

**ВЫЧИСЛИТЕЛЬНОЕ ПРОГНОЗИРОВАНИЕ
БЕЛОК-БЕЛКОВЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ
БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА LEISHMANIA MAJOR**

К.А. Кобзева

студентка 2 курса магистратуры направления подготовки
06.04.01 «Паразитология с основами биобезопасности»
Курский государственный университет
e-mail: kseniya.kobzeva.0246@gmail.com

Научный руководитель:

Н.С. Малышева

доктор биологических наук, профессор кафедры
биологии и экологии
Курский государственный университет
e-mail: malisheva64@mail.ru

Leishmania, возбудитель лейшманиоза, является внутриклеточным патогеном, который процветает в кишечнике насекомых и макрофагах человека, завершая свой жизненный цикл. Белки теплового шока (HSP) помогают клеткам в выполнении множества функций, включая дифференциацию, адаптацию, вирулентность и персистенцию в клетке-хозяине. Ингибирование HSP может привести к нарушению белок-белковых взаимодействий (PPI), включая PPI хозяина-паразита. Для функционального изучения HSP нами применялся спектр биоинформатических ресурсов и алгоритм SPRINT для PPI предсказаний. Было обнаружено, что белок LMJF_28_2770 образует значимые предсказанные взаимодействия, что может указывать на его ключевую роль в сети PPI. Одновременно, с наибольшей вероятностью данный белок может взаимодействовать с белками человека TMEM123 и ZNF326, связанными с клеточной смертью и иммунным ответом, соответственно.

Ключевые слова: *Leishmania major*, HSP, белки теплового шока, PPI, TMEM123, ZNF326, LMJF_28_2770.

Введение

Лейшманиоз – это тропическое заболевание, вызываемое в основном более чем 20 видами облигатного внутриклеточного патогена *Leishmania* [Burza et al. 2018]. Клинические проявления лейшманиоза варьируются от нелетального кожного лейшманиоза до опасного для жизни висцерального лейшманиоза. Ежегодно регистрируется до 0,4 миллиона случаев висцерального лейшманиоза и 1,2 миллиона случаев кожного лейшманиоза [Alvar et al. 2012]. Несмотря на десятилетия исследований, лечение этого заболевания по-прежнему остается сложной задачей для врачей. Ограниченные терапевтические возможности, серьезные побочные эффекты используемых в настоящее время противолейшманиозных

препаратов [Sundar, Chakravarty 2010; Sabra, Branch 1990], отсутствие вакцин [Srivastava et al. 2016], лекарственная устойчивость [Ponte-Sucre A. et al. 2017], неоптимальная диагностика [Sundar, Rai 2002], циклические эпидемиологические закономерности [Burza et al. 2018] и пробелы в знаниях о патогенезе заболевания продолжают препятствовать глобальному прогрессу в ограничении этого заболевания [Muniaraj 2014].

Несколько исследований показывают, что индукция белков теплового шока (HSP) у нескольких видов *Leishmania* необходима для их дифференциации на различных стадиях жизненного цикла и адаптации к высоким температурам [Lawrence, Robert-Gero 1985]. Экспрессия *HSP* необходима для выживания и пролиферации лейшманиальных клеток на обеих стадиях жизни. Она придает термоустойчивость, повышенную вирулентность и лучшую приспособляемость к неблагоприятным условиям хозяина [Hombach et al. 2013, 2014; Ommen et al. 2010]. Эти белки позволяют паразиту воспринимать внезапные изменения окружающей среды и реагировать, по крайней мере частично, посредством транскрипционной регуляции *HSP* [Lawrence, Robert-Gero 1985; Wiesgigl, Clos 2001].

Перенос *Leishmania* из средней кишки москита при температуре $\sim 26^{\circ}\text{C}$ в макрофаги млекопитающих при температуре $\sim 37^{\circ}\text{C}$ вызывает реакцию теплового шока в клетках, характеризующуюся повышением регуляции различных *HSP* для спасения клеток от стрессов окружающей среды, таких как высокая температура [Van der Ploeg et al. 1985]. У *Leishmania* *HSP*, такие как *HSP70*, *HSP83* и *HSP100*, экспрессируются конститутивно на обеих стадиях жизненного цикла. Однако, как только паразит попадает в макрофаги хозяина и начинает дифференцироваться в амастиготы, уровни транскрипции этих *HSP* повышаются [Brandau et al. 1995; Larreta et al. 2000; Rastrojo et al. 2019].

Благодаря существенной роли *HSP* практически на всех фазах роста клеток, эти белки привлекли значительное внимание как отличная цель для химиотерапевтических вмешательств при паразитарных заболеваниях, включая лейшманиоз [Pallavi et al. 2010]. Многочисленные исследования подчеркивают важность реакции на тепловой шок для выживания организма, изучая летальные осложнения, вызванные их подавлением или фармакологическим ингибированием [Batista et al. 2020; Palma et al. 2019; Petersen et al. 2012; Das et al. 2020]. Наблюдается недавняя тенденция повторного использования препаратов-ингибиторов *HSP*, ранее одобренных для лечения других заболеваний [Chen et al. 2018]. Тем не менее, для ускорения этих инициатив по открытию лекарств необходимы более глубокие знания о принципах работы механизмов теплового шока, связанных с уклонением от иммунного ответа, взаимодействием хозяина и патогена и прогрессированием заболевания в контексте лейшманиоза.

Таким образом, целью настоящего исследования стало изучение взаимодействия HSP *Leishmania major* с белками человека (хозяина). В данной работе мы проанализировали с помощью биоинформатического алгоритма белок-белковые взаимодействия (PPI) как между HSP *L. major*, так и их взаимодействие с дифференциально экспрессируемыми белками макрофагов человека на фоне инфекции *L. major*.

Материалы и методы

Поиск HSP *L. major* осуществлялся в базе данных Национального центра биотехнологической информации (National Center for Biotechnology Information, NCBI) [National Center for Biotechnology Information [http](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)]. Аминокислотные последовательности как HSP, так и белков человека были извлечены из UniProt [UniProt [http](http://www.uniprot.org/)].

Анализ белок-белковых взаимодействий HSP *L. major* выполнялся с помощью биоинформатического ресурса STRING [Szklarczyk et al. 2021]. Для идентификации их общего участия в различных биологических категориях, таких как биологические процессы и функции, а также клеточные компоненты, проводился функциональный анализ, включающий оценку кластеров STRING, биохимических путей KEGG, ключевых слова UniProt, доменов Pfam, а также аннотаций InterPro и SMART. Этот анализ позволил определить, какие функции, процессы или структуры значительно ассоциированы с HSP.

Для прогнозирования PPI использовался метод на основе последовательностей, SPRINT (Scoring PROtein INTeractions), который точнее современных методов, а также значительно быстрее. Алгоритм SPRINT построен на гипотезе, которая лежит в основе большинства подходов на базе последовательностей: пара белков, которые попарно похожи с парой взаимодействующих белков, имеет более высокую вероятность взаимодействия. Однако способ использования этой идеи сильно отличается. Схожие регионы определяются с использованием эффективного подхода с множественными т.н. «space-seeds», а затем обрабатываются для исключения элементов, которые встречаются слишком часто, чтобы участвовать во взаимодействиях. Наконец, для каждой пары белков вычисляется оценка (score), так что высокие оценки указывают на повышенную вероятность взаимодействия [Li, Pie 2017].

Визуализация полученных в SPRINT данных о PPI осуществлялась с помощью библиотек *igraph*, *ggraph*, *ggplot2*, *reshape2* в R.

Для анализа PPI между HSP *L. major* и белками человека были отобраны белки с повышенной дифференциальной экспрессией в макрофагах во время инфекции лейшманиозом на основе данных A. Diotallevi и коллег [Diotallevi et al. 2024].

Результаты

С помощью баз данных NCBI у *Leishmania major* было обнаружено 38 генов, кодирующих белки семейства HSP, в том числе восемь из семейства HSP70, два из HSP40, 19 изоформ белка теплового шока 83-1 и девять предполагаемых.

Далее с помощью биоинформатического ресурса STRING был проведен анализ белок-белковых взаимодействий (PPI) HSP *L. major* (см. рис. 1 ниже).

HSP *L. major* взаимодействуют друг с другом по механизмам генного соседства, слияния генов, совместной встречаемости генов, совместной экспрессии и гомологии за исключением LMJF_15_0090 (рис. 1).

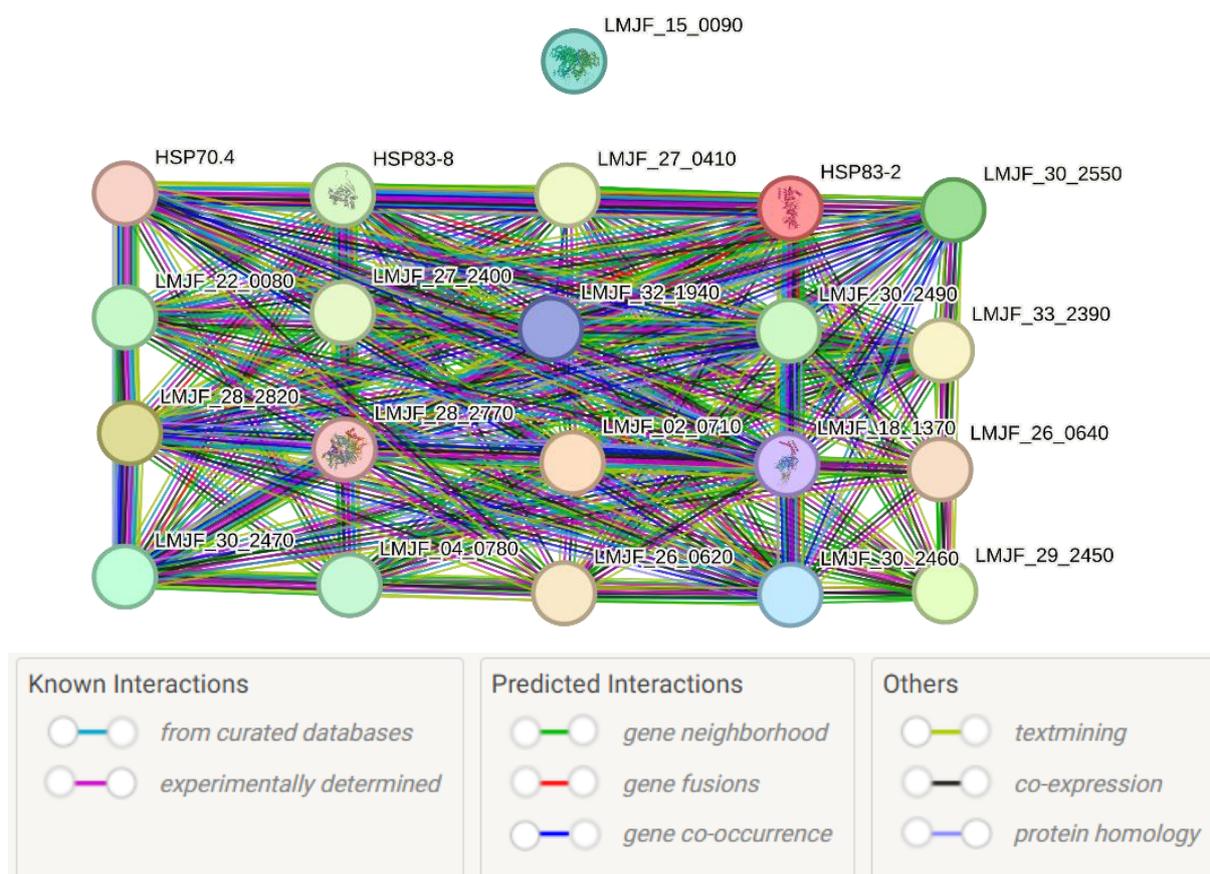


Рисунок 1 – Белок-белковые взаимодействия *L. major* (р-значение обогащения PPI <1,0e-16)

Затем для функционального аннотирования сети белков HSP *L. major* был проведен анализ обогащения с применением различных биоинформационных инструментов.

Помимо классических процессов и функций, характерных для HSP среди всех организмов (например, фолдинг белков (GO:0006457), связывание несвернутых белков (GO:0051082), АТФ-зависимое сворачивание белков (GO:0140662), стоит отметить, что основной локализацией HSP у *L. major* являются цитоплазма и митохондрии.

Особое внимание заслуживает участие HSP в биохимических путях KEGG. Так, HSP участвуют в процессинге белков в эндоплазматическом ретикулуме (lma04141) и деградации РНК (lma03018).

На следующем этапе исследования было оценено белок-белковое взаимодействие HSP *L. major* с помощью алгоритма SPRINT.

На рис. 2А представлена сеть PPI взаимодействий, отражающая силу предсказанных взаимодействий между анализируемыми белками. С наибольшей вероятностью оказались взаимодействующими следующие пары белков:

- HSP83-8×LMJF_28_2770 (Score = 4391.1),
- HSP83-2×LMJF_28_2770 (Score = 4386.93),
- LMJF_27_2400×LMJF_28_2770 (Score = 3761.43),
- LMJF_28_2770×LMJF_30_2550 (Score = 3567.6),
- LMJF_28_2770×LMJF_30_2470 (Score = 3554.81),
- LMJF_28_2770×LMJF_30_2490 (Score = 3544.5),
- LMJF_28_2770×LMJF_30_2460 (Score = 3528.58),
- LMJF_28_2770×LMJF_28_2820 (Score = 3016.24) (рис. 2Б).

Примечательно, что белок LMJF_28_2770 входит в состав наиболее значимых предсказанных взаимодействий, формируя кластеры белков, что может указывать на его ключевую роль в сети PPI (рис. 2Б).

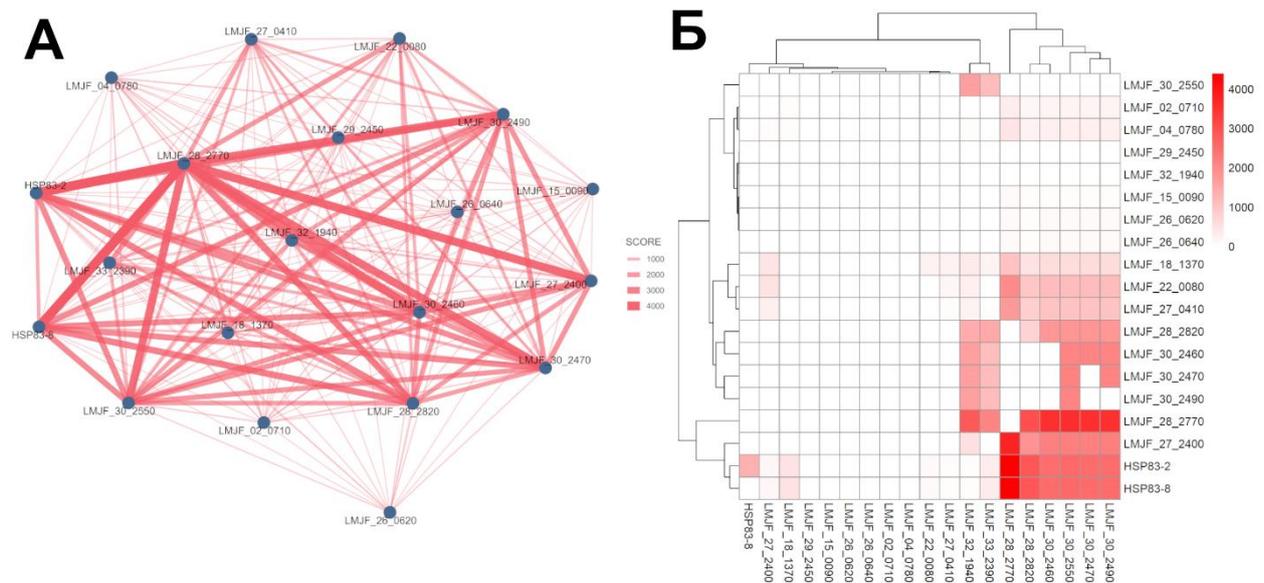


Рисунок 2 – Анализ белок-белковых взаимодействий HSP *L. major*.
 А – сеть предсказанных белок-белковых взаимодействий HSP *L. major* (толщина линии соответствует весу взаимодействия);
 Б – тепловая карта предсказанных взаимодействий (PPI), где интенсивность цвета отражает их вес (Score)

Далее нам представлялось интересным оценить взаимодействие HSP *L. major* с белками, дифференциально экспрессируемыми в макрофагах человека при инфицировании данным паразитом (рис. 3 ниже).

Обнаружено, что среди белков с повышенной экспрессией, ZNF326 и TMEM123 формировали пары с наибольшей вероятностью взаимодействия с паразитарными HSP:

- ZNF326×HSP70.4 (Score = 51.2403),

ZNF326×LMJF_28_2770 (Score = 51.1582),
 ZNF326×LMJF_28_2820 (Score = 42.6168),
 TMEM123×HSP70.4 (Score = 27.4347),
 TMEM123×LMJF_28_2770 (Score = 27.3933) (рис. 3А и Б).

Поразительно, что в наиболее вероятные модели белок-белковых взаимодействий также вошел белок LMJF_28_2770.

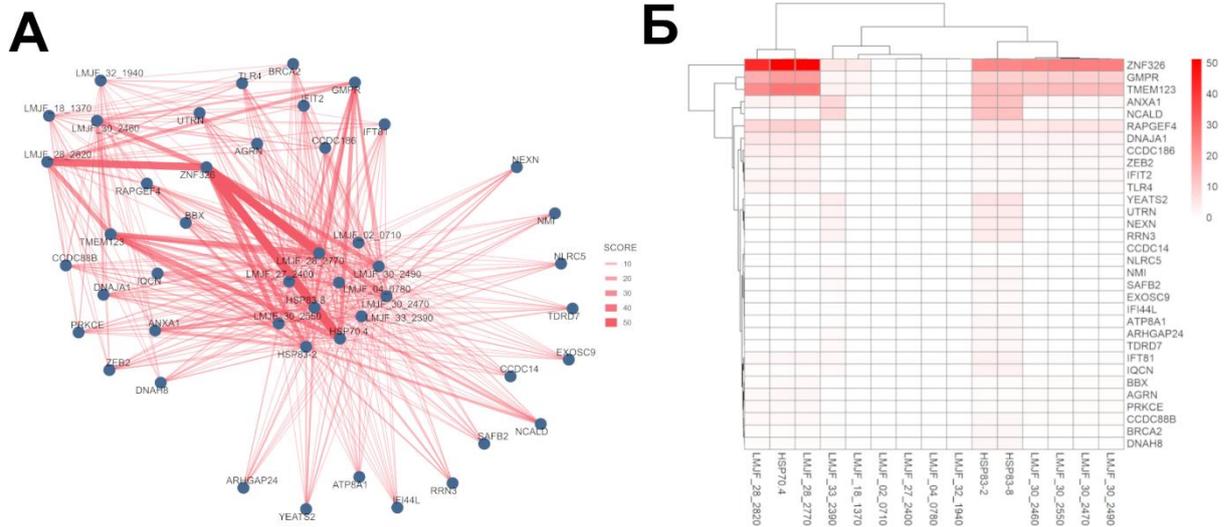


Рисунок 3 – Анализ белок-белковых взаимодействий HSP *L. major* с дифференциально экспрессируемыми белками в макрофагах человека:

- А – сеть предсказанных белок-белковых взаимодействий (толщина линии соответствует весу взаимодействия);
- Б – тепловая карта предсказанных взаимодействий (PPI), где интенсивность цвета отражает их вес (Score)

Обсуждение

В данном исследовании был проведен комплексный биоинформационный анализ белок-белковых взаимодействий белков теплового шока внутриклеточного паразита *L. major*, в том числе анализ взаимодействия белков паразита с дифференциально экспрессируемыми белками макрофагов человека во время инфекции. Нами впервые установлено, что LMJF_28_2770 (белок, относящийся к семейству HSP70) обладает наиболее потенциально существенной функциональной значимостью.

Известно, что в *Leishmania* существует несколько изоформ HSP70; например, ER-резидентная изоформа Grp78, митохондриальная изоформа Grp75 и три уникальных варианта HSP70 (HSP70.4, HSP70.b и HSP70.c), которые отсутствуют у людей [Daugaard et al. 2007; Requena et al. 2015]. Все эти изоформы конститутивно экспрессируются [Brandau et al. 1995]. HSP70 повышается у промастигот при инфицировании макрофагов хозяина, что указывает на важную роль белка во взаимодействии хозяина-патогена и дифференциации паразита [Sousa et al. 2018]. Однако специфичную роль LMJF_28_2770 до сих пор не изучалась.

Здесь мы обнаружили, что он может взаимодействовать с белками человека ZNF326 и TMEM123. Известно, что ZNF326 (Zinc-finger protein-326) является транскрипционным фактором, ключевой медиатор ДНК стресс репликации-зависимой индукции генов, стимулируемых интерфероном [Hoang et al. 2024]. Более того, ZNF326 активирует сигнальный путь Wnt [Yu et al. 2019], который играет важную роль в регуляции иммунного ответа [Schaale et al. 2011]. В то же время, *TMEM123* (Transmembrane Protein 123) кодирует высокогликозилированный трансмембранный белок. Связывание этого белка рецептором на поверхности клетки и вызывает тип клеточной смерти, называемый онкозом. Онкоз отличается от апоптоза и характеризуется потерей целостности клеточной мембраны без фрагментации ДНК.

Данные показывают, что у *L. major* HSP70 и HSP83 могут инактивировать апоптотический путь, который обычно активируется такими препаратами, как сурьма у паразита [Brochu et al. 2004]. Поскольку индукция апоптоза является распространенным механизмом смерти, на который влияет большинство противолейшманиозных препаратов [Kampinga, Craig 2010; Kim et al. 1999], индукция HSP может привести либо к подавлению апоптоза, либо к нарушению активности проапоптотических белков [Vergnes et al. 2007].

Таким образом, можно предположить, что LMJF_28_2770 может инактивировать клеточную смерть макрофагов посредством взаимодействия TMEM123 и ингибировать иммунный ответ, подавляя ZNF326. Для подтверждения этих гипотез необходимы дальнейшие исследования.

Библиографический список

Burza S., Croft S.L., Boelaert M. Leishmaniasis // The Lancet. Elsevier, 2018. Vol. 392, № 10151. P. 951–970.

Alvar J. et al. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence // PLOS ONE. Public Library of Science, 2012. Vol. 7, № 5. P. e35671.

Sundar S., Chakravarty J. Liposomal Amphotericin B and Leishmaniasis: Dose and Response // Journal of Global Infectious Diseases. 2010. Vol. 2, № 2. P. 159.

Sabra R., Branch R.A. Amphotericin B Nephrotoxicity // Drug-Safety. 1990. Vol. 5, № 2. P. 94–108.

Srivastava S. et al. Possibilities and challenges for developing a successful vaccine for leishmaniasis // Parasites & Vectors. 2016. Vol. 9, № 1. P. 277.

Ponte-Sucre A. et al. Drug resistance and treatment failure in leishmaniasis: A 21st century challenge // PLOS Neglected Tropical Diseases. Public Library of Science, 2017. Vol. 11, № 12. P. e0006052.

Sundar S., Rai M. Laboratory Diagnosis of Visceral Leishmaniasis // Clinical and Vaccine Immunology. American Society for Microbiology, 2002.

Muniaraj M. The lost hope of elimination of Kala-azar (visceral leishmaniasis) by 2010 and cyclic occurrence of its outbreak in India, blame falls on vector control practices or co-infection with human immunodeficiency virus or therapeutic modalities? // Trop Parasitol. 2014. Vol. 4, № 1. P. 10–19.

Lawrence F., Robert-Gero M. Induction of heat shock and stress proteins in promastigotes of three Leishmania species // Proc Natl Acad Sci U S A. 1985. Vol. 82, № 13. P. 4414–4417.

Hombach A. et al. A small heat shock protein is essential for thermotolerance and intracellular survival of Leishmania donovani // J Cell Sci. 2014. Vol. 127, № Pt 21. P. 4762–4773.

Hombach A. et al. The Hsp90–Sti1 interaction is critical for Leishmania donovani proliferation in both life cycle stages // Cellular Microbiology. 2013. Vol. 15, № 4. P. 585–600.

Ommen G., Chrobak M., Clos J. The co-chaperone SGT of Leishmania donovani is essential for the parasite's viability // Cell Stress Chaperones. 2010. Vol. 15, № 4. P. 443–455.

Wiesgigl M., Clos J. Heat shock protein 90 homeostasis controls stage differentiation in Leishmania donovani // Mol Biol Cell. 2001. Vol. 12, № 11. P. 3307–3316.

Van der Ploeg L.H., Giannini S.H., Cantor C.R. Heat shock genes: regulatory role for differentiation in parasitic protozoa // Science. 1985. Vol. 228, № 4706. P. 1443–1446.

Brandau S., Dresel A., Clos J. High constitutive levels of heat-shock proteins in human-pathogenic parasites of the genus Leishmania // Biochem J. 1995. Vol. 310 (Pt 1), № Pt 1. P. 225–232.

Larreta R. et al. Leishmania infantum: Gene Cloning of the GRP94 Homologue, Its Expression as Recombinant Protein, and Analysis of Antigenicity // Experimental Parasitology. 2000. Vol. 96, № 2. P. 108–115.

Rastrojo A. et al. Analysis by RNA-seq of transcriptomic changes elicited by heat shock in Leishmania major // Sci Rep. 2019. Vol. 9, № 1. P. 6919.

Pallavi R. et al. Heat shock protein 90 as a drug target against protozoan infections: biochemical characterization of HSP90 from Plasmodium falciparum and Trypanosoma evansi and evaluation of its inhibitor as a candidate drug // J Biol Chem. 2010. Vol. 285, № 49. P. 37964–37975.

Batista F.A.H. et al. Discovery of small molecule inhibitors of *Leishmania braziliensis* Hsp90 chaperone // *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2020. Vol. 35, № 1. P. 639–649.

Palma L.C. et al. A docking-based structural analysis of geldanamycin-derived inhibitor binding to human or *Leishmania* Hsp90 // *Sci Rep.* 2019. Vol. 9, № 1. P. 14756.

Petersen A.L. de O.A. et al. 17-AAG kills intracellular *Leishmania amazonensis* while reducing inflammatory responses in infected macrophages // *PLoS One.* 2012. Vol. 7, № 11. P. e49496.

Das S. et al. A chemical inhibitor of heat shock protein 78 (HSP78) from *Leishmania donovani* represents a potential antileishmanial drug candidate // *J Biol Chem.* 2020. Vol. 295, № 29. P. 9934–9947.

Chen Y. et al. Repurposing drugs to target the malaria parasite unfolding protein response // *Sci Rep.* Nature Publishing Group, 2018. Vol. 8, № 1. P. 10333.

National Center for Biotechnology Information [Electronic resource]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (accessed: 22.03.2025).

UniProt [Electronic resource] // UniProt. 2025. URL: <https://www.uniprot.org> (accessed: 22.03.2025).

Szklarczyk D. et al. The STRING database in 2021: customizable protein–protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets // *Nucleic Acids Research.* 2021. Vol. 49, № D1. P. D605–D612.

Li Y., Ilie L. SPRINT: ultrafast protein-protein interaction prediction of the entire human interactome // *BMC Bioinformatics.* 2017. Vol. 18, № 1. P. 485.

Diotallevi A. et al. Transcriptional signatures in human macrophage-like cells infected by *Leishmania infantum*, *Leishmania major* and *Leishmania tropica* // *PLOS Neglected Tropical Diseases.* Public Library of Science, 2024. Vol. 18, № 4. P. e0012085.

Daugaard M., Rohde M., Jäättelä M. The heat shock protein 70 family: Highly homologous proteins with overlapping and distinct functions // *FEBS Letters.* 2007. Vol. 581, № 19. P. 3702–3710.

Requena J.M., Montalvo A.M., Fraga J. Molecular Chaperones of *Leishmania*: Central Players in Many Stress-Related and -Unrelated Physiological Processes // *BioMed Research International.* 2015. Vol. 2015, № 1. P. 301326.

Sousa R. et al. Early Suppression of Macrophage Gene Expression by *Leishmania braziliensis* // *Front. Microbiol.* Frontiers, 2018. Vol. 9.

Hoang P.M. et al. A PRMT5-ZNF326 axis mediates innate immune activation upon replication stress // Science Advances. American Association for the Advancement of Science, 2024.

Yu X. et al. ZNF326 promotes malignant phenotype of glioma by up-regulating HDAC7 expression and activating Wnt pathway // J Exp Clin Cancer Res. 2019. Vol. 38, № 1. P. 40.

Schaale K. et al. Wnt signaling in macrophages: Augmenting and inhibiting mycobacteria-induced inflammatory responses // European Journal of Cell Biology. 2011. Vol. 90, № 6. P. 553–559.

Brochu C., Haimeur A., Ouellette M. The heat shock protein HSP70 and heat shock cognate protein HSC70 contribute to antimony tolerance in the protozoan parasite leishmania // Cell Stress Chaperones. 2004. Vol. 9, № 3. P. 294–303.

Kampinga H.H., Craig E.A. The HSP70 chaperone machinery: J proteins as drivers of functional specificity // Nat Rev Mol Cell Biol. Nature Publishing Group, 2010. Vol. 11, № 8. P. 579–592.

Kim H.R. et al. Geldanamycin Induces Cell Cycle Arrest in K562 Erythroleukemic Cells // IUBMB Life. 1999. Vol. 48, № 4. P. 425–428.

Vergnes B. et al. A Proteomics Screen Implicates HSP83 and a Small Kinetoplastid Calpain-related Protein in Drug Resistance in *Leishmania donovani* Clinical Field Isolates by Modulating Drug-induced Programmed Cell Death * // Molecular & Cellular Proteomics. Elsevier, 2007. Vol. 6, № 1. P. 88–101.

COMPUTATIONAL PREDICTION OF PROTEIN-PROTEIN INTERACTIONS OF LEISHMANIA MAJOR HEAT SHOCK PROTEINS

K.A. Kobzeva

2nd year graduate student in 06.04.01
“Parasitology with the Basics of Biosafety”
Kursk State University
e-mail: kсениya.kobzeva.0246@gmail.com

Scientific supervisor:

N. S. Malysheva

Doctor of Biological Sciences, Professor
at the Department of Biology and Ecology
Kursk State University
e-mail: malisheva64@mail.ru

Leishmania, the causative agent of leishmaniasis, is an intracellular pathogen that thrives in the insect gut and human macrophages to complete its life cycle. Heat shock proteins (HSPs) assist cells in multiple functions, including differentiation, adaptation, virulence, and persistence in the host cell. Inhibition of HSPs can disrupt protein-protein interactions (PPIs), including host-parasite PPIs. We utilized a range of bioinformatics resources and the SPRINT algorithm for PPI predictions to functionally study HSPs. LMJF_28_2770 was found to form significant predicted interactions, which may indicate its key role in the PPI network. At the same time, this protein was most likely to interact with human proteins TMEM123 and ZNF326, which are associated with cell death and immune response, respectively.

Key words: *Leishmania major*, HSP, heat shock proteins, PPI, TMEM123, ZNF326, LMJF_28_2770.

References

Burza S., Croft S.L., Boelaert M. Leishmaniasis // The Lancet. Elsevier, 2018. Vol. 392, № 10151. P. 951–970.

Alvar J. et al. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence // PLOS ONE. Public Library of Science, 2012. Vol. 7, № 5. P. e35671.

Sundar S., Chakravarty J. Liposomal Amphotericin B and Leishmaniasis: Dose and Response // Journal of Global Infectious Diseases. 2010. Vol. 2, № 2. P. 159.

Sabra R., Branch R.A. Amphotericin B Nephrotoxicity // Drug-Safety. 1990. Vol. 5, № 2. P. 94–108.

Srivastava S. et al. Possibilities and challenges for developing a successful vaccine for leishmaniasis // Parasites & Vectors. 2016. Vol. 9, № 1. P. 277.

Ponte-Sucre A. et al. Drug resistance and treatment failure in leishmaniasis: A 21st century challenge // PLOS Neglected Tropical Diseases. Public Library of Science, 2017. Vol. 11, № 12. P. e0006052.

Sundar S., Rai M. Laboratory Diagnosis of Visceral Leishmaniasis // Clinical and Vaccine Immunology. American Society for Microbiology, 2002.

Muniaraj M. The lost hope of elimination of Kala-azar (visceral leishmaniasis) by 2010 and cyclic occurrence of its outbreak in India, blame falls on vector control practices or co-infection with human immunodeficiency virus or therapeutic modalities? // Trop Parasitol. 2014. Vol. 4, № 1. P. 10–19.

Lawrence F., Robert-Gero M. Induction of heat shock and stress proteins in promastigotes of three Leishmania species // Proc Natl Acad Sci U S A. 1985. Vol. 82, № 13. P. 4414–4417.

Hombach A. et al. A small heat shock protein is essential for thermotolerance and intracellular survival of Leishmania donovani // J Cell Sci. 2014. Vol. 127, № Pt 21. P. 4762–4773.

Hombach A. et al. The Hsp90–Sti1 interaction is critical for Leishmania donovani proliferation in both life cycle stages // Cellular Microbiology. 2013. Vol. 15, № 4. P. 585–600.

Ommen G., Chrobak M., Clos J. The co-chaperone SGT of Leishmania donovani is essential for the parasite's viability // Cell Stress Chaperones. 2010. Vol. 15, № 4. P. 443–455.

Wiesgigl M., Clos J. Heat shock protein 90 homeostasis controls stage differentiation in Leishmania donovani // Mol Biol Cell. 2001. Vol. 12, № 11. P. 3307–3316.

Van der Ploeg L.H., Giannini S.H., Cantor C.R. Heat shock genes: regulatory role for differentiation in parasitic protozoa // Science. 1985. Vol. 228, № 4706. P. 1443–1446.

Brandau S., Dresel A., Clos J. High constitutive levels of heat-shock proteins in human-pathogenic parasites of the genus Leishmania // Biochem J. 1995. Vol. 310 (Pt 1), № Pt 1. P. 225–232.

Larreta R. et al. Leishmania infantum: Gene Cloning of the GRP94 Homologue, Its Expression as Recombinant Protein, and Analysis of Antigenicity // Experimental Parasitology. 2000. Vol. 96, № 2. P. 108–115.

Rastrojo A. et al. Analysis by RNA-seq of transcriptomic changes elicited by heat shock in Leishmania major // Sci Rep. 2019. Vol. 9, № 1. P. 6919.

Pallavi R. et al. Heat shock protein 90 as a drug target against protozoan infections: biochemical characterization of HSP90 from Plasmodium falciparum and Trypanosoma evansi and evaluation of its inhibitor as a candidate drug // J Biol Chem. 2010. Vol. 285, № 49. P. 37964–37975.

Batista F.A.H. et al. Discovery of small molecule inhibitors of *Leishmania braziliensis* Hsp90 chaperone // *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2020. Vol. 35, № 1. P. 639–649.

Palma L.C. et al. A docking-based structural analysis of geldanamycin-derived inhibitor binding to human or *Leishmania* Hsp90 // *Sci Rep.* 2019. Vol. 9, № 1. P. 14756.

Petersen A.L. de O.A. et al. 17-AAG kills intracellular *Leishmania amazonensis* while reducing inflammatory responses in infected macrophages // *PLoS One.* 2012. Vol. 7, № 11. P. e49496.

Das S. et al. A chemical inhibitor of heat shock protein 78 (HSP78) from *Leishmania donovani* represents a potential antileishmanial drug candidate // *J Biol Chem.* 2020. Vol. 295, № 29. P. 9934–9947.

Chen Y. et al. Repurposing drugs to target the malaria parasite unfolding protein response // *Sci Rep.* Nature Publishing Group, 2018. Vol. 8, № 1. P. 10333.

National Center for Biotechnology Information [Electronic resource]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (accessed: 22.03.2025).

UniProt [Electronic resource] // UniProt. 2025. URL: <https://www.uniprot.org> (accessed: 22.03.2025).

Szklarczyk D. et al. The STRING database in 2021: customizable protein–protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets // *Nucleic Acids Research.* 2021. Vol. 49, № D1. P. D605–D612.

Li Y., Ilie L. SPRINT: ultrafast protein-protein interaction prediction of the entire human interactome // *BMC Bioinformatics.* 2017. Vol. 18, № 1. P. 485.

Diotallevi A. et al. Transcriptional signatures in human macrophage-like cells infected by *Leishmania infantum*, *Leishmania major* and *Leishmania tropica* // *PLOS Neglected Tropical Diseases.* Public Library of Science, 2024. Vol. 18, № 4. P. e0012085.

Daugaard M., Rohde M., Jäättelä M. The heat shock protein 70 family: Highly homologous proteins with overlapping and distinct functions // *FEBS Letters.* 2007. Vol. 581, № 19. P. 3702–3710.

Requena J.M., Montalvo A.M., Fraga J. Molecular Chaperones of *Leishmania*: Central Players in Many Stress-Related and -Unrelated Physiological Processes // *BioMed Research International.* 2015. Vol. 2015, № 1. P. 301326.

Sousa R. et al. Early Suppression of Macrophage Gene Expression by *Leishmania braziliensis* // *Front. Microbiol.* Frontiers, 2018. Vol. 9.

Hoang P.M. et al. A PRMT5-ZNF326 axis mediates innate immune activation upon replication stress // Science Advances. American Association for the Advancement of Science, 2024.

Yu X. et al. ZNF326 promotes malignant phenotype of glioma by up-regulating HDAC7 expression and activating Wnt pathway // J Exp Clin Cancer Res. 2019. Vol. 38, № 1. P. 40.

Schaale K. et al. Wnt signaling in macrophages: Augmenting and inhibiting mycobacteria-induced inflammatory responses // European Journal of Cell Biology. 2011. Vol. 90, № 6. P. 553–559.

Brochu C., Haimeur A., Ouellette M. The heat shock protein HSP70 and heat shock cognate protein HSC70 contribute to antimony tolerance in the protozoan parasite leishmania // Cell Stress Chaperones. 2004. Vol. 9, № 3. P. 294–303.

Kampinga H.H., Craig E.A. The HSP70 chaperone machinery: J proteins as drivers of functional specificity // Nat Rev Mol Cell Biol. Nature Publishing Group, 2010. Vol. 11, № 8. P. 579–592.

Kim H.R. et al. Geldanamycin Induces Cell Cycle Arrest in K562 Erythroleukemic Cells // IUBMB Life. 1999. Vol. 48, № 4. P. 425–428.

Vergnes B. et al. A Proteomics Screen Implicates HSP83 and a Small Kinetoplastid Calpain-related Protein in Drug Resistance in *Leishmania donovani* Clinical Field Isolates by Modulating Drug-induced Programmed Cell Death * // Molecular & Cellular Proteomics. Elsevier, 2007. Vol. 6, № 1. P. 88–101.