

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**



**Vliv pohlaví hostitele na odolnost k infekci**

**model infekce: *Leishmania major* u myši**

**bakalářská práce**

**autor: Klára Podzimková**

**vedoucí práce: doc. Marie Lipoldová, CSc., ÚMG AV ČR**

**Praha, akademický rok 2008/2009**

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně, pouze s použitím citované literatury a pod vedením výše uvedené vedoucí bakalářské práce.

Klára Podzimková

## **PODĚKOVÁNÍ**

Na prvním místě bych chtěla poděkovat své školitelce, paní doc. Marii Lipoldové, CSc., za to, že mi umožnila ve své laboratoři a pod svým vedením vypracovat tuto bakalářskou práci, i za veškerou pomoc, kterou mi poskytla. Moje díky náleží i Heleně Havelkové, Gizele Koubkové a Maruše Čepičkové za jejich obětavou a trpělivou pomoc a za množství praktických rad, které mi poskytly. Dále děkuji i všem ostatním kolegům a spolupracovníkům z Laboratoře buněčné a molekulární imunologie.

Děkuji rovněž svým rodičům za jejich podporu během celé doby mých studií.

Bakalářská práce byla vypracována v akademickém roce 2008/2009 v Laboratoři molekulární a buněčné biologie ÚMG AV ČR.

## **OBSAH:**

<b>Abstrakt, Abstract .....</b>	<b>6</b>
<b>Klíčová slova, Keywords.....</b>	<b>7</b>
<b>Seznam použitých zkratek.....</b>	<b>8</b>
<b>1. Úvod .....</b>	<b>10</b>
<b>2. Parazitismus .....</b>	<b>11</b>
<b>3. Vliv pohlaví hostitele na infekci .....</b>	<b>13</b>
3.1. Ekologické příčiny .....	14
3.2. Fyziologické příčiny .....	14
3.3. Trade-off .....	16
<b>4. Imunologické rozdíly mezi pohlavími .....</b>	<b>17</b>
4.1. Nespecifická imunita .....	17
4.2. Specifická imunita .....	18
<b>5. Vztah pohlavních hormonů a imunitního systému .....</b>	<b>19</b>
5.1. Testosteron .....	20
5.2. Progesteron .....	20
5.3. Estradiol .....	21
<b>6. Model infekce – <i>Leishmania major</i> u myši .....</b>	<b>22</b>
6.1. Rod <i>Leishmania</i> .....	22
6.2. Morfologie.....	22
6.3. Životní cyklus .....	23
6.4. Leishmanióza .....	25

6.5. Klinické projevy onemocnění u lidí .....	25
6.6. <i>Leishmania major</i> u myši .....	27
6.7. Imunologické pozadí infekce .....	27
6.7.1. Role T-lymfocytů .....	28
6.7.2. Role makrofágů .....	29
6.7.3. Rozdíl v imunitní odpovědi u samců a samic .....	30
<b>7. Shrnutí .....</b>	<b>32</b>
<b>8. Seznam použité literatury.....</b>	<b>33</b>

## **ABSTRAKT**

Pohlavně vázané rozdíly v intenzitě a projevech parazitárních infekcí jsou známy u širokého spektra taxonů. Ve většině případů je vyšší vnímavost k infekci u samců, zatímco samice jsou k infekcím rezistentnější. Existují však také výjimky – tedy paraziti, pro které jsou vnímavějším pohlavím samice.

Zvýšená vnímavost samců k infekcím může být způsobena rozdílným vystavením samců a samic působení patogenů. Dalším možným vysvětlením jsou rozdíly v imunitním systému jednotlivých pohlaví, neboť imunitní systém může být ovlivňován pohlavními hormony.

Modelovým příkladem infekce je *Leishmania major* u myši. *Leishmania* je parazitický prvek způsobující onemocnění se širokým spektrem klinických příznaků (od spontánně se hojících kožních vředů po těžké viscerální onemocnění, které může končit i smrtí) známé pod souhrnným názvem leishmanióza.

## **ABSTRACT**

Sex differences in parasite infection rates, intensities or population patterns are common in a wide range of taxa. The prevalence and intensity of parasite infections are often higher in males than females.

Higher susceptibility of males can be caused by differential exposure to pathogens because of sex-specific behavior or morphology. The second cause may stem from association between sex hormones and the immune system.

The model example is *Leishmania major* infection in mice. *Leishmania* parasites cause complex of diseases that are called leishmaniasis. Symptoms of leishmaniasis range from subclinical to extensive systemic disease with splenomegaly, hepatomegaly, skin lesions, anemia and hyperglobulinemia and in some cases, it can lead to death.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

*Leishmania major* – infekce – pohlaví – testosteron – progesteron – estradiol – nespecifická imunita – specifická imunita – pohlavní rozdíly

## **KEYWORDS**

*Leishmania major* – infection – sex – testosterone – progesterone – estradiol – innate immunity – acquired immunity – sex differences

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AV ČR	Akademie věd České republiky
CD	povrchové molekuly leukocytů (cluster of differentiation)
CD40L	ligand povrchové molekuly CD40
DNA	kyselina deoxyribonukleová
DHT	dihydrotestosteron
DTH	delayed type hypersensitivity
F	female, samičí pohlaví
gp63	povrchový glykoprotein 63
IFN $\gamma$	interferon gamma
IgE	immunoglobulin třídy E
IgG	immunoglobulin třídy G
IL-4	interleukin 4
IL-5	interleukin 5
IL-6	interleukin 6
IL-10	interleukin 10
IL-12	interleukin 12
iNOS	inducibilní NO syntáza
L.	<i>Leishmania</i>
L. b.	<i>Leishmania brasiliensis</i>
L. d.	<i>Leishmania donovani</i>
L. m.	<i>Leishmania mexicana</i>
L. t.	<i>Leishmania tropica</i>
M	male, samčí pohlaví
MCAF	chemotaktický faktor aktivující monocyty (monocyte chemotactic and activating factor)
MHC-II	hlavní histokompatibilní komplex třídy II (major histocompatibility complex)
MIF	faktor inhibující migraci (migration inhibitory factor)
NK buňky	přirození zabíječi (natural killers)
NO	oxid dusnatý
RNA	kyselina ribonukleová



rRNA	ribozomální ribonukleová kyselina
T <sub>reg</sub>	regulační T lymfocyty (CD4+CD25+)
T <sub>h</sub> 1 odpověď	imunitní odpověď mediovaná T <sub>h</sub> 1 lymfocyty
T <sub>h</sub> 2 odpověď	imunitní odpověď mediovaná T <sub>h</sub> 2 lymfocyty
TNF $\alpha$	faktor nekrotizující nádory alfa (tumor necrosis factor $\alpha$ )
TNF $\beta$	factor nekrotizující nádory beta (tumor necrosis factor $\beta$ )
T <sub>h</sub> lymfocyty	pomocné T lymfocyty (CD4+)
ÚMG	Ústav molekulární genetiky

# 1. ÚVOD

Ve své práci jsem se věnovala zkoumání vlivu pohlaví hostitele na odolnost vůči infekcím způsobeným parazity.

Literární přehled pojednává nejprve o možných příčinách rozdílných projevů parazitárních infekcí u samců a samic. Můžeme je rozdělit do dvou základních skupin – příčiny ekologické a fyziologické. Ekologické příčiny zahrnují kontakt s vodou, kontakt s ostatními jedinci daného druhu, potravní a pářící návyky, velikost území, na kterém se jedinec vyskytuje, jakého věku se dožívá nebo chování jedince v určitých situacích. Mezi fyziologické příčiny řadíme velikost jedinců jednotlivých pohlaví, vliv stresových situací na imunitní systém a vliv pohlavních steroidních hormonů na růst a vývoj parazitů.

V dalších částech se zabývám rozdíly v imunitním systému samců a samic z hlediska specifické i nespecifické imunity a efekty pohlavních hormonů – testosteronu, estrogeneru a progesteronu – na imunitní systém.

Závěr literárního přehledu je věnován modelovému příkladu infekce. Jedná se o infekci způsobenou parazitem *Leishmania major* u myši. *Leishmania* je parazitický prvek způsobující onemocnění se širokým spektrem klinických příznaků (od spontánně se hojících kožních vředů po těžké viscerální onemocnění, které může končit i smrtí) známé pod souhrnným názvem leishmanióza.

## **2. PARAZITISMUS**

Parazitismus je jednou z nejrozšířenějších životních strategií a hraje důležitou roli v evoluci. Podle klasické definice je parazit organismus, který alespoň po část svého životního cyklu využívá jiné organismy (hostitele) jako zdroj potravy i jako stálé nebo dočasné životní prostředí, a tím jim přímo nebo nepřímo škodí. Téměř každý organismus má svého specifického parazita. Parazitických druhů je tedy minimálně stejný počet jako všech volně žijících organismů. Podle místa výskytu v hostitelském organismu rozeznáváme ektoparazity a endoparazity. Endoparaziti mohou žít extracelulárně nebo intracelulárně.

Parazit je většinou výrazně menší než jeho hostitel a jeho primární snahou není hostitele zabít, ale pouze žít na jeho úkor. Ve vztahu parazit-hostitel má tedy cizopasník alespoň do určité míry zájmy shodné s hostitelským organismem – parazitovaný hostitel musí totiž určitou dobu přežívat.

Hostitelský organismus se samozřejmě snaží buď vůbec se neinfikovat anebo v případě již získané infekce parazita eliminovat. Vztah hostitele a parazita můžeme označit jako takzvané „závody ve zbrojení“, kdy oba protihráči vymýšlejí různé způsoby, jak získat před soupeřem náskok, přemoci ho a zároveň odrážet jeho útoky.

Hostitel se brání proti útokům parazita na několika úrovních. První ochrannou bariérou je neporušený povrch sliznic a kůže a jejich přirozené obranné mechanismy. Ty můžeme rozdělit na mechanické, chemické a mikrobiální.

Pokud je tato první bariéra překonána, musí do boje nastoupit imunitní systém hostitele. Ten se skládá ze dvou základních složek – nespecifické a specifické. Nespecifická imunita, nazývaná také vrozená nebo neadaptivní, je evolučně starší a je založena na molekulách a buňkách, které jsou v organismu připravené předem a jsou obvykle účinné proti mnoha různým patogenům. Nespecifické imunitní mechanismy jsou tvořeny složkami buněčnými (fagocytující buňky, přirozeně cytotoxické buňky) a humorálními (komplement, interferony, lektiny). Nespecifické složky imunity reagují rychle, řádově v minutách, a nemají tzv. imunologickou paměť, tj. nejsou ovlivněny předchozím setkáním s antigenem. Specifická imunita je evolučně mladší, adaptivní a antigenně specifická. Aktivuje se až po setkání s daným antigenem. Mezi její základní složky patří mechanismy humorální (založené na protilátkách) a buněčně zprostředkované (založené hlavně na T-lymfocytech). Charakteristickým rysem specifické imunity je imunologická paměť.

Během evoluce vyvinuli paraziti řadu mechanismů, kterými se snaží uniknout před obranou hostitele. Jako příklad můžeme uvést snížení exprese hostitelských MHC glykoproteinů, inhibici produkce protilátek či cytokinů, únik do buněk hostitele, zvýšení variability povrchových molekul parazita a inhibici fagocytózy a komplementu.

### 3. VLIV POHLAVÍ HOSTITELE NA INFEKCI

Pohlavně vázané rozdíly v intenzitě a projevech parazitárních infekcí jsou známy u širokého spektra taxonů. Jedná se o infekce způsobované zástupci tříd nematoda, trematoda, cestoda, arthropoda a dalších. Ve většině případů je vyšší vnímavost k infekci u samců, zatímco samice jsou k infekcím rezistentnější. Jedná se např. o infekce způsobované parazity rodů *Leishmania*, *Plasmodium*, *Entamoeba*, *Necator* a *Schistosoma*. Existují však také výjimky – tedy paraziti, pro které jsou vnímavějším pohlavím samice. Myši samci jsou např. méně vnímaví k několika parazitům včetně *Babesia microti*, *Schistosoma mansoni* a *Taenia crassiceps* (viz Tabulka 1) (Brabin, Brabin, 1992). Jedním z nejlépe prostudovaných parazitů, ke kterým jsou vnímavější samice než samci, je *Toxoplasma gondii*. U myších samic způsobuje vážnější mozkové záněty a samice jsou také náchylnější k úmrtí na následky infekce. Myši samci produkují vyšší koncentrace TNF $\alpha$ , IL-12 a IFN $\gamma$  (Walker et al., 1997).

Parazit	Hostitel	Pohlavní rozdíl					
<i>Babesia microti</i>	<i>Mus musculus</i>	F>M					
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Homo sapiens</i>	M>F					
<i>Giardia muris</i>	<i>Mus musculus</i>	M>F					
<i>Leishmania major</i>	<i>Mus musculus</i>	M>F					
<i>Leishmania mexicana</i>	<i>Mus musculus</i>	M>F					
<i>Plasmodium falciparum</i>	<i>Homo sapiens</i>	M>F					
<i>Plasmodium vivax</i>	<i>Homo sapiens</i>	M>F					
<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Mus musculus</i>	F>M					
<i>Trypanosoma cruzi</i>	<i>Mus musculus</i>	M>F					
<i>Schistosoma mansoni</i>	<i>Homo sapiens</i>	M>F					
<i>Schistosoma mansoni</i>	<i>Mus musculus</i>	F>M					
<i>Taenia crassiceps</i>	<i>Mus musculus</i>	F>M					

**Tabulka 1: Pohlavní rozdíly v prevalenci a intenzitě parazitárních infekcí u obratlovců, M>F značí vyšší vnímavost samců v porovnání se samicemi, F>M naopak vyšší vnímavost samic, (podle Klein S. L., 2000; upraveno a zkráceno)**

Zvýšená vnímavost samců k infekcím, jež je považována za jednu z hlavních příčin brzkého úmrtí samců v porovnání se samicemi, může mít dva typy příčin - ekologické a fyziologické (hlavně hormonální).

### 3.1. Ekologické příčiny

Prvním typem příčin vzniku rozdílů v intenzitě a projevech infekce mohou být příčiny ekologické, u lidí sociologické. Jsou dány rozdílným vystavením samců a samic působení patogenů způsobeným pohlavně specifickým chováním a morfologií. Vyplynávají tedy z odlišného způsobu života jedinců jednotlivých pohlaví.

Mohou zahrnovat např. kontakt s vodou, kontakt s ostatními jedinci daného druhu, potravní a pářící návyky, velikost území, na kterém se jedinec vyskytuje, jakého věku se dožívá. Všechny tyto faktory se mohou u jednotlivých pohlaví lišit. Např. u infekce parazitem *Schistosoma mansoni* je jedním z rozhodujících faktorů také zastoupení lipidů v kůži lidí. Lipidy v kůži mohou ovlivnit schopnost parazita proniknout kůží a způsobit infekci.

Samci mnoha druhů se často chovají více rizikově než samice, což zvyšuje pravděpodobnost jejich kontaktu s ekto- i endoparazity (Zuk M. & McKean K. A., 1996).

Intenzita parazitárních onemocnění a počet parazitů mohou také fluktuovat v průběhu roku, např. v době páření dochází ke zvýšení hladiny počtu parazitů.

### 3.2. Fyziologické příčiny

Mezi pohlavími existují imunologické rozdíly, které mohou být základem zvýšeného výskytu a intenzity parazitárních infekcí u samců. Samice většinou vykazují vyšší imunitní odpovědi. Jejich silnější imunita je výhodou v boji proti infekčním onemocněním, ale je škodlivá z hlediska vzniku autoimunitních onemocnění.

Pro fyziologické příčiny existence pohlavních rozdílů v infekci se objevuje několik vysvětlení (Alexander & Stimson, 1988):

#### 1) Heterogametická hypotéza

Heterogametická hypotéza nebyla potvrzena, uvádím ji tedy pouze pro úplnost. Popisuje škodlivé efekty plynoucí z toho, že jedno pohlaví je heterogametické. Říká, že heterogenní povaha pohlavních chromozomů způsobuje pohlavní rozdíly v rezistenci k parazitům. U heterogametického pohlaví se projevují recesivní alely, které jsou u homogametického pohlaví maskovány.

U savců jsou heterogametickým pohlavím samci, zatímco u ptáků a motýlů jsou to samice. U savců by tedy měli být rezistentnější samice a u ptáků samci. To ale potvrzeno nebylo. U savců i ptáků jsou více rezistentní samice (Poulin, 1996).

## **2) Velikost jedinců jednotlivých pohlaví**

Pohlavní rozdíly v infekci mohou být podmíněny rozdílnou velikostí jedinců jednotlivých pohlaví. Tato hypotéza může být interpretována dvojím způsobem - větší jedinec teoreticky představuje větší terč pro parazity a zároveň přijímá více potravy, která může být kontaminována parazity.

## **3) Působení stresu na imunitní systém**

Vztah mezi stresem a imunitním systémem je velmi komplexní, stres má však na imunitní systém prokazatelný vliv. Pozorování sezónních změn v projevech parazitárních onemocnění u jednotlivých pohlaví vedlo společně s tím, že u lidí i zvířat vede zvýšená hladina stresu často k fyzickému onemocnění, k předpokladu role hladiny stresu ve schopnosti bránit se parazitům (Nelson & Demas, 1995).

U savců a jiných obratlovců má stres podobný průběh. Dochází k produkci stresových hormonů, potlačení produkce protilátek, redukci aktivity NK buněk, produkce cytokinů, blokování proliferace lymfocytů (shrnutí v Khansari, et al., 1990). Stresovaná zvířata jsou proto náchylnější k parazitární nákaze a onemocnění.

Samci a samice mnoha druhů se liší v množství stresu, který prožijí. Např. v době páření samci budují a brání teritorium a bojují s ostatními samci. Mnohé z pohlavně specifických aktivit jsou ovládány steroidními hormony (testosteron, estradiol, estrogen, progesteron), které modulují imunitní systém.

## **4) Působení steroidních pohlavních hormonů na růst a vývoj parazitů**

Pohlavní hormony mohou ovlivňovat růst a vývoj parazitů přímo nebo nepřímo prostřednictvím imunitního systému.

### 3.3. Trade-off

Předpokládá se, že se rozdíly v intenzitě a průběhu onemocnění vyvinuly stejně jako rozdíly v chování a morfologii a jsou výsledkem rozdílného působení selekce u jednotlivých pohlaví.

U samců působí selekce ve prospěch atraktivity a šance na úspěch u samic na úkor odolnosti vůči patogenům. Vytváří se znaky podmíněné působením testosteronu – např. parohy, kohoutí hřebínek nebo ornamenty na křídlech motýlů. Úspěšný samec musí být schopen odolávat patogenům, přestože má vyvinuté sekundární pohlavní znaky. Ukazuje tím, že má dost energie na imunitu i na znaky atraktivity (Zuk, 1990).

Na druhou stranu mohou být sekundární pohlavní znaky vyvinuty na úkor imunity a extrémně atraktivním samcům může scházet energie na efektivní imunitní odpovědi (Zuk, 1995).



## **4. IMUNOLOGICKÉ ROZDÍLY MEZI POHLAVÍMI**

Existence pohlavních rozdílů ve funkci imunitního systému je u obratlovců prokázána řadou studií (Klein S. L, 2000; Zuk M. & McKean K. A., 1996). Samci zpravidla vykazují nižší imunitní odpovědi než samice. U samic je prokázána vyšší nespecifická odpověď, produkce protilátek i specifická buněčná odpověď. Imunologické rozdíly mohou pomoci vysvětlit, proč se samci a samice liší v odpovědi na parazitární infekce (podle Klein S. L., 2004).

### **3.1. Nespecifická imunita**

Nespecifická imunita představuje první linii obrany proti parazitům. Nespecifická imunitní odpověď je rychlá, protože není závislá na předchozím setkání s antigenem. Existují studie prokazující rozdíly v nespecifické imunitní odpovědi u jednotlivých pohlaví. U samic je nespecifická imunitní odpověď silnější, což způsobuje častější vznik zánětlivých autoimunitních onemocnění jako je rheumatoidní artritida a systemický lupus erythematosus. U samic také častěji dochází k DTH reakcím (delayed type hypersensitivity) (Da Silva J. A., 1995). Po stimulaci antigenem produkují samci vyšší koncentrace zánětlivého mediátoru, bradykininu.

U jednotlivých pohlaví se liší počet a aktivita buněk spojených s nespecifickou imunitou. Fagocytické buňky, včetně makrofágů a neutrofilních granulocytů, se vyskytují ve větším množství u samic než u samců. Po stimulaci antigenem dochází k produkci prostaglandinu E<sub>2</sub>, tromboxanu B<sub>2</sub> a oxidu dusnatého, která je opět prokazatelně vyšší u samic (Spitzer J. A., 1999).

Na druhou stranu u samců byla prokázána vyšší produkce prozánětlivých cytokinů IL-6 a TNF $\alpha$ . Ženy s pravidelným menstruačním cyklem vykazují také nižší aktivitu NK buněk než muži. Bylo prokázáno, že počet a aktivitu NK buněk negativně ovlivňuje estradiol. (Souza S. S. et al., 2001). Pohlavní rozdíly v počtu a aktivitě makrofágů a NK buněk mohou ovlivňovat rozdílnou vnímavost jednotlivých pohlaví k *Toxoplasma gondii* (Walker W., et al., 1997).

## 4.2. Specifická imunita

Pohlavní rozdíly v produkci cytokinů hrají důležitou roli ve vnímavosti k parazitární infekci. Protilátková imunitní odpověď (např. produkce protilátek B-buňkami) je často vyšší u samic než u samců, ale např. u myší kmene C57B1/6 infikovaných parazitem *Giardia muris* mají samice nižší hladinu protilátek a silnější zánětlivou odpověď. Také buněčná imunitní odpověď je u jednotlivých pohlaví odlišná, protože T-buňky (hlavně CD4+ Th) jsou funkčně i fenotypově heterogenní. Samci a samice se také liší v preferenci Th1/Th2 imunitní odpovědi. V určitých případech samice preferují Th2 odpověď, ale existují i studie ilustrující samičí preferenci Th1 odpovědi (podle Klein S. L., 2004).

Samice myší kmene DBA/2 jsou rezistentnější ke kožní formě infekce *Leishmania mexicana*. V tomto případě produkují samice více IFN $\gamma$  a po odstranění vaječnicků dochází k potlačení jeho produkce (Alexander J., 1988).

Myší samice kmene DBA/2 jsou vnímavější k infekci *Toxoplasma gondii* a vykazují nižší hladiny IL-12 a IFN $\gamma$  (Walker W., et al., 1997).

## 5. VZTAH POHLAVNÍCH HORMONŮ A IMUNITNÍHO SYSTÉMU

V současné době převažuje hypotéza, že pohlavní hormony, zvláště testosteron, estradiol, progesteron a DHT, ovlivňují imunitní systém, a tím způsobují imunologické rozdíly mezi pohlavími (Mock & Nacy, 1998). Lokalizace receptorů pohlavních hormonů v imunitních buňkách, včetně lymfocytů, makrofágů, granulocytů a žírných buněk, ukazuje na přímé spojení mezi endokrinním a imunitním systémem. Endokrinní faktory mohou přímo ovlivňovat expresi genů v imunitních buňkách, není však jasné, zda vysvětlují všechnu variabilitu v odpovědi na infekci (Klein S. L., 2004) (viz Tabulka 2).

Hormon	Efěky na imunitní systém								
DHT	↓ produkce IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-5, IL-6								
	↓ produkce IFN $\gamma$								
	↓ produkce protilátek								
	↓ exprese Fc rec.								
testosteron	↓ produkce TNF $\alpha$								
	↓ produkce IFN $\gamma$								
	↑ produkce IL-4, IL-5, IL-10, IL-13								
	↓ produkce protilátek								
	↓ exprese Fc rec.								
estradiol	↓ produkce IFN $\gamma$								
	↓ produkce TNF $\beta$								
	↓ produkce IL-2								
	↑ produkce protilátek								
	↑ produkce IL-4, IL-5, IL-10, IL-13								
	↑ aktivita NK buněk								
progesteron	↑ aktivita MAPK								
	↑ produkce TNF $\alpha$								
	↓ aktivita NK buněk								
	↑ produkce IL-4, IL-5								
	↓ produkce IgA a IgG								

**Tabulka 2: Efěky steroidních hormonů na imunitní systém**

(podle Klein S. L., 2004; upraveno přeloženo a zkráceno)

## 5.1. Testosteron

Pohlavní rozdíly v infekci jsou částečně ovlivňovány působením androgenů včetně dihydrotestosteronu (DHT) a testosteronu na imunitní systém. Receptory androgenů byly identifikovány v lymfoidních tkáních – v thymu, kostní dřeni a slezině (Roberts C. W., et al., 2001).

Podání testosteronu *in vivo* snižuje u myši kmene BALB/c aktivitu NK buněk. Podobně stimulace myších makrofágů testosteronem *in vitro* redukuje syntézu prozánětlivých produktů – TNF $\alpha$  a NO syntázy. Naproti tomu testosteron zvyšuje syntézu protizánětlivých cytokinů, jako IL-10 (D'Agostino P. et al., 1999).

U kastrovaných myších samců se projevila větší rezistence vůči některým parazitům včetně *Leishmania major*, *Plasmodium chabaudi* a *Plasmodium berghei*. Bylo např. prokázáno, že kastrace samců snižuje, zatímco podání testosteronu samicím zvyšuje mortalitu při infekci parazity *Plasmodium chabaudi* a *Plasmodium berghei* u myši. Podání testosteronu samicím myši u nich způsobilo snížení produkce protilátek, snížení množství MHC-II ve slezině a nárůst počtu CD8+ T-buněk ve slezině (Wunderlich F., Marinovski P., 1991).

## 5.2. Progesteron

Progesteron hraje u savců důležitou úlohu v těhotenství. Může mít stimulační i inhibiční efekt na imunitní systém, ale je typicky považován za imunosupresivní, protizánětlivý hormon. Receptory pro progesteron byly identifikovány u epiteliálních buněk, žírných buněk, granulocytů, makrofágů a lymfocytů (Souza, 2001).

Progesteron snižuje nespecifickou imunitní odpověď. Snižuje aktivitu makrofágů a NK-buněk, může inhibovat produkci NO a TNF $\beta$  (Chao et al., 1995). Zvýšená koncentrace progesteronu v těhotenství inhibuje vývoj Th1 odpovědi, která může vést k odhojení plodu, a podporuje Th2 odpověď včetně produkce IL-4 a IL-5. Také snižuje produkci protilátek tím, že inhibuje CD8+ T-buněčnou odpověď (Roberts C. W., et al., 1996).

### 5.3. Estradiol

Estrogeny moduluji imunitní funkce u samic a mohou přispívat k rezistenci k infekci. Ovlivňují nespecifickou i specifickou imunitu. Receptory estrogenů jsou exprimovány na mnoha buňkách lymfoidní tkáně i na lymfocytech a makrofázích v krvi (Roberts C. W., et al., 2001).

Estrogeny mohou zvyšovat buněčnou i humorální imunitní odpověď. V některých studiích však buněčnou imunitní odpověď snižují. Přidání 17 $\beta$ -estradiolu k lidským NK buňkám způsobí *in vitro* zvýšení jejich cytotoxicity. Estrogeny také stimulují produkci prozánětlivých cytokinů – IL-1, IL-6 a TNF $\alpha$  (Sorachi K., et al., 1993).

Rezistence samic k některým parazitárním infekcím (*Brugia malayi*, *Leishmania mexicana*) pozitivně koreluje s koncentracemi estrogenů (Alexander J., 1988).

Myši samice nejsou rezistentnější ke všem infekcím, jsou např. vnímavější k infekci *Toxoplasma gondii*. Samice kmene C57BL/10, kterým byl podán 17 $\beta$ -estradiol jsou vnímavější k *T. gondii* než neošetřené samice a samci. Zvýšená vnímavost k *T. gondii* u myši, kterým byl podán estrogen, může být způsobena sníženou nespecifickou imunitní odpovědí (snížením aktivity NK buněk a makrofágů) a sníženou produkcí cytokinů (IL-12, IFN $\gamma$ ) (Roberts C. W., et al., 2001).

## **6. MODEL INFEKCE – LEISHMANIA MAJOR U MYŠI**

### **6.1. rod *Leishmania***

Rod *Leishmania* (česky ničivka) patří do kmene *Mastigophora*, třídy *Kinetoplastida*, čeledi *Trypanosomatidae*. Prvok *Leishmania* je obligátní intracelulární parazit obratlovců včetně člověka. Vyskytuje se v tropech a subtropích všech kontinentů s výjimkou Antarktidy. *Leishmania* způsobuje u lidí i ostatních savců komplex onemocnění s různými klinickými projevy a různým stupněm závažnosti. Základní dělení onemocnění je na kožní, kožněslizniční (espundia) a viscerální (kala-azar). Rezervoár onemocnění tvoří převážně drobnější obratlovci – hlavně hlodavci, psi a lišky.

Do rodu *Leishmania* patří celá řada druhů. Morfologicky se jednotlivé druhy od sebe příliš neliší, jsou mezi nimi ale poměrně velké rozdíly v klinických projevech onemocnění. Liší se také genetickým vybavením a geografickým rozšířením. Podle těchto kritérií můžeme druhy rodu *Leishmania* rozdělit do tří hlavních skupin:

I. Druhy způsobující kožní leishmaniózy ve Starém světě – *Leishmania tropica* (poddruhy *L. t. tropica* a *L. t. aethiopica*) a *Leishmania major*.

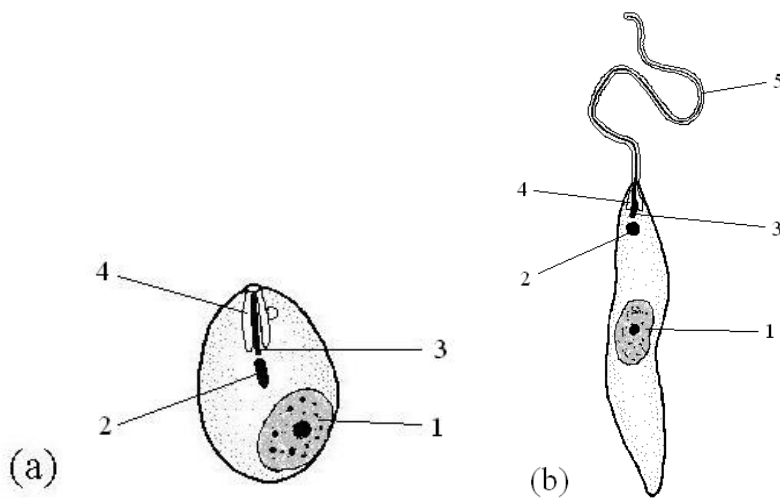
II. Druhy způsobující kožní a kožněslizniční leishmaniózy v Novém světě – *Leishmania mexicana* (poddruhy *L. m. mexicana*, *L. m. pifanoi* a *L. m. amazonensis*) a *Leishmania brasiliensis* (poddruhy *L. b. brasiliensis*, *L. b. guyanensis*, *L. b. peruviansis* a *L. b. panamensis*).

III. Druhy způsobující viscerální leishmaniózy – *Leishmania donovani* (poddruhy *L. d. infantum*, *L. d. chagasi* a *L. d. donovani*) (Leiby et al., 1994).

### **6.2. Morfologie**

Prvok *Leishmania* je jednobuněčný organismus s eukaryotní stavbou buňky. V jeho životním cyklu dochází ke značným morfologickým a fyziologickým změnám podle toho, v jakém prostředí se vyskytuje. Jedná se o dvě základní životní stadia: promastigotní a amastigotní (viz Obrázek 1). U promastigotního stadia je přítomen jeden bičík, který umožňuje pohyb. Specifickou organelou všech Kinetoplastid, mezi které rod *Leishmania* patří,

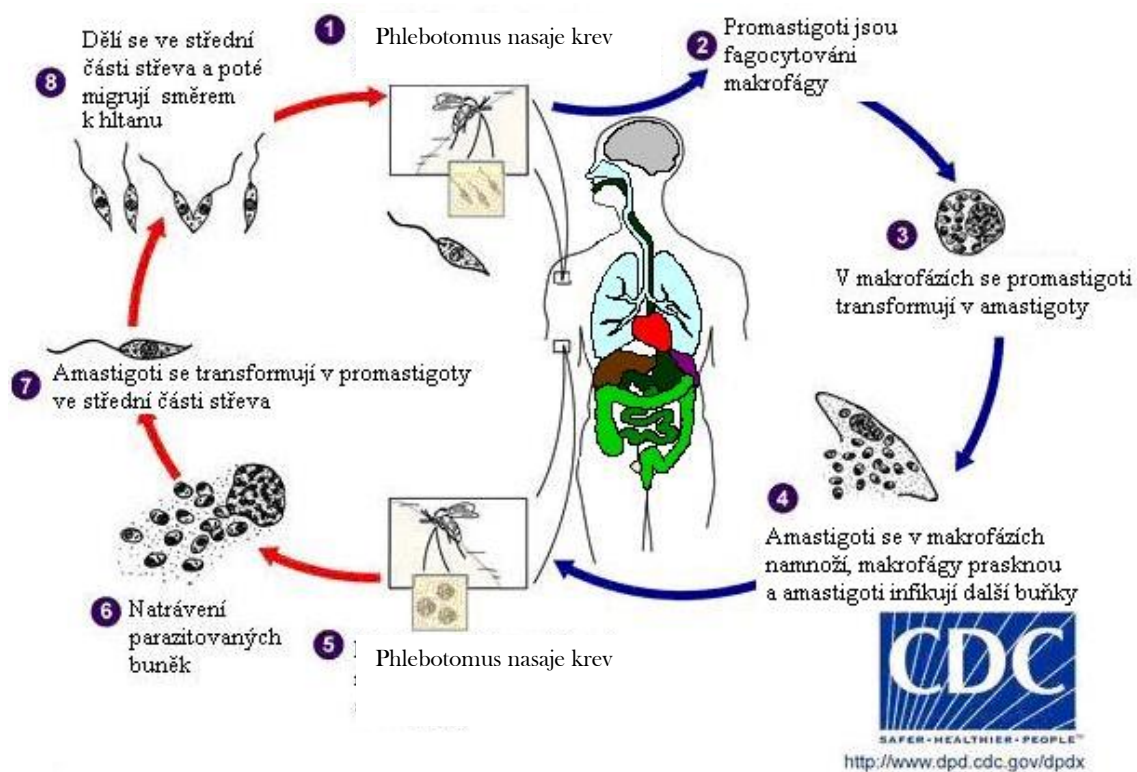
je kinetoplast, který je lokalizován u báze bičíku. Obsahuje mimojadernou mitochondriální DNA, celkem až 10-20% celkové DNA organismu. Morfologicky se jedná o několik vzájemně propletených kruhových molekul – minikroužků a maxikroužků. Maxikroužky obsahují geny pro rRNA a proteiny nezbytné pro funkční aktivaci mitochondrie při přenosu do hostitelského organismu. Minikroužky obsahují geny pro guide RNA, která umožňuje čtení genů na maxikroužcích. Zároveň mají minikroužky i strukturální funkci, protože hrají roli při rovnoměrném rozdělování maxikroužků při dělení kinetoplastu.



**Obrázek 1:** *Leishmania major*. (a) amastigot; (b) promastigot. 1 – jádro, 2 – kinetoplast, 3 – kinetozóm, 4 – axonema, 5 – bičík. (podle Roberts & Janovy, 2000)

### 6.3. Životní cyklus

Životní cyklus rodu *Leishmania* se dělí na dvě hlavní části, které se od sebe liší morfologickou a fyziologickou strukturou parazita a místem, kde se parazit právě nachází (viz Obrázek 2)



**Obrázek 2: Životní cyklus parazitů rodu *Leishmania*;** (převzato z <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx> a upraveno)

Přenašečem rodu *Leishmania* jsou samice rodu *Phlebotomus* (druhy *Phlebotomus* a *Lutzomyia*). *Phlebotomus* nasaje krev nakaženého obratlovce, která obsahuje makrofágy plné amastigotů. Ve střevě přenašeče se amastigoti uvolní a jsou obaleni membránou, která je sekretována buňkami střeva. Zde se amastigoti transformují v promastigoty. Dále ve střevě je membrána narušena a promastigoti se uvolňují do střev. Dochází k jejich masivnímu dělení a přeměně v infekční stádium. Tato část cyklu se u jednotlivých druhů liší délkou trvání a trvá od šesti do čtrnácti dnů. Později se promastigoti přemístí do hltanu a přední části střeva a při bodnutí se dostávají společně se slinami do krve savčího hostitele. Uvnitř hostitelského organismu jsou promastigoti chráněni před nespecifickými imunitními mechanismy glykokalyxem. Parazit se dostane k membráně makrofágu, připojí se na ni prostřednictvím lipofosfoglykanu a povrchového glykoproteinu gp63 a fagocytózou pronikne dovnitř. V makrofágu ztrácí bičík, mění se v amastigota a intenzivně se množí ve fagozómech. Dochází k prasknutí makrofágu, uvolnění amastigotů a jejich invazi do okolních buněk. V této fázi mohou být infikované buňky nasáty spolu s krví přenašečem, v jehož střevě dojde k jejich prasknutí a uvolnění amastigotů (Leiby et al., 1994).



## 6.4. Leishmanióza

Prvoci rodu *Leishmania* způsobují onemocnění souhrnně nazývaná leishmaniózy. Do tohoto komplexu onemocnění spadají choroby různého stupně závažnosti a nejrůznějších klinických projevů: od jednoduchých spontánně vyléčitelných kožních lézí, kdy zůstávají paraziti lokalizováni v místě bodnutí, až po viscerální infekce, charakterizované rychlým rozšířením parazitů z místa primární infekce a jejich usídlením ve vnitřních orgánech. Různé klinické formy leishmaniózy jsou obvykle spjaty s různými druhy parazita (viz Tabulka 3).

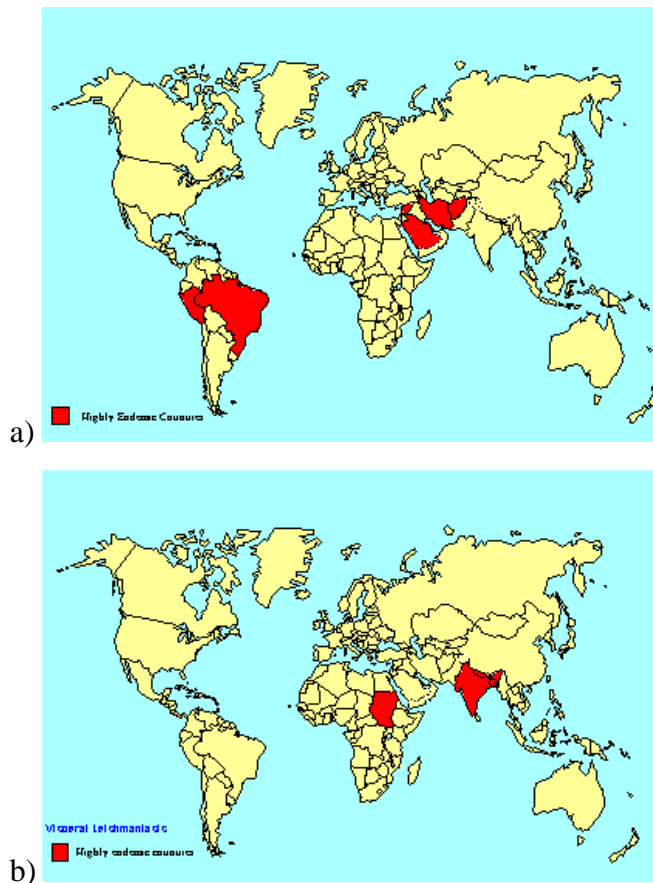
Druh	Hostitel	Forma onemocnění				
<i>L. tropica</i>	člověk	kožní				
<i>L. major</i>	hlodavci	kožní				
<i>L. aethiopica</i>	damani	kožní				
<i>L. mexicana</i>	hlodavci, člověk	kožní				
<i>L. peruviana</i>	pes	kožní				
<i>L. donovani</i>	člověk	viscerální				
<i>L. infantum</i>	pes, člověk	viscerální				
<i>L. chagasi</i>	pes	viscerální				
<i>L. brasiliensis</i>	savci	kožní, kožně-slizniční				

Tabulka 3: Leishmaniózy

## 6.5. Klinické projevy nemoci u lidí

Leishmanióza postihuje 12 milionů lidí na světě, 350 milionů lidí v 88 zemích je touto chorobou ohroženo ([www.who.int/leishmaniasis/en/](http://www.who.int/leishmaniasis/en/)). Každý rok přibývá půl miliónu nových případů viscerální a 1,5 miliónu případů kožní formy onemocnění.

Nemoc je rozšířena především v tropickém a subtropickém pásmu Asie, Afriky a Ameriky a její výskyt je vázán na životní prostředí přenašeče (viz Obrázek 3).



**Obrázek 3: oblasti nejvyššího výskytu leishmaniózy; a) kožní, b) viscerální**

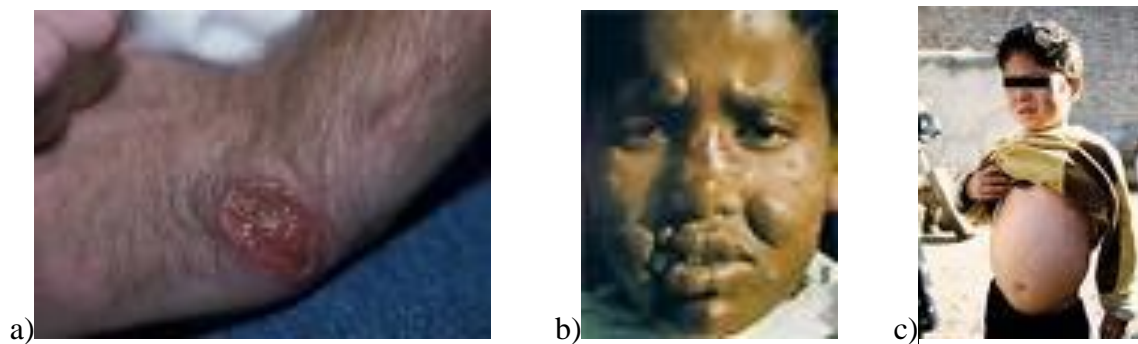
Existují tři hlavní typy onemocnění: kožní, kožně-slizniční a viscerální (viz Obrázek 4). 90% viscerální formy se vyskytuje v Bangladéši, Brazílii, Indii, Nepálu a Súdánu, 90% výskytu kožní formy bylo zaznamenáno v Afghánistánu, Brazílii, Íránu, Peru, Saudské Arábii a Sýrii.

Kožní leishmanióza může být buď lokální, nebo difúzní. Lokální je způsobována druhy *L. major*, *L. mexicana*, *L. tropica* a *L. brasiliensis* a je nejběžnější formou onemocnění. Jejím hlavním projevem jsou kožní vředy a léze charakterizované zvýšenými okraji, které obsahují infikované zánětlivé makrofágy, a středem obsahujícím nekrotickou tkáň. Léze se spontánně vyléčí, ale zanechávají po sobě výrazné jizvy. K léčbě se používají nejčastěji chemoterapeutika. Onemocněním se získá částečná imunita k opakovaným infekcím.

Difúzní kožní leishmanióza je způsobována druhy *L. mexicana* a *L. tropica*. Vyznačuje se kožními metastázemi rozšířenými z místa původní léze. Často k ní dochází u lidí s defektní imunitou. Pacienti s touto formou onemocnění mají často špatně proliferující T-lymfocyty.

Kožně-slizniční leishmanióza neboli espundia se vyvine jen u malé části pacientů, kteří byli infikováni *L. brasiliensis*. Nepostihuje pouze kůži, ale také sliznice. Léze jsou chronické a často nekrotické, stále je v nich přítomno malé množství parazitů. Onemocnění vede k částečné až úplné destrukci sliznice nosu a úst a okolních tkání.

Viscerální leishmaniózu způsobují tři poddruhy druhu *L. donovani*. Infekce způsobovaná *L. d. donovani* se nazývá kala-azar, černá nemoc. Onemocnění je charakterizováno horečkou, malátností a výrazným zvětšením jater a sleziny. Krevní obraz ukazuje snížený počet neutrofilů a trombocytů, častá je anemie. Jsou s ním spojeny přidružené infekce, které zodpovídají za vysokou mortalitu. Uvolňuje se značné množství protilátek a dochází k hypergamaglobulinemii (Leiby et al., 1994).



**Obrázek 4: Formy leishmaniózy; a) kožní, b) kožně-slizniční, c) viscerální**

Mezi faktory ovlivňující průběh a intenzitu onemocnění patří: Počet promastigotů v infekčním inokulu, stav imunity před infekcí, kmen *Leishmanie*, počet a místo bodnutí nebo genetické pozadí hostitele (Griffiths, 1987).

## **6.6. *Leishmania major* u myši**

Jako experimentální model pro studium infekce parazity rodu *Leishmania* je nejlépe prostudován druh *L. major*. U lidí působí *L. major* pouze kožní patologie, ale u myši může způsobovat systemické patologie podobné těm, které u lidí působí *L. donovani* (Reiner et al. 1993).

U většiny myších kmenů nepůsobí infekce *L. major* žádné nebo jen velmi slabé onemocnění. Infekce některých inbredních kmenů (např. CBA, C3H/HeA, TS/A) vede k rozvoji lézí, které se spontánně hojí. Pouze u několika kmenů (např. BALB/c, DBA/2) vzniknou po infekci nehojící se léze, případně se nemoc rozvine ve visceralizující formu, která většinou končí smrtí myši do 12-15 týdnů od počátku infekce (Mitchell et al., 1981). Bylo popsáno, že rozdíly mezi citlivými a rezistentními kmeny mohou být způsobeny odlišnými funkcemi  $T_h$  lymfocytů.

Předpokládalo se, že vnímaný fenotyp je spojen s  $T_h2$  odpovědí, zatímco rezistentní fenotyp s  $T_h1$  odpovědí (Reiner a Locksley, 1995). Později bylo prokázáno, že průběh infekce mohou významně ovlivňovat také další typy buněk – dendritické buňky, NK buňky, Treg a neutrofily (Nobentrauth & Sacks, 2002).

## **6.7. Imunologické pozadí infekce *L. major***

### **6.7.1. Role T-lymfocytů**

V průběhu infekce *L. major* hrají důležitou roli hostitelské T-lymfocyty. Bylo popsáno, že imunitní odpověď proti myší leishmanióze je závislá na schopnosti navodit IL-12-řízenou  $CD4^+$   $T_h1$  odpověď, která vede k produkci  $IFN\gamma$ . Navození citlivosti vůči infekci není tak jednoznačně určeno. Významnou roli zřejmě hraje IL-4 a  $T_h2$  odpověď (Reiner a Locksley, 1995). Navození odolnosti k infekci vyžaduje rozvoj specifických  $CD4^+$   $T_h1$  buněk, které se vyvíjejí v prostředí IL-12, a které produkují  $IFN\gamma$ . IL-12 je produkován makrofágy a dendritickými buňkami a kromě  $T_h1$  lymfocytů aktivuje i NK buňky, které slouží jako časný zdroj  $IFN\gamma$ .  $IFN\gamma$  aktivuje v makrofázích inducibilní NO-syntázu (iNOS), která syntetizuje oxid dusnatý (NO) (Savita X. X., 1998). Produkce NO je nezbytná pro aktivitu makrofágů.

Naopak IL-4 a další cytokiny produkované  $T_h2$  lymfocyty fungují jako deaktivátory makrofágů. IL-4 inhibuje tvorbu NO v makrofázích. Dále snižuje produkci IL-12 a  $IFN\gamma$ , čímž potlačuje  $T_h1$  odpověď (viz Obrázek 5) (Lipoldová, M. et al., 2000).

U lidské viscerální formy leishmaniózy je patrně situace složitější a nelze ji vysvětlovat pouze na základě klasického schématu  $T_h1/T_h2$  (Alexander a Bryson, 2005, Sacks a Noben-Trauth, 2002).

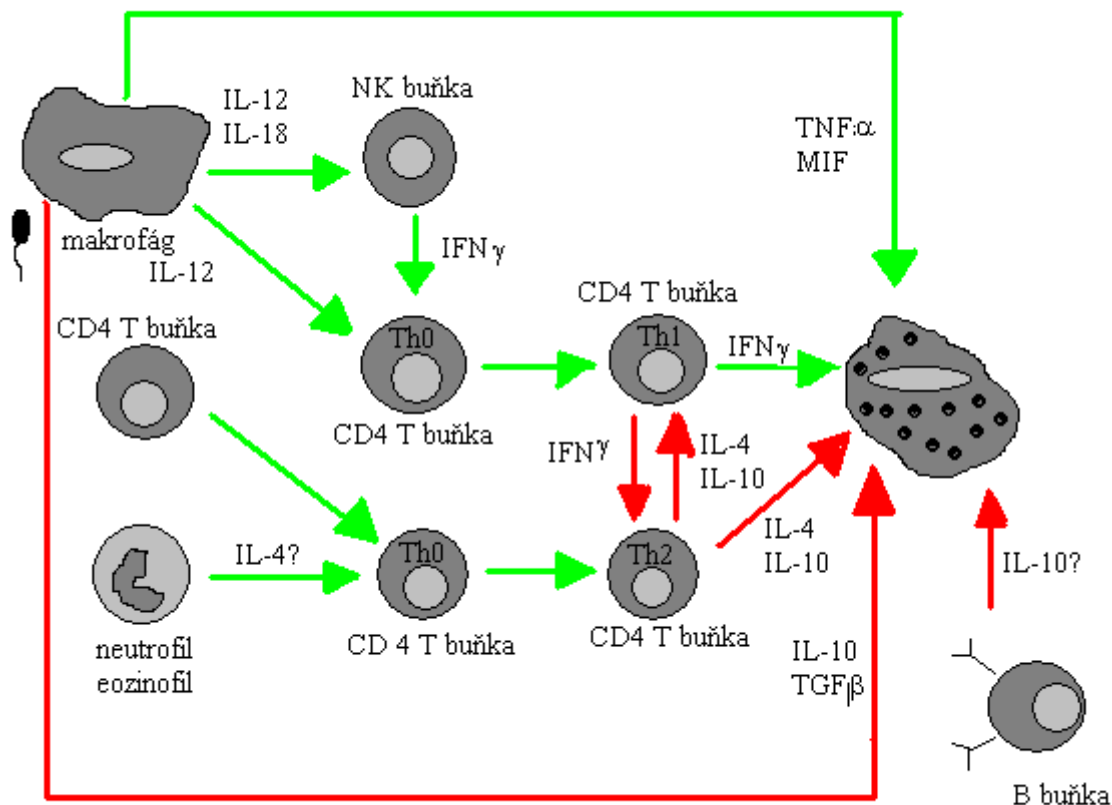
Důležitou roli v kontrole infekce *L. major* hrají také CD4+CD25+ Treg lymfocyty. Tyto tvoří u naivních myši 5-10% periferních CD4+ T-lymfocytů a potlačují potenciálně patogenní imunitní odpovědi *in vivo*. Produkují vysoké hladiny IL-10 a TGFβ. Během infekce *L. major* se Treg lymfocyty shromažďují v kůži, kde zeslabují schopnost CD4+ T-buněk odstranit parazity, čímž mohou zpomalit nebo úplně znemožnit vyléčení. Na druhou stranu se mezi CD4+CD25- a CD4+CD25+ T-buňkami vytváří rovnováha, která umožní malému množství parazitů v tkáni dlouhodobě přežít. Díky tomu je navozena rezistence vůči reinfekci, ale zároveň je zde nebezpečí reaktivace nemoci, například při oslabení imunity (Belkaid et al., 2002, Peters a Sacks, 2006).

### 6.7.2. Role makrofágů

Makrofágy jsou součástí buněčné nespecifické imunity. Jsou to profesionální fagocyty, které jsou schopné zabít intracelulární parazity, a tato schopnost se po jejich aktivaci prudce zvyšuje. Zároveň jsou makrofágy hlavními hostitelskými buňkami prvoků rodu *Leishmania*. Usídlují se v nich promastigoti, kteří se vzápětí transformují v amastigoty. V makrofázích dále rostou a množí se. Mohou se z makrofágů uvolnit a pronikat do okolních buněk. Z toho vyplývá, že *Leishmania* musí mít účinný mechanismus, jak ovládat aktivitu makrofágů. Bylo zjištěno, že promastigoti mohou být potencionálními inhibitory produkce IL-12 makrofágy *in vitro* i *in vivo* (Savita & Rai, 1998).

Ke své aktivaci potřebují makrofágy stimulaci T<sub>h</sub>1 buňkami pomocí prezentace komplexu MHC-II s antigenem a pomocí kostimulačních molekul CD40 na makrofázích a CD28 a CD40L na T buňkách (Alexander et al., 1999).

Makrofágy produkují ještě další apokrinní cytokiny. Například TNFα, MCAF a MIF zesilují aktivitu makrofágů a naopak IL-6, IL-10 a TGFβ ji zeslabují. Cytokiny hrají důležitou roli i v modulaci specifické imunitní odpovědi. (Alexander et al., 1999).



**Obrázek 5: Buňky a cytokiny zapojené do regulace imunitní odpovědi**

(Zelené šipky představují aktivaci, červené naopak inhibici aktivity buněk, ke kterým směřují) (podle Alexander et al., 1999).

### 6.7.3. Rozdíl v imunitní odpovědi u samců a samic

Epidemiologické studie leishmanióz odhalily, že dospělí samci jsou infikováni častěji než samice, a že tento rozdíl je způsoben odlišným chováním i odlišnou funkcí imunitního systému. U prepubertálních dětí jsou chlapci více náchylní k onemocnění viscerální leishmaniózou ([www.who.int/leishmaniasis/](http://www.who.int/leishmaniasis/)). Typ a závažnost onemocnění, které se rozvine u vnímavých pacientů po bodnutí infikovaným hmyzem, samozřejmě nezávisí pouze na pohlaví hostitele. Mezi další, mnohdy důležitější, faktory patří počet promastigotů v infekčním inokulu, počet a místo bodnutí, stav imunity před infekcí, kmen *Leishmania* či genetické pozadí hostitele (Griffiths, 1987).

Byly pozorovány rozdíly ve vnímavosti k intravenózně unokulované *L. major* mezi myšimi samci a samicemi kmenů BALB/cAnPt, DBA/2N, DBA/2J a (BALBcAnPt x

DBA/2N)F1 hybridů. Ve všech případech měli samci signifikantně vyšší hladiny parazitů v játrech. Orchidektomie samců kmene BALB/c vedla k 20% poklesu hladiny parazitů v játrech. Podání testosteronu samicím kmene BALB/c vedlo k 88% nárůstu amastigotů v játrech (Mock & Nacy, 1988). Pohlavní rozdíly v infekci *L. major* byly popsány v pracích celé řady autorů (např. Alexander J., 1988; Alexander & Stimson, 1988; Giannini, M. S. H., 1986).

Fenotypický rozdíl v imunitní odpovědi na infekci *L. major* u myších samců a samic může být způsoben rozdílnou expresí genů, které modulují prozánětlivou Th1 odpověď, u jednotlivých pohlaví. U samců dochází ke zvýšené produkci IgG1, IgE, IL-5 a TNF $\alpha$ , zatímco samičí imunitní systém produkuje IFN $\gamma$  (Klein S. L., 2000).

Po prvním kontaktu s parazitem začínou imunitní buňky produkovat cytokiny, které nasměřují diferenciaci T-lymfocytů v různé podtypy (Th1, Th2, Th3, Th17, Treg). Výsledkem je buď cytotoxická reakce, nebo produkce protilátek B-lymfocyty. Osud infekce závisí na vzájemné kooperaci a rovnováze Th1 a Th2 typů a nespecifické imunity. Existence inbredních myších kmenů, které jsou buď rezistentní, nebo vnímavé k infekci, pomohla definovat protektivní a neprotektivní funkci imunitního systému. Genetické predispozice k vnímavosti či rezistenci k infekci *L. major* korelují s dominantní Th2 odpovědí navozenou působením IL-4, která způsobuje onemocnění, nebo Th1 odpovědí s dominancí IFN- $\gamma$  navozenou IL-12, která zabezpečuje vyléčení infekce a odstranění parazita (Sacks & Noben-Trauth, 2002).

Díky experimentům s *L. major* bylo charakterizováno Th1/Th2 paradigma rezistence a vnímavosti k této infekci. IFN- $\gamma$  a IL-4 byly identifikované jako regulátory Th1 a Th2 cytokinů navozujících rezistenci nebo vnímavost k infekci (Alexander & Bryson, 2005). Je dokázané, že protektivní imunita proti kožní leishmanióze, způsobované *L. major* nebo *L. amazonensis*, či proti viscerální leishmanióze, způsobované *L. donovani*, je závislá na nastolení silné Th1 imunitní odpovědi (Alexander et al., 1999).

## **7. SHRNU TÍ**

Cílem mé bakalářské práce bylo obecně shrnout dosud známé poznatky o vlivu pohlaví hostitele na intenzitu a průběh infekce. Jako modelový příklad jsem zvolila infekci *Leishmania major* u myši.

U velkého množství taxonů se projevují pohlavně vázané rozdíly v intenzitě a projevech parazitárních infekcí. Vnímavějším pohlavím jsou častěji samci, zatímco samice jsou vůči většině parazitárních infekcí rezistentnější.

Je otázkou, která z možných příčin tohoto jevu má rozhodující vliv. Určitě je to z části způsobeno odlišným chováním samců a samic mnoha druhů. Při svých každodenních činnostech mohou být např. samci více vystaveni určitým infekčním parazitům.

Dále to může být způsobeno odlišnou funkcí imunitního systému samců a samic. Samci zpravidla vykazují nižší imunitní odpovědi než samice. U samic je prokázána vyšší nespecifická odpověď, produkce protilátek i specifická buněčná odpověď.

Je důležité si uvědomit, že pokud se samci a samice liší v intenzitě a projevech infekce, mohou se lišit i v intenzitě odpovědi na aplikovanou léčbu. V případě, že imunitní systém jednotlivých pohlaví reaguje při setkání s patogenem odlišně, je možné, že bude odlišně reagovat i na podávané léky.



## **8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

Alexander J., Sex differences and cross-immunity in DBA/2 mice infected with *L. mexicana* and *L. major*. Parasitology 1988; 96: 297-302.

Alexander, J., Bryson, K.: T helper (h)1/Th2 and *Leishmania*: paradox rather than paradigm. Immunol Lett 2005; 99:17-23.

Alexander, J., Satoskar, A. R., Russell, D. G.: *Leishmania* species: models of intracellular parasitism. J Cell Science 1999; 112:2993-3002.

Belkaid, Y., Piccirillo, C. A., Mendez, S., Shevach, E. M., Sacks, D.L.: CD4+CD25+ regulatory T cells control *Leishmania major* persistence and immunity. Nature 2002; 420:502-507.

Brabin L., Brabin B. J.: Parasitic infections in women and their consequences. Adv. Parasitol. 1992; 31: 1-60

Da Silva J. A., Sex hormones, glucocorticoids and autoimmunity: facts and hypotheses. Ann Rheum Dis 1995; 54: 6-16.

D'Agostino P., Milano S., Barbera C., et al. Sex hormones modulate inflammatory mediators produced by macrophages. Ann N Y Acad Science 1999; 876: 426-429.

Giannini, M. S. H., Sex-influenced response in the pathogenesis of cutaneous leishmaniasis in mice. Parasite Immunology 1986, 8: 31-37.

Griffiths, W.A.D.: Old World cutaneous leishmaniasis. In: The Leishmaniases vol.II, Academic Press 1987, Inc., London, 617-636.

Chao T. C., Van Alten P. J., Greager J. A., Walter R. J., Steroid sex hormones regulate the release of tumor necrosis factor by macrophages. Cell Immunology 1995; 160: 43-49

Khansari D. N., Murgo A. J., Faith R. E.: Effects of stress on the immune system. *Immunology Today* 1990; 11: 170-175

Klein S. L., The effects of hormones on sex differences in infection: from genes to behavior. *Neuroscience Biobehavioral Review* 2000; 24: 627-638.

Klein S. L., Hormonal and immunological mechanisms mediating sex differences in parasite infection. *Parasite Immunology Review* 2004; 26: 247-264.

Leiby, D.A., Kanessa-athan, N., Scott, P., Nacy, C.A.: *Leishmaniasis*. In: *Parasitic infections and the immune system*, Academic Press, Inc., London, 1994; p. 87-118.

Lipoldová, M., Svobodová, M., Krulová, M., Havelková, H., Badalová, J., Nohýnková, E., Holáň, V., Hart, A.A., Volf, P., Demant, P. (2000): Susceptibility to *Leishmania major* infection in mice: multiple loci and heterogeneity of immunopathological phenotypes. *Genes Immun* 1:200-206.

Mitchell, G.F., Curtis, J.M., Scollay, R.G., Handman, E.: Resistance and abrogation of resistance to cutaneous leishmaniasis in reconstituted BALB/c nude mice. *Aust J Exp Biol Med Science* 1991; 59: 539-544.

Mock B. A. & Nacy C. A., Hormonal modulation of sex differences in resistance to *Leishmania major* systemic infections. *Infection Immunology* 1998; 56: 3316-3319.

Nelson R. J., Demas G. E.: Seasonal changes in immune function. *Q Review Biology* 1996; 71: 511-548.

Noben-Trauth, N., Sacks, D.: The immunology of susceptibility and resistance to *Leishmania major* in mice. *Nat Review Immunology* 2002; 2:845-858.

Peters, N., Sacks, D.: Immune privilege in sites of chronic infection: *Leishmania* and regulatory T cells. *Immunol Review* 1996; 213:159-179.

Poulin R.: Sexual inequalities in helminth infections: a cost of being a male? *Am Nat* 1996; 147: 287-295.

Reiner, S.L., Locksley, R.M.: The regulation of immunity to *Leishmania major*. *Annu Review Immunology* 1995; 13:151-177.

Reiner, S.L., Wang, Z.E., Hatam, F., Scott, P., Locksley, R.M.: Th1 and Th2 cell antigen receptors in experimental leishmaniasis. *Science* 1993; 259:1457-1460.

Roberts C. W., Walker W. & Alexander J., Sex-associated hormones and immunity to protozoan parasites. *Clinical Microbiological Review* 2001; 14: 476-488.

Roberts, L.S., Janovy, J., Jr.: Gerald D. Schmidt and Larry S. Roberts' Foundations of Parasitology, 6th ed. McGraw-Hill Publishers 2000, Dubuque, Iowa.

Satoskar A., Al-Quassbi H. H. & Alexander J., Sex-determined resistance against *Leishmania mexicana* is associated with the preferential induction of a Th1-like response and IFN-gamma production by female but not male DBA/2 mice. *Immunol Cell Biol* 1998; 76: 159-166.

Savita X. X., Rai U., Sex steroid hormones modulate the activation of murine peritoneal macrophages: receptor mediated modulation. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 1998; 119: 199-204.

Sorachi K. Kumagai S., Sugita M., Yodoi J. & Imura H., Enhancing effect of 17 beta-estradiol on human NK cell activity. *Immunological Letters* 1993; 36: 31-35.

Souza S. S., Castro F. A., Mendonca H. C., et al., Influence of menstrual cycle on NK activity. *Journal of Reproduction Immunology* 2001; 50: 151-159.

Spitzer J. A., Gender differences in some host defense mechanisms. *Lupus* 1999; 8: 380-383.

Walker W., Roberts C. W., Ferguson D. J., Jebbari H. & Alexander J., Innate immunity to *Toxoplasma gondii* is influenced by gender and is associated with differences in interleukin-12 and gamma interferon production. *Infect Immunology* 1997; 65: 1119-1121.

Wunderlich F., Marinovski P., Benten W. P., Schmitt-Wrede H. P. & Mossmann H., Testosterone and other gonadal factor(s) restrict the efficacy of genes controlling resistance to Plasmodium chabaudi malaria. Parasite Immunology 1991; 13: 357-367.

Zuk M. & McKean K. A., Sex differences in parasite infections: patterns and processes. Int Journal of Parasitology 1996; 26: 1009-1023.

Zuk M., Thornhill R., Ligon J. D., Johnson K.: Parasites nad mate choice in red jungle fowl. Am Zoology 1990; 30: 235-244.

[www.who.int/leishmaniasis/en](http://www.who.int/leishmaniasis/en)