

MASTERARBEIT | MASTER'S THESIS

Titel | Title

Die Rolle der leishmanialen Peptidasen in der Pathogenität

verfasst von | submitted by

Bahar Kyazim BSc

angestrebter akademischer Grad | in partial fulfilment of the requirements for the degree of

Magistra pharmaciae (Mag. pharm.)

Wien | Vienna, 2024

Studienkennzahl lt. Studienblatt |
Degree programme code as it appears on the
student record sheet:

UA 066 605

Studienrichtung lt. Studienblatt | Degree
programme as it appears on the student record
sheet:

Masterstudium Pharmazie

Betreut von | Supervisor:

ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Christian Studenik

Mitbetreut von | Co-Supervisor:

Dr. Mohammed Aufy

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinen Dank an all jene aussprechen, die mich während der Erstellung meiner Masterarbeit motiviert und unterstützt haben.

Zunächst möchte ich Ao. Univ.-Prof. Dr. Christian Studenik danken, der meine Arbeit betreut und begutachtet hat.

Ich bedanke mich ebenfalls bei Dr. Mohammed Aufy für seine langfristige Unterstützung von Anfang bis Ende.

Ein besonderer Dank gebührt meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, die mich während meines gesamten Studiums unterstützt und ermutigt haben, sowohl moralisch als auch finanziell.

Ein herzliches Dankeschön geht auch an meine liebe Schwester Ayten Bompard, die immer an mich geglaubt hat und mich in guten Zeiten unterstützt sowie in schwierigen Zeiten wieder aufgebaut hat.

Ich möchte auch Adrien Bompard von Herzen für seine kontinuierliche Korrekturarbeit und bedingungslose Hilfsbereitschaft danken.

Ebenso möchte ich meinem treuen, liebevollen und geduldigen Verlobten Georgi Totev danken, der mich in meinem Leben und Schaffen inspiriert hat.

Abschließend ein großes Danke an meine besten Freunde!

Abstract

Leishmaniasis is one of the most assorted and intricate of all vectors borne diseases caused by the genus *Leishmania*. Survival of *Leishmania* parasites inside the mammalian host needs a set of virulence factors, among them, *Leishmania* peptidases have paramount importance. Leishmanial peptidases are enzymes produced by *Leishmania* parasites and play an important role in the pathogenicity of these parasites. These peptidases help the parasites to multiply in the host cells and evade the host's immune system. They can also help the parasites to survive in the cells and protect themselves from attack by the immune system. Through various studies, a number of metalloproteases and cysteine proteases have been implicated as major components in host invasion by modulating host cell signaling for the establishment and continuation of infection by *Leishmania*. But the roles of serine proteases in leishmaniasis have not been investigated in full extend.

Zusammenfassung

Die Leishmaniose ist eine der vielfältigsten und kompliziertesten aller durch Vektoren übertragenen Krankheiten, die von der Gattung *Leishmania* verursacht werden. Das Überleben der *Leishmania*-Parasiten im Säugetierwirt erfordert eine Reihe von Virulenzfaktoren, von denen die *Leishmania*-Peptidasen eine herausragende Bedeutung haben. Leishmaniale Peptidasen sind Enzyme, die von *Leishmania*-Parasiten produziert werden und eine wichtige Rolle in der Pathogenität dieser Parasiten spielen. Diese Peptidasen helfen den Parasiten, sich in den Wirtszellen zu vermehren und das Immunsystem des Wirts zu umgehen. Sie können auch dazu beitragen, dass die Parasiten in den Zellen überleben und sich vor dem Angriff des Immunsystems schützen. Daher wird die Untersuchung von Proteasen in Leishmanien als wertvoller Ansatz vorgeschlagen, um unser Wissen über die Wirt-Parasit-Interaktion zu erweitern. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass eine Reihe von Metalloproteasen und Cysteinproteasen eine wichtige Rolle bei der Invasion des Wirts spielen, indem sie die Wirtszellsignale für die Etablierung und Fortführung der Infektion durch Leishmanien modulieren. Die Rolle der Serinproteasen bei der Leishmaniose ist jedoch noch nicht ausreichend untersucht worden.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
1.1. <i>Epidemiologie und Inzidenz.....</i>	2
2. Klinische Formen.....	5
2.1. <i>Kutane Leishmaniose</i>	5
2.2. <i>Diffuse kutane Leishmaniose</i>	6
2.3. <i>Mukokutane Leishmaniose</i>	6
2.4. <i>Viszerale Leishmaniose</i>	6
2.4.1. <i>Viszerale Leishmaniose / HIV Koinfektion.....</i>	7
2.5. <i>Post Kala-Azar Leishmaniose</i>	8
3. Übertragungsformen	10
4. Pathogenese	11
4.1. <i>Lebenszyklus der Leishmanien</i>	12
4.2. <i>Phosphatasen und ihre Rolle</i>	13
4.3. <i>Immunantwort und beteiligte Zellen.....</i>	15
4.4. <i>Virulenzfaktoren</i>	16
5. Die Rolle der Peptidasen	17
5.1. <i>Cysteinpeptidasen</i>	19
5.1.1. <i>Struktur von Cysteinpeptidasen</i>	19
5.1.2. <i>Funktion von Cysteinpeptidasen</i>	21
5.2. <i>Zink - Metalloprotease (GP63)</i>	23
5.2.1. <i>Struktur von GP63.....</i>	24
5.2.2. <i>Funktion von GP63</i>	24
5.3. <i>Serinpeptidasen.....</i>	26
5.3.1. <i>Struktur von Serinpeptidasen.....</i>	27
5.3.2. <i>Funktion von Serinpeptidasen.....</i>	27
5.3.3. <i>Serinpeptidaseninhibitoren (ISP).....</i>	29
6. Strategie zur Medikamententwicklung	31
7. Conclusio:	32
8. Literaturverzeichnis	33
9. Abbildungsverzeichnis.....	49

10.	Tabellenverzeichnis.....	49
11.	Abkürzungsverzeichnis.....	50

1. Einleitung

Die Leishmaniose ist weltweit ein wiederkehrendes Problem der öffentlichen Gesundheit, da die Endemie zunimmt und schätzungsweise 350 Millionen Menschen einem Risiko ausgesetzt sind (Oliveira et al., 2009). Hierbei handelt es sich um eine Gruppe von zoonotischen Infektionen, die durch protozoische Parasiten der Gattung *Leishmania* verursacht werden. Je nach Virulenz oder Tropismus des Parasiten und je nach Immunantwort des Wirtes wird eine Vielzahl unterschiedlicher Krankheitsbilder hervorgerufen (Magill, 1995).

Mehr als 90 Sandmückenarten sind als Überträger von *Leishmania*-Parasiten bekannt, die in der Alten Welt zur Gattung *Phlebotomus* und in der Neuen Welt zur Gattung *Lutzomyia* gehören. Die üblichen Reservoirwirte sind Menschen, Haustiere oder Wildtiere. Die meisten Formen sind zoonotisch, wobei der Mensch nur sekundär infiziert wird, aber bei den anthroponotischen Formen ist der Mensch vermutlich das einzige Reservoir. Die Krankheit wird durch Protozoen hervorgerufen, die durch den Stich weiblicher Sandmücken übertragen werden. Weibliche Sandmücken infizieren sich, indem sie sich von den Reservoirwirten ernähren (Mishra et al., 2021), (Desjeux, 1996). An der Bissstelle setzen Sandmücken eine Reihe pharmakologischer, immunmodulatorischer und immunogener Moleküle frei, die unmittelbare und langanhaltende Auswirkungen auf den Wirt haben (Desjeux, 1996), (Oliveira et al., 2009). Eine wichtige Rolle bei der Krankheitsübertragung spielen die Wechselwirkungen zwischen Vektor und Parasit (Omondi et al., 2022).

Die Früherkennung von Fällen, gefolgt von einer angemessenen Behandlung, ist der Schlüssel zur Kontrolle der Krankheit. Dadurch kann die Prognose verbessert und die Übertragung reduziert werden (Elmahallawy & Alkhaldi, 2021). Effektive medizinische Versorgung, Kontrolle der Vektoren, Umwelthygiene und persönlicher Schutz bilden die Grundpfeiler der aktuellen Präventionsmaßnahmen und Kontrollmaßnahmen (Awoke et al., 2024). Da die Leishmaniose weltweit die zweithäufigste durch Parasiten verursachte Todesursache ist und die verfügbaren Medikamente toxisch oder teuer sind, sind Studien zur Entwicklung von Medikamenten zur Behandlung der Leishmaniose besonders wichtig (Sreedharan & Rao, 2023).

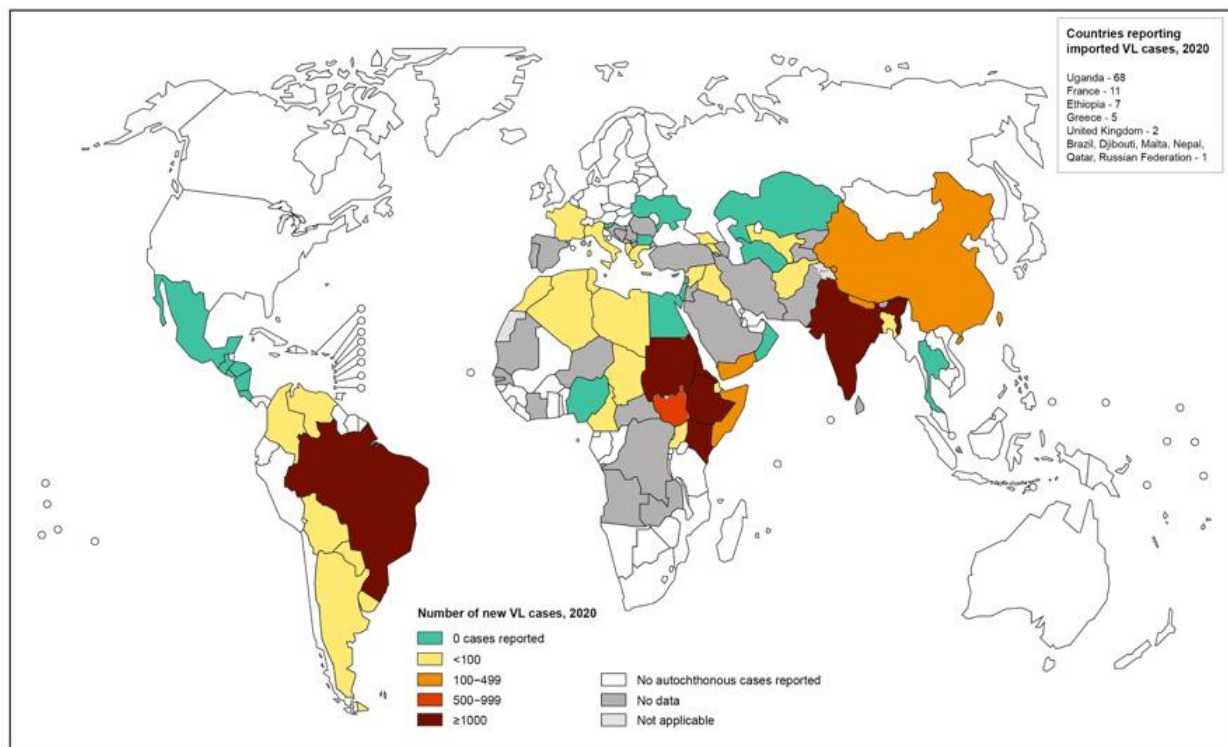
1.1. Epidemiologie und Inzidenz

Die Krankheit betrifft einige der ärmsten Menschen der Welt und steht im Zusammenhang mit Unterernährung, Umsiedlung, schlechten Wohnverhältnissen, einem geschwächten Immunsystem und fehlenden finanziellen Mitteln. Die Zahl der jährlichen Neuerkrankungen wird auf 700 000 bis 1 Million geschätzt (WHO, 2023)

Leishmaniosen sind in großen Gebieten der Tropen, Subtropen und des Mittelmeerraums in mehr als 98 Ländern endemisch. Es gibt ca. 350 Millionen gefährdete Menschen und rund 12 Millionen Fälle, mit einer geschätzten jährlichen weltweiten Inzidenz von 0,7-1,2 Millionen Fällen kutaner Leishmaniose (CL) und 0,2-0,4 Millionen Fällen viszeraler Leishmaniose (VL) (Alvar et al., 2012).

Klimaveränderungen sowie andere Umweltveränderungen haben das Potenzial, das geografische Verbreitungsgebiet der Sandfliegenvektoren und die Gebiete, in denen die Leishmaniose auftritt, zu vergrößern. In der Alten Welt (der östlichen Hemisphäre) kommt die Leishmaniose in einigen Teilen Asiens, des Nahen Ostens, Afrikas und Südeuropas vor, lediglich in Australien und auf den pazifischen Inseln kommt sie nicht vor. In der Neuen Welt (der westlichen Hemisphäre) kommt sie in einigen Teilen Mexikos, Mittelamerikas und Südamerikas vor (CDC, 2020).

Status of endemicity of cutaneous leishmaniasis worldwide, 2020



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement. © WHO 2021. All rights reserved.

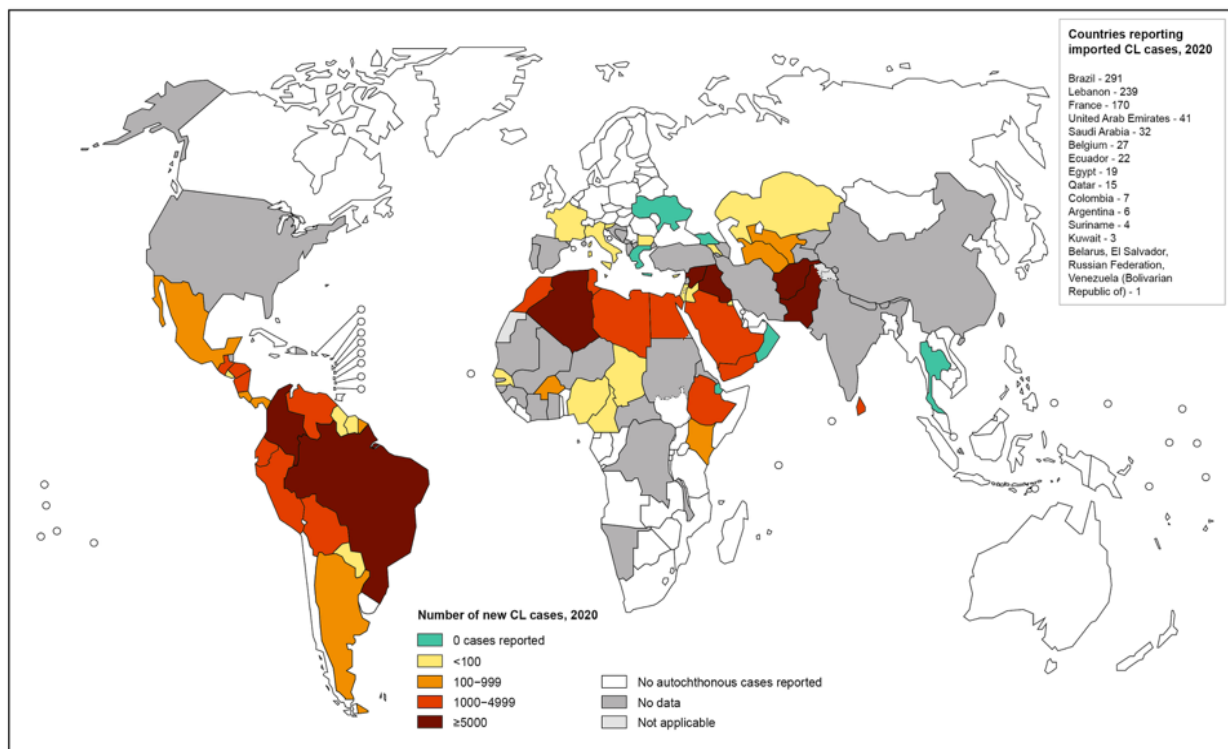
Data Source: World Health Organization
Map Production: Control of Neglected
Tropical Diseases (NTD)
World Health Organization



Abbildung 1: Verbreitung der kutanen Leishmaniose weltweit (WHO, 2021)

Fast zwei Drittel der CL-Fälle werden aus sechs Ländern gemeldet: Afghanistan, Algerien, Brasilien, Kolumbien, Iran und Syrien (Reithinger et al., 2007). In Gebieten, in denen die CL weit verbreitet ist, tritt die Krankheit häufig bei Kindern auf, und in einigen hyperendemischen Gebieten ist die CL bei Jugendlichen fast universell. In einer Studie, die in der Stadt Jericho in einem hyperendemischen Gebiet im Jordantal durchgeführt wurde, waren mehr als 80 % der Kinder infiziert (Klaus et al., 1998).

Status of endemicity of visceral leishmaniasis worldwide, 2020



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement. © WHO 2021. All rights reserved

Data Source: World Health Organization
Map Production: Control of Neglected Tropical Diseases (NTD)
World Health Organization



Abbildung 2: Verbreitung der viszerale Leishmaniose weltweit (WHO, 2021)

Brasilien, Äthiopien, Indien, Kenia, Somalia, Südsudan und Sudan haben mehr als 90% der weltweiten Fälle von viszerale Leishmaniose gemeldet. In mehr als 60 Ländern ist die Krankheit jedoch nach wie vor endemisch. In Brasilien werden über 99% der schätzungsweise 3.500 jährlichen Fälle in Lateinamerika gemeldet, und obwohl die Zahl der Fälle stabil bleibt, nimmt die Verteilung auf dem Kontinent in südwestlicher Richtung zu. In den letzten Jahren hat sich die Zahl der Fälle in Brasilien und in den anderen Ländern Lateinamerikas deutlich erhöht (Burza et al., 2018).

Indien hat die höchste Inzidenz von VL auf nationaler Ebene in der Welt, gefolgt von Bangladesch und Nepal. Das Risiko, an VL zu erkranken, beträgt in diesen drei Ländern insgesamt fast 300 Millionen Menschen (Alvar et al., 2012).

2. Klinische Formen

Die klinische Manifestation hängt von der Interaktion zwischen Leishmanien und der Immunantwort des Wirts ab (Silva et al., 2016). Leishmania-Infektionen lassen sich in sechs klinische Formen unterteilen, die durch die Lokalisierung des Parasiten in den infizierten Geweben definiert werden: viszerale (VL), kutane (CL), diffuse kutane (DCL), mukokutane (MCL), mukosale (ML) Leishmaniose und dermale Leishmaniose nach Kala-Azar (PKDL) (Alvar et al., 2012).

2.1. Kutane Leishmaniose

Die kutane Leishmaniose (CL) ist die häufigste und am wenigsten tödliche Form der Krankheit, die durch *Leishmania major*, *L. tropica*, *L. aethiopica*, *L. mexicana*, *L. braziliensis*, *L. guyanensis*, *L. panamensis*, *L. peruviana* und *L. amazonensis* verursacht wird (Reithinger et al., 2007). CL wird in der Alten Welt zumeist durch *L. major* verursacht, der selbstheilende Hautläsionen hervorruft, aber wenn die Läsionen multipel und behindernd sind und entstellende Narben hinterlassen, stellt dies ein lebenslanges ästhetisches Stigma dar. Die durch *L. tropica* hervorgerufene CL verläuft in der Regel chronisch, und ihre schwerste Form, die Leishmaniose recidivans, ist sehr schwer zu behandeln, da sie oft langanhaltend, zerstörerisch und entstellend ist. In der Neuen Welt verursacht *L. mexicana* in der Regel Juckreiz und gutartige Läsionen, aber einige Stellen wie die Ohrmuschel sind im Allgemeinen sehr schwer zu behandeln (Desjeux, 1996). Nach Gürel et al., (2020) wird die kutane Leishmaniose als "der große Imitator" bezeichnet, da sie fast alle Arten von Dermatosen imitieren kann. Diese Ähnlichkeit kann manchmal zu Fehldiagnosen führen, die inadäquate Behandlung und Morbidität zur Folge haben.

2.2. Diffuse kutane Leishmaniose

Die diffuse kutane Leishmaniose (DCL) ist eine seltene, weltweite Erkrankung, die durch eine unzureichende Immunantwort der Wirtszellen gekennzeichnet ist. DCL ist mit einer leishmanialen antigenspezifischen, defekten zellvermittelten Immunantwort verbunden. Der Schweregrad der Erkrankung ist auf disseminierte Läsionen zurückzuführen, die denen der lepromatösen Lepra ähneln, die nie spontan abheilen und häufig nach der Behandlung mit den derzeit verfügbaren Medikamenten wieder zurückgehen. Sie wird durch verschiedene Arten verursacht, wie z. B. *L. infantum*, *L. aethiopica*, *L. major*, *L. mexicana*, *L. amazonensis*. Aufgrund der verheerenden Folgen für die Patienten wird sie als ein besonderes Problem im Bereich der öffentlichen Gesundheit anerkannt (Desjeux, 1996), (Sampaio et al., 2021).

2.3. Mukokutane Leishmaniose

Die mukokutane Leishmaniose (MCL) führt zu einer ausgedehnten Zerstörung der Mundhöhlen und Rachenhöhlen mit hässlichen, entstellenden Läsionen, Nasenbluten einer Verkrüppelung des Gesichts und großem lebenslangen Leid. Sie ist hauptsächlich mit Leishmania-Arten der Neuen Welt wie *L. braziliensis*, *L. panamensis* und *L. guyanensis* verwandt, aber auch in der Alten Welt wurden Schleimhautläsionen durch *L. donovani*, *L. major* und *L. infantum* bei immunsupprimierten Patienten berichtet. MCL ist die seltenste Form dieses Syndroms in der Alten Welt (Desjeux, 1996). Mehr als 90% der Fälle von mukokutaner Leishmaniose werden in Bolivien, Brasilien, Äthiopien und Peru beobachtet (WHO, 2023).

2.4. Viszerale Leishmaniose

Die durch *L. donovani*, *L. chagasi* und *L. infantum* hervorgerufene viszerale Leishmaniose (VL) ist die schwerste Form der Leishmaniose und verläuft unbehandelt fast immer tödlich. Sie führt zu großflächigen Epidemien mit hoher Sterblichkeit (Desjeux, 1996). Die Inkubationsphase der VL dauert in der Regel 2 bis 6 Monate,

kann sich aber auch über mehrere Wochen bis hin zu mehreren Jahren erstrecken. Die viszerale Leishmaniose wird durch eine Infektion der Blutzellen in den lymphatischen Organen, vor allem Milz, Knochenmark und Leber, verursacht (Akter et al., 2016). Zu den klassischen Manifestationen der viszeralen Leishmaniose gehören chronisches Fieber, Gewichtsverlust, Splenomegalie, Hepatomegalie, Lymphadenopathie, Anämie, Hypergammaglobulinämie und Panzytopenie gehören zu. Die Splenomegalie kann in manchen Fällen zu Komplikationen wie einem Herzinfarkt oder spontanen subkapsulären Blutungen führen (Van Griensven & Diro, 2012), (Boelaert et al., 2000).

2.4.1. Viszerale Leishmaniose / HIV Koinfektion

Koinfektionen mit dem Humanen Immundefizienz-Virus (HIV) werden in zunehmendem Maße berichtet (Van Griensven & Diro, 2012). In dieser Hinsicht nimmt Ostafrika den ersten Platz ein, wenn es um die Rate der Ko-Infektion von VL mit HIV geht. Aufgrund des veränderten Krankheitsverlaufs, der diagnostischen Herausforderungen und des schlechten Therapieansprechens ist die VL-HIV-Koinfektion in Ostafrika heute eine sehr große Herausforderung (Diro et al., 2014).

Eine erhöhte Konzentration von Immunglobulinen aufgrund einer polyklonalen Aktivierung von B-Zellen ist sowohl bei VL als auch bei einer HIV-Infektion häufig zu beobachten. Zudem weisen die meisten HIV-infizierten Patienten zum Zeitpunkt der VL-Diagnose eine fortgeschrittene Immunschwäche auf, was sich in einer Lymphopenie, einer niedrigen Anzahl von CD4+-Lymphozyten und einem verminderten Verhältnis von CD4+-zu-CD8+-Zellen äußert (Berman, 1997).

Spezifische Interaktionen zwischen VL und HIV auf zellulärer Ebene könnten den Infektionsverlauf für beide Erreger beeinflussen. VL scheint die immunologische Kompetenz von HIV-Patienten zu beeinträchtigen und den Anstieg der HIV-Belastung zu begünstigen. Die gleichzeitige Infektion mit VL und HIV ist im Vergleich zu HIV-negativen VL-Patienten unter HAART durch signifikant niedrigere Heilungsraten, höhere Raten von Arzneimitteltoxizität und höhere Rückfall- und Mortalitätsraten gekennzeichnet (Alvar et al., 2008), (Ter Horst et al., 2008).

Zwei neuere Vergleichsstudien haben gezeigt, dass die klinischen Merkmale der VL bei HIV-infizierten Personen denen immunkompetenter Wirte sehr ähnlich sind und dass die meisten HIV-Leishmanien-Koinfizierten Fieber, Hepatosplenomegalie und Panzytopenie aufwiesen (Pintado et al., 2001), (Reus, S et al., 1999).

Aufgrund des stark geschwächten Immunsystems dieser Patienten kann sich der Parasit in Geweben ausbreiten, die er normalerweise nicht besiedelt, da es kein effizientes Immunsystem gibt, und atypische Orte besiedeln. In dieser Patientengruppe wurden verschiedene untypische Infektionsherde beobachtet, darunter weit verbreitete mukokutane, gastrointestinale, pulmonale, laryngeale, renale, peritoneale, synoviale und zerebrale Infektionen (Cota et al., 2014), (Alvar et al., 1997).

2.5. Post Kala-Azar Leishmaniose

Die dermale Post-Kala-Azar-Leishmaniose (PKDL) ist eine Komplikation der viszerale Leishmaniose. Sie ist gekennzeichnet durch einen makulösen, makulopapulösen und knotigen Ausschlag bei einem Patienten, der sich von der VL erholt hat und ansonsten gesund ist. Der Ausschlag beginnt in der Regel um den Mund, von wo aus er sich je nach Schweregrad auf andere Körperteile ausbreitet. PKDL spielt wahrscheinlich eine wichtige Rolle in interepidemischen Perioden von VL, da sie als Reservoir für Parasiten dient. Es gibt zunehmend Hinweise darauf, dass die Pathogenese weitgehend immunologisch vermittelt ist. Die hohen Konzentrationen von Interleukin 10 im peripheren Blut von VL-Patienten sagen die Entwicklung von PKDL voraus. Während der VL wird Interferon Gamma von den mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMC) nicht produziert. Nach der Behandlung der VL beginnen die PBMC mit der Produktion von Interferon-Gamma, was mit dem Auftreten von PKDL-Läsionen zusammenfällt, die auf Interferon-Gamma-produzierende Zellen zurückzuführen sind, die als Reaktion auf die in der Haut persistierenden Parasiten eine Hautentzündung verursachen. Die Diagnose erfolgt hauptsächlich klinisch, doch können Parasiten in Abstrichen mikroskopisch mit begrenzter Empfindlichkeit nachgewiesen werden. Mit PCR und monoklonalen Antikörpern können Parasiten in mehr als 80 % der Fälle nachgewiesen werden (Zijlstra et al., 2003).

	Kutane Leishmaniose	Mukokutane Leishmaniose	Viszerale Leishmaniose
Wichtigste Erreger	L. major, L. tropica, L. mexicana, L. braziliensis, L. guyanensis, L. aethiopica	L. braziliensis	L. donovani L. infantum L. chagasi
Vorkommen	Brasilien, Peru, Nordafrika, Mittlerer Osten	Äthiopien, Brasilien, Bolivien	Brasilien Indien, Nepal, Sudan
Häufigkeit	häufiger	selten	weniger häufig
Inkubationszeit	wenige Tagen bis mehrere Monate	kann bis zu Jahren dauern	2 bis 6 Monate
Symptome	Hautläsionen; Juckreiz; Narbenbildung nach Abheilung der Läsionen;	Hautläsionen; Ulzerationen und Geschwüre an den Schleimhäuten insbesondere im Mund; Nasenbluten;	chronisches Fieber; Splenomegalie; Hepatomegalie; Gewichtsverlust;

Tabelle 1: Unterschiede der 3 wichtigsten Formen der Leishmaniose (Eigene Darstellung)

3. Übertragungsformen

Nach Bates und Rogers (2004) ist der einzige nachgewiesene Infektionsweg der Stich von weiblichen Sandmücken (Phlebotominae). Obwohl es sich bei der Leishmaniose um eine klassische Vektorenerkrankung handelt, wurden aber Fälle von Leishmaniose, die durch Bluttransfusionen übertragen wurde, hauptsächlich aus Gebieten gemeldet, in denen die Krankheit nicht endemisch ist. Aus diesem Grund ist bei der Blutspende von Personen, die aus endemischen Gebieten ausgewandert sind oder sich dort aufgehalten haben, besondere Vorsicht geboten. Bei der Mehrzahl der Fälle waren leider Säuglinge und Kinder betroffen (Mansueto et al., 2014).

Gelegentliche Übertragungen durch Nicht-Vektoren erfolgten auch durch Geschlechtsverkehr, Organtransplantationen und Exkremente von Hunden und wurden sporadisch außerhalb endemischer Gebiete gemeldet. Vor 1995 wurden nur 8 Fälle einer kongenital erworbenen Krankheit beschrieben (Meinecke et al., 1999). Meinecke et al. (1999) untersuchten einen Fall kongenitaler Leishmaniose-Übertragung von einer asymptomatischen Mutter auf ihr Kind. Da das Kind (16 Monate alt) Deutschland nie verlassen hatte, wurde eine Übertragung durch Nicht-Vektoren vermutet. Die Mutter war die Einzige, die einen positiven Antikörpertiter gegen *L. donovani* Komplex aufwies. Obwohl sie keine Symptome zeigte, war ihr Montenegro-Hauttest (Leishmanin Test) positiv, was auf eine frühere Infektion mit Leishmanien hindeutete.

4. Pathogenese

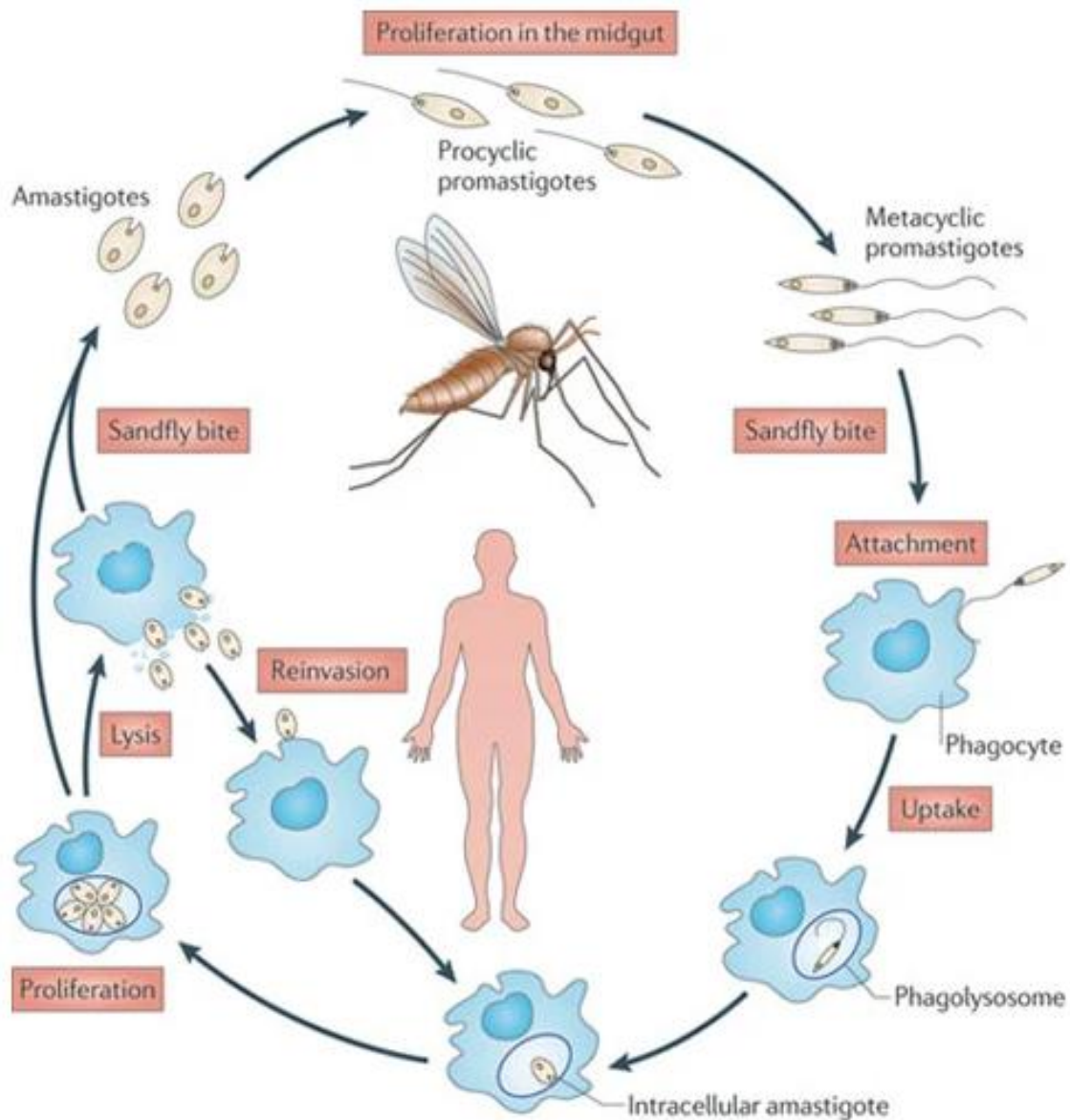


Abbildung 3: Lebenszyklus der Leishmanien (Kaye & Scott, 2011)

Der Lebenszyklus beginnt mit der Hämatophagie einer weiblichen Sandmücke, bei der sie Amastigoten von Leishmanien von einem infizierten Wirt aufnimmt. Die Promastigoten, die im Darm umgewandelt und vermehrt werden, wandern in den Saugapparat der Mücke. Bei der nächsten Blutmahlzeit können die Promastigoten auf den Wirt übertragen werden. Nach erfolgter Inokulation werden die Promastigoten von Makrophagen aufgenommen. Dort wandeln sie sich in Amastigoten um und replizieren sich. Nach einer gewissen Zeit platzen die Wirtszellen und die Amastigoten breiten sich im Körper des Wirts aus. Der Zyklus schließt sich mit einer weiteren Blutmahlzeit der Sandmücke (Kaye & Scott, 2011).

4.1. Lebenszyklus der Leishmanien

Leishmania-Parasiten sind dimorphe Organismen, d.h. sie haben in ihrem Lebenszyklus zwei morphologische Formen: intrazelluläre Amastigoten im mononukleären Phagozytensystem des Säugetierwirts und bewegliche Promastigoten in den Verdauungsorganen des Sandfliegenvektors (Bates und Rogers, 2004), (Tiuman et al., 2011). Sobald sich eine Sandfliege von einem infektiösen Wirt ernährt, nimmt sie eine Blutmahlzeit zu sich, die mit Leishmanien infizierte Makrophagen enthält, wodurch der Lebenszyklus in der Sandfliege beginnt (Oliveira et al., 2009). Die ersten Promastigotenformen, die in der Sandfliege in der Blutmahlzeitphase vorkommen, sind multiplikative prozyklische Promastigoten. Diese differenzieren sich in nektomonadische Promastigoten, die ein sich nicht teilendes Wanderstadium darstellen, das sich vom hinteren zum vorderen Mitteldarm bewegt. Es gibt verschiedene Engpässe für die Besiedlung des Mitteldarms der Sandfliege mit Leishmanien. Zu diesen Engpässen gehören die Produktion von Molekülen des angeborenen Immunsystems, Verdauungsproteasen, eine für Parasiten undurchlässige peritrophische Membran und die ansässige Darmmikrobiota. Diese Barrieren sind ausschlaggebend für die übertragene Parasitenlast und folglich für den Krankheitsverlauf im Säugetierwirt. Wenn nektomonaden Promastigoten im vorderen Mitteldarm ankommen, differenzieren sie sich in Leptomonadenformen, ein neu benanntes Lebenszyklusstadium, das die Replikation wieder aufnimmt. Leptomonaden-Promastigoten, die sich im vorderen Mitteldarm befinden, sind die Entwicklungsvorläufer der metazyklischen Promastigoten, der Säugetierinfektionsstadien. Leptomonaden-Formen produzieren auch Promastigoten-Sekretionsgel, eine Substanz, die eine Schlüsselrolle bei der Infektionsübertragung spielt, indem sie eine physische Obstruktion im Darm bildet und die Sandfliege zwingt, metazyklische Promastigoten während der Blutspeisung zu erbrechen. Auf diese Weise wird der Wirt infiziert (Bates und Rogers, 2004), (Omondi et al., 2022).

Obwohl die Leishmanien im Vektor der Sandmücke extrazelluläre Nischen besetzen, sind sie in ihrem Säugetierwirt obligat intrazelluläre Parasiten (McConville & Handman, 2007).

Normalerweise dringen Leishmania-Parasiten in Makrophagen ein, können aber auch Fibroblasten infizieren, die als Reservoir für wiederkehrende Infektionen dienen

können (Hallé et al., 2009). Die Parasiten werden hauptsächlich in das Phagolysosom von Makrophagen und einigen anderen phagozytischen Wirtszellen aufgenommen und vermehren sie sich dort. Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass Leishmania-Promastigoten an eine Vielzahl von Makrophagen-Rezeptoren binden können. Die Bindung an verschiedene Rezeptoren kann zu unterschiedlichen Reaktionen der Wirtszellen führen. Einer der wichtigsten Entwicklungsschritte im Lebenszyklus von Leishmania und ein Schlüsselereignis für die Etablierung einer Infektion im Säugetierwirt ist die Differenzierung von Promastigoten zu Amastigoten (McConville & Handman, 2007), (Van Zandbergen et al., 2004), (Naderer & McConville, 2011). Im Vergleich zu den Promastigoten sind die Amastigote-Leishmanien deutlich kleiner, weisen rundlichen Zellkörper auf und besitzen nur ein rudimentäres Flagellum. Die Amastigoten vermehren sich, zerstören die Wirtszelle und setzen die Amastigoten im ganzen Körper frei (Dostálová & Volf, 2012). Amastigoten werden mit dem Blut aufgenommen, wenn sich die Sandfliege von einem infizierten Wirt ernährt. Die Amastigoten differenzieren sich innerhalb der peritrophischen Membran (PM), die die Blutmahlzeit umschließt, zu prozyklischen Promastigoten. Prozyklische Promastigoten differenzieren sich zu Nektomonaden, die sich später zu Leptomonaden differenzieren und nach dem Zerfall der PM an das Mitteldarmepithel heften. Der Lebenszyklus der Parasiten ist somit ausgeschlossen und kann von Neuem beginnen. Im Endeffekt erfordert die Übertragung von Leishmanien den erfolgreichen Abschluss eines komplexen Lebenszyklus, der Interaktionen mit verschiedenen Zelltypen und Geweben der Sandmücke beinhaltet. Leishmanien treffen in der Sandfliege auf verschiedene natürliche Barrieren: die angeborene Immunantwort, proteolytische Enzyme und die peritrophische Membran. Alle diese Faktoren wirken einzeln und/oder synergetisch und bestimmen die Vektorkompetenz einer Sandfliegenart als Überträger von Leishmania-Arten (Omondi et al., 2022).

4.2. Phosphatasen und ihre Rolle

Einmal im Säugetierwirt angekommen, müssen die Parasiten das mikrobizide Repertoire der Zellen des Immunsystems überwinden, um die Infektion erfolgreich zu etablieren. In diesem Zusammenhang ist die Expression von Proteinphosphatasen von besonderem Interesse. Mehrere Mitglieder der Familien der Serin/Threonin-

spezifischen Proteinphosphatase (STP), der Protein-Tyrosin-Phosphatase (PTP) und der sauren Histidin-Phosphatase (HAcP) wurden in verschiedenen *Leishmania-Arten* beschrieben. Obwohl ihre physiologische Rolle noch nicht vollständig geklärt ist, deuten viele Studien darauf hin, dass sie mit der Biologie und Pathogenität des Parasiten zu tun haben. Phosphatasen spielen eine Rolle bei der Anpassung an den Nährstoffmangel während der Passage des Parasiten durch den Mitteldarm der Sandfliege. Sie sind auch wichtig für die Virulenz des Parasiten, vor allem durch die Modulation der Zytokinproduktion des Wirts und die Beeinträchtigung des mikrobioziden Potenzials der Makrophagen. Darüber hinaus haben jüngste Ganzgenom-Expressionsanalysen gezeigt, dass verschiedene Phosphatasen in metazyklischen Promastigoten, der infektiösen Form des Säugetierwirts, hochreguliert sind. Auch in arzneimittelresistenten Stämmen sind *Leishmania-Phosphatasen* hochreguliert, was wahrscheinlich auf den verstärkten Medikamentenausfluss in Verbindung mit der Aktivierung von ABC-Transportern zurückzuführen ist (Freitas-Mesquita et al., 2021).

Nach der Interaktion zwischen Leishmanien und Makrophagen führt die Aktivierung der Proteintyrosinphosphatase SHP-1 rasch zu einer Herunterregulierung der Januskinase und der Mitogen-aktivierten Proteinkinase-Signaltransduktion. Dies führt zu einer Verringerung der angeborenen Entzündungsreaktion des Wirts und verschiedener mikrobizider Funktionen der Makrophagen (Gómez et al., 2009).

Gómez et al. haben berichtet, dass neben SHP-1 auch die Proteintyrosinphosphatasen (PTPs) PTP1B und TCPTP in infizierten Makrophagen aktiviert und posttranslational modifiziert werden. Es wurde festgestellt, dass PTP1B eine entscheidende Rolle bei der Progression der Leishmania-Infektion in vivo spielt. Der Mechanismus der PTP-Modulation beinhaltet die proteolytische Aktivität der Leishmania-Oberflächenprotease GP63. Der Zugang von GP63 zu PTP1B, TCPTP und SHP-1 in Makrophagen wird teilweise durch einen Lipid Rafts-abhängigen Mechanismus vermittelt, der zur Spaltung der PTPs und zur Stimulierung ihrer Phosphataseaktivität führt. Es wurde ein Mechanismus identifiziert, bei dem die spaltungsabhängige Aktivierung von Makrophagen-PTPs durch ein obligat intrazelluläres Pathogen erfolgt. Es wurde gezeigt, dass die Internalisierung von GP63, einem wichtigen Virulenzfaktor von Leishmania, in Wirtsmakrophagen eine Strategie darstellt, die der Parasit zur Interaktion und zum Überleben in seinem Wirt nutzt.

4.3. Immunantwort und beteiligte Zellen

Sowohl in Humanmodellen als auch in Tiermodellen der Leishmaniose wird die Immunität vorwiegend durch T-Lymphozyten vermittelt (Ruiz & Becker, 2007). Sowohl T-Helferzellen als auch zytotoxische T-Zellen spielen eine wichtige Rolle bei der Beseitigung intrazellulärer parasitärer Infektionen und bei der Erzeugung antigenspezifischer T-Zell-Gedächtnisreaktionen, die die Etablierung derselben Infektion nach einer zweiten Exposition verhindern. Nach einer Leishmanien-Exposition werden die verschiedenen Populationen von CD4⁺ T-Zellen, einschließlich TH1, TH2, TH17 und Tregs, sowohl im lokalen als auch im systemischen sekundären lymphatischen Gewebe gebildet (Glennie et al., 2017), (Alexander & Brombacher, 2012). Verschiedenen präklinischen und klinischen Studien zufolge deutet das Vorherrschen der TH1-Population auf eine Resistenz gegen Leishmaniose hin und bietet Schutz (McMahon-Pratt & Alexander, 2004). Der wichtigste Grund dafür ist die Produktion hoher Mengen an Interferon-gamma (IFN- γ), Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α) und Interleukin-2 (IL-2) Zytokinen, die ROS und NO vermittelte Parasitenabtötungsmechanismen aktivieren (Horta et al., 2012). Im Gegensatz dazu förderte die Induktion von Tregs die latente Leishmaniose durch die IL-10-Produktion, während die Exazerbation der Infektion durch die Hemmung der TH2-Entwicklung und IL-4-Produktion eingeschränkt wurde (Aseffa et al., 2002), (Belkaid et al., 2002). Eine ähnliche Doppelrolle bei der Leishmanieninfektion spielt die TH₁₇-Population. Obwohl die meisten Beweise die gegensätzliche schützende Wirkung von TH₁₇ zeigen, bestätigen einige Beweise die therapeutische und schützende Wirkung der IL-17-Produktion (Banerjee et al., 2016). CD8⁺ T-Zellen sind eine weitere Lymphozyten-Population, die an der Wirtsabwehr gegen Leishmania-Spezies beteiligt ist. Diese Lymphozyten erhöhen die Abtötungsaktivität der angeborenen Immunzellen durch IFN- γ -Sekretion und eliminieren Leishmania-infizierte Zellen durch zytotoxische Aktivität (Ruiz & Becker, 2007). CD8⁺ T-Zellen spielen eine wichtige Rolle, wenn das Wirtsimmunsystem keine wirksame TH1-Antwort auslöst oder die angeborenen Immunzellen wie Makrophagen, neutrophile Granulozyten und natürliche Killerzellen (NK) nur eine schwache Abtötungsaktivität aufweisen (Belkaid, Von Stebut, et al., 2002). Durchgeführte Studien bestätigten die schützende Rolle der IFN- γ -Produktion und der Fas-abhängigen Zytotoxizität von CD8⁺ T-Zellen bei der sekundären L. major-Infektion und der Heilung von Läsionen (Müller et al., 1994). Demnach besteht ein

signifikanter Zusammenhang zwischen der Genesung von Patienten mit Leishmaniose und der durch CD8⁺ T-Zellen induzierten Apoptoserate infizierter Makrophagen (Ruiz & Becker, 2007).

4.4. Virulenzfaktoren

Parasiten verfügen über eine Vielzahl von Virulenzfaktoren, die es ihnen ermöglichen, das Immunsystem des Wirts zu umgehen und zu überwältigen, so dass sie lange oder sogar dauerhaft im Körper des Wirts verbleiben können. Ein Großteil der Forschung über parasitäre Krankheiten ist darauf ausgerichtet, diese Faktoren zu identifizieren und ihre Wirkung zu verhindern (Mottram et al., 2004).

Elmahallawy und Alkhaldi (2021) kamen zu dem Ergebnis, dass Leishmanien in Wirtszellen überleben können, indem sie das Immunsystem des Wirts auf verschiedene Weisen beeinflussen, wie beispielsweise durch Immunsuppression und Veränderung der Chemokinmuster des Wirts. Die Pathogenese der Leishmaniose ist äußerst vielfältig und wird von einer Reihe von Faktoren bestimmt, darunter die infizierende Spezies und ihre Virulenzfaktoren sowie der Wirt, die alle den Verlauf der Krankheit beeinflussen.

Die Leishmania-Parasiten verfügen über verschiedene invasive, evasive und pathoantigene Eigenschaften, die offenbar eine wichtige Rolle bei der Infektion von Makrophagen durch Leishmanien spielen. Dies führt zu einem erfolgreichen Eindringen in die parasitophoren Vakuolen innerhalb der Zellen. Diese Virulenzfaktoren ermöglichen es dem Parasiten, sich an den Säugetierwirt anzupassen, indem sie die erhöhte Temperatur und den verringerten pH-Wert in den Makrophagen nutzen. Sie sind entscheidend für die anfängliche Etablierung an der Bissstelle, die Invasion der Makrophagen und die Proliferation unter den extremen Bedingungen in den phagolysosomalen Kompartimenten. Die Faktoren werden genutzt, um den zellulären und humoralen Immunangriff des Wirts zu umgehen. Diese Faktoren sind potenzielle Ziele für die Entwicklung spezifischer Inhibitoren, um die Virulenz von Leishmanien durch gezielte Genveränderungen zu reduzieren. Auf diese Weise könnten infektiöse, aber nicht pathogene Mutanten erzeugt werden, die als Grundlage für Impfstoffe dienen könnten (Al-Khalaifah, 2022), (Al-Khalaifah & Al-Nasser, 2019).

5. Die Rolle der Peptidasen

Von großer Bedeutung für die Medizin sind Peptidasen deren Substrate und Inhibitoren (Rawlings et al., 2007). Peptidasen sind eine Gruppe von Enzymen, die eine wichtige Rolle in verschiedenen biologischen Prozessen spielen. Sie sind auch als proteolytische Enzyme oder Proteasen bekannt. Diese Enzyme sind in der Lage, Peptidbindungen in Proteinen zu spalten und somit die Proteine in kleinere Fragmente zu zerlegen. Dieser Prozess ist für viele lebenswichtige Funktionen im Körper unerlässlich. Die Substrate von Peptidasen sind die Proteine selbst. Diese Enzyme erkennen spezifische Peptidsequenzen in den Proteinen und spalten die Peptidbindungen an diesen Stellen. Dadurch können die Proteine in ihre einzelnen Bausteine, nämlich die Aminosäuren, zerlegt werden. Dieser Prozess ist entscheidend für den Abbau von alten oder beschädigten Proteinen, die nicht mehr funktionieren oder entfernt werden müssen. Die Bedeutung von Peptidasen, ihren Substraten und Inhibitoren in der Medizin ist enorm. Sie spielen eine entscheidende Rolle bei der Regulation des Stoffwechsels, der Verdauung von Nahrungsmitteln, der Wundheilung und vielen anderen biologischen Prozessen. Durch das Verständnis dieser Enzyme und ihrer Funktionen können neue Therapien entwickelt werden, um Krankheiten zu behandeln oder zu verhindern (Rawlings et al., 2007), (Brix & Stöcker, 2014), (Müller-Esterl, 2017).

Die Proteinasen können nach ihren katalytischen Domänen in Serin-, Threonin-, Aspartyl-, Metallo- und Cysteinproteinasen eingeteilt werden (Rawlings et al., 2009), (Rawlings, 2010).

Enzymklasse	katalytische Reste	typische Vertreter
Serinproteasen	Ser, His, Asp	Verdauung: Trypsin, Chymotrypsin, Elastase Blutgerinnung: Thrombin, Plasmin, Gewebeplasminogen-aktivator, Faktor VII Enzyme des Komplementsystems: C1r, C1s, C2b, Bb, D
Aspartatproteasen	Asp (2x)	Blutdruck, Natriumhaushalt: Renin Verdauung: Pepsin virale Enzyme: HIV-Protease
Cysteinproteasen	Cys, His	programmierter Zelltod: Caspasen lysosomaler Proteinabbau: Cathepsin B, H, L
Metalloproteasen	Zn ²⁺ , koordiniert durch zwei His, Glu	Blutdruck, Natriumhaushalt: Angiotensin-konvertierendes Enzym (ACE) Verdauung: Carboxypeptidasen A, B Bindegewebsumbau: Matrixmetalloproteasen (MMP)

Tabelle 2: Hauptfamilien von Proteasen. Angegeben sind essenzielle Reste im katalytischen Zentrum und prominente Vertreter der jeweiligen Familie (Müller-Esterl, 2017)

Mehrere Studien deuten darauf hin, dass Leishmania-Peptidasen an der Invasion des Gewebes in den Wirt, am Überleben in Makrophagen und an der Modulation der Immunantwort des Wirts beteiligt sind, was sie zu wichtigen Virulenzfaktoren gegen diese Parasiten macht. Diese Tatsache lenkt die Aufmerksamkeit auf Leishmania-Peptidasen als potenzielle therapeutische Ziele gegen Parasiten (Machado et al., 2019). Die Leishmania-Peptidasen, insbesondere **Cystein-Peptidasen**, **Metalloproteasen** und **Serin-Proteasen**, sind für das Überleben der Parasiten und die Pathogenese der Krankheit essenziell. Es sind genau diese Leishmania-Proteasen und ihre Inhibitoren, die als vielversprechende Kandidaten für die Entwicklung von Medikamenten gegen Leishmania angesehen werden können (Das P et al., 2013).

In den folgenden Abschnitten werden die wichtigsten Peptidasen von Leishmanien kurz vorgestellt, die zur Pathogenität der Krankheit beitragen und es dem Parasiten ermöglichen, die Infektion zu etablieren.

5.1. Cysteinpeptidasen

Die CPB-Gene von *Leishmania mexicana* kodieren stadienregulierte, Cathepsin L-ähnliche Cysteinproteinasen, die Virulenzfaktoren von Leishmanien sind. *Leishmania mexicana* enthält drei Arten von Cysteinpeptidasen (CPs), die Cathepsin L-ähnlichen CPA und CPB und die Cathepsin B-ähnlichen CPC (Mottram et al., 1997). CPs werden in Gruppen unterteilt, die als Clans oder Superfamilien bezeichnet werden, und zwar auf der Grundlage von Merkmalen wie der Ähnlichkeit der Sequenz, der katalytischen Reste, dem Vorhandensein von eingefügten Peptidschleifen und ihrer biochemischen Spezifität für kleinere Peptidsubstrate (Sajid & McKerrow, 2002).

Die Amastigoten von *L. mexicana* weisen eine hohe Konzentration an Cysteinpeptidasen auf, die entscheidend für das Überleben und Wachstum der Parasiten in Säugetieren sind. Die Rolle der CPs als Virulenzfaktoren sowie ihr Potenzial als mögliche Ziele für Medikamente und Impfstoffe wurden intensiv erforscht (Mottram et al., 2004). Cysteinproteasen spielen eine wichtige Rolle in der Pathogenese verschiedener parasitärer Infektionen und wurden als Ziele für die strukturbasierte Strategie des Wirkstoffdesigns vorgeschlagen (Sakanari et al., 1997).

5.1.1. Struktur von Cysteinpeptidasen

Leishmania major besitzt CPs aus acht Familien innerhalb des CA-Clans. Die Familie C1 enthält CPA und CPB, die beide hinsichtlich der primären Aminosäuresequenz Cathepsin L-ähnlich sind, sowie CPC, das Cathepsin B-ähnlich ist. Die Cathepsin L-ähnliche Sequenz von *L. major* hat eine Proregion, die eine hohe Sequenzähnlichkeit mit anderen Cathepsin L-Sequenzen und verfügt über eine Prolin-/Threonin-reiche C-terminale Erweiterung. CPB ist insofern ungewöhnlich, als es im Vergleich zu den meisten CPs der Gruppe eine C-terminale Verlängerung von 100 Aminosäuren aufweist und als mehrere Isoenzyme existiert (Mottram et al., 2004), (Sakanari et al., 1997). Die charakterisierten CPs in *Leishmania* spp. werden in CPB/Typ-I-, CPA/Typ-II- und CPC/Typ-III-Proteasen unterteilt, die alle Clan-CA-Proteasen sind und zur Papain-Familie der CPs gehören. CPB/Typ-I-Proteasen sind Cathepsin-L-ähnliche Proteasen, die sich durch das Vorhandensein einer ungewöhnlichen C-terminalen

Verlängerung auszeichnen, die sich über eine Länge von etwa 3 kb erstrecken und reich an Prolin-, Threonin- und/oder Serinresten sind, die eine flexible Region bilden, die dem proteolytischen Abbau zugänglich sind und die terminale Verlängerung mit der katalytischen Domäne verbinden. CPA/Typ-II sind ebenfalls Cathepsin-L-ähnliche Enzyme, die jedoch biochemisch noch nicht so umfassend charakterisiert wurden (Myburgh et al., 2013), (Sakanari et al., 1997), (Zadeh–Vakili et al., 2004).

Bei den Cysteinpeptidasen besteht die N-terminale Domäne hauptsächlich aus einem Faszikel von α -Helices, während die C-terminale Domäne einen Faszikel von β -Fässern beherbergt. Durch die Mitte des Moleküls erstreckt sich eine lange Helix, die zum N-Terminus hin einen katalytischen Rest enthält (Rawlings & Barrett, 2013). Die aktiven Stellen von Cysteinpeptidasen enthalten katalytische Reste, die hauptsächlich aus einem Cystein- und einem Histidin-Rest bestehen, entweder als Dyade oder als katalytische Triade durch die Einbeziehung von Resten wie Threonin, Asparagin, Glutaminsäure und Asparaginsäure. Der Histidin-Rest dient als Basis für die Protonenübertragung, wodurch die Nukleophilie des Cysteinrestes erhöht wird. Die Proteolyse Katalyse beginnt mit der Deprotonierung der Thiolgruppe der Cys-His-Asn-Triade durch eine Aminosäure mit einer basischen Seitenkette. Der deprotonierte Cysteinrest greift dann nukleophil das Carbonylkohlenstoffatom der spaltbaren Peptidbindung an, indem er den anionischen Schwefel des Cysteinrestes nutzt. Dabei wird ein Substratfragment mit einem Aminoterminus freigesetzt, was dazu führt, dass der Histidin-Rest in seine deprotonierte Konformation zurückkehrt und ein Thioester gebundenes Zwischenprodukt entsteht, das den neu gebildeten Carboxyterminus des Substrats mit dem Cysteinthiol verbindet. Aus diesem Grund werden Cysteinpeptidasen auch als Thiolproteasen bezeichnet. Die Thioesterbindung wird dann hydrolysiert, was zur Bildung einer Carbonsäureeinheit und des Substratfragments führt, während das freie Enzym regeneriert wird (Coulombe et al., 1996), (Verma et al., 2016).

5.1.2. Funktion von Cysteinpeptidasen

Die Cysteinpeptidasen zählen ebenfalls zu den Faktoren, die die Virulenz bei Leishmania-Arten beeinflussen. Ihre Expression ist in der Amastigotenform stärker ausgeprägt als in der Promastigotenform. Im Allgemeinen spielen diese Proteine eine wichtige Rolle beim Abbau lysosomaler Proteasen. Es ist bekannt, dass die Cathepsin L-ähnlichen Cysteinpeptidasen der parasitären Protozoen andere lebenswichtige Aktivitäten der Parasiten beeinflussen, wie beispielsweise die Nahrungsaufnahme und die Neutralisierung des Immunsystems des Wirts (Sajid & McKerrow, 2002).

Leishmanien beherbergen eine Vielzahl von Cysteinproteinasen, die in verschiedenen Entwicklungsstadien exprimiert werden und von mehreren Genfamilien codiert sind. Untersuchungen an Parasiten, bei denen die Funktion dieser Enzyme durch genetische Manipulation oder spezifische Inhibitoren gestört wurde, haben gezeigt, dass sie eine wichtige Rolle bei der Virulenz der Parasiten, der Modulation der Immunantwort des Wirts und der Differenzierung der Parasiten spielen (Mottram et al., 1998).

Es wurde beobachtet, dass die Apoptose bei *L. donovani* mit einer Caspase-ähnlichen Aktivität einhergeht, die mit Cysteinprotease-Inhibitoren gehemmt werden kann. Die Apoptose bei diesem intrazellulären Parasiten reguliert das Populationswachstum während der Infektion und verlängert das Überleben des Parasiten in Makrophagen. Bei *L. major* verringerten Cathepsin B-ähnliche Inhibitoren zwar die DNA-Fragmentierung, hatten aber keinen Einfluss auf die Apoptose. In einer kürzlich durchgeführten Studie wurde in *L. mexicana* ein Gen identifiziert, das für ein Protein kodiert, das einen hohen Grad an Homologie zu einer MAP-Kinase (mitogen-activated protein) aufweist. Es wurde eine Deletionsmutante für den Genlocus, der für Secreted Acid Phosphatase (SAP) kodiert und die intergene Region von ~ 11,5 kb enthält, hergestellt. Dieser mutierte Parasit war nicht in der Lage, in Balb/c-Mäusen Leishmaniose auszulösen. Die Infektiosität wurde jedoch wiederhergestellt, als eine 6 kb große Region des SAP-Lokus eingeführt wurde. Es zeigte sich, dass diese Region zwei Open Reading Frames (ORFs) enthält, die für Einzelkopien von Genen kodieren. Eines davon (ORF1) kodiert für ein Protein mit 358 Aminosäuren und einem Molekulargewicht von 41 kDa, das LMPK genannt wird und als Homolog der MAP-

Kinase gilt, die für die Leishmanien-Differenzierung in den Makrophagen wesentlich ist (Alejandro et al., 2003), (Wiese, 1998).

Laut Williams et al. (2006) führt die Hemmung von zwei wichtigen lysosomalen Cysteinpeptidasen (CPA und CPB) oder die Entfernung ihrer Gene nicht nur zur Unterbrechung des Autophagie-Weges, sondern auch zur Verhinderung der Metazyklogenese und Umwandlung in Amastigoten, was die Hypothese unterstützt, dass Autophagie für die Zelldifferenzierung erforderlich ist. Die Studie legt nahe, dass CPA und CPB von *L. mexicana* ähnliche Funktionen wie die Asparagin-Peptidase PEP4 und die Serin-Peptidase PRB1 in *Saccharomyces cerevisiae* erfüllen. Die Ergebnisse bieten auch eine Erklärung dafür, warum *L. mexicana*-Mutanten mit einem Mangel an CPA/CPB nur schwer in Amastigoten umgewandelt werden können und keine Virulenz in Makrophagen und Mäusen aufweisen. Diese Studie hat gezeigt, dass die Autophagie eine entscheidende Rolle bei der Differenzierung des Parasiten in seinen unterschiedlichen Entwicklungsstadien spielt. Besonders faszinierend war die Feststellung, dass CPA und CPB, zwei Cysteinpeptidasen, möglicherweise dazu beitragen, die effiziente Autophagie zu unterstützen. Es wurde spekuliert, dass eine Beeinträchtigung dieser Funktion möglicherweise die geringe Virulenz der CPA/CPB-Mutante erklären könnte (Mottram et al., 1996).

Andererseits, Beyzay et al. (2023) haben die Wirkung von Cysteinpeptidase A (CPA)/Cysteinpeptidase B (CPB), die mit α -AL2O₃ konjugiert sind, auf die Autophagie-Induktion in *L. major*-infizierten Makrophagen und die anschließende Aktivierung von zytotoxischen CD8⁺ T-Lymphozyten untersucht. Sie haben festgestellt, dass die Konjugation von CPA/CPB mit α -AL2O₃ die Antigenaufnahme von Makrophagen verbessert und die Bildung saurer Vakuolen verstärkt. Die Kultur von durch Autophagie aktivierten Makrophagen mit CD8⁺ T-Zellen führte zu einem verstärkten Priming und Proliferation von CD8⁺ T-Zellen im Vergleich zu anderen Studiengruppen. Diese geprimten CD8⁺ T-Zellen induzierten einen signifikanten apoptotischen Tod von mit *L. major* infizierten Makrophagen im Vergleich zu nicht geprimten CD8⁺ T-Zellen.

Nach Besteiro et al. (2004) spielen ICPs eine Rolle in der Wirt-Parasit-Interaktion, indem sie die Aktivität der Wirts-CPs entweder nach der Endozytose der Enzyme oder in der Umgebung des Parasiten modulieren. Obwohl Cysteinpeptidasen als potenzielle Angriffspunkte für Medikamente viele Vorteile bieten, gibt es derzeit keine zugelassenen Medikamente, die gezielt auf diese Enzyme abzielen. Die wichtige Rolle

von CPs bei Protozoeninfektionen weist auf zahlreiche Möglichkeiten hin, wie sie effektiv genutzt werden könnten. Die Besonderheit der CPs in Organismen, wo sie als entscheidende Faktoren tief in den Stoffwechsel eingreifen, macht sie zu vielversprechenden Zielen für medizinische Wirkstoffe. Berichte über die Wirksamkeit natürlicher und künstlicher Inhibitoren bei der Hemmung von CPs und deren Auswirkungen auf Protozoeninfektionen unterstreichen ihr Potenzial als interessante Therapieziele. Es ist bekannt, dass Cysteinpeptidasen in parasitären pathogenen Protozoen wichtige Rollen spielen, wie beispielsweise bei der Pathogenität, Nährstoffaufnahme, Enzymaktivierung, Immunabwehr des Parasiten, Zellinvasion, Phasentransformation, Verarbeitung von Oberflächenproteinen, Austritt des Parasiten und Auslösung von Entzündungsreaktionen. Obwohl intensiv geforscht wird, deckt das aktuelle Wissen nur einen kleinen Teil der vielfältigen Funktionen ab, hauptsächlich aufgrund der Schwierigkeit vieler Cysteinpeptidasen, in vitro exprimiert zu werden. Die Einführung molekularer Werkzeuge wie CRISPR-Cas-Systeme eröffnet neue Möglichkeiten für eine verbesserte Erforschung und diagnostische Interventionen im Bereich der Cysteinpeptidasen (Lee et al., 2020), (Rawat et al., 2021).

5.2. Zink - Metalloprotease (GP63)

Zu den molekularen Faktoren, die zur Virulenz und Pathogenese von *Leishmania* sp. beitragen, gehört eine große Oberflächenprotease, die unter verschiedenen Namen wie Major Surface Protein (MSP), GP63 und Leishmanolysin bekannt ist. GP63, das sowohl auf der Oberfläche von Promastigoten als auch von Amastigoten vorhanden ist und die bedeutendste Oberflächenprotease darstellt, könnte für die Entwicklung von Medikamenten genutzt werden (Sreedharan & Rao, 2023), (Yao et al., 2003). Proteaseinhibitoren, die speziell auf solche Oberflächenproteasen abzielen, wurden z.B. aus marinen Aktinobakterien isoliert und haben vielversprechende Ergebnisse bei der Bekämpfung zahlreicher Infektionskrankheiten gezeigt. Die Metaboliten, die von diesen Actinobakterien produziert werden, könnten eine wichtige Rolle bei der Entdeckung und Entwicklung neuer antileishmanialer Medikamente spielen (Sreedharan & Rao, 2023).

5.2.1. Struktur von GP63

GP63 ist eine Zink-Metalloprotease mit einer Größe von 63 kD. Es handelt sich um das häufigste Glykoprotein in Leishmania-Spezies, wobei in *L. mexicana* etwa 5X10⁵ GP63-Moleküle vorhanden sind (Bahr et al., 1993), (Ramamoorthy et al., 1992).

Es besteht aus einer vorhergesagten Proteinsequenz, die die N-terminale hydrophobe Sequenz und ein Propeptid enthält, das sich bei der Entwicklung ablöst (Mh et al., 1995), wobei die letztere Sequenz einen konservierten Cysteinrest enthält, der sich bei *L. major* als entscheidend für den Schutz des Parasiten vor der Selbstzerstörung durch aktive Proteaseaktivität erwiesen hat. Zu den Unterschieden in der Struktur von GP63 bei Leishmania sp. gehören Unterschiede in der C-terminalen Sequenz, der 3'-untranslatierten Sequenz und die unterschiedliche Expression in verschiedenen Lebensstadien (Ramamoorthy et al., 1992), (Yao et al., 2003).

5.2.2. Funktion von GP63

GP63, die keine strikte Substratspezifität und kein festes pH-Optimum haben, können eine Vielzahl von Peptidsubstraten und Proteinsubstraten bei verschiedenen pH-Werten hydrolysieren. Diese Enzyme zeigen in allen Lebenszyklusstadien von Leishmanien zahlreiche potenzielle Funktionen (Yao et al., 2003).

GP63 spielt eine entscheidende Rolle für die Fähigkeit des Parasiten, die komplementvermittelte Lyse zu vermeiden und zu überleben, bevor er von Makrophagen internalisiert wird. Sie spielt eine große Rolle auch beim Abbau einer Reihe von Proteinsubstanzen und bei der Erleichterung der Anheftung an Makrophagen, indem sie als Opsonin wirkt. Außerdem ist GP63 in der Lage das Komplementprotein C3b in seine inaktive Form C3bi zu spalten. Zusätzlich wurde es beobachtet, dass GP63 in *L. amazonensis* den Abbau von extrazellulärer Matrix und Basalmembranproteinen fördert, was dem Parasiten hilft, sich im Bindegewebe zu bewegen. Dies legt nahe, dass GP63 eine bedeutende Funktion bei der Infektion und Migration des Parasiten durch den Makrophagenkreislauf in tieferes Gewebe wie Milz und Leber spielt, um viszerale Leishmaniose zu verursachen. Die Zersetzung von

extrazellulären Matrixbestandteilen wie Kollagen, Fibronectin und Laminin durch GP63 in In-vitro-Experimenten bestätigt seine Rolle bei der Mobilität von Parasiten und der Entstehung von Infektionen (McGwire et al., 2003), (Yao et al., 2003).

Die Oberflächenprotease GP63 von *L. major* ist in der Lage, mehrere Wirtsproteine zu spalten, darunter auch Proteintyrosinphosphatasen, was zu einer Herunterregulierung der proinflammatorischen Reaktionen und der Antigenpräsentation führt (Liu et al., 2009). Es wurde kürzlich festgestellt, dass Leishmanien GP63 schnell in das intrazelluläre Milieu des Wirtsmakrophagen eindringen und dort die Proteintyrosinphosphatasen des Wirts aktivieren können (Gómez et al., 2009). Noch dazu wurde es festgestellt, dass durch die Aktivierung von PTP zahlreiche wichtige Signalkinasen, die an biochemischen Kaskaden beteiligt sind, dephosphoryliert und inaktiviert werden, wodurch Phagozyten entscheidende mikrobizide Aufgaben in der angeborenen Immunabwehr übernehmen können. Es wird vermutet, dass GP63 die Immunantwort des Säugetierwirts durch Hemmung der Antigenpräsentation auf Klasse-I-Molekülen beeinträchtigt. Auf diese Weise können die Parasiten eine Infektion etablieren, indem sie die Wirtszellen inaktivieren. Es wurde auch beobachtet, dass *L. major*-Parasiten ohne GP63 nicht in der Lage sind, die PTPs zu aktivieren, was zu einer Störung der Signalübertragung in den Makrophagen führt. Der Verlust von GP63 führt dazu, dass die Parasiten angeborene Entzündungsreaktionen auslösen, was ihre Fähigkeit zur Initiierung und Aufrechterhaltung der Infektion erheblich beeinträchtigt (Corradin et al., 2002), (Williams et al., 2006).

Hallé et al. (2009) haben die Effekte von Leishmanien auf die MAPK-Signalübertragung untersucht. Im Gegensatz zu p44/42 und JNK wurde p38 nach der Infektion auf eine Weise inaktiviert, die von GP63 und dem Proteinabbau abhängig ist, was wahrscheinlich die Spaltung des Upstream-Adaptors TAB1 beinhaltet. Deren Ergebnisse zeigten, dass GP63 eine zentrale Rolle bei verschiedenen molekularen Ereignissen in der Wirtszelle spielt, die vermutlich zur Infektiosität von Leishmanien beitragen.

Erstaunlicherweise wurde GP63, obwohl es als ein hochvirulenter Faktor der Leishmaniose bekannt ist, von Arzneimittelentwicklungsprojekten kaum berücksichtigt. Obwohl die Biochemie und Struktur von GP63 intensiv erforscht wurden, haben Forscher erst kürzlich begonnen, Protease-Inhibitoren für diese zu entwickeln. Corradin et al., (2002) entwickelten Peptid-Inhibitoren basierend auf MARCKS, einem

der Zielproteine von GP63. Allerdings konnten sie noch nicht nachweisen, dass diese Inhibitoren die Infektiosität von Leishmanien signifikant reduzieren.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die biotechnologische Herstellung von Proteaseinhibitoren, die sich auf die Hautoberflächenproteasen von Leishmanien oder Zink-Metalloproteasen konzentrieren, äußerst wirksam sein wird, um die Pathogenese von Leishmanien-Arten zu bekämpfen. Angesichts des begrenzten Forschungsstandes zu Medikamenten gegen Leishmanien, die sich auf bedeutende Oberflächenproteasen und Proteaseinhibitoren konzentrieren, könnten solche entscheidenden Proteasen als Ausgangspunkt für die Entwicklung effektiver Medikamente zur Behandlung der viszerale Leishmaniose dienen. Fortschritte in der Impfstoffentwicklung und Behandlung könnten dazu beitragen, eine erhebliche Morbidität und Mortalität durch diese Krankheit zu reduzieren (Sreedharan & Rao, 2023).

Es besteht daher noch erheblicher Bedarf an der Entwicklung wirksamer GP63-Inhibitoren, um Leishmaniose-Infektionen zu bekämpfen oder zumindest zu reduzieren, indem die Aktivierung des Makrophagen-Systems unterstützt wird.

5.3. *Serinpeptidasen*

Serinpeptidasen der S1A-Familie sind verdauungsfördernden Peptidasen und stellen die erste und stärkste Barriere für das Überleben des Parasiten im Mitteldarm der Sandfliege dar (Ramalho-Ortigão et al., 2010). Serinpeptidasen werden wegen ihrer möglichen Rolle für das Überleben und die Pathogenität von Parasiten eingehend untersucht. Ihre biochemische Charakterisierung ist nicht nur von Interesse, um die Biochemie dieser Enzyme zu verstehen, sondern auch, um einen Einblick in ihre mögliche Rolle bei der Parasiteninfektion zu erhalten und sie anschließend als Zielstrukturen für die Chemotherapie parasitärer Krankheiten zu nutzen (Rawlings & Barrett, 1994).

5.3.1. Struktur von Serinpeptidasen

Zu Serinpeptidasen gehören Exopeptidasen, Endopeptidasen, Oligopeptidasen und Omega-peptidasen. Auf der Grundlage der 3D-Strukturen lassen sich die meisten Serinpeptidase-Familien in etwa sechs Clans zusammenfassen, die möglicherweise gemeinsame Vorfahren haben. Die Strukturen sind für Mitglieder von vier dieser Clans bekannt: Chymotrypsin, Subtilisin, Carboxypeptidase C und Escherichia D-Ala-D-Ala Peptidase A. Die Peptidasen der Clans Chymotrypsin, Subtilisin und Carboxypeptidase C haben eine gemeinsame „katalytische Triade“ aus drei Aminosäuren, nämlich Serin, Aspartat und Histidin. Die geometrischen Orientierungen dieser Aminosäuren sind zwischen den Familien sehr ähnlich, aber die Proteinfalten sind recht unterschiedlich. Die Anordnung der katalytischen Reste in den linearen Sequenzen der Mitglieder der verschiedenen Familien spiegelt im Allgemeinen ihre Beziehungen auf Clanebene wieder. Die Reihenfolge der katalytischen Reste in der Polypeptidkette des SA-Klans ist His/Asp/Ser. Die Beiträge dieser Proteine zum Degradom sind auf eine katalytische Triade zurückzuführen, die aus Histidin-, Serin- und Asparaginsäureresten im aktiven Zentrum besteht. Die Katalyse der Peptidbindung erfolgt, wenn die Histidin- und Asparaginsäure-Reste mit einem Serin-Rest interagieren und eine Hydroxylgruppe deprotonieren. Danach erfolgt ein nukleophiler Angriff auf ein Carbonylkohlenstoffatom der Peptidbindung des Substrats (Erez et al., 2009), (Ferrerri et al., 2010).

5.3.2. Funktion von Serinpeptidasen

Die biologische Rolle der Serinproteasen im Lebenszyklus der Parasiten, insbesondere ihr Beitrag zum Infektionsprozess, zur Anpassung und zum Überleben in den Wirtszellen, wurde mit verschiedenen Ansätzen untersucht. Möglicherweise haben Serinproteasen mit der gleichen Domäne, jedoch mit leichten strukturellen Unterschieden, je nach der Physiologie des Parasiten unterschiedliche Aufgaben. Darüber hinaus können diese Enzyme mit Parasitenproteinen interagieren, die sich quantitativ (Anzahl der Interaktionen) und qualitativ (Art der Proteine) je nach Spezies unterscheiden (Alves et al., 2018).

Biologische Versuche zum Verständnis der Rolle von Serinproteasen bei *Leishmania* spp. wurden hauptsächlich mit *L. major*, *L. donovani* und *L. amazonensis* durchgeführt. Einige Serinproteasen, die zur Physiologie von *Leishmania* spp. beitragen, fungieren als Maturasen und spalten den aminoterminalen Teil der Signalpeptidsequenzen von Präproteinen, die durch biologische Membranen transloziert werden sollen. *L. major* kodiert für eine Typ-I-Serinpeptidase mit 180 Aminosäuren und einem Molekulargewicht von 20,5 kDa. Dieses Enzym wurde als verantwortlich für die Entfernung des Signalpeptids von Proteinen beschrieben, die in den intrazellulären oder extrazellulären Raum freigesetzt werden. Die entscheidende Rolle dieses Enzyms in der Parasitenphysiologie wurde durch die Verwendung einer spezifischen Mutante für diese Protease in *L. major* nachgewiesen, die eine deutlich verringerte Infektiosität in Makrophagen und die Unfähigkeit, kutane Läsionen in BALB/c-Mäusen zu verursachen, zeigte (Taheri et al., 2010). Ein weiteres Beispiel für Maturase in *Leishmania* spp. ist mit Oligopeptidase B (OPB) verwandt, das die reife Form von Enolase erzeugt, die an Wirtsplasminogen auf der Parasitenzelloberfläche binden kann (Seweryn, E. et al., 2007).

Oligopeptidase B (OPB) ist eine andere Serinpeptidase des Clans SC, Familie S9 (Munday et al., 2011). Sie wurde als ein wichtiger Virulenzfaktor bei *T. cruzi* angesehen, aber nur wenige Studien untersuchten ihre Rolle bei der Virulenz oder Infektiosität von *Leishmania*. Es wird angenommen, dass ein unbekanntes OPB-Produkt, das vom Parasiten sezerniert wird, an Rezeptoren der Wirtszelle bindet und die Freisetzung von Ca^{2+} auslöst. Die Mobilisierung von Ca^{2+} führt zur lysosomalen Exozytose und zur Unterbrechung der Aktinfilamente, die das Eindringen des Parasiten in die Zellen erleichtern (Burleigh et al., 1997), (Caler, 1998), (Rodriguez et al., 1995). Barbosa et al. (2022) haben eine rekombinante *L. amazonensis* OPB hergestellt und gezeigt, dass seine pH-Präferenzen, sein K_m -Wert und seine Hemmungsmuster denen ähnlich sind, die für *L. major* und *L. donovani* OPBs berichtet wurden. Da bekannt ist, dass Leishmanien OPB sezernieren, führten sie In-vitro-Infektionstests mit dem rekombinanten Enzym durch. Die Ergebnisse zeigten, dass aktives OPB die In-vitro-Infektion durch *L. amazonensis* erhöht, wenn es vor und während der Infektion vorhanden ist. Deren Ergebnisse deuten darauf hin, dass OPB für die Infektion mit *L. amazonensis* von Bedeutung ist und dass potenzielle Medikamente, die über OPB wirken, wahrscheinlich bei *Leishmania*-Arten der Alten

und Neuen Welt wirksam sind. OPB-Inhibitoren könnten schließlich für die Chemotherapie der Leishmaniose erforscht werden.

Die Aktivitäten der Serinpeptidasen, wenn sie von den Parasiten in Makrophagen freigesetzt werden, sind ebenfalls Gegenstand von Untersuchungen. Einige Studien deuten darauf hin, dass die von *L. donovani* sezernierten Serinpeptidasen die mikrobiziden Funktionen in Makrophagen modulieren und den Verlauf der Infektion beeinflussen können. Es wird eine Herabregulierung in den Makrophagen induziert, die über die COX-2-vermittelte Prostaglandin E2-Produktion und die Herabregulierung der TH1-Immunantwort die Entzündungsreaktion des Wirtes fördert (Das et al., 2014).

Serin-Peptidasen der Parasiten und ihre Inhibitoren im Wirt spielen eine wichtige Rolle bei der Wirt-Parasit-Interaktion (Lima & Mottram, 2010). Es wird berichtet, dass etwa 50-80 % der Parasiten während der frühen Verdauung der Blutmahlzeit durch Trypsin getötet werden (Pimenta et al., 1997). Serinpeptidasen regulieren Entzündungsreaktionen über die proteolytische Spaltung von Zytokinen, Chemokinen und Zellrezeptoren (Pham, 2008), (Wiedow & Meyer-Hoffert, 2005).

5.3.3. Serinpeptidaseninhibitoren (ISP)

Parasitäre Proteaseinhibitoren regulieren nicht nur ihre eigenen Proteasen, sondern schützen den eindringenden Organismus auch vor dem Abbau durch exogene Wirtsproteasen im feindlichen Wirtsmilieu (Knox, 2006). Parasiten kodieren mehrere Proteaseinhibitoren, darunter Serinproteaseinhibitoren (ISPs), die Serinproteasen des Immunsystems hemmen und physiologische Prozesse des Wirtes manipulieren, um ihr Überleben zu sichern (Zang & Maizels, 2001). Diese Inhibitoren regulieren Prozesse wie Gerinnung, Entzündung und Immunität (Abraham et al., 2005).

Bei Säugetieren wird ihre Aktivität durch natürlich vorkommende Peptidase-Aktivatoren oder -Inhibitoren wie Serpine streng reguliert, und die Störung des Peptidase-Inhibitor-Gleichgewichts kann zu einer Dysregulation von Entzündungsreaktionen führen (Guyot et al., 2014). Serpine bilden eine sehr große Klasse von Proteaseinhibitoren, die bei der Hemmung der Zielproteasen ihre Form in

einzigartiger Weise verändern. Auch die Wirkungsweise der verschiedenen Inhibitoren ist unterschiedlich (Huntington et al., 2000).

Inhibitoren von Serinpeptidasen von *L. donovani* hemmen Serinproteasen des Wirts anstelle ihrer eigenen (Alam et al., 2016). Die metazyklischen Promastigoten von *L. major*, denen ISP2 und ISP3 fehlen, werden nach ihrer Internalisierung von Makrophagen effizienter abgetötet, und die verbleibenden Promastigoten zeigten eine verzögerte intrazelluläre Entwicklung (Faria et al., 2011). Leishmanien fehlen Gene, die für S1A-Serinpeptidasen kodieren, und ISP2 hat sich als potenter Inhibitor von NE erwiesen (Eschenlauer et al., 2009), (Morrison et al., 2012), einer Peptidase, die in den azurophilen Granula von Neutrophilen und auf der Oberfläche von Monozyten und Makrophagen vorkommt. Die Hemmung der NE-Aktivität durch ISP2 während der *Leishmania*-Makrophagen-Interaktion *in vitro* verhindert die Aktivierung von TLR4-vermittelten Reaktionen, einschließlich der Produktion reaktiver Sauerstoffspezies, was das Überleben und die intrazelluläre Entwicklung des Parasiten begünstigt (Faria et al., 2011). Die ISP2-vermittelte Modulation der Phagozytose wurde auch mit dem Kinin-Signalweg in Verbindung gebracht, wobei vermutet wird, dass ISP die proinflammatorische Kinin-Freisetzung durch seine Hemmung von Oberflächenpeptidasen während der anfänglichen Parasitenaufnahme begrenzt (Svensjö et al., 2014).

Klassische Inhibitoren von Serinproteasen werden zur Charakterisierung und Untersuchung von *Leishmania* spp. eingesetzt. Endogene Serinprotease-Inhibitoren, die Ecotin-ähnlich sind, können modulierend auf Wirtsaktionen wirken. Rohe oder synthetisch hergestellte natürliche Serinproteaseinhibitoren wie Kartoffelknollenextrakt, *Stichodactyla helianthus* Proteaseinhibitor I, Fukugetin und Epoxy- α -Lapachon wirken jedoch auf parasitäre Serinproteasen und sind vielversprechende leishmanizide Wirkstoffe. Die funktionelle Wechselbeziehung zwischen Serinproteasen und anderen Proteinen von *Leishmania* spp. zeigt, dass diese Enzyme wesentliche Funktionen in der Physiologie des Parasiten haben und daher als Angriffspunkte für die Behandlung von Leishmaniose geeignet sind (Alves et al., 2018).

6. Strategie zur Medikamententwicklung

Für die Entwicklung neuer Medikamente auf der Grundlage von Parasitenproteasen muss das Zielprotein validiert werden, um die Bedeutung des entsprechenden Gens für das Überleben des Parasiten zu ermitteln. Daher sollte die Proteinstruktur mit experimentellen Methoden aufgeklärt oder mit Hilfe von Computerprogrammen vorhergesagt werden, gefolgt von einem Screening ausgewählter geeigneter Verbindungen, die auf ihre biologische Aktivität getestet werden können. Wenn die Verbindung die gewünschte Wirkung hat, kann sie in einem Mausmodell für Leishmaniose getestet werden. Zeigt die Verbindung keine zufriedenstellende Wirkung oder ist sie toxisch für die Wirtszellen, kann das Molekül durch Strategien der medizinischen Chemie oder durch Vektorisierung, z. B. mit Hilfe von Nanoformulierungen, optimiert werden (Machado et.al, 2019).

7. Conclusio:

Die Leishmaniose gilt als ernstes Problem der öffentlichen Gesundheit, und die derzeit verfügbare Therapie hat mehrere Nachteile, was die Suche nach neuen therapeutischen Zielen und alternativen Behandlungen äußerst notwendig macht.

Derzeit gibt es keine wirksamen Impfstoffe gegen die Leishmaniose beim Menschen, sodass die Bekämpfung der Krankheit in erster Linie auf einer Chemotherapie beruht. Keines der verfügbaren Medikamente kann jedoch aufgrund von hohen Kosten, Toxizität, Langzeitbehandlung, schweren Nebenwirkungen, Notwendigkeit eines Krankenhausaufenthalts zur Verabreichung aller Medikamente, geringer Wirksamkeit und vor allem durch die Entstehung von Arzneimittelresistenzen als ideal angesehen werden. Daher besteht ein dringender Bedarf an neuen Wirkstoffen mit signifikanter leishmanizider Wirkung und geringer Toxizität für den Wirt. Die Entwicklung neuer Behandlungsmethoden für diese vernachlässigte Tropenkrankheit hat daher eine Priorität.

Da die derzeit für die Leishmaniose-Behandlung eingesetzten Medikamente preislich und sicherheitstechnisch begrenzt sind, ist es von entscheidender Bedeutung zu wissen, wie sich der Parasit in der Wirtszelle verteidigt, um eine geeignete therapeutische Behandlung zu finden. Diesbezüglich werden Peptidasen und deren Hemmer als Zielmedikamente gegen Leishmaniaparasiten, als Chemotherapieansatz angesehen. Die Funktion dieser leishmanialen Peptidasen ist vielfältig. Die Bedeutung dieser Peptidasen liegt darin, dass sie entscheidend für die Pathogenität von Leishmania-Parasiten sind. Sie helfen den Parasiten, sich in den Wirtszellen zu vermehren, indem sie Proteine abbauen und Nährstoffe aufnehmen.

Sie können auch dazu beitragen, dass die Parasiten das Immunsystem des Wirts umgehen und sich vor Angriffen schützen. Darüber hinaus können einige Peptidasen an der Modulation von Entzündungsreaktionen und anderen zellulären Prozessen beteiligt sein. Durch die Hemmung dieser Enzyme könnte es möglich sein, die Vermehrung der Parasiten zu stoppen und die Ausbreitung der Krankheit zu kontrollieren. Daher sind leishmaniale Peptidasen ein vielversprechendes Ziel für die Entwicklung neuer Therapien gegen Leishmaniose.

8. Literaturverzeichnis

Abraham, E. G., Pinto, S. B., Ghosh, A. K., Vanlandingham, D. L., Budd, A., Higgs, S., Kafatos, F. C., Jacobs-Lorena, M., & Michel, K. (2005). An immune-responsive serpin, SRPN6, mediates mosquito defense against malaria parasites. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(45), 16327–16332. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508335102>

Akter, S., Alam, M. Z., Nakao, R., Yasin, G., Kato, H., & Katakura, K. (2016). Molecular and Serological Evidence of Leishmania Infection in Stray Dogs from Visceral Leishmaniasis–Endemic Areas of Bangladesh. *the American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 95(4), 795–799. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0151>

Alam, N., Das, P., De, T., & Chakraborti, T. (2016). Identification and characterization of a Leishmania donovani serine protease inhibitor: Possible role in regulation of host serine proteases. *Life Sciences*, 144, 218–225
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2015.12.004>

Alejandro, P., Noiva, R., Lee, N., Mohan, K. V. K., Nakhasi, H. L., & Debrabant, A. (2003). An Atypical Protein Disulfide Isomerase from the Protozoan Parasite Leishmania Containing a Single Thioredoxin-like Domain. *Journal of Biological Chemistry/ The Journal of Biological Chemistry*, 278(3), 1872–1878.
<https://doi.org/10.1074/jbc.m210322200>

Alexander, J., & Brombacher, F. (2012). T Helper1/T Helper2 Cells and Resistance/Susceptibility to Leishmania Infection: Is this paradigm still relevant? *Frontiers in Immunology*, 3. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00080>

Al-Khalaifah, H. (2022). Major molecular factors related to leishmania pathogenicity. *Frontiers in Immunology*, 13.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.847797>

Al-Khalaifah, H., & Al-Nasser, A. (2019). Immune response of molluscs. In *IntechOpen eBooks*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.81778>

Alvar, J., Aparicio, P., Aseffa, A., Boer, M. D., Cañavate, C., Dedet, J., Gradoni, L., Ter Horst, R., López-Vélez, R., & Moreno, J. (2008). The Relationship between Leishmaniasis and AIDS: the Second 10 Years. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(2), 334–359. <https://doi.org/10.1128/cmr.00061-07>

Alvar, J., Cañavate, C., Gutiérrez-Solar, B., Jiménez, M., Laguna, F. B., López-Vélez, R., Molina, R., & Moreno, J. (1997). Leishmania and human immunodeficiency virus coinfection: the first 10 years. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(2), 298–319. <https://doi.org/10.1128/cmr.10.2.298>

Alvar, J., Vélez, I. D., Bern, C., Herrero, M., Desjeux, P., Cano, J., Jannin, J., & Boer, M. D. (2012). Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PloS One*, 7(5), e35671. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035671>

Alves, C. R., Souza, R. S., Charret, K. D. S., De Castro Côrtes, L. M., De Sá-Silva, M. P., Barral-Veloso, L., De Oliveira, L. F. G., & Souza-Silva, F. (2018). Understanding serine proteases implications on Leishmania spp lifecycle. *Experimental Parasitology*, 184, 67–81. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2017.11.008>

Aseffa, A., Gummy, A., Launois, P., MacDonald, H. R., Louis, J., & Tacchini-Cottier, F. (2002). The Early IL-4 Response to Leishmania major and the Resulting Th2 Cell Maturation Steering Progressive Disease in BALB/c Mice Are Subject to the Control of Regulatory CD4⁺CD25⁺ T Cells. *the Journal of Immunology*, 169(6), 3232–3241. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.169.6.3232>

Awoke, T. D., Kassa, S. M., Morupisi, K. S., & Tsidu, G. M. (2024). Sex-structured disease transmission model and control mechanisms for visceral leishmaniasis (VL). *PloS One*, 19(4), e0301217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0301217>

Bahr, V., Stierhof, Y., Ilg, T., Demar, M., Quinten, M., & Overath, P. (1993). Expression of lipophosphoglycan, high-molecular weight phosphoglycan and glycoprotein 63 in promastigotes and amastigotes of *Leishmania mexicana*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 58(1), 107–121. [https://doi.org/10.1016/0166-6851\(93\)90095-f](https://doi.org/10.1016/0166-6851(93)90095-f)

Banerjee, S., Bhattacharya, P., Joshi, A. B., Ismail, N., Dey, R., & Nakhasi, H. L. (2016). Role of pro-inflammatory cytokine IL-17 in *Leishmania* pathogenesis and in protective immunity by *Leishmania* vaccines. *Cellular Immunology*, 309, 37–41. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2016.07.004>

Barbosa, G. R., Marana, S. R., & Stolf, B. S. (2022). Characterization of *Leishmania* (L.) amazonensis oligopeptidase B and its role in macrophage infection. *Parasitology*, 149(11), 1411–1418. <https://doi.org/10.1017/s0031182022000816>

Bates, P. A., & Rogers, M. E. (2004). New Insights into the Developmental Biology and Transmission Mechanisms of *Leishmania*. *Current Molecular Medicine*, 4(6), 601–609. <https://doi.org/10.2174/1566524043360285>

Belkaid, Y., Piccirillo, C. A., Méndez, S., Shevach, E. M., & Sacks, D. L. (2002). CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells control *Leishmania* major persistence and immunity. *Nature*, 420(6915), 502–507. <https://doi.org/10.1038/nature01152>

Belkaid, Y., Von Stebut, E., Méndez, S., Lira, R., Caler, E., Bertholet, S., Udey, M. C., & Sacks, D. L. (2002). CD8⁺ T Cells Are Required for Primary Immunity in C57BL/6 Mice Following Low-Dose, Intradermal Challenge with *Leishmania major*. *the Journal of Immunology*, 168(8), 3992–4000. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.168.8.3992>

Berman, J. D. (1997). Human leishmaniasis: clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years. *Clinical Infectious Diseases/Clinical Infectious Diseases (Online. University of Chicago. Press)*, 24(4), 684–703. <https://doi.org/10.1093/clind/24.4.684>

Besteiro, S., Coombs, G. H., & Mottram, J. C. (2004). A potential role for ICP, a leishmanial inhibitor of cysteine peptidases, in the interaction between host and parasite. *Molecular Microbiology*, 54(5), 1224–1236. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04355.x>

Beyzay, F., Hosseini, A. Z., Hazrati, A., Karimi, M., & Soudi, S. (2023). Autophagy induced macrophages by α -alumina(α -AL₂O₃) conjugated cysteine peptidase, enhances the cytotoxic activity of CD8⁺ T lymphocytes against *Leishmania major*. *Bioimpacts*, 13, 393. <https://doi.org/10.34172/bi.2023.25282>

Boelaert, M., Criel, B., Leeuwenburg, J., Van Damme, W., Ray, D. L., & Van Der Stuyft, P. (2000). Visceral leishmaniasis control: a public health perspective. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 94(5), 465–471. [https://doi.org/10.1016/s0035-9203\(00\)90055-5](https://doi.org/10.1016/s0035-9203(00)90055-5)

Brix, K., & Stöcker, W. (2013). Proteases: structure and function. <https://doi.org/10.1007/978-3-7091-0885-7>

Burleigh, B. A., Caler, E., Webster, P., & Andrews, N. W. (1997). A Cytosolic Serine Endopeptidase from *Trypanosoma cruzi* Is Required for the Generation of Ca²⁺ Signaling in Mammalian Cells. *the Journal of Cell Biology/the Journal of Cell Biology*, 136(3), 609–620. <https://doi.org/10.1083/jcb.136.3.609>

Burza, S., Croft, S. L. & Boelaert, M. (2018). Leishmaniasis. *The Lancet*, 392(10151), 951–970. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(18\)31204-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(18)31204-2)

Caler, E. (1998). Oligopeptidase B-dependent signaling mediates host cell invasion by *Trypanosoma cruzi*. *EMBO Journal*, 17(17), 4975–4986. <https://doi.org/10.1093/emboj/17.17.4975>

CDC - Leishmaniasis - Epidemiology & Risk factors, (2020). (o. D.). <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/epi.html>

Corradin, S. B., Ransijn, A., Corradin, G., Bouvier, J., Delgado, M. B., Fernández-Carneado, J., Mottram, J. C., Vergères, G., & Mauël, J. (2002). Novel peptide inhibitors of Leishmania gp63 based on the cleavage site of MARCKS (myristoylated alanine-rich C kinase substrate)-related protein. *Biochemical Journal*, 367(3), 761–769. <https://doi.org/10.1042/bj20020386>

Cota, G., De Sousa, M. R., De Mendonça, A. L. P., Patrocinio, A., Assunção, L. S., De Faria, S. R., & Rabello, A. (2014). Leishmania-HIV co-infection: clinical presentation and outcomes in an urban area in Brazil. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(4), e2816. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002816>

Coulombe, R., Grochulski, P., Sivaraman, J., Ménard, R., Mort, J. S., & Cygler, M. (1996). Structure of human procathepsin L reveals the molecular basis of inhibition by the prosegment. *EMBO Journal*, 15(20), 5492–5503. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1996.tb00934.x>

Das P, Alam MN, Paik D, Karmakar K, De T, Chakraborti T. Protease inhibitors in potential drug development for Leishmaniasis. *Indian J Biochem Biophys*. 2013 Oct;50(5):363-76. PMID: 24772958.

Das P, De T, Chakraborti T. Leishmania donovani secretory serine protease alters macrophage inflammatory response via COX-2 mediated PGE-2 production. *Indian J Biochem Biophys*. 2014 Dec;51(6):542-51. PMID: 25823228.

Desjeux, P. (1996). Leishmaniasis. *Clinics in Dermatology*, 14(5), 417–423. [https://doi.org/10.1016/0738-081x\(96\)00057-0](https://doi.org/10.1016/0738-081x(96)00057-0)

Diro, E., Lynen, L., Ritmeijer, K., Boelaert, M., Hailu, A., & Van Griensven, J. (2014). Visceral leishmaniasis and HIV coinfection in East Africa. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 8(6), e2869. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002869>

Dostalova, A., & Volf, P. (2012). Leishmania development in sand flies: parasite-vector interactions overview. *Parasites & Vectors*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-276>

Elmahallawy, E. K., & Alkhaldi, A. a. M. (2021). Insights into Leishmania Molecules and Their Potential Contribution to the Virulence of the Parasite. *Veterinary Sciences*, 8(2), 33. <https://doi.org/10.3390/vetsci8020033>

Erez, E., Fass, D., & Bibi, E. (2009). How intramembrane proteases bury hydrolytic reactions in the membrane. *Nature*, 459(7245), 371–378. <https://doi.org/10.1038/nature08146>

Eschenlauer, S. C., Faria, M. S., Morrison, L. S., Bland, N., Ribeiro-Gomes, F. L., DosReis, G. A., Coombs, G. H., Lima, A. P., & Mottram, J. C. (2009). Influence of parasite encoded inhibitors of serine peptidases in early infection of macrophages with *Leishmania major*. *Cellular Microbiology*, 11(1), 106–120. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2008.01243.x>

Faria, M. S., Reis, F. C. G., Azevedo-Pereira, R. L., Morrison, L. S., Mottram, J. C., & Lima, A. P. (2011). Leishmania inhibitor of serine peptidase 2 prevents TLR4 activation by neutrophil elastase promoting parasite survival in murine macrophages. *the Journal of Immunology*, 186(1), 411–422. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1002175>

Ferreri, A. J., Illerhaus, G., Zucca, E., & Cavalli, F. (2010). Flows and flaws in primary central nervous system lymphoma. *Nature Reviews. Clinical Oncology*, 7(8), 1–2. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2010.9-c1>

Freitas-Mesquita, A. L., Dos-Santos, A. L., & Meyer-Fernandes, J. R. (2021). Involvement of Leishmania phosphatases in parasite biology and pathogeny. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.633146>

Glennie, N. D., Volk, S. W., & Scott, P. (2017). Skin-resident CD4+ T cells protect against *Leishmania major* by recruiting and activating inflammatory monocytes. *PLOS Pathogens*, 13(4), e1006349. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006349>

Gómez, M. A., Contreras, I., Hallé, M., Tremblay, M. L., McMaster, R., & Olivier, M. (2009). Leishmania GP63 alters host signaling through Cleavage-Activated protein tyrosine phosphatases. *Science Signaling*, 2(90).
<https://doi.org/10.1126/scisignal.2000213>

Gürel, M. S., Tekin, B., & Uzun, S. (2020). Cutaneous leishmaniasis: A great imitator. *Clinics in Dermatology*, 38(2), 140–151.
<https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2019.10.008>

Guyot, N., Wartelle, J., Malleret, L., Todorov, A. A., Devouassoux, G., Pachéco, Y., Jenne, D. E., & Belaaouaj, A. (2014). Unopposed cathepsin G, neutrophil elastase, and proteinase 3 cause severe lung damage and emphysema. *the American Journal of Pathology*, 184(8), 2197–2210.
<https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2014.04.015>

Hallé, M., Gómez, M. A., Stuiblé, M., Shimizu, H., McMaster, W. R., Olivier, M., & Tremblay, M. L. (2009). The Leishmania Surface Protease GP63 Cleaves Multiple Intracellular Proteins and Actively Participates in p38 Mitogen-activated Protein Kinase Inactivation. *Journal of Biological Chemistry/the Journal of Biological Chemistry*, 284(11), 6893–6908. <https://doi.org/10.1074/jbc.m805861200>

Horta, M. F., Mendes, B. P., Roma, E. H., Noronha, F. S., De Macêdo, J. P., De Oliveira, L. S., Duarte, M. M., & Vieira, L. Q. (2012). Reactive oxygen species and nitric oxide in cutaneous leishmaniasis. *Journal of Parasitology Research*, 2012, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2012/203818>

Huntington, J. A., Read, R. J., & Carrell, R. W. (2000). Structure of a serpin–protease complex shows inhibition by deformation. *Nature*, 407(6806), 923–926. <https://doi.org/10.1038/35038119>

Kaye, P. M., & Scott, P. (2011). Leishmaniasis: complexity at the host–pathogen interface. *Nature Reviews Microbiology*, 9(8), 604–615.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro2608>

Klaus, S. N., Frankenburg, S., & Ingber, A. (1999). Epidemiology of cutaneous leishmaniasis. *Clinics in Dermatology*, 17(3), 257–260. [https://doi.org/10.1016/s0738-081x\(99\)00043-7](https://doi.org/10.1016/s0738-081x(99)00043-7)

Knox, D. (2006). Proteinase inhibitors and helminth parasite infection. *Parasite Immunology*, 29(2), 57–71. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2006.00913.x>

Lee, R., De Puig, H., Nguyen, P. Q., Angenent-Mari, N. M., Donghia, N. M., McGee, J. P., Dvorin, J. D., Klapperich, C. M., Pollock, N. R., & Collins, J. J. (2020). Ultrasensitive CRISPR-based diagnostic for field-applicable detection of Plasmodium species in symptomatic and asymptomatic malaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(41), 25722–25731. <https://doi.org/10.1073/pnas.2010196117>

Lima, A. P. C. A., & Mottram, J. C. (2010). Trypanosomatid-Encoded Inhibitors of peptidases: unique structural features and possible roles as virulence factors. *the Open Parasitology Journal*, 4(1), 132–138. <https://doi.org/10.2174/1874421401004010132>

Liu, D., Kébaïer, C., Pakpour, N., Capul, A. A., Beverley, S. M., Scott, P., & Uzonna, J. E. (2009). Leishmania major Phosphoglycans Influence the Host Early Immune Response by Modulating Dendritic Cell Functions. *Infection and Immunity*, 77(8), 3272–3283. <https://doi.org/10.1128/iai.01447-08>

Machado, P., Carneiro, M. P. D., De Jesus Sousa-Batista, A., Lopes, F. J. P., Lima, A. P., Chaves, S. P., Soderó, A. C. R., & De Matos Guedes, H. L. (2019). Leishmanicidal therapy targeted to parasite proteases. *Life Sciences*, 219, 163–181. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.01.015>

Magill, A. J. (1995). Epidemiology of the Leishmaniases. *Dermatologic Clinics*, 13(3), 505–523. [https://doi.org/10.1016/s0733-8635\(18\)30058-5](https://doi.org/10.1016/s0733-8635(18)30058-5)

Mansueto, P., Seidita, A., Vitale, G., & Cascio, A. (2014). Transfusion transmitted leishmaniasis. What to do with blood donors from endemic areas? *Travel Medicine and Infectious Disease*, 12(6), 617–627. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2014.10.011>

McConville, M. J., & Handman, E. (2007). The molecular basis of Leishmania pathogenesis. *International Journal for Parasitology*, 37(10), 1047–1051. [https://doi.org/10.1016/s0020-7519\(07\)00216-0](https://doi.org/10.1016/s0020-7519(07)00216-0)

McGwire, B. S., Chang, K., & Engman, D. M. (2003). Migration through the Extracellular Matrix by the Parasitic Protozoan Leishmanials Enhanced by Surface Metalloprotease gp63. *Infection and Immunity*, 71(2), 1008–1010. <https://doi.org/10.1128/iai.71.2.1008-1010.2003>

McMahon-Pratt, D., & Alexander, J. (2004b). Does the Leishmania major paradigm of pathogenesis and protection hold for New World cutaneous leishmaniasis or the visceral disease? *Immunological Reviews*, 201(1), 206–224. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2004.00190.x>

Meinecke, C. K., Schottelius, J. G., Oskam, L., & Fleischer, B. (1999). Congenital transmission of visceral leishmaniasis (KALA Azar) from an asymptomatic mother to her child. *Pediatrics*, 104(5), e65. <https://doi.org/10.1542/peds.104.5.e65>

Mh, M., Cj, M., & Wr, M. (1995). Analysis of the active site and activation mechanism of the Leishmania surface metalloproteinase GP63. *Biochimica Et Biophysica Acta. Proteins and Proteomics*, 1253(2), 199–207. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(95\)00155-5](https://doi.org/10.1016/0167-4838(95)00155-5)

Mishra, R., Daga, M. K., & Rohatgi, I. (2021). Leishmaniasis. *Indian Journal of Critical Care Medicine*, 25(S2), S166–S170. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10071-23844>

Morrison, L. S., Goundry, A., Faria, M. S., Tetley, L., Eschenlauer, S. C., Westrop, G. D., Dostálová, A., Volf, P., Coombs, G. H., Lima, A. P., & Mottram, J. C. (2012). Ecotin-like serine peptidase inhibitor ISP1 of Leishmania major plays a role in flagellar pocket

dynamics and promastigote differentiation. *Cellular Microbiology*, 14(8), 1271–1286. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2012.01798.x>

Mottram, J. C., Brooks, D. R., & Coombs, G. H. (1998). Roles of cysteine proteinases of trypanosomes and Leishmania in host-parasite interactions. *Current Opinion in Microbiology*, 1(4), 455–460. [https://doi.org/10.1016/s1369-5274\(98\)80065-9](https://doi.org/10.1016/s1369-5274(98)80065-9)

Mottram, J. C., Coombs, G. H., & Alexander, J. (2004). Cysteine peptidases as virulence factors of Leishmania. *Current Opinion in Microbiology*, 7(4), 375–381. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2004.06.010>

Mottram, J. C., Frame, M., Brooks, D. R., Tetley, L., Hutchison, J., Souza, A. E., & Coombs, G. H. (1997). The Multiple cpb Cysteine Proteinase Genes of Leishmania mexicana Encode Isoenzymes That Differ in Their Stage Regulation and Substrate Preferences. *Journal of Biological Chemistry/the Journal of Biological Chemistry*, 272(22), 14285–14293. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.22.14285>

Mottram, J. C., Souza, A. E., Hutchison, J., Carter, R., Frame, M., & Coombs, G. H. (1996). Evidence from disruption of the Imcpb gene array of Leishmania mexicana that cysteine proteinases are virulence factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(12), 6008–6013. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.12.6008>

Müller, I., Kropf, P., Louis, J., & Milon, G. (1994). Expansion of gamma interferon-producing CD8+ T cells following secondary infection of mice immune to Leishmania major. *Infection and Immunity*, 62(6), 2575–2581. <https://doi.org/10.1128/iai.62.6.2575-2581.1994>

Müller-Esterl, W. (2017). Biochemie: Eine Einführung für Mediziner und Naturwissenschaftler - Unter Mitarbeit von Ulrich Brandt, Oliver Anderka, Stefan Kerscher, Stefan Kieß und Katrin Ridinger. Springer-Verlag.

Munday, J. C., McLuskey, K., Brown, E., Coombs, G. H., & Mottram, J. C. (2011). Oligopeptidase B deficient mutants of *Leishmania major*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 175(1), 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2010.09.003>

Myburgh, E., Coombs, G. H., & Mottram, J. C. (2013). *Leishmania* CPA, CPB and CPC cysteine proteases. In *Elsevier eBooks* (pp. 1923–1928). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-382219-2.00439-7>

Naderer, T., & McConville, M. J. (2011b). Intracellular growth and pathogenesis of *Leishmania* parasites. *Essays in Biochemistry*, 51, 81–95. <https://doi.org/10.1042/bse0510081>

Oliveira, F., Jochim, R. C., Valenzuela, J. G., & Kamhawi, S. (2009). Sand flies, *Leishmania*, and transcriptome-borne solutions. *Parasitology International*, 58(1), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2008.07.004>

Omondi, Z. N., Arserim, S. K., Töz, S., & Özbel, Y. (2022). Host–Parasite interactions: Regulation of *Leishmania* infection in sand fly. *Acta Parasitologica*, 67(2), 606–618. <https://doi.org/10.1007/s11686-022-00519-3>

Pham, C. (2008). Neutrophil serine proteases fine-tune the inflammatory response. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 40(6–7), 1317–1333. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2007.11.008>

Pimenta, P. F. P., Modi, G. B., Pereira, S. T., Shahabuddin, M., & Sacks, D. L. (1997). A novel role for the peritrophic matrix in protecting *Leishmania* from the hydrolytic activities of the sand fly midgut. *Parasitology*, 115(4), 359–369. <https://doi.org/10.1017/s0031182097001510>

Pintado, V., Martín-Rabadán, P., Rivera, M. L., Moreno, S., & Bouza, E. (2001). Visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus (HIV)-Infected and Non-HIV-Infected patients. *Medicine*, 80(1), 54–73. <https://doi.org/10.1097/00005792-200101000-00006>

Ramalho-Ortigão, M., Saraiva, E. M., & Traub-Csekö, Y. M. (2010). Sand Fly-Leishmania Interactions: Long Relationships are Not Necessarily Easy. *the Open Parasitology Journal*, 4(1), 195–204. <https://doi.org/10.2174/1874421401004010195>

Ramamoorthy, R., Donelson, J. E., Paetz, K. E., Maybodi, M., Roberts, S. C., & Wilson, M. E. (1992). Three distinct RNAs for the surface protease gp63 are differentially expressed during development of Leishmania donovani chagasi promastigotes to an infectious form. *Journal of Biological Chemistry/the Journal of Biological Chemistry*, 267(3), 1888–1895. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)46030-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)46030-9)

Rawat, A., Roy, M., Jyoti, A., Kaushik, S., Verma, K. S., & Srivastava, V. K. (2021). Cysteine proteases: Battling pathogenic parasitic protozoans with omnipresent enzymes. *Microbiological Research*, 249, 126784. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126784>

Rawlings, N. D. (2010). Peptidase inhibitors in the MEROPS database. *Biochimie*, 92(11), 1463–1483. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2010.04.013>

Rawlings, N. D., & Barrett, A. J. (1994). [2] Families of serine peptidases. In *Methods in enzymology on CD-ROM/Methods in enzymology* (pp. 19–61). [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(94\)44004-2](https://doi.org/10.1016/0076-6879(94)44004-2)

Rawlings, N. D., & Barrett, A. J. (2013). Introduction. In *Elsevier eBooks* (pp. 1743–1773). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-382219-2.00404-x>

Rawlings, N. D., Barrett, A. J., & Bateman, A. (2009). MEROPS: the peptidase database. *Nucleic Acids Research*, 38(suppl_1), D227–D233. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp971>

Rawlings, N. D., Morton, F., Kok, C. Y., Kong, J., & Barrett, A. J. (2007). MEROPS: the peptidase database. *Nucleic Acids Research*, 36(Database), D320–D325. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm954>

Reithinger, R., Dujardin, J., Louzir, H., Pirmez, C., Alexander, B., & Brooker, S. (2007). Cutaneous leishmaniasis. *The Lancet Infectious Diseases*, 7(9), 581–596. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(07\)70209-8](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(07)70209-8)

Reus S, Sánchez R, Portilla J, Boix V, Priego M, Merino E, Román F. Visceral leishmaniasis: a comparative study of patients with and without human immunodeficiency virus infection. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 1999 Dec;17(10):515-20. PMID: 10650648.

Ruiz, J. L. J., & Becker, I. (2007). CD8 cytotoxic T cells in cutaneous leishmaniasis. *Parasite Immunology*, 29(12), 671–678. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2007.00991.x>

Sajid, M., & McKerrow, J. H. (2002). Cysteine proteases of parasitic organisms☆. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 120(1), 1–21. [https://doi.org/10.1016/s0166-6851\(01\)00438-8](https://doi.org/10.1016/s0166-6851(01)00438-8)

Sakanari, J., Nadler, S. A., Chan, V. J., Engel, J. C., Leptak, C., & Bouvier, J. (1997). *Leishmania major*: Comparison of the Cathepsin L- and B-like Cysteine Protease Genes with Those of Other Trypanosomatids. *Experimental Parasitology*, 85(1), 63–76. <https://doi.org/10.1006/expr.1996.4116>

Sampaio, R. N. R., Ferreira, M. F., Martins, S. S., & De Oliveira Carneiro Da Motta, J. (2021). Successful treatment of diffuse cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania amazonensis*. *Anais Brasileiros De Dermatologia*, 96(5), 602–604. <https://doi.org/10.1016/j.abd.2021.03.003>

Seweryn, Ewa, and Jadwiga Pietkiewicz, and Agnieszka Szamborska, and Andrzej, Gamian. "Enolase on the surface of prokaryotic and eukaryotic cells is a receptor for human plasminogen". *Advances in Hygiene and Experimental Medicine* 61 2007: 672-682.

Silva, S. C. S. P. E., Palace-Berl, F., Tavares, L. C., Soares, S. R., & Lindoso, J. Â. L. (2016). Effects of nitro-heterocyclic derivatives against *Leishmania* (*Leishmania*)

infantum promastigotes and intracellular amastigotes. *Experimental Parasitology*, 163, 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2016.01.007>

Sreedharan, V., & Rao, K. V. B. (2023). Protease inhibitors as a potential agent against visceral Leishmaniasis: A review to inspire future study. *the Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 27(1), 102739. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2022.102739>

Svensjö, E., Almeida, L. N., Vellasco, L., Juliano, L., & Scharfstein, J. (2014). Ecotin-Like ISP of *L. major* Promastigotes Fine-Tunes Macrophage Phagocytosis by Limiting the Pericellular Release of Bradykinin from Surface-Bound Kininogens: A Survival Strategy Based on the Silencing of Proinflammatory G-Protein Coupled Kinin B2 and B1 Receptors. *Mediators of Inflammation*, 2014, 1–12.

<https://doi.org/10.1155/2014/143450>

Taheri, T., Salmanian, A., Gholami, E., Doustdari, F., Zahedifard, F., & Rafati, S. (2010). *Leishmania major*: Disruption of signal peptidase type I and its consequences on survival, growth and infectivity. *Experimental Parasitology*, 126(2), 135–145. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2010.04.009>

Ter Horst, R., Collin, S. M., Ritmeijer, K., Bogale, A., & Davidson, R. N. (2008). Concordant HIV infection and visceral leishmaniasis in Ethiopia: the influence of antiretroviral treatment and other factors on outcome. *Clinical Infectious Diseases*, 46(11), 1702–1709. <https://doi.org/10.1086/587899>

Tiuman, T. S., Falcão, A., Ueda-Nakamura, T., & Filho, B. P. D. (2011). Recent advances in leishmaniasis treatment. *International Journal of Infectious Diseases*, 15(8), e525–e532. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2011.03.021>

Van Griensven, J., & Diro, E. (2012). Visceral leishmaniasis. *Infectious Disease Clinics of North America*, 26(2), 309–322. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2012.03.005>

Van Zandbergen, G., Klinger, M., Mueller, A., Dannenberg, S., Gebert, A., Solbach, W., & Laskay, T. (2004). Cutting Edge: Neutrophil Granulocyte Serves as a Vector for *Leishmania* Entry into Macrophages. *Journal of Immunology*, 173(11), 6521–6525. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.11.6521>

Verma, S., Dixit, R., & Pandey, K. C. (2016). Cysteine proteases: Modes of activation and future prospects as pharmacological targets. *Frontiers in Pharmacology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00107>

Wiedow, O., & Meyer-Hoffert, U. (2005). Neutrophil serine proteases: potential key regulators of cell signalling during inflammation. *Journal of Internal Medicine*, 257(4), 319–328. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2005.01476.x>

Wiese, M. (1998). A mitogen-activated protein (MAP) kinase homologue of *Leishmania mexicana* is essential for parasite survival in the infected host. *EMBO Journal*, 17(9), 2619–2628. <https://doi.org/10.1093/emboj/17.9.2619>

Williams, R., Tetley, L., Mottram, J. C., & Coombs, G. H. (2006). Cysteine peptidases CPA and CPB are vital for autophagy and differentiation in *Leishmania mexicana*. *Molecular Microbiology*, 61(3), 655–674. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05274.x>

World Health Organization: WHO. (2021, 31. Januar). *Leishmaniasis*. https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1

World Health Organization: WHO. (2023, January 12). *Leishmaniasis*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>

Yao, C., Donelson, J. E., & Wilson, M. E. (2003). The major surface protease (MSP or GP63) of *Leishmania* sp. Biosynthesis, regulation of expression, and function. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 132(1), 1–16. [https://doi.org/10.1016/s0166-6851\(03\)00211-1](https://doi.org/10.1016/s0166-6851(03)00211-1)

Zadeh–Vakili, A., Taheri, T., Taslimi, Y., Doustdari, F., Salmanian, A., & Rafati, S. (2004). Immunization with the hybrid protein vaccine, consisting of *Leishmania* major cysteine proteinases Type I (CPB) and Type II (CPA), partially protects against leishmaniasis. *Vaccine*, 22(15–16), 1930–1940. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2003.11.014>

Zang, X., & Maizels, R. M. (2001). Serine proteinase inhibitors from nematodes and the arms race between host and pathogen. *Trends in Biochemical Sciences*, 26(3), 191–197. [https://doi.org/10.1016/s0968-0004\(00\)01761-8](https://doi.org/10.1016/s0968-0004(00)01761-8)

Zijlstra, E., Musa, A., Khalil, E. a. G., Hassan, I. M. E., & Elhassan, A. M. (2003). Post-kala-azar dermal leishmaniasis. *The Lancet Infectious Diseases*, 3(2), 87–98. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(03\)00517-6](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(03)00517-6)

9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Verbreitung der kutanen Leishmaniose weltweit (WHO, 2021).....	3
Abbildung 2: Verbreitung der viszeralen Leishmaniose weltweit (WHO, 2021)	4
Abbildung 3: Lebenszyklus der Leishmanien (Kaye & Scott, 2011).....	11

10. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Unterschiede der 3 wichtigsten Formen der Leishmaniose (Eigene Darstellung)	9
Tabelle 2: Hauptfamilien von Proteasen. Angegeben sind essenzielle Reste im katalytischen Zentrum und prominente Vertreter der jeweiligen Familie (Müller-Esterl, 2017)	18

11. Abkürzungsverzeichnis

α-Al₂O₃	-	alpha-Aluminiumoxid
CL	-	Kutane Leishmaniose
COX-2	-	Cyclooxygenase-2
CP	-	Cysteinpeptidase
CPA	-	Cysteinpeptidase A
CPB	-	Cysteinpeptidase B
CPC	-	Cysteinpeptidase C
CRISPR	-	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
DCL	-	Diffuse kutane Leishmaniose
DNA	-	Desoxyribonukleinsäure
HAART	-	Hochaktive antiretrovirale Therapie
HAcP	-	Saure Histidin-Phosphatase
HIV	-	Humanes Immundefizienz-Virus
ICP	-	Cysteinpeptidaseinhibitor
IFN-γ	-	Interferon-gamma
IL	-	Interleukin
ISP	-	Serinproteaseinhibitor
JNK	-	c-Jun-N-Kinase
kDa	-	Kilodalton
Km	-	Michaelis-Menten-Konstante
L.	-	Leishmaniose
MAP	-	Mitogen-activated protein
MAPK	-	Mitogen-activated protein kinase
MCL	-	Mukokutane Leishmaniose
ML	-	Mukosale Leishmaniose
MSP	-	Major Surface Protein
NE	-	Neutrophile Elastase
NO	-	Stickstoffmonoxid
OPB	-	Oligopeptidase B
ORF	-	Open Reading Frame
PBMC	-	Mononukleäre Zellen des peripheren Blutes
PCR	-	Polymerase-Kettenreaktion

PKDL	-	Post-Kala-Azar-Leishmaniose
PM	-	Peritrophischen Membran
PTP	-	Protein-Tyrosin-Phosphatase
PTP1B	-	Protein-tyrosin-Phosphatase 1B
ROS	-	Reaktive Sauerstoffspezies
SAP	-	Secreted Acid Phosphatase
STP	-	Serin/Threonin-spezifische Proteinphosphatase
T. cruzi	-	Trypanosoma cruzi
TCPTC	-	T-Zell-Protein-Tyrosin-Phosphatase
TH	-	T-Helfer-Zelle
TLR4	-	Toll-like-Rezeptor-4
TNF-α	-	Tumor-Nekrose-Faktor- α
VL	-	Viszerale Leishmaniose
