WD, Rosenzweig HS, Wilkinson SR, Kaiser M. Novel nitro(triazole/imidazole)-based heteroarylamides/sulfonamides as potential antitrypanosomal agents. *Eur J Med Chem.* 2014 Nov;87:79-88.
29. Massarico Serafim RA, Goncalves JE, de Souza FP, de Melo Loureiro AP, Storpirtis S, Krogh R. Design, synthesis and biological evaluation of hybrid bioisoster derivatives of N-acylhydrazone and furoxan groups with potential and selective anti-Trypanosoma cruzi activity. *Eur J Med Chem.* 2014 Jul;82:418-425.
30. Cerecetto H, Di Maio R, Gonzales M, Rizzo M, Saenz P, Seoane G, et al. 1,2,5-Oxadiazole N-Oxide Derivatives and Related Compounds as Potential Antitrypanosomal Drugs: Structure – Activity Relationships. *J. Med. Chem.* 1999 Jun;42(11):1941-1950.
31. Rani R, Granchi C. Bioactive heterocycles containing endocyclic N- hydroxy groups. *Eur J Med Chem.* 2015 Jun;97:505-524.
32. Buckner FS, Verlinde CL, La Famme AC, Van Voorhis WC. Efficient Technique for Screening Drugs for Activity against Trypanosoma cruzi Using Parasites Expressing β -Galactosidase. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996 Nov;40(11):2592-2597.
33. Schiefer IT, VandeVrede L, Fa' M, Arancio O, Thatcher GR. Furoxans (1,2,5 Oksadiazole-N-Oxides) as Novel NO Mimetic Neuroprotective and Procognitive Agents. *J. Med. Chem.* 2012 Apr;55(7):3076-3087.
34. Gunatilleke SS, Calvet CM, Johnston JB, Chen CK, Erenburg G, Gut J, et al. Diverse Inhibitor Chemotypes Targeting Trypanosoma cruzi CYP51. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012 Jul;6(7):e1736.
35. Ribeiro I, Sevcsik AM, Alves F, Diap G, Don R, Harhay MO, et al. New, Improved Treatments for Chagas Disease: From the R&D Pipeline to the Patients. *PLoS Negl Trop Dis.* 2009 Jul;3(7):e484.
36. Lourenco AM, Castro Faccini C, Aparecida de Jesus Costa C, Balestrin Mendes G, Fragata Filho AA. Evaluation of in vitro anti-Trypanosoma cruzi activity of medications benznidazole, amiodaron hydrochloride, and their combination. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2017 Aug;51(1):52-56.
37. Franco J, Scarone L, Comini MA. Drugs and Drug Resistance in African and American Trypanosomiasis. *Annual Reports in Medicinal Chemistry.* 2018;51:97-133.
38. McKerrow JH. Update on drug development targeting parasite cystein proteases. *PLoS Negl Trop Dis.* 2018 Aug;12(8):e0005850.
39. Siqueira-Neto JL, Debnath A, McCall L-I, Bernatchez JA, Ndao M, Reed SL, et al. Cysteine proteases in protozoan parasites. *PLoS Negl Trop Dis.* 2018 Aug;12(8) e0006512.
40. Fontes Martins TA, de Figueiredo Diniz L, Mazzeti AL, da Silva do Nascimento AF, Caldas S, Caldas IS, et al. Benznidazole/Itraconazole Combination Treatment Enhances Anti-Trypanosoma cruzi Activity in Experimental Chagas Disease. *PLoS One.* 2015 Jun;10(6):e0128707.

