

## Abstrakt

Leishmanióza je infekční onemocnění způsobené dvojhospitelskými prvky rodu *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) přenášenými flebotomy (Diptera: Phlebotominae). Leishmanie jsou pro svůj životní cyklus vybaveny enzymatickou výbavou, která jim pomáhá úspěšně přežít jak v hmyzích přenašečích, tak v savčích hostitelích. Enzym kataláza, který odstraňuje  $H_2O_2$  a chrání tedy buňky před reaktivními formami kyslíku, v genetické výbavě leishmanií chybí, ač je přítomný u příbuzných jednohospitelských trypanosomatid. Enzym chitináza se může uplatňovat v interakci leishmanií s chitinózními strukturami ve flebotomech (peritrofická matrix, stomodeální valva) a jelikož je produkován i amastigoty, mohl by hrát roli i v hostiteli.

Roli těchto dvou enzymů v životním cyklu leishmanií jsem testovala pomocí přímého srovnání mutantních linií *L. mexicana* s vloženým genem pro katalázu a s delecí genu pro chitinázu s kontrolními skupinami. Prováděla jsem experimentální infekce flebotomů druhu *Lu. longipalpis* včetně přenosu leishmanií na hostitele, testovala přežívání leishmanií v makrofázích a prováděla experimentální infekce BALB/c myši s následnými xenodiagnostickými pokusy.

Přítomnost katalázy neovlivnila příliš schopnost množení a přežívání leishmanií ve flebotomech, naše pokusy ale potvrdily neslučitelnost dvojhospitelského způsobu života leishmanií s produkcí katalázy. Leishmanie s tvorbou katalázy měly v přenašeči signifikantně sníženou metacyklogenezi (2,6 % metacyklických promastigotů vs. 21,6 % u kontrolní skupiny) a úspěšnost přenosu na hostitele (počty přenesených leishmanií byly o několik řádů nižší), ale vykazovaly i signifikantně horší přežívání v makrofázích a výrazně sníženou infektivitu a virulenci v hostiteli.

Leishmanie s delecí genu pro chitinázu tvořily ve flebotomech silné infekce s kolonizací stomodeální valvy zcela srovnatelně s kontrolní skupinou, což svědčí proti významné roli jejich chitinázy při úniku z peritrofické matrix. Ovšem flebotomové infikování těmito knockouty přenesli na hlodavce signifikantně méně leishmanií v porovnání s kontrolními skupinami. To potvrzuje důležitou roli chitinázy v narušení funkce stomodeální valvy a přenosu parazita na hostitele. V hospitelské části životního cyklu leishmanií pak tento enzym zřejmě není nepostradatelný, protože leishmanie s delecí genů pro chitinázu se vyvíjely v BALB/c myších ve všech ohledech srovnatelně s kontrolními skupinami.

**Klíčová slova:** *Leishmania*, *Lutzomyia*, *Phlebotomus*, kataláza, chitináza, peritrofická matrix, stomodeální valva, metacyklogeneze