



Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-17-0410**

Objasnenie imunomodulačných účinkov DLE (dialyzovateľný leukocytárny extrakt) pri liečbe myší s parazitárnymi infekciami imunosupresívneho charakteru

Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Gabriela Hrčková, DrSc.**

Príjemca **Parazitologický ústav SAV, v. v. i.**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Parazitologický ústav SAV, v.v.i.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Mikrobiologický ústav AV ČR, Praha, Česká Republika

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

Projekt mal charakter základného výskumu a v rámci riešenia nevznikli priame aplikačné výstupy.

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

Publikácie v časopisoch registrovaných v WOS: 6

1. CIGLANOVÁ, D., JURČACKOVÁ, Z., MUDROŇOVÁ, D., DVOROŽŇÁKOVÁ, E., HRČKOVÁ, G.* Differential activity of human leukocyte extract on systemic immune response and cyst growth in mice with *Echinococcus multilocularis* infection after oral, subcutaneous and intraperitoneal routes of administration. In: HELMINTHOLOGIA, 59, 4: 341 – 356, 2022. DOI 10.2478/helm-2022-0038
2. HRČKOVÁ, G., MAČAK KUBAŠKOVÁ, T., MUDROŇOVÁ, D., JURČACKOVÁ, Z., CIGLÁNOVÁ, D., BIEDERMANN, D. Co-treatment with human leukocyte extract and albendazole stimulates drug's efficacy and Th1 biased immune response in *Mesocestoides vogae* (Cestoda) infection via modulation of transcription factors, macrophage polarization, and cytokine profiles. In: PHARMACEUTICS, 2023 open access (6,5 - IF 2022, Q1 – SJR, Q1- JCR) (in press).
3. FAIXOVÁ, D., HRČKOVÁ, G., MAČAK KUBAŠKOVÁ, T., MUDROŇOVÁ, D.: Antiparasitic effects of selected isoflavones on flatworms. In : HELMINTHOLOGIA, 2021, vol. 58, číslo 1: str.1-16. (1.184 – IF 2020, Q3 - JCR, 0.378 – SJR)
4. MAČAK KUBAŠKOVÁ, T., MUDROŇOVÁ, D., VARGOVÁ, M., REITEROVÁ, K., HRČKOVÁ, G.* Cellular and humoral peritoneal immunity to *Mesocestoides vogae* metacestode infection in mice. In: PARASITES & VECTORS, 2021, (Open access). <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04541-0>, (3,43- IF 2019/2020, Q1 – SJR, Q1- JCR)
5. MAČAK KUBAŠKOVÁ, T., MUDROŇOVÁ, D., GERGEL'-ČECHOVÁ, M., HRČKOVÁ, G. Differential sensitivity of myeloid and lymphoid cell populations to apoptosis in peritoneal

cavity of mice with model larval *Mesocestoides vogae* infection. In: HELMINTHOLOGIA, 2019, vol.56, no.3, pp.183-195. (Open access). DOI: 10.2478/helm-2019-0021
6. HRČKOVÁ, G., MAČAK KUBAŠKOVÁ, T., MUDROŇOVÁ, D. BARDELČÍKOVÁ, A. Concentration-dependent effect of silymarin on concanavalin A-stimulated mouse spleen cells in vitro. In: EUROPEAN PHARMACEUTICAL JOURNAL. 2020 (ahead of print). (Open access) DOI: 10.2478/afpuc-2020-0003

Aktívna účasť na medzinárodných konferenciách:

HRČKOVÁ, G., MAČAK KUBAŠKOVÁ, T., MUDROŇOVÁ, D. Immunomodulatory activity of human blood leukocytes-derived low molecular weight dialyzable extract and albendazole on the local and systemic immune response during parasitic infection induced by *Mesocestoides vogae* in mice. In book of abstracts (online). 4th World Congress and Expo on Immunology. Crowne Plaza Dubai, UAE, October 11-12, 2019.

MAČAK KUBAŠKOVÁ, T., HRČKOVÁ, G., MUDROŇOVÁ, D. Combination therapy with albendazole and dialyzable leukocyte extract modulates peritoneal myeloid cells in *Mesocestoides vogae* infected mice. In Book of Abstracts, p.24. 10th International Conference on Immunology and Immunogenetics. December 2-3,2019. ChurchField Rd., Londýn.

HRČKOVÁ, G. MAČAK KUBAŠKOVÁ, T. MUDROŇOVA, D., JURCAČKOVÁ, Z., CIGLÁNOVÁ, D. „Albendazole and leukocyte extract therapy stimulates Th1/Th2 immunity in *Mesocestoides vogae* infection via modulation of macrophage polarisation and cytokine profiles“. In book of abstract (online) ICOPA-15. svetový kongres parazitológov. Bella Centrum, Egeland Rasmussen B5-203. Kodaň. Dátum konferencie: 21.-26.8.2022.

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky základného výskumu získané v rámci riešenia projektu sú dostupné pre širokú lekársku verejnosť vo vedeckých a odborných publikáciách. Na základe spolupráce s firmou ImunaPharm sa poznatky plánujú využiť pri rozšírení aplikácií komerčného produktu Immodin pacientom s infekčnými ochoreniami a rozšírení diagnostických prístupov (napr. analýza fenotypov markerov myeloidných buniek) pri sledovaní účinnosti produktu u pacientov s potlačenou imunitou Th2 typu.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Ochorenia ľudí a zvierat vyvolané larválnymi štádiami pásomníc rodu *Echinococcus* sú vážnym zdravotným a ekonomickým problémom a vyžadujú komplexnú a dlhodobú terapiu, ktorá je spojená s chronickou imunosupresiou a patologickými dôsledkami. Ďalším negatívnym aspektom je kontinuálna proliferácia parazitov v tkanivách hostiteľa. V projekte sa študovali účinky komerčne dostupného imunonormalizačného prípravku Immodin (leukocytárny extrakt bielych krviniek ľudí), antihelmintika albendazol a ich kombinácie na modelových infekciách pásomnicou *Mesocestoides vogae* a *Echinococcus multilocularis* u myši. Súčasná liečba oboma prípravkami mala vyššiu účinnosť na redukciu infekcie ako samotný liek a in vitro Immodin nevykazoval žiadne negatívne účinky na imunitné bunky a parazitov. Účinky na myeloidné a lymfoidné populácie imunitných buniek a mechanizmy ovplyvnenia imunosupresie oboma prípravkami boli špecifické v mieste parazitácie v peritoneálnej dutine a v pečeni. V prípade prítomnosti voľných lariev *M.vogae* bola najvyššia účinnosť kombinovanej liečby sprevádzaná redukciami eozinofílie, významným nárastom M1 typu makrofágov a monocytov so zvýšenou schopnosťou prezentovať antigény, stimuláciou markerov a cytokínov Th1- a súčasnou redukciami Th2 a Treg imunity. V pečeni Immodin prispel k redukcii infekcie, fibrózy a patológie svojim cytoprotektívnym a antioxidantným účinkom. Významne redukoval negatívne účinky albendazolu na expresiu génov a patológiu. Infekcia metacestódami *E. multilocularis* vytvára v peritoneálnej dutine a pečeni cystické útvary s ochrannou sacharidovou vrstvou a mechanizmus imunosupresie vykazuje špecifické odlišnosti. Najvyššia účinnosť kombinovanej liečby bola spojená s významným nárastom zrelých eozinofilov a potlačením supresorických cytotoxických T lymfocytov v dôsledku potlačenia ich proliferácie. Slezina pri oboch infekciách reagovala podobnými fenotypickými a funkčnými zmenami. Dominantným prejavom bola stimulácia tvorby cytokínu IFN-gama prostredníctvom STAT1-signálnej dráhy, redukcia STAT3 a STAT6 dráh a súvisiacich IL-10 a TGF beta supresorických cytokínov.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

Human and animal diseases caused by the larval stages of Echinococcus tapeworms are a serious health and economic problem and require complex and long-term therapy, which is associated with chronic immunosuppression and pathological consequences. Another negative aspect is the continuous proliferation of parasites in the host's tissues. The project studied the effects of the commercially available immunonormalizing preparation Immodin (leukocyte extract of human white blood cells), the anthelmintic albendazole and their combination on model infections with the tapeworm *Mesocestoides vogae* and *Echinococcus multilocularis* in mice. Simultaneous treatment with both preparations was more effective in reducing infection than the drug alone, and in vitro Immodin did not show any negative effects on immune cells and parasites. The effects on myeloid and lymphoid populations of immune cells and the mechanisms affecting immunosuppression by both preparations were specific at the site of parasitism in the peritoneal cavity and in the liver. In the case of free *M.vogae* larvae in peritoneum, the highest efficacy of combined treatment was accompanied by a reduction of eosinophilia, a significant increase of M1-type macrophages/monocytes with an increased ability to present antigens, stimulation of Th1-markers and cytokines, and a simultaneous reduction of Th2 and Treg immunity. In the liver, Immodin contributed to the reduction of infection by suppressed fibrosis and pathology with its cytoprotective and antioxidant effects. It significantly reduced the negative effects of albendazole on gene expression and pathology. Infection with *E. multilocularis* metacestodes creates cystic formations with a protective carbohydrate layer in the peritoneal cavity and liver, and the mechanism of immunosuppression shows specific differences. The highest effectiveness of the combined treatment was associated with a significant increase in mature eosinophils and suppression of suppressor cytotoxic T lymphocytes due to suppression of their proliferation. The spleen in both infections reacted with similar phenotypic and functional changes. The dominant manifestation was the stimulation of the production of the cytokine IFN-gamma through the STAT1-signal pathway, the reduction of the STAT3 and STAT6 pathways and the related IL-10 and TGF beta suppressor cytokines.