



Universidade Federal do Maranhão
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Doutorado

**AVALIAÇÃO DA POLARIZAÇÃO DE MACRÓFAGOS
DURANTE INFECÇÃO POR *Schistosoma mansoni* SAMBON,
1907**

IRLLA CORREIA LIMA LICÁ FONSÊCA

São Luís
2023

IRLLA CORREIA LIMA LICÁ FONSÊCA

**AVALIAÇÃO DA POLARIZAÇÃO DE MACRÓFAGOS
DURANTE INFECÇÃO POR *Schistosoma mansoni* SAMBON,
1907**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Flávia Raquel Fernandes Nascimento

Coorientador: Prof. Dr. Guilherme Silva Miranda

São Luís
2023

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Fonseca, Irla Correia Lima Licá.

AVALIAÇÃO DA POLARIZAÇÃO DE MACRÓFAGOS DURANTE INFECÇÃO
POR *Schistosoma mansoni* SAMBON, 1907 / Irla Correia Lima
Licá Fonseca. - 2023.

146 f.

Coorientador(a): Guilherme Silva Miranda.

Orientador(a): Flávia Raquel Fernandes Nascimento.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em
Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,
São Luís, 2023.

1. Arginase. 2. Cercárias. 3. Citocinas. 4. INOS.
5. Óxido nítrico. I. Miranda, Guilherme Silva. II.
Nascimento, Flávia Raquel Fernandes. III. Título.

IRLLA CORREIA LIMA LICÁ FONSÊCA

**AVALIAÇÃO DA POLARIZAÇÃO DE MACRÓFAGOS
DURANTE INFECÇÃO POR *Schistosoma mansoni* SAMBON,
1907**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão
como requisito para obtenção do título de Doutora em
Ciências da Saúde.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Flávia Raquel Fernandes Nascimento (Orientadora)
Universidade Federal do Maranhão

Profa. Dra. Valdenia Maria Oliveira de Souza
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Johnny Ramos do Nascimento
UNDB - Centro Universitário Dom Bosco

Prof. Dr. Hermes Ribeiro Luz
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho
Universidade Federal do Maranhão

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei, não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito.”

Chico Xavier

*À minha filha Maria Helena, que me inspira todos
os dias a ser uma pessoa melhor...*

*Ao meu marido Paulo Ricardo, por ser meu
braço direito e grande incentivador dos meus
sonhos...*

*Aos meus pais, por não medirem esforços para a
minha educação e por me guiarem sempre pelo
caminho do bem...*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar a oportunidade de realizar este trabalho e por me guiar em todos os momentos.

À minha família pelo apoio incondicional, pela paciência e pelo amor que me deram durante esta jornada. Em especial à minha filha, Maria Helena (Leninha), que é a minha maior motivação e alegria, por me inspirar com o seu sorriso, o seu carinho e a sua curiosidade. Ela me fez ver o mundo com outros olhos, me ensinou a valorizar as coisas simples e a superar as dificuldades. Ao meu marido Paulo Ricardo, que é o meu companheiro e amigo, por estar sempre ao meu lado, me apoiando, me encorajando e me ajudando em todos os momentos. Ele foi o meu porto seguro, o meu conselheiro e o meu parceiro. Ele é o meu cúmplice e o meu amor. Vocês dois são a minha vida e a minha felicidade.

À minha orientadora Profa. Dra. Flávia Raquel Nascimento, pela confiança, pelo incentivo e pela orientação que me ofereceu ao longo desses anos. A senhora foi essencial para o meu crescimento acadêmico e profissional, me ensinando a pensar criticamente, a escrever com clareza e a pesquisar com rigor. Obrigada por todo apoio nas dificuldades, estímulos nos desafios e celebrações nas conquistas! A senhora tem razão: *“No final dará tudo certo!”*.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Guilherme Silva Miranda, pela colaboração, pelo aprendizado e pela amizade que construímos. Ele me auxiliou com a sua expertise, me orientou com a sua experiência e me enriqueceu com a sua visão. Ele sempre foi atencioso, disponível e solícito. Ele é mais do que um coorientador, é um colega e um amigo. Sou muito grata por ter contado com a sua ajuda e com a sua parceria.

À professora Profa. Dra. Lucilene Amorim, pela parceria, pelo incentivo e pelas análises histológicas que realizou para este trabalho. Ela sempre foi gentil, generosa e profissional. Ela é mais do que uma professora, é uma colaboradora e uma amiga. Sou muito grata por ter tido a oportunidade de contar com a sua participação e com a sua contribuição.

Aos meus irmãos científicos e parceiros de laboratório Gustavo, Vítor, Gleycka, Camilo, Ranny e Gabi, pela convivência, pela cooperação, pela camaradagem e estresses que tivemos durante este trabalho. Eles me acompanharam nas horas de estudo, de pesquisa e de experimentação, me auxiliando, me ensinando e me divertindo. Além disso, quero destacar a amizade e o companheirismo que desenvolvemos ao longo desses anos. As longas horas no laboratório, os momentos de celebração e os desafios superados juntos tornaram esta jornada ainda mais significativa.

Aos colegas do Laboratório de Imunofisiologia (LIF) da UFMA que desempenharam um papel essencial na realização dos experimentos neste estudo. Agradeço por sua dedicação incansável em cada etapa do processo experimental, seja preparando soluções, coletando amostras, realizando análises complexas ou resolvendo desafios inesperados.

À minha amiga Tássia, que ganhei durante o doutorado, pela amizade, pelo carinho e pelo apoio que me deu durante este período.

Ao Grupo de Estudos Espíritas MEIMEI, em especial Caio, Durceni, Shirley e Clayanne pela espiritualidade, pela fraternidade e pela iluminação que me proporcionaram durante este trabalho. Vocês me acolheram com amor, me orientaram com sabedoria e me inspiraram com fé. Sou muito grata por ter tido a bênção de participar deste grupo e de receber as suas vibrações.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde e à UFMA, pela oportunidade, pela formação e pela excelência que me ofereceram durante este trabalho.

À Capes, pela concessão da bolsa que me permitiu realizar este trabalho. Ela foi fundamental para o meu sustento, para a minha dedicação e para a minha qualificação.

À Fapema, pelo financiamento de pesquisa que me possibilitou realizar este trabalho

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	20
2.1 Aspectos epidemiológicos da esquistossomose.....	20
2.2 Ciclo biológico da infecção por <i>S. mansoni</i>	22
2.3 Imunopatologia do hospedeiro definitivo frente à infecção por <i>S. mansoni</i>	25
2.4 Diagnóstico da esquistossomose.....	30
2.4.1 Métodos parasitológicos.....	30
2.4.2 Métodos imunológicos.....	31
2.4.3 Métodos moleculares.....	32
2.5 Controle da esquistossomose.....	32
2.6 Uma visão geral sobre os macrófagos.....	34
2.7 Plasticidade dos macrófagos e suas distintas polarizações.....	37
2.8 O Papel dos macrófagos M1 e M2 na esquistossomose.....	39
3 OBJETIVOS.....	41
3.1 Objetivo Geral.....	41
3.2 Objetivos Específicos.....	41
4 RESULTADOS.....	42
5 CONCLUSÕES.....	117
REFERÊNCIAS.....	118
APÊNDICES.....	137
Apêndices A - Produções durante o doutorado (2019-2023).....	138
Apêndice B – Artigo de parasitologia selecionado como Journal Paper of the Month.....	140
Apêndice C – Texto publicado Cambridge Core Blog.....	141
ANEXOS.....	144
Anexo A – Comitê de Ética Animal (CEUA).....	145
 Capítulo 1: Immunological mechanisms involved in macrophage activation and polarization in schistosomiasis.....	 44
Abstract.....	45
Introduction.....	45
Methods and criteria for literature selection.....	46
Immunopathology of the definitive host against infection by <i>S. mansoni</i> and <i>S. japonicum</i>	46
Mechanisms associated with macrophage polarization.....	48

Participation of M1 and M2 macrophages in the response to <i>Schistosoma</i> infection	49
Cercariae and schistosomula antigens can induce an M1 profile.....	50
Worm antigens can induce an M1 or M2 profile	51
SEAs can induce an M2 profile.....	52
Future perspectives and final considerations	53
Acknowledgements.	54
Author's contributions	54
Financial support	54
Conflict of interest.....	54
References.....	54

Capítulo 2 : Polarização dos macrófagos M1 e M2 em resposta aos diferentes estágios do helminto <i>Schistosoma mansoni</i> na infecção esquistossomótica	60
Resumo.....	62
Introdução	63
Material e Métodos	64
Cultura de macrófagos RAW 264.7	64
Polarização de macrófagos RAW 264.7	65
Co-cultura de macrófagos RAW 264.7 com cercarias	65
Co-cultura de macrófagos RAW 264.7 com vermes adultos machos	66
Avaliação da produção de óxido nítrico	67
Avaliação da atividade de arginase	67
Avaliação das citocinas por CBA.....	68
Imunofenotipagem	68
Infecção e caracterização dos grupos experimentais.....	69
Quantificação de ovos em fezes e tecido hepático	70
Análises histopatológicas e morfométricas do tecido hepático	70
Avaliação da expressão de moléculas associadas ao perfil M1 e M2 no tecido hepático	71
Análise estatística	72
Resultados.....	73
Macrófagos M0 e M1 demonstraram maior capacidade citotóxica ao contato com cercárias	73
Macrófagos M1 apresentam maior capacidade citotóxica para os vermes adultos machos.....	74
Vermes adultos potencializam a polarização de macrófagos previamente estimulados e induzem um perfil M1 em macrófagos não polarizados	74

Correlação de células que expressam iNOS e Arginase em macrófagos M0, M1 e M2 na presença de vermes adultos.....	77
Macrófagos M0 apresentaram produção de óxido nítrico semelhante a macrófagos M1 na presença de vermes adultos.....	78
Macrófagos M2 cultivados com vermes adultos aumentam funcionalmente a atividade da Arginase	78
Avaliação da produção de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias de macrófagos M0, M1 e M2 cultivados com vermes adultos.....	80
Macrófagos M0, M1 e M2 cultivados com vermes adultos de <i>S. mansoni</i> apresentaram relação entre células que expressam iNOS e citocinas pró-inflamatórias.....	82
Parâmetros macroscópicos, parasitológicos e histológicos confirmam a infecção por <i>S. mansoni</i>	84
Expressão de moléculas associadas ao perfil M1 e M2 no tecido hepático de camundongos infectados por <i>S. mansoni</i>	86
Predomínio de macrófagos M2 sobre M1 no fígado de camundongos infectados ..	87
Correlação entre expressão de iNOS e Arg-1 com a quantidade de retidos ovos no tecido hepático de camundongos infectados	88
Macrófagos M2 estão envolvidos na redução do número de granulomas hepáticos em camundongos infectados	88
O tamanho dos granulomas hepáticos de camundongos infectados por <i>S. mansoni</i> não estão relacionados com a presença de macrófagos M1 e M2.....	91
Macrófagos M1 e M2 não influenciam no aumento do peso do fígado dos camundongos infectados.....	92
Discussão	93
Agradecimentos.....	104
Contribuição do autor	104
Considerações éticas	104
Suporte Financeiro.....	104
Conflito de interesse.....	104
Referências.....	104

LISTA DE ABREVIACÕES

- ADCC – citotoxicidade celular dependente de anticorpos
- APC – Antigen-presenting cell (célula apresentadora de antígeno)
- EROS – Espécies reativas de oxigênio
- E/S - excretórios/secretórios
- FcεRI - receptores de IgE
- GM-CSF – *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos)
- IFN-γ – Interferon gama
- IL – Interleucina
- iNOS – Óxido nítrico sintase
- LCs - células de Langerhans
- LPS – Lipopolissacarídeo
- M1 – Macrófagos M1
- M2 – Macrófagos M2
- M-CSF – *Macrophage colony-stimulating factor* (fator estimulador de macrófagos)
- MIF – *Média da intensidade de fluorescência*
- MHC I – Complexo principal de histocompatibilidade classe I
- MHC II- Complexo principal de histocompatibilidade classe II
- NO – Óxido nítrico
- PAMPs – Pathogen-associated molecular pattern (padrões moleculares associados a patógenos)
- PMA – *Phorbol 12-myristate 13-acetate*
- PPARγ – Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma
- PPRs – Pattern recognition receptor (receptor de reconhecimento padrão)
- SmCE - Elastase cercariana de *S. mansoni*
- SEA - antígenos solúveis do ovo
- SWAP – antígenos solúveis de vermes adultos
- T CD4 – Linfócito T auxiliar
- T CD8 – Linfócito T citotóxico
- TAMs – Tumor-associated *macrophages* (macrófagos associados ao tumor)
- TGF- β – Transforming growth factor beta (fator de transformação do crescimento beta)
- Th1 – Linfócito T auxiliar perfil 1

Th2- Linfócito T auxiliar perfil 2

TNF- α – Tumor necrosis fator alpha (fator de necrose tumoral alfa)

TLR – Toll like receptor (receptor semelhante aToll)

VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular

ω -1 - ômega 1

α -1 - IPSE/alfa

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1. Distribuição mundial das principais espécies de <i>Schistosoma</i> de importância médica.	21
Figura 2. Ciclo de vida de <i>S. mansoni</i>.	23
Figura 3. Diferentes perfis de resposta imune no decorrer da infecção por <i>S. mansoni</i>	25
Figura 4. Os macrófagos de tecidos desempenham importantes funções homeostáticas.....	35
Figura 5. Diferentes fenótipos de macrófagos, estímulos e marcadores específicos	38

CAPÍTULO 1

Fig. 1. Life cycle of <i>Schistosoma mansoni</i> and <i>Schistosoma japonicum</i>	46
Fig. 2. Different immune response profiles during <i>S. mansoni</i> and <i>S. japonicum</i> infection.....	46
Fig. 3. Different macrophage phenotypes, specific stimuli and markers.....	47

CAPÍTULO 2

Fig.1 Delineamento experimental da co-cultura de macrófagos RAW 264.7 com cercárias e vermes adultos machos de <i>S. mansoni</i>.	65
Fig. 2 Estratégia de análise da imunofenotipagem de macrófagos cultivados ou não com vermes adultos machos de <i>S. mansoni</i>	68
Fig. 3 Delineamento experimental dos ensaios realizados após eutanásia dos camundongos.....	69
Fig. 4 Sobrevivência de cercárias de <i>S. mansoni</i> incubados ou não com macrófagos de linhagem murina RAW 264.7.	72
Fig. 5 Sobrevivência de vermes adultos machos de <i>S. mansoni</i> incubados ou não com macrófagos de linhagem murina RAW 264.7.....	73
Fig. 6 Número de células que expressam marcadores de polarização em macrófagos de linhagem murina RAW 264.7 incubados ou não com vermes adultos de <i>S. mansoni</i>.	75

Fig. 7 Correlação entre o número de células que expressam as enzimas iNOS e Arginase em macrófagos de linhagem murina RAW 264.7 incubados ou não com vermes adultos de <i>S. mansoni</i>.	76
Fig. 8 Avaliação da produção de óxido nítrico e atividade da Arginase (units/L) de macrófagos de linhagem murina RAW 264.7 incubados ou não com vermes adultos de <i>S. mansoni</i>.	78
Fig.9 Quantificação de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias em macrófagos de linhagem murina RAW 264.7 incubados ou não com vermes adultos de <i>S. mansoni</i>.	80
Fig. 10 Correlação entre a produção TNF- α e número de células que expressam a enzima iNOS em macrófagos de linhagem murina RAW 264.7 incubados ou não com vermes adultos de <i>S. mansoni</i>.	81
Figura 11. Correlação entre a produção IFN- γ e número de células que expressam a enzima iNOS em macrófagos de linhagem murina RAW 264.7 incubados ou não com vermes adultos de <i>S. mansoni</i>.	82
Fig. 12 Avaliações macrocópicas, parasitológicas e histopatológicas de camundongos infectados ou não com <i>S. mansoni</i>.	85
Fig. 13 Análise por Western blotting da expressão de moléculas associadas ao perfil M1 e M2 de camundongos infectados ou não com <i>S. mansoni</i>.	86
Fig. 14 Comparação da expressão relativa de iNOS e Arg-1 no tecido Hepático de camundongos infectados ou não com <i>S. mansoni</i>.	88
Fig. 15 Comparação da expressão relativa de iNOS e Arg-1 no tecido Hepático de camundongos infectados ou não com <i>S. mansoni</i>.	89
Fig. 16 Correlação entre expressão de marcadores de polarização M1/M2 e o número de granulomas hepáticos de camundongos infectados por <i>S. mansoni</i>.	90
Fig. 17 Correlação entre expressão de marcadores de polarização M1/M2 e a área de granulomas hepáticos de camundongos infectados por <i>S. mansoni</i>.	91
Fig. 18 Correlação entre expressão de marcadores de polarização M1/M2 e a peso do fígado de camundongos infectados por <i>S. mansoni</i>.	91

RESUMO

A esquistossomose humana é uma doença parasitária negligenciada de grande relevância para saúde pública, sendo causada por helmintos trematódeos da espécie *Schistosoma mansoni*. Durante a infecção por *S. mansoni* os macrófagos desempenham um papel crucial na proteção e na patogênese e podem adquirir diferentes fenótipos. Apesar da relevância dos macrófagos no controle de infecções, a participação dos tipos funcionais destas células na esquistossomose não é bem definida. Assim, o presente trabalho foi dividido em dois capítulos com intuito de ampliar estudos prospectivos sobre a polarização de macrófagos na esquistossomose. No capítulo 1, fornecemos uma breve revisão que destaca diferentes vias de ativação e polarização de moléculas e/ou macrófagos durante na respectiva doença. Esta revisão é baseada em artigos originais e de revisão obtidos por meio de buscas nas principais bases de dados, incluindo Scopus, Google Scholar, ACS, PubMed, Wiley, Scielo, Web of Science, LILACS e ScienceDirect. Os resultados demonstram a importância dos antígenos de *S. mansoni* e *Schistosoma japonicum* na polarização de macrófagos, pois exercem efeitos imunomoduladores em diferentes estágios da doença. No capítulo 2, foram avaliadas as respostas dos macrófagos na presença de cercárias e vermes adultos de *S. mansoni in vitro*, bem como a expressão dos marcadores para macrófagos M1 e M2 no tecido hepático em um modelo murino de infecção crônica por *S. mansoni*. Nos ensaios *in vitro* foram utilizados macrófagos (RAW 264.7) cultivados na concentração de 1×10^6 /mL não polarizados (M0). Também foram utilizados macrófagos M1 previamente polarizados com LPS (2000 ng/mL) e IFN- γ (100 ng/mL) e macrófagos M2 com IL-4 (400 ng/mL) e IL-13 (200 ng/mL). Essas células foram co-cultivadas com cercárias (10 cercárias/ poço) ou com vermes adultos (2 vermes/ poço) de *S. Mansoni*. Após 24 horas e 72 horas, avaliou-se a viabilidade das cercárias e vermes adultos, respectivamente. Em seguida, avaliou-se se vermes adultos poderiam interferir na polarização de macrófagos previamente ativados a partir da quantificação da expressão de iNOS e Arginase, da produção de óxido nítrico e de citocinas, além da atividade da Arginase. Nos estudos *in vivo*, foi avaliada expressão de macrófagos M1 e M2 no tecido hepático de camundongos infectados com 50 cercárias de *S. mansoni* após 90 dias de infecção. Camundongos sem infecção, foram utilizados como controle. Os resultados *in vitro*, mostraram que macrófagos M0 e macrófagos M1 foram citotóxicos para as cercárias e vermes adultos de *S. mansoni*. Os vermes adultos foram capazes potencializar a polarização de macrófagos previamente estimulados, induzindo um perfil M1 em macrófagos M0. *In vivo*, houve um aumento significativo na expressão de marcadores específicos associados aos perfis M1 e M2 nos tecidos hepáticos de camundongos infectados. A expressão de macrófagos M2 foi maior que de macrófagos M1, e essa predominância de macrófagos M2 está correlacionada com a redução no número de granulomas hepáticos. Observou-se que os macrófagos M1 e M2 não exerceram influência no aumento do peso do fígado ou no tamanho dos granulomas hepáticos. Esses achados são importantes para o desenvolvimento de vacinas e imunoterapias contra a esquistossomose, pois revelam os mecanismos pelos quais os macrófagos podem contribuir para a proteção ou a patogênese da infecção

Palavras-chave: Arginase; Cercárias; Citocinas; iNOS; Óxido nítrico; *Schistosoma mansoni*.

ABSTRACT

Human schistosomiasis is a neglected parasitic disease of significant public health relevance caused by trematode helminths of the species *Schistosoma mansoni*. Macrophages play a crucial role during *S. mansoni* infection and can adopt different phenotypes. Despite the importance of macrophages in infection control, the involvement of functional macrophage types in schistosomiasis remains poorly defined. This study was divided into two chapters with the aim of expanding prospective investigations into macrophage polarization in schistosomiasis. In Chapter 1, we provide a brief review highlighting diverse pathways of molecule and/or macrophage activation and polarization during the disease. This review is based on original and review articles obtained from major databases, including Scopus, Google Scholar, ACS, PubMed, Wiley, Scielo, Web of Science, LILACS, and ScienceDirect. The results underscore the significance of *S. mansoni* and *Schistosoma japonicum* antigens in macrophage polarization, as they exert immunomodulatory effects at different disease stages. In Chapter 2, the objective was to assess macrophage responses in the presence of *S. mansoni* cercariae and adult worms *in vitro*, as well as the expression of M1 and M2 macrophage markers in hepatic tissue in a murine model of chronic *S. mansoni* infection. *In vitro* assays employed macrophages (RAW 264.7) cultured at a concentration of 1×10^6 /mL, including non-polarized (M0) macrophages, M1 macrophages previously polarized with LPS (2000 ng/mL) and IFN- γ (100 ng/mL), and M2 macrophages with IL-4 (400 ng/mL) and IL-13 (200 ng/mL). These cells were co-cultured with cercariae (10 cercariae/well) or adult worms (2 worms/well) of *S. mansoni*. After 24 hours and 72 hours, cercariae and adult worm viability, respectively, were assessed. Furthermore, we investigated whether adult worms could influence the polarization of previously activated macrophages by quantifying iNOS and Arginase expression, nitric oxide production, cytokine production, and Arginase activity. *In vivo* studies, M1 and M2 macrophage expression in the hepatic tissue of mice infected with 50 cercariae of *S. mansoni* after 90 days of infection was evaluated, using uninfected mice as controls. The *in vitro* results revealed that both non-polarized (M0) and M1 macrophages displayed cytotoxicity against *S. mansoni* cercariae and adult worms. Interestingly, adult worms had the capacity to potentiate the polarization of previously stimulated macrophages, inducing an M1 profile in M0 macrophages. *In vivo*, there was a significant increase in the expression of specific markers associated with M1 and M2 profiles in the hepatic tissues of infected mice. Furthermore, we observed that M2 macrophage expression exceeded that of M1 macrophages in the hepatic tissue of these infected animals, and this predominance of M2 macrophages was correlated with a reduction in the number of hepatic granulomas. Importantly, our investigation revealed that neither M1 nor M2 macrophages significantly influenced liver weight or hepatic granuloma size. In summary, macrophages can adopt different profiles at each stage of *S. mansoni* infection, mitigating host damage while potentially enhancing parasite survival. These findings are valuable for the development of vaccines and immunotherapies against schistosomiasis, as they elucidate the mechanisms by which macrophages can contribute to infection protection or pathogenesis.

Keywords: Arginase; Cercariae; Cytokines; iNOS; Nitric oxide; *Schistosoma mansoni*.

1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose humana emerge como uma doença parasitária negligenciada de extrema relevância para a saúde pública, afetando mais de 200 milhões de indivíduos globalmente (McManus et al., 2018; LoVerde, 2019). Essa doença é causada pelo helminto trematódeo *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 (Colley et al., 2014). Os sintomas da esquistossomose variam desde manifestações leves, como coceira na pele e febre, até condições mais graves, incluindo tosse, diarreia e hepatoesplenomegalia (Hams et al., 2013; Schwartz e Fallon, 2018; Masi et al., 2020).

A gravidade da doença está intrinsecamente ligada à formação de lesões inflamatórias e granulomas ao redor dos ovos do parasito, retidos nos tecidos do hospedeiro, o que frequentemente resulta em fibrose (Colley e Secor, 2014; McManus et al., 2018). Atualmente, o único tratamento disponível é o Praziquantel®, que, embora seja eficaz na eliminação de vermes adultos de *S. mansoni*, não tem a capacidade de reverter a fibrose e demonstra baixa eficácia nas formas jovens do parasito (Utzinger et al., 2003; Moraes et al., 2011). Assim, torna-se evidente a urgente necessidade de desenvolver novas abordagens terapêuticas que não apenas combatam os efeitos dessa doença, mas também tenham como alvo o sistema imunológico do hospedeiro como parte integral de sua estratégia.

A resposta imune do hospedeiro contra *S. mansoni* é complexa e dinâmica, envolvendo diferentes tipos celulares e moleculares ao longo dos estágios de vida do parasito (Acharya et al., 2021). Um dos tipos celulares mais importantes são os macrófagos, células fagocíticas capazes de diferenciar-se em diferentes perfis funcionais, dependendo dos estímulos que recebem (Barron; Wynn, 2011; Shapouri-Moghaddam et al., 2018; Ho et al., 2021). Os macrófagos podem polarizar-se para os perfis M1 ou M2, que desempenham funções opostas na resposta imune: os macrófagos M1 são pró-inflamatórios e microbicidas, enquanto os macrófagos M2 são anti-inflamatórios e reparadores (Mills, 2015; Ley, 2017).

Estudos anteriores mostraram que a esquistossomose causada por *S. japonicum* pode induzir a polarização de macrófagos para um perfil M1 e/ou M2, tanto *in vitro* quanto *in vivo* (Xu et al., 2014; Zhu et al., 2014). No entanto, a ativação e ação desses tipos funcionais de macrófagos quando em contato com *S. mansoni* ainda não estão claras. Além disso, ainda há poucos estudos que avaliem a polarização dos macrófagos frente aos diferentes estágios de vida deste parasito. A maioria dos estudos se concentra na fase crônica da infecção, quando os ovos de *S. mansoni* induzem uma resposta imune predominantemente do tipo Th2 e a

formação de granulomas hepáticos (Song; Wu, 2015; Zheng et al., 2020; Liu et al., 2022). No entanto, pouco se sabe sobre a polarização dos macrófagos na fase aguda da infecção, quando as cercárias e os vermes adultos estão presentes no hospedeiro. Neste contexto, é importante destacar que o grupo de pesquisa do Laboratório de Imunofisiologia – UFMA tem investigado os mecanismos imunes frente à infecção por *S. mansoni* e obtido resultados satisfatórios para a compreensão desta infecção parasitária. Rodrigues et al. (2021) demonstraram que o número de macrófagos varia muito ao longo do ciclo do parasito, interferindo diretamente na morte ou sobrevivência do mesmo. Portanto, o presente estudo representa uma extensão desses trabalhos prévios, aprofundando ainda mais nossa compreensão da temática em questão. A hipótese deste estudo é que a polarização dos macrófagos em direção aos perfis M1 e/ou M2 é influenciada pela fase de desenvolvimento do *S. mansoni* durante a infecção. Esse conhecimento pode ser de extrema relevância para compreender os mecanismos imunológicos envolvidos na esquistossomose e suas implicações para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

Os resultados deste estudo foram apresentados na forma de dois artigos:

O primeiro, publicado na revista *Parasitology* Cambridge (Qualis CAPES: 2017-2020: A1; Fator de impacto: 3.243), é uma revisão narrativa que discute as principais vias de ativação e polarização de moléculas e/ou macrófagos durante a infecção por *S. mansoni* e *S. japonicum*. Destacamos que este artigo foi escolhido para divulgação no blog da revista Cambridge Core Blog, pois os editores o consideraram inovador e relevante, uma vez que esclarece o papel dos subtipos funcionais de macrófagos em diferentes fases da esquistossomose (Apêndices B e C).

O segundo artigo, ainda em processo de elaboração para publicação, é um estudo experimental que avalia as respostas dos macrófagos na presença de cercárias e vermes adultos de *S. mansoni in vitro*, bem como a expressão dos marcadores para macrófagos M1 e M2 no tecido hepático em um modelo murino de infecção crônica por *S. mansoni*. Este artigo será submetido a revista *Parasitology Research* (Qualis Capes: A1; Fator de impacto: 2.111).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos epidemiológicos da esquistossomose

A esquistossomose é uma doença endêmica e parasitária de grande relevância mundial. Ela é causada por helmintos do filo Platyhelminthes (Gegenbauer, 1859), da classe Trematoda (Rudolphi, 1808), da família Schistosomatidae (Stiles & Hassal, 1898) e do gênero *Schistosoma* (Weiland, 1858). Estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS, 2021) apontam para 200 milhões de pessoas infectadas em todo o mundo. Além disso, aproximadamente 700 milhões vivem em áreas de risco para a infecção por uma ou mais das seis espécies que podem afetar seres humanos (Figura 1): *S. mansoni* (encontrado nas Américas, África e Oriente Médio), *S. haematobium* (comum na África e Oriente Médio, causador da infecção geniturinária), *S. japonicum* (característico do Extremo Oriente), *S. intercalatum* (África Ocidental e Central), *S. mekongi* (encontrado na Malásia) e *S. malayensis* (encontrado no Sudeste asiático) (Gryseels, 2012; Colley et al., 2014; OMS, 2015). As espécies de maior relevância clínica como agentes etiológicos dessa doença são o *S. japonicum*, *S. mansoni* e *S. haematobium* (OMS, 2015). *S. mansoni* e *S. japonicum*, em particular, estão associados à esquistossomose hepática e intestinal em áreas endêmicas (Elbar; Esmat, 2013; McManus, 2018).

De acordo com o contexto anterior, a esquistossomose também afeta as Américas, embora sua distribuição ainda seja baseada em referências antigas. O Brasil é o país com o maior número de casos na região, contando com cerca de 1,5 milhão de pessoas infectadas e 25 milhões em risco de infecção (Brasil, 2017). De acordo com Melo et al. (2011), essa parasitose foi introduzida no Brasil com a chegada de escravos negros infectados com *S. mansoni*, trazidos da África durante o período colonial para trabalhar nas plantações de cana-de-açúcar no Nordeste e nas lavouras de café no Sudeste do Brasil. Segundo os autores, nessas regiões, o agente etiológico encontrou hospedeiros suscetíveis e um ecossistema adequado para a transmissão da doença. As principais áreas endêmicas da esquistossomose estão localizadas nos estados de Alagoas, Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e Pernambuco, enquanto áreas focais da doença são registradas no Ceará, Distrito Federal, Maranhão, Pará, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro e São Paulo (Brasil, 2017).

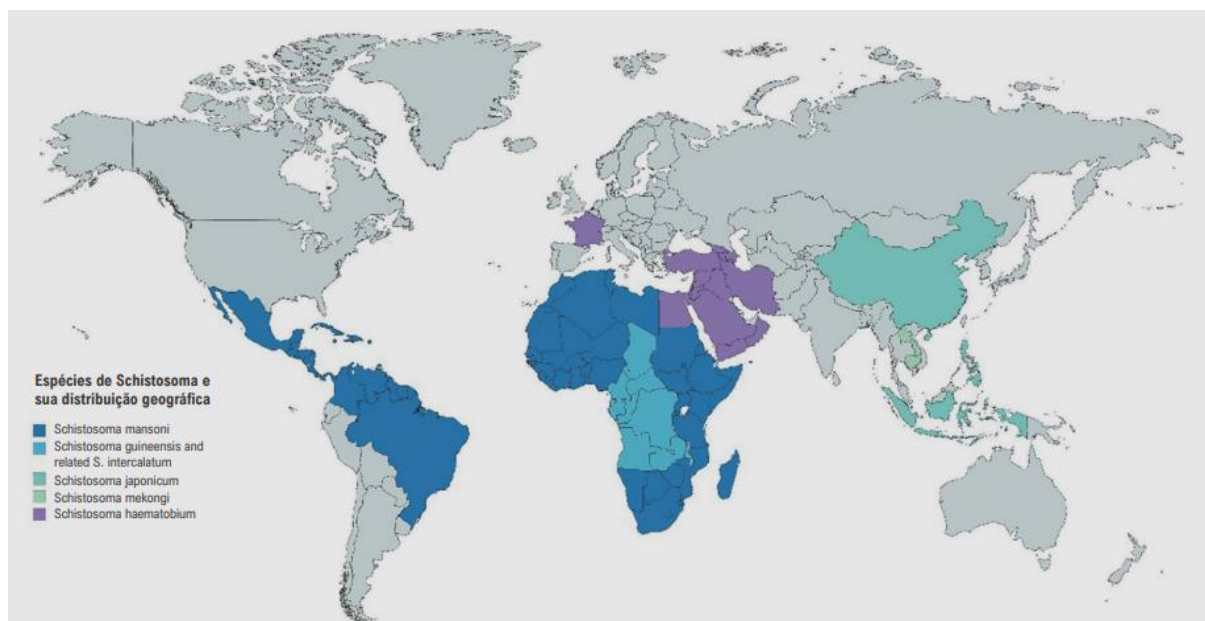


Figura 1. Distribuição mundial das principais espécies de *Schistosoma* de importância médica. Fonte: Imagem adaptada da Organização Mundial da Saúde – OMS (2021).

Os movimentos de refugiados, as migrações populacionais, os deslocamentos religiosos e turísticos, juntamente com problemas na gestão da água doce, podem contribuir para a disseminação da esquistossomose (Vitorino et al., 2012). Além desses fatores, as deficiências no abastecimento de água e no saneamento básico no Brasil, bem como as intervenções humanas que alteram o ambiente natural, como a construção de represas e grandes projetos de irrigação, estão entre os principais elementos que favorecem a expansão da esquistossomose no país (Gentile et al., 2010).

A esquistossomose não está limitada a áreas rurais; ela se espalhou para regiões urbanas litorâneas, com presença em rios, açudes e até sistemas de esgoto (Gomes et al., 2017). Portanto, o Nordeste brasileiro apresenta as condições ambientais, socioeconômicas e culturais que promovem o crescimento do parasito e de seu hospedeiro intermediário, caramujos do gênero *Biomphalaria*, levando vários Estados a serem considerados regiões endêmicas (Cafieiro et al., 2022; Silva et al., 2022).

No estado do Maranhão, a doença está presente em 48 dos 217 municípios, incluindo a capital, São Luís, onde a parasitose é considerada de baixa endemicidade (Lima et al., 2021). No entanto, a cidade possui diversos bairros periféricos com alto número de casos

de esquistossomose (Lima et al., 2021). A doença também é prevalente nos campos alagados da Baixada Ocidental e no Litoral Norte do Estado, onde áreas periodicamente inundadas e cobertas por vegetação favorecem a reprodução e manutenção de caramujos transmissores (Lira et al., 2017; Leite et al., 2021).

A Baixada Ocidental Maranhense é uma das áreas endêmicas da esquistossomose no Maranhão, sendo também uma das regiões economicamente mais desfavorecidas do estado (Leite et al., 2021). A população local sobrevive por meio dos recursos naturais, como lagos, pesca, caça, agricultura de subsistência e pecuária de pequeno porte. A alta exposição da população a fatores de risco, seja por lazer ou sobrevivência, é um dos principais motivos para a alta positividade da esquistossomose mansoni na Baixada Ocidental Maranhense (Holanda, 2020). Os moradores frequentemente têm contato com os criadouros, seja através da pesca, caça ou uso de animais de transporte (cavalos, bois, búfalos) nas áreas alagadas, tornando a esquistossomose uma doença ocupacional na região e desafiadora para os serviços de saúde pública (Cantanhede et al., 2014).

2.2 Ciclo biológico do helminto *S. mansoni*

O parasito *S. mansoni* possui um ciclo de vida heteroxênico (Figura 2), com uma fase de reprodução assexuada em caramujos de água doce (hospedeiros intermediários), incluindo algumas espécies do gênero *Biomphalaria*, e outra fase de reprodução sexuada em hospedeiros vertebrados (hospedeiros definitivos), principalmente os seres humanos (McManus et al., 2018; Nelwan, 2019). No entanto, embora a espécie *S. mansoni* seja inicialmente um parasito de seres humanos, também foi encontrado infectando naturalmente primatas não-humanos (Nelson, 1960; Standley et al., 2011), bovinos (Barbosa et al., 1962; Modena et al., 2008) e, sobretudo, roedores silvestres (Rey, 1993; Miranda et al., 2017; Catalano et al., 2018; Licá et al., 2018).

O ciclo tem início quando os ovos maduros de *S. mansoni* são eliminados nas fezes do hospedeiro vertebrado infectado (Nelwan, 2019). Esses ovos maduros têm um tamanho considerável, medindo cerca de 150 µm de comprimento por 65 µm de largura, o que é considerado grande em comparação com outros helmintos que parasitam o ser humano (Katz; Almeida, 2003; Neves et al., 2016). Quando esses ovos entram em contato com a água de rios

e lagos, eclodem em larvas ciliadas chamadas miracídeos, que nadam em busca do hospedeiro intermediário (Nelwan, 2019).

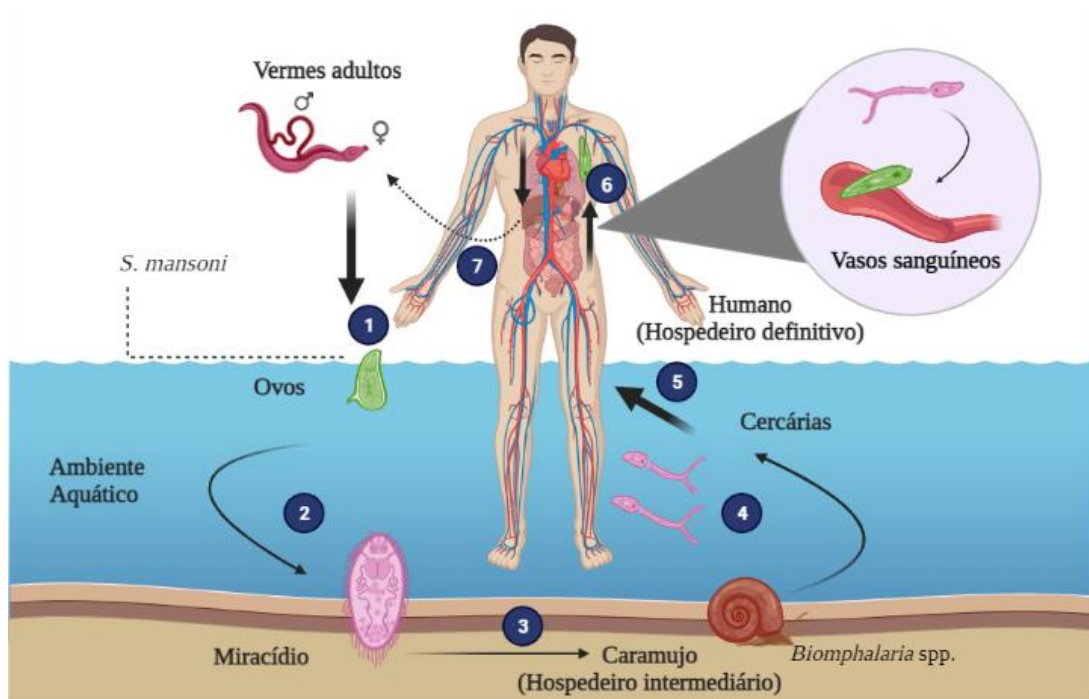


Figura 2. Ciclo de vida de *S. mansoni*. (1) Os ovos eliminados nas fezes do hospedeiro definitivo, ao entrar em contato com a água, liberam os miracídeos (2), que penetram no caramujo hospedeiro intermediário (*Biomphalaria* spp.). Dentro do caramujo, os miracídeos se transformam em esporocistos, que por sua vez produzem novos esporocistos filhos por reprodução assexuada. Após 30 dias, as cercárias emergem do caramujo em resposta à luz solar (4) e (5), penetram na pele do hospedeiro definitivo, e posteriormente se transformam em esquistossômulos. Os esquistossômulos penetram nos vasos sanguíneos venosos e são levados até os pulmões pelo coração e, em seguida, entram na circulação (6). (7) Ao atingirem o sistema porta hepático, os esquistossômulos migram para as veias mesentéricas do intestino, onde amadurecem e se tornam adultos de sexos separados e copulam. Os vermes acasalados migram para as veias mesentéricas inferiores do intestino, onde a fêmea elimina os ovos. Parte desses ovos que são liberados na corrente sanguínea passam pela parede intestinal e são eliminados nas fezes, iniciando novamente o ciclo. Fonte: Schall et al. (2007) e modificado pelo autor. Criado com [BioRender.com](https://www.biorender.com).

O miracídio apresenta um formato oval e é revestido por placas ciliadas, medindo cerca de 150 a 170 µm de comprimento por 60 a 70 µm de largura (Mouahid et al., 2018). Dentro do caramujo, durante o processo de penetração, os miracídeos liberam o conteúdo das glândulas de adesão e penetração, perdem suas placas ciliares e passam por modificações

fisiológicas, transformando-se em esporocistos (Wang et al., 2016; Théron; Yoshino, 2017). Essas formas larvais realizam sucessivas reproduções assexuadas, dando origem às cercárias, que são posteriormente liberadas no ambiente aquático e podem infectar o hospedeiro vertebrado (Kašný et al., 2017).

As cercárias apresentam uma cauda bifurcada de aproximadamente 300 µm e dimensões corporais em torno de 200 µm de comprimento por 70 µm de largura (Katz; Almeida, 2003; Neves et al., 2016). Condições abióticas, como iluminação e temperatura da água, exercem influência na liberação das cercárias nas coleções hídricas (Bogea et al., 1996; Wolmarans et al., 2002). Os caramujos infectados podem liberar centenas de cercárias diariamente, geralmente entre 250 a 600 (Mouahid et al., 2018). Essas formas larvais exploram o gradiente térmico do hospedeiro ou sinais químicos, prendendo-se à epiderme por meio de suas ventosas e penetrando na pele humana com a ajuda de enzimas específicas, como as proteases (Zhang et al., 2018). As proteases mais conhecidas de *S. mansoni* são as cisteína, as proteases aspárticas e as serina proteases (Silva et al., 2011; Leontovyč et al., 2018).

Uma vez que as cercárias penetram no hospedeiro definitivo, elas perdem sua cauda bifurcada e se transformam em esquistossômulos (Gobert et al., 2017). Em um período de 3 a 7 dias, os esquistossômulos alcançam a corrente sanguínea, sendo transportados passivamente pelo fluxo venoso até o lado direito do coração, de onde são bombeados para os pulmões (Schwartz; Fallon, 2018). Posteriormente, eles migram para o sistema porta hepático e se deslocam para as veias mesentéricas do fígado, onde amadurecem em vermes adultos, podendo ser machos ou fêmeas (Miller; Wilson, 1980; Lenzi et al., 2008).

Após 5 a 7 semanas da penetração das cercárias, os vermes adultos maduros se formam na veia porta-hepática, onde ocorre o acasalamento, e em seguida, eles migram para as vênulas mesentéricas, onde ocorre a oviposição (Loverde, 2019). Especificamente, os vermes adultos de *S. mansoni* podem ser encontrados tanto no sistema porta do fígado quanto nas pequenas vênulas do íleo inferior e do cólon (Butrous, 2019). O número de ovos produzidos diariamente pelas fêmeas varia de acordo com a espécie do hospedeiro e a linhagem do parasito (Costain et al., 2018). Os ovos liberados pelas fêmeas são depositados no revestimento endotelial das paredes dos capilares e são disseminados pelo fluxo sanguíneo para outros órgãos, principalmente o fígado e o baço, ou translocados pelo epitélio intestinal

para o lúmen intestinal (McManus et al., 2018). A eliminação dos ovos nas fezes completa o ciclo de vida dos parasitos (Schwartz; Fallon, 2018).

2.3 Imunopatologia do hospedeiro definitivo frente à infecção por *S. mansoni*

Cada estágio do ciclo de vida do parasito (cercárias, esquistossômulos, vermes adultos e ovos) dentro do hospedeiro definitivo desencadeia uma série de respostas imunológicas e, conseqüentemente, sinais clínicos que podem ser prejudiciais ao ser humano (Molehin, 2020; Hambrook; Hanington, 2021; Masamba; Kappo, 2021). As interações entre o sistema imunológico do hospedeiro e o parasito podem ser divididas em duas fases de progressão (Figura 3): a fase aguda (pré-patente e patente) e a fase crônica (Gobbi et al., 2020).

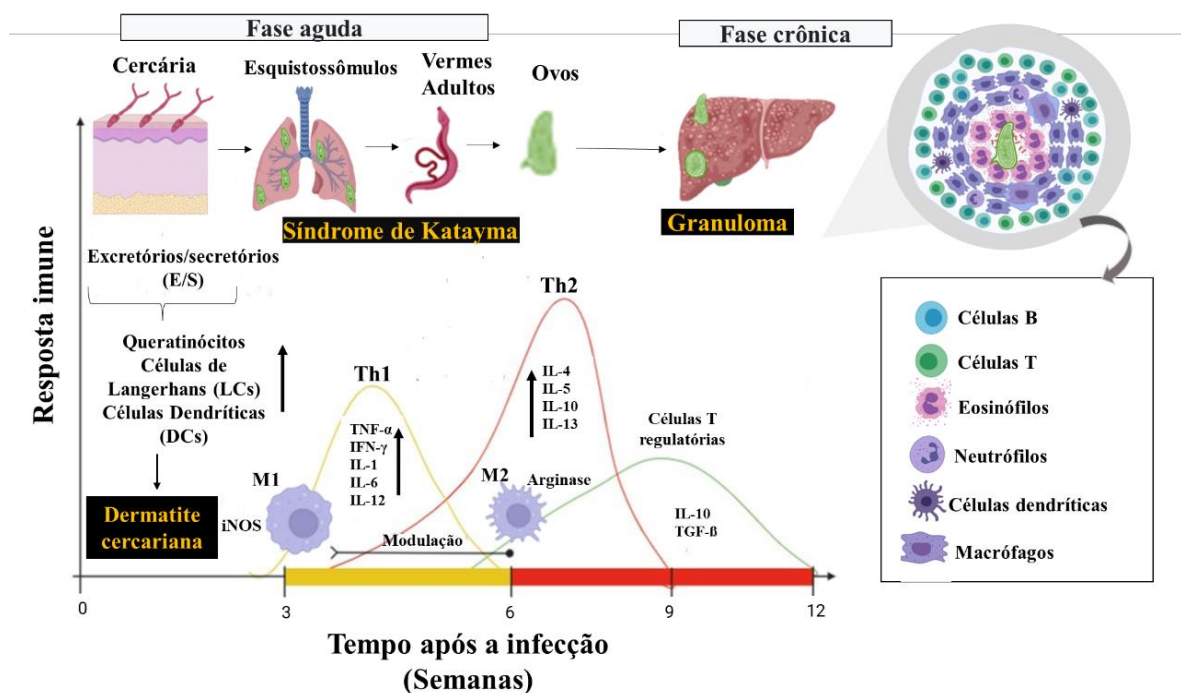


Figura 3. Diferentes perfis de resposta imune no decorrer da infecção por *S. mansoni*
Fonte: Própria autora.

As primeiras manifestações clínicas da fase aguda (dermatite cercariana, edema e prurido) iniciam-se após 48-72 horas da penetração das cercárias na pele do hospedeiro

(Kourilova et al., 2004; Ishida; Jolly, 2016). A primeira barreira imunológica inata que as cercárias encontram é a pele (Di Meglio et al., 2011; Nguyen; Soulika, 2019). A pele é composta por queratinócitos, cuja função é secretar lipídios formando uma barreira protetora contra patógenos (Silvestre et al., 2018) e provavelmente são as primeiras células expostas às cercárias de *Schistosoma* (Bourke et al., 2015). Essas células respondem rapidamente a infecções, secretando citocinas inflamatórias (IL-6, IL-12 e TNF- α , além de IL-1 β), com o objetivo de reparar o tecido danificado (Corsini et al., 2000; Plikus et al., 2012; Hanel et al., 2013). Nesse sentido, Bourke e colaboradores (2015) demonstraram que os queratinócitos epidérmicos respondem à infecção por *S. mansoni*, promovendo a secreção IL-1 α e IL-1 β .

Ao penetrarem na pele dos hospedeiros, as cercárias também causam um aumento das células apresentadoras de antígenos dérmicos e epidérmicos (APCs) do sistema imune inato, como as células de Langerhans (LCs) e células dendríticas (DCs), como demonstra a Figura 3 (Kumkate et al., 2007; Hambrooke; Hanington, 2021). Essas células desempenham um papel crucial na conexão entre as respostas imunes adaptativas e inatas (Kumkate et al., 2007; Morel; Butterfield, 2015; Versini et al., 2015). As LCs podem induzir tolerância imunológica (Kaplan et al., 2008; Shklovskaya et al., 2011) e exercer efeitos supressores por meio da produção de IL-10 e da indução de células T reguladoras CD4⁺ (Yoshiki et al., 2009). Por outro lado, as DCs produzem principalmente IL-6, IL-12p40 e TNF- α para ativar a resposta imune adaptativa (Winkel et al., 2018).

As respostas imunológicas iniciais são ativadas devido aos produtos excretados/secretados (E/S) pelas glândulas de penetração das cercárias no momento da penetração na pele do hospedeiro (Jenkins et al., 2005; Paveley et al., 2009). Esses produtos E/S auxiliam na função imunomoduladora exercida pela cercária e também condicionam a remodelação da matriz extracelular, facilitando sua penetração na pele (Janssen et al., 2016; Leontovyč et al., 2018). Entre as enzimas que possibilitam essa remodelação, destaca-se a elastase cercariana de *S. mansoni* (SmCE). Estudos demonstram que a SmCE desempenha um papel significativo na penetração das cercárias na pele, pois é capaz de degradar uma ampla variedade de macromoléculas presentes no tegumento humano (Ingram et al., 2012; El-Faham et al., 2017).

Os antígenos dos produtos ES do parasito também promovem a ativação dos queratinócitos, que produzem Prostaglandina 2 (PGE2) e Prostaglandina D2 (PGD2) (Kaisar et al., 2018; Oyesola et al., 2021). Essas moléculas, por sua vez, induzem a produção de IL-10

por meio de uma via dependente da ciclooxygenase 2 (Ramaswamy et al., 2000; Harizi et al., 2002; Xue, 2005). Esse tipo de resposta é responsável pela modulação da resposta imune, favorecendo a sobrevivência do parasito (Hervé et al, 2003; Hambrook; Hanington, 2021). Abdel-Ghany et al. (2015) sugerem que o bloqueio da PGE2 pode resultar em proteção parcial em camundongos infectados por *S. mansoni*. Além disso, enquanto as cercárias se transformam em esquistossômulos e migram pela pele, a PGE2 atua como potente vasodilatador, facilitando a passagem dessas formas larvais para a circulação (Angeles et al., 2020).

Os esquistossômulos migram pelo organismo do hospedeiro até alcançarem o fígado e penetrarem nas veias do sistema porta intra-hepático, onde amadurecem em vermes adultos (Figura 3). Esse estágio é denominado fase aguda pré-postural, durante a qual o hospedeiro produz uma resposta imune com perfil Th1, que atinge seu pico de ativação entre a 3ª e 5ª semana após a exposição à cercária (Dunne; Cooke, 2005; Gryseels et al., 2006). Essa resposta se caracteriza pela alta produção de citocinas pró-inflamatórias, tais como IFN- γ , IL-2, IL-1, IL-12, IL-6 e TNF- α (Figura 3) (Egesa et al., 2018; Zheng et al., 2020).

Coincidindo com a migração e maturação sexual dos vermes adultos e a subsequente postura de ovos pelas fêmeas (fase aguda postural), ocorre uma reação de hipersensibilidade sistêmica no hospedeiro, conhecida como síndrome de Katayama (Langenberg et al., 2019; Nation et al., 2020). A apresentação clínica típica da síndrome de Katayama inclui febre, mal-estar, mialgia, cefaleia, eosinofilia, fadiga e dor abdominal, com duração de 2 a 10 semanas (Gobbi et al., 2020). Esses sintomas clínicos estão principalmente relacionados a altas concentrações de eosinófilos, que expressam receptores de IgE (Fc ϵ RI), induzindo efeitos citotóxicos sobre os esquistossômulos (ADCC) (Dombrowicz et al., 2000; Skelly, 2004).

Na fase aguda postural, ocorre a oviposição do parasito entre a 4ª e 5ª semana da infecção. Neste momento, há uma mudança no perfil dos mediadores imunológicos produzidos pelo hospedeiro, e a resposta imune torna-se predominantemente Th2 (Hambrooke; Hanington, 2021). Essas mudanças são em resposta a antígenos solúveis do ovo (SEA) (Hams et al., 2013). O SEA é composto por uma mistura complexa de antígenos imunoestimulantes, bem conhecidos por sua capacidade de condicionar as células dendríticas para iniciar a indução de um perfil Th2 (Mouser et al., 2019).

Estudos têm demonstrado que as células dendríticas (DCs) detectam, capturam e processam antígenos derivados de *S. mansoni* (Cervi et al., 2004; van Liempt et al., 2007),

resultando na capacidade de induzir uma polarização Th2 tanto *in vitro* quanto *in vivo* (MacDonald et al., 2001; de Jong et al., 2002; Perona-Wright et al., 2006). Os principais antígenos responsáveis por essa potente indução de uma resposta Th2 são glicoproteínas denominadas ômega 1 (ω -1) e IPSE/alfa 1 (α -1) (Meevissen et al., 2010; Mathieson; Wilson, 2010). A glicoproteína ômega 1 (ω -1) ativa as DCs (via receptores de lectina do tipo C e do tipo Toll), que por sua vez promovem a diferenciação de Th2, as principais fontes de citocinas do tipo 2, como IL-4, IL-5 e IL-13 (Everts et al., 2012). Enquanto o IPSE/alfa 1 (α -1) se liga à imunoglobulina e ativa os basófilos, levando à liberação de histamina e facilitando a produção de citocinas do tipo Th2, principalmente IL-4 e IL-13 (Schramm et al., 2007; Meyer et al., 2015; Knuhr et al., 2018). Assim, a resposta Th2 está relacionada à baixa produção de IFN- γ e aos altos níveis de citocinas anti-inflamatórias (IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13) (Zheng et al., 2020).

A estimulação da resposta Th2 é responsável pela produção de IgE, diferenciação de macrófagos alternativamente ativados e pela formação dos granulomas nos órgãos onde os ovos do parasito ficam retidos (Schwartz; Fallon, 2018; Takaki et al., 2021). A formação do granuloma é um processo essencial para conter e isolar antígenos citotóxicos liberados pelos ovos do parasito (Hams et al., 2013), permitindo que o hospedeiro conviva com a infecção por muitos anos. Os granulomas são estruturas multicelulares altamente organizadas, compostas por uma variedade de células, como células auxiliares (CD4+), células T citotóxicas (CD8+), macrófagos e eosinófilos (Costain et al., 2018; Pagán; Ramakrishnan, 2018).

A resposta Th2 atinge seu pico na 8ª semana após o início da infecção e é, então, negativamente modulada à medida que a infecção progride para a fase crônica (Wynn et al., 2004; Wilson et al., 2007). O processo de modulação ocorre principalmente por meio da ação de IL-10 e TGF- β , que regulam o equilíbrio entre as respostas Th1/Th2 ao ativar células regulatórias, atingindo a ativação máxima por volta da 11ª-12ª semana de infecção (Zaccone et al., 2010; Turner et al., 2011). Esse processo imunomodulatório está relacionado ao prognóstico benigno da doença, uma vez que promove a redução do tamanho do granuloma (Lundy; Lukacs, 2013).

Por outro lado, quando a formação dos granulomas não é bem modulada pela resposta imune do hospedeiro, eles evoluem para fibrose e promovem o desenvolvimento das formas graves da doença (Pagán; Ramakrishnan, 2018; Takaki et al., 2020). Devido à compressão de vasos pelos granulomas, na esquistossomose hepatointestinal, ocorre

hipertensão portal pré-sinusoidal (Gryseels, 2012; Hams et al., 2013; Colley et al., 2014). A hipertensão intra-hepática por fibrose é de caráter irreversível, levando à hepatoesplenomegalia, além de angiogênese (Masi et al., 2020). A circulação colateral e as varizes esofagianas são propensas a rompimento, podendo causar hemorragias (Gryseels, 2012; Colley et al., 2014). Por meio dessas vias, ovos também podem chegar a outros órgãos e causar comprometimento destes, como quadros pulmonares (Brutous, 2019).

Observa-se, então, que a resposta Th2 é crítica para o desenvolvimento do granuloma, assim como para a sobrevivência do hospedeiro. Camundongos deficientes em sinalização de IL-4 e IL-13 morreram durante a fase aguda da doença devido à elevada patologia intestinal e hepática (Fallon et al., 2000). Em geral, sabe-se que a IL-4 e a IL-13 desempenham papéis importantes na resposta granulomatosa da esquistossomose (Schwartz et al., 2014; Kumar et al., 2015). Estudos anteriores já demonstraram que a IL-4 é reconhecida como a citocina dominante para o desenvolvimento do granuloma, e estudos com animais tratados com anti-IL-4 apresentaram diminuição de IL-4, IL-5 e IL-10 do tipo Th2, e aumento de IL-2 do tipo Th1 e IFN- γ (Cheever et al., 2000). O bloqueio da IL-4 diminui a proliferação de células esplênicas e a inflamação granulomatosa hepática (Nono et al., 2017). Por outro lado, Mutengo et al. (2018) demonstraram altos níveis de IL-13 em pacientes infectados por *S. mansoni* com fibrose hepática grave. Assim, a supressão de IL-13 mostrou-se eficaz no tratamento da fibrose induzida em modelo animal por infecção por *S. mansoni* (Vannella et al., 2016). Para tanto, Toffoli da Silva et al. (2016) observaram que metabólitos da 5-lipoxigenase induziram IL-4 e IL-13 e podem controlar o tamanho do granuloma no pulmão de camundongos infectados com ovos de *S. mansoni*.

Além disso, os altos níveis de IL-4 e IL-13 podem levar à ativação de macrófagos e, consequentemente, ao aumento do processo de deposição de colágeno, contribuindo para a progressão da fibrose hepática (Burke et al., 2010; Ye et al., 2020). Os macrófagos são células de extrema importância na formação do granuloma na esquistossomose (Amaral et al., 2017; Giorgio et al., 2020; Ye et al., 2020). Eles têm funções anti-inflamatórias e desempenham um papel direto na modulação da fibrose e na sobrevivência do hospedeiro pela regulação negativa da inflamação durante a esquistossomose (Cortes-Selva et al., 2018; Souza et al., 2020). Na infecção por *S. mansoni*, moléculas e mecanismos podem ativar e/ou polarizar os fenótipos dos macrófagos. Esses aspectos serão discutidos nas próximas seções.

2.4 Diagnóstico da esquistossomose

O diagnóstico requer a avaliação clínica do paciente, complementada pela análise laboratorial e pela coleta de informações da anamnese (Chala, 2023). Historicamente, a detecção de ovos do parasito nas fezes tem sido o método laboratorial predominante (McManus et al., 2018). No entanto, ao longo do tempo, houve uma evolução nas abordagens diagnósticas para amostras fecais (Utzinger et al., 2015). Isso se deve ao desafio de detectar ovos em pacientes com carga parasitária baixa, o que pode levar a uma subestimação da prevalência da doença e dificultar seu controle (Zhou et al., 2011).

Ensaio imunológico e técnicas de biologia molecular surgem como alternativas valiosas para o diagnóstico da infecção (Calvacanti et al., 2019; LoVerde, 2019; Tamarozzi et al., 2021). O diagnóstico da esquistossomose é fundamental para o tratamento adequado e a prevenção de complicações graves (Chala, 2023). Os métodos de diagnóstico da esquistossomose devem ser escolhidos de acordo com a finalidade, a disponibilidade e o custo-benefício (Chala, 2023; Sailer et al., 2023).

Existem diferentes métodos de diagnóstico da esquistossomose, que podem ser divididos em três categorias principais: métodos parasitológicos, métodos imunológicos e métodos moleculares (Mbonge et al., 2020).

2.4.1 Métodos parasitológicos

Os métodos parasitológicos baseiam-se na detecção dos ovos do parasito nas fezes ou em amostras de biópsia (Peters et al., 1980). Esses métodos são simples, baratos e específicos, mas têm baixa sensibilidade, especialmente em casos de baixa carga parasitária ou infecção por mais de uma espécie. Além disso, a eliminação dos ovos pode ser intermitente, o que requer a coleta de várias amostras (Ross et al., 2013).

Os principais métodos parasitológicos incluem:

(a) Técnica de Kato-Katz: Consiste na preparação de uma lâmina com uma quantidade padronizada de fezes e na aplicação de uma solução de glicerina e corante verde malaquita (Katz et al., 1972). Após 24 horas, os ovos são contados em um microscópio. É o método mais usado para o diagnóstico epidemiológico e a avaliação da eficácia do tratamento (Katz et al., 1972; Yu et al., 1998; Yu et al., 2007; Zhou et al., 2007);

(b) Técnica de sedimentação espontânea (Hoffman, Pons e Janer): Consiste na homogeneização de uma amostra de fezes em água e na decantação dos ovos em um tubo cônico. Após 24 horas, o sedimento é examinado em um microscópio (Hoffman et al., 1934). É um método mais sensível que o Kato-Katz, mas mais demorado e trabalhoso (Ribeiro e First, 2012);

(c) Técnica de concentração (MIFC): Consiste na adição de uma solução de formol, iodo e cloreto de mercúrio a uma amostra de fezes e na filtração em um papel filtro (Sapero e Lawless, 1953; Blagg et al., 1955). O filtrado é examinado em um microscópio. É um método sensível que permite a conservação das amostras, mas requer cuidados com o manuseio dos reagentes tóxicos (Mbonge et al., 2020);

(d) Técnica de biópsia: Consiste na coleta de fragmentos de tecido hepático, baço e intestino por meio de endoscopia ou cirurgia. Os fragmentos são fixados em formol e corados com hematoxilina-eosina para a visualização dos ovos e/ou presença de granulomas em um microscópio. É um método invasivo, mas pode ser útil em casos de dúvida diagnóstica ou formas graves da doença (Lopes et al., 2006; Voietta et al., 2010).

2.4.2 Métodos imunológicos

Os métodos imunológicos complementam os métodos convencionais, principalmente quando estes apresentam resultados negativos para indivíduos com baixas infecções (Alarcón et al., 2007). Baseiam-se na detecção de anticorpos ou antígenos específicos do parasito no sangue ou em outros fluidos corporais. Esses métodos são mais sensíveis do que os parasitológicos, mas têm menor especificidade, pois podem apresentar reações cruzadas com outras infecções ou persistir após a cura. Além disso, eles não fornecem informações sobre a carga parasitária ou o estado clínico do paciente (Mbonge et al., 2020; Chala, 2023).

Os principais métodos imunológicos incluem:

(a) Teste de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay): Consiste na reação entre os anticorpos presentes no soro do paciente e os antígenos do parasito fixados em uma placa. A presença de anticorpos é revelada por uma mudança de cor após a adição de um substrato enzimático (Othman, 2013). É o método mais utilizado para o diagnóstico sorológico da esquistossomose, pois é simples, rápido e pode ser automatizado (Grenfell et al., 2013). O

ELISA é considerado o principal ensaio sorológico com a maior sensibilidade e especificidade no diagnóstico da esquistossomose até o momento (Chala, 2023).

Além do ELISA, outros métodos imunológicos são utilizados, como a dosagem sorológica dos antígenos circulantes, incluindo os Antígenos Anódicos Circulantes (CAA) e Antígenos Catódicos Circulantes (CCA) de *S. mansoni*, com a possibilidade de detecção na urina (Rabelo, 1997; Gryssels, 2012; Adriko et al., 2014).

2.4.3 Métodos moleculares

Baseiam-se na detecção do DNA do parasito nas fezes e nos principais órgãos afetados, tais como fígado, intestino e baço (Chala, 2023). Esses métodos são os mais sensíveis e específicos, pois podem identificar a espécie do parasito e quantificar a carga parasitária (Xia et al., 2009; Steinauer et al., 2010). No entanto, eles são mais complexos, caros e requerem infraestrutura laboratorial adequada (Wichmann et al., 2012). O principal método molecular utilizado é:

Reação em cadeia da polimerase (PCR): consiste na amplificação de uma região específica do DNA do parasito por meio de ciclos de desnaturação, hibridização e extensão. O produto da amplificação é visualizado em um gel de agarose ou em um aparelho de fluorescência. É o método mais amplamente empregado para o diagnóstico molecular da esquistossomose, devido à sua rapidez e versatilidade (Guegan et al., 2019).

2.5 Controle da esquistossomose

Os métodos de controle da esquistossomose envolvem medidas de prevenção, diagnóstico e tratamento (Gomes et al., 2021, OMS, 2021, Lo et al., 2022). As medidas de prevenção incluem a melhoria das condições de saneamento básico, a educação em saúde, a eliminação dos caramujos hospedeiros intermediários e a proteção individual contra o contato com águas contaminadas (OMS, 2021, Lo et al., 2022). O diagnóstico precoce e o tratamento adequado dos casos podem reduzir a morbidade e a mortalidade da doença, bem como interromper o ciclo de transmissão (Lo et al., 2022).

O tratamento da esquistossomose é baseado no uso do Praziquantel, um medicamento que mata os vermes adultos e reduz a carga parasitária, sendo administrado em dose única, preferencialmente supervisionada (Chai, 2013). Cabe ressaltar que o Ministério da Saúde distribui gratuitamente o Praziquantel aos estados e municípios endêmicos (OMS, 2021). No entanto, este medicamento apresenta algumas desvantagens, como a falta de atividade contra as formas imaturas do parasito, a possibilidade de resistência dos vermes, a necessidade de repetir o tratamento periodicamente e os efeitos colaterais como náuseas, tonturas, diarreia e dor abdominal (Doenhoff et al., 2008; Wang e Huang, 2011; Cupit e Cunningham, 2015; Xiao et al., 2018). Além disso dos fatores mencionados, o Praziquantel não previne a reinfeção, que pode ocorrer facilmente em áreas onde as condições ambientais e sociais favorecem a exposição ao parasito (Inobaya et al., 2014). Dessa forma, se faz necessário novas alternativas e/ou complementos terapêuticos.

A busca por novas alternativas de tratamento é de grande importância para o controle da esquistossomose (Oluwole et al., 2022). Uma das alternativas pode ser o uso do próprio sistema imune do hospedeiro para combater infecções por *S. mansoni* (Eissa et al., 2019; Cleenewerk et al., 2020; Molehin et al., 2022). A esquistossomose é uma doença que envolve uma complexa interação entre o parasito e o sistema imune do hospedeiro, que pode resultar em diferentes graus de resistência ou susceptibilidade à infecção (Hambrook and Hanington, 2020; Zheng et al., 2020; Liu et al., 2022). A compreensão dos mecanismos imunológicos envolvidos na resposta à infecção pode permitir o desenvolvimento de vacinas ou imunoterapias que possam estimular a imunidade protetora contra o verme (Molehin et al., 2022; Licá et al., 2023).

Uma vacina contra a esquistossomose seria uma ferramenta valiosa para complementar as estratégias atuais de controle da doença (Molehin, 2020; Driciru et al., 2021; Molehin et al., 2022). No entanto, o desenvolvimento de uma vacina eficaz enfrenta vários desafios, como a identificação dos antígenos adequados, a escolha da via de administração, a seleção dos adjuvantes e a avaliação da segurança e da eficácia em ensaios clínicos (Nono et al., 2016). Atualmente, existem vários candidatos a vacina em diferentes fases de pesquisa, mas nenhum ainda está disponível para uso humano (Le et al., 2018; Molehin et al., 2021; Mossallam et al., 2021; Santini-Oliveira et al., 2022).

A imunoterapia consiste no uso de agentes que modulam o sistema imune para tratar ou prevenir doenças (Büchler, 2017). Na esquistossomose, a imunoterapia poderia ter como

objetivo potencializar a resposta imune contra o parasito ou atenuar a resposta inflamatória causada pelos ovos nos tecidos (Maestas et al., 2023). Alguns exemplos de agentes imunoterápicos que têm sido estudados na esquistossomose são os anticorpos monoclonais, as citocinas, os probióticos e os helmintos terapêuticos (Cleenewerk et al., 2020; Maestas et al., 2023). No entanto, ainda são necessários mais estudos para avaliar a efetividade e a segurança desses agentes na esquistossomose humana.

Diante dessas perspectivas, o estudo dos macrófagos pode auxiliar no contexto da esquistossomose, pois essas células desempenham um papel fundamental na resposta imune contra a infecção por *S. mansoni*, tanto na eliminação quanto na patogênese (Licá et al., 2023). O conhecimento sobre os macrófagos pode abrir novas perspectivas para o diagnóstico, o tratamento e a prevenção.

2.6 Uma visão geral sobre os macrófagos

Os macrófagos são células cruciais do sistema imunológico inato, reconhecidas por sua habilidade fagocítica, que desempenham um papel fundamental na remoção de partículas estranhas ao organismo (Gordon; Martinez-Pomares, 2017; Uribe-Querol; Rosales, 2020). Fazendo parte do sistema fagocítico mononuclear, essas células desempenham um papel essencial na manutenção da homeostase dos tecidos, bem como em diversos processos infecciosos e inflamatórios (Rahman et al., 2017; Shapouri-Moghaddam et al., 2018).

Nos processos infecciosos e inflamatórios, os macrófagos desempenham funções cruciais que incluem a apresentação de antígenos, em conjunto com moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), para o reconhecimento pelos linfócitos T, além de realizar a fagocitose e influenciar a resposta imunológica por meio da produção de diversas citocinas e fatores de crescimento (Wynn et al., 2013). É importante destacar que os macrófagos têm origem nos monócitos circulantes no sangue periférico, que se desenvolvem a partir de células progenitoras mieloides. Essas células progenitoras, identificadas como unidades formadoras de colônias de granulócitos/macrófagos (GM-CFU) na medula óssea (Haldar; Murphy, 2014), passam por uma série de diferenciações. Primeiro, as GM-CFU dão origem às unidades formadoras de colônias de macrófagos (M-CFU), que subsequentemente se diferenciam em monoblastos e pró-monócitos. Posteriormente, esses pró-monócitos migram para o sangue periférico, onde finalmente se diferenciam em monócitos maduros.

Esses monócitos, por sua vez, migram para diversos tecidos e contribuem para manter as populações de macrófagos específicos de cada tecido, que têm uma vida longa (Zhao et al., 2018).

Estudos recentes têm demonstrado que os macrófagos residentes nos tecidos não se originam apenas dos monócitos, pois essas células fagocíticas também podem ter sua origem no saco vitelínico durante o desenvolvimento embrionário conforme ilustrado na Figura 4 (Wynn et al., 2013; Varol et al., 2015). Além disso, é importante notar que os macrófagos que residem nos tecidos têm a notável capacidade de se autorrenovar, o que lhes permite manter suas populações específicas em órgãos ao longo de toda a vida, sem a necessidade contínua de recrutamento de monócitos originados na medula óssea (Zhao et al., 2018). Um exemplo disso ocorre em camundongos, onde se observou que macrófagos encontrados em órgãos como o cérebro, pele, fígado, rim, pulmão e coração têm origens no saco vitelínico ou no fígado fetal (Munro; Hughes, 2017)

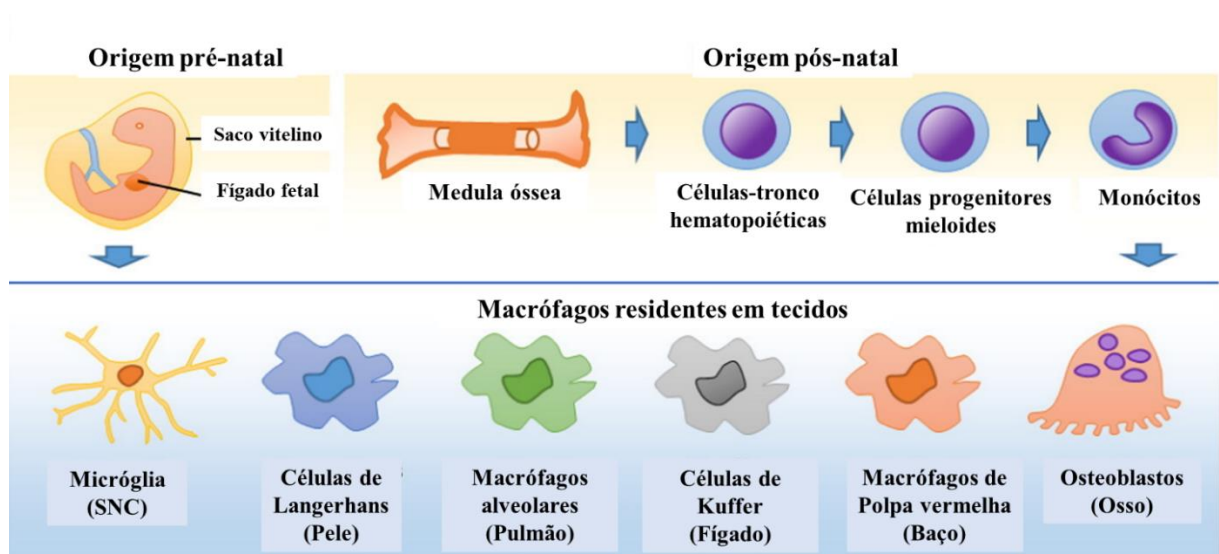


Figura 4. Os macrófagos de tecidos desempenham importantes funções homeostáticas. Os fagócitos mononucleares são gerados a partir de células estaminais hematopoiéticas comprometidas localizadas na medula óssea. Os precursores de macrófagos são liberados na circulação como monócitos e migram rapidamente para quase todos os tecidos do corpo, onde se diferenciam em macrófagos maduros. Várias populações de macrófagos de tecidos maduros estão estrategicamente localizadas em todo o corpo e realizam importantes atividades de vigilância imune, incluindo fagocitose, apresentação de antígenos e supressão imune (Adaptado de Pei; Yeo, 2016).

Macrófagos podem ser encontrados em diversos tecidos do organismo e, devido à sua característica plástica e heterogênea, desempenham funções que estão diretamente relacionadas ao microambiente onde estão presentes (Figura 4) (Shapouri-Moghaddam et al., 2018). Dependendo do tecido em que essa população de fagócitos se encontra, eles recebem diferentes denominações (Varol et al., 2015). Entre os macrófagos especializados residentes nos tecidos, destacam-se principalmente (Figura 4):

- Osteoclastos (presentes no osso), que desempenham um papel na reabsorção óssea (Muñoz et al., 2020);

- Macrófagos alveolares (no pulmão), responsáveis pela eliminação de partículas de poeira, alérgenos e microrganismos patogênicos (Lavin et al., 2015);

- Micróglia (no Sistema Nervoso Central), com funções centrais na remodelação tecidual e na homeostase (Lenz; Nelson, 2018);

- Células de Kupffer (no fígado), que desempenham um papel na manutenção do órgão, "limpando" patógenos e toxinas e participando da regeneração hepática após lesões (Ma et al., 2017);

- Células de Langerhans (na pele), que atuam na imunovigilância (Clayton et al., 2017);

- Macrófagos intestinais, responsáveis por reconhecer e remover bactérias entéricas, além de desempenharem um papel na tolerância a alimentos e na homeostase frente à microbiota (Wang et al., 2019).

Órgãos linfoides secundários também abrigam populações distintas de macrófagos, cada uma desempenhando funções únicas. Isso inclui os macrófagos de zona marginal no baço (Borges da Silva et al., 2015), que suprimem a imunidade inata e adaptativa, e os macrófagos dos seios subcapsulares dos linfonodos (McGaha et al., 2011), que iniciam respostas imunitárias humorais antivirais.

Assim, é perceptível que a função dos macrófagos residentes está amplamente distribuída pelo organismo, adquirindo diferentes denominações conforme sua localização. Além disso, essas células podem apresentar diferentes fenótipos, semelhantes aos linfócitos T, dependendo da via de ativação, o que resulta em propriedades distintas (Hirayama et al., 2017).

2.7 Plasticidade dos macrófagos e suas distintas polarizações

A história da polarização dos macrófagos teve início há mais de um século, quando o cientista russo Élie Metchnikoff fez a descoberta de que essas células eram capazes de fagocitar e destruir microrganismos invasores, em 1882 (Gordon e Metchnikoff, 2008). No entanto, apenas nas últimas décadas, reconheceu-se que os macrófagos não eram células homogêneas e estáticas; ao contrário, eram células heterogêneas e plásticas, capazes de se adaptar a diferentes condições ambientais e desempenhar diversas funções (Mills, 2015). Portanto, a polarização dos macrófagos é um processo pelo qual essas células adquirem diferentes fenótipos e funções, dependendo dos estímulos presentes no ambiente (Atri et al., 2018; Shapouri-Moghaddam et al., 2018).

Duas principais categorias de macrófagos foram identificadas, cada uma desempenhando funções distintas, tanto em seres humanos quanto em camundongos. Essa distinção é baseada em critérios como a expressão de marcadores de superfície celular, a produção de fatores específicos e as atividades biológicas associadas (Mills, 2015; Ley, 2017; Orecchioni et al., 2019). Os macrófagos classicamente ativados são conhecidos como M1, enquanto os macrófagos alternativamente ativados são chamados de M2 (Figura 5). A nomenclatura que descreve a polarização dos macrófagos como M1/M2 foi introduzida em 2000, com base na propensão dos macrófagos C57BL/6J de serem mais facilmente ativados para produzir NO (polarização M1) do que os camundongos Balb/c (polarização M2) (Mills, 2000).

Os macrófagos M1 estão, predominantemente, associados a uma resposta imunológica pró-inflamatória e são ativados em resposta a estímulos como lipopolissacarídeos (LPS) e interferon-gama (IFN- γ) (Figura 5). Eles têm a capacidade de secretar grandes quantidades de citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-12, IL-18 e IL-23 (Murray, 2017; Parisi et al., 2018). Essas citocinas desempenham papéis importantes como mediadores da inflamação, na ativação de outras células imunes e na diferenciação de linfócitos Th1 (Locati et al., 2020). Além disso, os macrófagos M1 expressam níveis elevados do complexo principal de histocompatibilidade classe II (MHC II), o que lhes permite apresentar antígenos aos linfócitos T CD4⁺ (Mills, 2015). Também expressam moléculas coestimuladoras, como CD80 e CD86, que intensificam a ativação dos linfócitos T (Orecchioni et al., 2019).

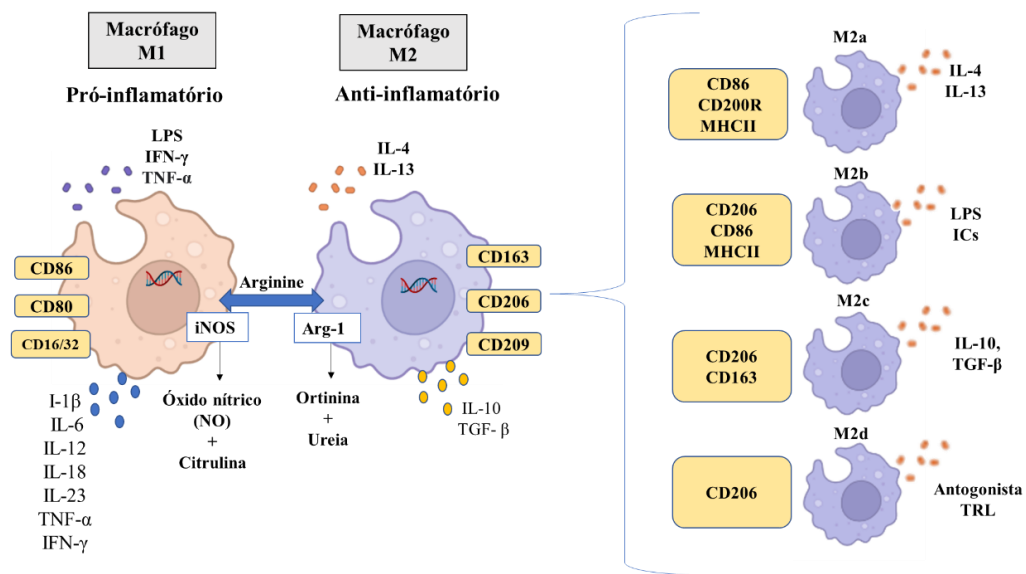


Figura 5. Diferentes fenótipos de macrófagos, estímulos e marcadores específicos. Fonte: Adaptado de Licá et al. (2023).

Além disso, os macrófagos M1 desempenham um papel crucial na defesa contra infecções bacterianas e virais, assim como na destruição de células cancerígenas (Yunna et al., 2020). Eles estão envolvidos na fagocitose de patógenos e na produção de óxido nítrico (NO) (Vannella e Wynn, 2017). A produção de NO ocorre por meio da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS) a partir da metabolização da L-arginina. O NO desempenha um papel fundamental na eliminação de patógenos intracelulares e na promoção da resposta imunológica pró-inflamatória (Rath et al., 2014).

Em contrapartida, os macrófagos M2, também conhecidos como anti-inflamatórios, estão associados ao reparo tecidual, à regulação imune, à tolerância e à promoção de tumores (Jetten et al., 2014; Braga et al., 2015). Eles produzem fatores de crescimento e matriz extracelular que favorecem a cicatrização e a angiogênese, além de estimular a resposta imune adaptativa do tipo Th2 (Murray, 2017). São ativados em resposta a estímulos como IL-4 e IL-13 (Mills, 2015). Esses macrófagos secretam grandes quantidades de citocinas anti-inflamatórias, como IL-10, TGF- β , IL-4 e IL-13 (Figura 5). Essas citocinas atuam como mediadores da resolução da inflamação (Zhang et al., 2009).

Os macrófagos M2 expressam baixos níveis de MHC II e moléculas coestimuladoras, o que limita a apresentação de antígenos aos linfócitos T. Além disso, eles expressam

marcadores específicos, tais como CD163, CD206, CD209 e CD36 (Suzuki et al., 2018; Xu et al., 2019). Uma das características distintivas dos macrófagos M2 é a regulação positiva da expressão da arginase 1 (Arg-1), uma enzima que converte a L-arginina em L-ornitina e ureia. A L-ornitina é um precursor da prolina e da poliamina, substâncias essenciais para a síntese de colágeno e a proliferação celular (Rath et al., 2014; Braga et al., 2015).

Em resumo, os macrófagos M1 e M2 representam dois extremos do espectro de polarização dos macrófagos, desempenhando funções opostas no contexto da resposta imunológica. Essa plasticidade nos macrófagos é crucial para uma resposta imunológica eficaz e para a manutenção da homeostase no organismo, permitindo que eles se adaptem de forma precisa às necessidades do ambiente (Yunna et al., 2020).

2.8 O Papel dos macrófagos M1 e M2 na esquistossomose

A resposta imunológica durante a esquistossomose é caracterizada por uma transição dinâmica entre os macrófagos M1 e M2, refletindo os diferentes estágios da doença e a necessidade de controlar a inflamação sem comprometer a eficácia da resposta imunológica (Cortes-Selva e Fairfax, 2021). Esses fagócitos podem exercer função pró-inflamatória ou anti-inflamatória nas diferentes formas clínicas da esquistossomose (fase aguda e fase crônica) (ZHU et al., 2014).

Na fase aguda da esquistossomose, quando os vermes adultos depositam seus ovos nos vasos sanguíneos, ocorre uma resposta inflamatória intensa e os macrófagos M1, ativados por citocinas pró-inflamatórias como o IFN- γ e o TNF- α , desempenham um papel central na eliminação dos ovos de *Schistosoma* (Wolde et al., 2020). Os macrófagos M1 produzem NO através da enzima iNOS, o que é essencial para a destruição dos ovos e a limitação da infecção (James e Glaven, 1989; Oswald et al., 1994). Além disso, eles liberam citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β e IL-6, para recrutar e ativar outras células do sistema imunológico (Cardoso et al., 2008; Egesa et al., 2018). Essa resposta imune é essencial para controlar a carga parasitária e prevenir a disseminação dos ovos para outros órgãos (Zheng et al., 2020). No entanto, essa resposta também pode causar danos aos tecidos, especialmente ao fígado e ao intestino, levando a complicações como fibrose, hipertensão portal e hemorragia (Egesa et al., 2018).

Conforme a infecção progride para a fase crônica, a resposta inflamatória deve ser controlada para evitar danos teciduais graves (Fairfax et al., 2012). É aqui que os macrófagos M2 entram em cena. Esses macrófagos são ativados por citocinas anti-inflamatórias, como IL-4 e IL-13, que são produzidas como parte da resposta do hospedeiro à infecção (Mills, 2015; Rolot; Dewals et al., 2018). Os macrófagos M2 têm propriedades anti-inflamatórias e desempenham um papel crucial na modulação da resposta imunológica (Strizova et al., 2023). Eles secretam citocinas como a IL-10, que auxilia na redução da inflamação e promove a reparação tecidual (Makita et al., 2015). Além disso, os macrófagos M2 podem limitar a resposta das células T, evitando, assim, uma resposta imunológica exacerbada (Kreider et al., 2007).

Assim, a polarização dos macrófagos é um processo dinâmico e regulado por diversos fatores, os quais podem variar de acordo com a espécie do parasito (Rolot; Dewals et al., 2018; Lechner et al., 2021). A maioria dos estudos sobre a polarização dos macrófagos na esquistossomose foi realizada com a espécie *S. japonicum*, que causa uma forma mais grave da doença (Licá et al., 2023). No entanto, existem poucos estudos sobre a participação dos macrófagos M1 e M2 na infecção por *S. mansoni*, que é a espécie mais prevalente no Brasil e em outras regiões endêmicas (Cafieiro et al., 2022). O entendimento dos mecanismos moleculares e celulares envolvidos na interação entre os macrófagos e os parasitos é fundamental para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para a esquistossomose e para a melhoria da saúde das populações afetadas por essa doença (Elvira; Lachmann, 2021).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar *in vitro* as respostas dos macrófagos na presença de cercárias e vermes adultos de *Schistosoma mansoni* e *in vivo* a expressão de macrófagos M1 e M2 no tecido hepático de camundongos após 90 dias de infecção pelo parasito.

3.2 Objetivos Específicos

- Comparar a capacidade cercaricida e vermicida *in vitro* de macrófagos polarizados M1 e M2;
- Avaliar as diferenças fenotípicas e funcionais *in vitro* de macrófagos polarizados cultivados com vermes adultos de *S. mansoni*;
- Avaliar a expressão de moléculas associadas ao perfil M1 e M2 no tecido hepático de camundongos infectados por *S. mansoni*.

4 RESULTADOS

Os resultados desta tese estão sob forma de capítulos, consistindo em artigos científicos nas seguintes situações:

- **Capítulo 1:** Immunological mechanisms involved in macrophage activation and polarization in schistosomiasis. Publicado na revista *Parasitology* Cambridge (Qualis Capes: A1; Fator de impacto: 3.243).

- **Capítulo 2:** Polarização dos macrófagos M1 e M2 em resposta aos diferentes estágios do *S. mansoni* na infecção esquistossomótica. Em processo de elaboração para submissão na revista *Parasitology Research* (Qualis Capes: A1; Fator de impacto: 2.111).

CAPÍTULO 1

**Immunological mechanisms involved in macrophage activation and
polarization in schistosomiasis**

Review Article

Cite this article: Licá ICL *et al.* (2023). Immunological mechanisms involved in macrophage activation and polarization in schistosomiasis. *Parasitology* **150**, 401–415. <https://doi.org/10.1017/S0031182023000021>

Received: 18 May 2022

Revised: 21 December 2022

Accepted: 24 December 2022

First published online: 5 January 2023

Keywords:

Granuloma; M1; M2; phagocytes; schistosomiasis

Author for correspondence:

Flávia Raquel Fernandes Nascimento,
E-mail: flavia.nascimento@ufma.br

Immunological mechanisms involved in macrophage activation and polarization in schistosomiasis

Irlla Correia Lima Licá^{1,2} , Gleycka Cristine Carvalho Gomes Frazão^{1,2} ,
Ranielly Araujo Nogueira^{1,2} , Maria Gabriela Sampaio Lira^{1,2} ,
Vitor Augusto Ferreira dos Santos^{1,2}, João Gustavo Mendes Rodrigues³ ,
Guilherme Silva Miranda⁴ , Rafael Cardoso Carvalho¹ , Lucilene Amorim Silva^{1,2,5},
Rosane Nassar Meireles Guerra^{1,2,5}  and Flávia Raquel
Fernandes Nascimento^{1,2,5} 

¹Graduate Program in Health Sciences, Center for Biological and Health Sciences, Federal University of Maranhão, São Luís, MA, Brazil; ²Laboratory of Immunophysiology, Center for Biological and Health Sciences, Federal University of Maranhão, São Luís, MA, Brazil; ³Department of Parasitology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil; ⁴Department of Biology, Federal Institute of Education, Science and Technology of Maranhão, São Raimundo das Mangabeiras, Brazil and ⁵Department of Pathology, Center for Biological and Health Sciences, Federal University of Maranhão, São Luís, MA, Brazil

Abstract

Human schistosomiasis is caused by helminths of the genus *Schistosoma*. Macrophages play a crucial role in the immune regulation of this disease. These cells acquire different phenotypes depending on the type of stimulus they receive. M1 macrophages can be ‘classically activated’ and can display a proinflammatory phenotype. M2 or ‘alternatively activated’ macrophages are considered anti-inflammatory cells. Despite the relevance of macrophages in controlling infections, the role of the functional types of these cells in schistosomiasis is unclear. This review highlights different molecules and/or macrophage activation and polarization pathways during *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum* infection. This review is based on original and review articles obtained through searches in major databases, including Scopus, Google Scholar, ACS, PubMed, Wiley, Scielo, Web of Science, LILACS and ScienceDirect. Our findings emphasize the importance of *S. mansoni* and *S. japonicum* antigens in macrophage polarization, as they exert immunomodulatory effects in different stages of the disease and are therefore important as therapeutic targets for schistosomiasis and in vaccine development. A combination of different antigens can provide greater protection, as it possibly stimulates an adequate immune response for an M1 or M2 profile and leads to host resistance; however, this warrants *in vitro* and *in vivo* studies.

Introduction

Human schistosomiasis is a neglected parasitic disease with great relevance to public health. Worldwide, it is estimated that approximately 230–250 people are infected and 700–800 million live in areas that are at risk of infection, mainly in countries located in South America, Asia and Africa (Steinmann *et al.*, 2006; Colley *et al.*, 2014; McManus *et al.*, 2018; Wei *et al.*, 2018; WHO, 2020). In addition, approximately 200 000–280 000 deaths occur each year due to schistosomiasis and its complications (LoVerde, 2019). The high prevalence of schistosomiasis is mainly related to people living in extreme poverty and poor sanitation, which represent a serious risk to human health (Ismail *et al.*, 2014; Bajiro *et al.*, 2017; Verjee, 2019).

The infection is caused by helminths of the genus *Schistosoma* (Colley *et al.*, 2014; Stingl and Stingl, 2017; WHO, 2020), belonging to the class Trematoda and phylum Platyhelminthes. The main aetiological agents of this disease, in terms of clinical relevance, are *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* (WHO, 2020). In this review, we focus only on *S. mansoni* and *S. japonicum*, as they are the main species associated with hepatic and intestinal schistosomiasis (Wilson *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2013; McManus *et al.*, 2018).

There are 2 distinct phases of clinical progression of intestinal schistosomiasis: the acute and the chronic phases (Gobbi *et al.*, 2020). During the early stages of acute phase of schistosomiasis (before parasite oviposition), there is a predominance of the T helper type 1 (Th1) immune response (Pearce *et al.*, 1991; Hesse *et al.*, 2001; Pearce and MacDonald, 2002; Colley and Secor, 2014). After schistosome oviposition, the immune response becomes strongly polarized to the Th2 profile, which is related to increasing production of interleukin-4 (IL-4), IL-5, IL-9 and IL-13 (Pearce and MacDonald, 2002; Burke *et al.*, 2009). This immune environment is responsible for the formation of granulomas in tissues (Grzych *et al.*, 1991; Brunet *et al.*, 1997; Hoffmann *et al.*, 2000). The granuloma has an important role for the host, because it contains the tissue damage caused by antigens secreted by the schistosome

eggs (Hams *et al.*, 2013; Schwartz and Fallon, 2018). In the chronic phase of schistosomiasis, there is an increase in the production of regulatory cells in the granuloma, which can modulate granulomatous inflammation, promoting a minimization of the disease severity (Hesse *et al.*, 2004; Lundy and Lukacs, 2013). However, if this inflammatory reaction does not have an adequate modulation, the granulomas progressively may evolve into large areas of fibrosis, responsible for the main pathology of schistosomiasis (Hams *et al.*, 2013; Schwartz and Fallon, 2018), including hepatosplenomegaly (Masi *et al.*, 2020), portal hypertension (Grieco *et al.*, 2016) and ascites (Fei-Yue *et al.*, 2017).

Macrophages are cells of the innate immune system that play important roles in controlling infections (Shapouri-Moghaddam *et al.*, 2018), as well as in tissue remodelling processes, both in ontogenesis and wound healing (Kloc *et al.*, 2019). In the course of *S. mansoni* and *S. japonicum* infection, either at its initial stage or during the evolution to the chronic phase, macrophages participate in the immune regulation of the disease (Cortes-Selva *et al.*, 2018; Ho *et al.*, 2022).

Macrophages can acquire different phenotypes depending on the stimuli to which they are subjected to (Atri *et al.*, 2018). These cells can be classified into M1 or 'classically activated' cells, with pro-inflammatory action, and M2 or 'alternatively activated' macrophages, which are considered anti-inflammatory cells (Mills, 2015; Ley, 2017; Locati *et al.*, 2020). However, despite the relevance of macrophages in controlling infections, the participation of the functional types of these cells in acute and chronic schistosomiasis is still not well defined. Thus, this review discusses the different molecules and/or pathways of activation and polarization of macrophages during infection by *S. mansoni* and *S. japonicum*, leading to a better understanding of the role of these cells in the immunopathology of schistosomiasis. Based on this knowledge, we may help identify potential targets for the development of better treatment strategies to reduce the morbidity of this disease.

Methods and criteria for literature selection

This literature review was performed using recognized databases including Scopus, Google Scholar, ACS, PubMed, Wiley, Scielo, Web of Science, LILACS and ScienceDirect and covered original and review articles published in English from 1966 to 2022. Articles involving *in vitro* and/or *in vivo* experiments were included and addressed the main immunological aspects of *S. mansoni* and *S. japonicum* infection related to macrophage polarization, activation and effector functions. To search for these articles, combinations of keywords were used, such as 'Macrophage', 'Schistosoma', 'macrophage polarization and Schistosoma', 'Macrophage and Schistosoma', 'Macrophage and Schistosoma mansoni', 'Macrophage and Schistosoma japonicum'. Research involving coinfections was not included in this study.

Immunopathology of the definitive host against infection by *S. mansoni* and *S. japonicum*

Parasites of the genus *Schistosoma* have complex life cycles (Fig. 1), with generations of asexual reproducing larvae living in freshwater snails, the intermediate hosts (some species of the genus *Biomphalaria* for *S. mansoni* and the genus *Oncomelania* for *S. japonicum*) and another stage of sexual reproduction of adult worms in vertebrate hosts (definitive), including humans (McManus *et al.*, 2018; Nelwan, 2019). Each stage of the parasite's life cycle (cercariae, schistosomulae, adult worms and eggs) within the definitive host triggers a series of immune responses, and consequently, clinical signs that can be harmful to humans (Molehin, 2020; Hambrook and Hanington, 2021; Masamba and Kappo,

2021). The interactions between the host immune system and the parasite can be divided into 2 phases (Fig. 2): acute phase (after and before parasite oviposition) and chronic phase (Gobbi *et al.*, 2020).

The first clinical manifestations of the acute phase (cercarial dermatitis, oedema and pruritus) begin 48–72 h after cercariae penetrate the host's skin, and occurs mainly in individuals from endemic areas (frequently exposed to infection) (He *et al.*, 1990, 2005; Khammo *et al.*, 2002; Ingram *et al.*, 2003; Lambertucci, 2010). The first innate immune barrier encountered by cercariae is the skin (Bartlett *et al.*, 2000; Whitfield *et al.*, 2003; He *et al.*, 2005). This tissue is composed of keratinocytes, whose function is to secrete cytokines with antimicrobial functions (Roupé *et al.*, 2010; Piipponen *et al.*, 2020). Indeed, the keratinocytes are considered the first active cells in response to cercariae infection (Bourke *et al.*, 2015). These cells rapidly respond to infections by secreting inflammatory cytokines [IL-6, IL-12, tumour necrosis factor- α (TNF- α) and IL-1 β] to repair damaged tissue (Hogg *et al.*, 2003a, 2003b). When penetrating the host's skin, cercariae also cause an increase in antigen-presenting cells in the innate immune system, such as Langerhans cells and dendritic cells (DCs), as shown in Fig. 2 (Angeli *et al.*, 2001; Kumkate *et al.*, 2007; Hambrook and Hanington, 2021), which contribute to a type 1 cellular immune response (He *et al.*, 2005; Perona-Wright *et al.*, 2006).

Initial immune responses are activated as a result of excretory/secretory (E/S) products released by the cercariae penetrating glands at the time of penetration into the host's skin (Salter *et al.*, 2000; Jenkins *et al.*, 2005a, 2005b; Curwen *et al.*, 2006; Paveley *et al.*, 2009). E/S products assist in the immunomodulatory function exerted by cercariae, as well as condition the remodelling of the extracellular matrix, facilitating its penetration into the skin (Janssen *et al.*, 2016; Leontovych *et al.*, 2020). Liu *et al.* (2015) performed a proteomic analysis of products excreted by *S. japonicum* cercariae at the time of skin entry and identified a variety of E/S proteins, mainly proteases. Among the enzymes that allow this remodelling, the cercarial elastase of *S. mansoni* stands out, which is of great importance in the penetration of cercariae into the skin and can degrade a wide variety of macromolecules present in the human integument (Ingram *et al.*, 2012; El-Faham *et al.*, 2017).

Parasitic E/S products also promote the activation of prostaglandin E2 (PGE2) and prostaglandin D2-producing keratinocytes (Kaisar *et al.*, 2018; Oyesola *et al.*, 2021), which are molecules that induce the production of IL-10 via a cyclooxygenase 2-dependent pathway (Ramaswamy *et al.*, 2000; Harizi *et al.*, 2002; Xue *et al.*, 2005). This type of response is responsible for modulating the immune response that favours parasite survival (Angeli *et al.*, 2001; Hervé *et al.*, 2003; De Oliveira Fraga *et al.*, 2010). Abdel-Ghany *et al.* (2015) suggested that blocking PGE2 might provide partial protection in *S. mansoni*-infected mice. In addition, during the period when cercariae transform into schistosomules and migrate through the skin, PGE2 acts as a potent vasodilator, helping the passage of these larval forms into circulation (Ruzicka and Printz, 1984).

After penetrating the host's skin, cercariae undergo morphological and biochemical changes, transforming into juvenile forms, known as schistosomula, that reach blood vessels (Brink *et al.*, 1977; Wilson, 1987; Curwen and Wilson, 2003). In the bloodstream, the schistosomula is passively transported to the lungs and heart until they finally reach the hepatic portal system, where they develop into adult male or female worms (Miller and Wilson, 1978; Wheater and Wilson, 1979; Nation *et al.*, 2020) (Fig. 1). In this phase before the parasite's oviposition (early stages of acute phase), the host produces a predominantly type 1 immune response, which reaches greater activation between the

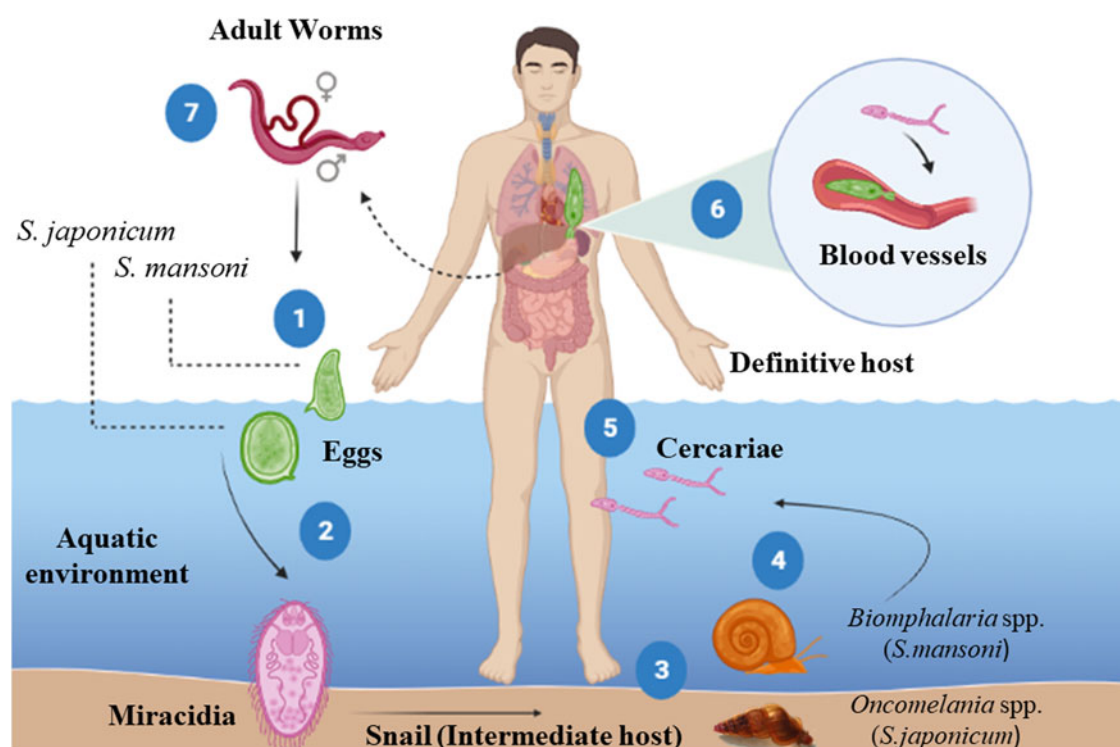


Fig. 1. Life cycle of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum*. (1) The eggs shed in the feces of the definitive host release the miracidia when they come in contact with water (2), which penetrate in soft tissue the intermediate host snail (*Biomphalaria* spp./*Oncomelania* spp.). Inside the snail, the miracidia transform into mother sporocysts, which in turn produce daughter sporocysts by asexual reproduction. After around 30 days post-infection, cercariae emerge from the daughter sporocysts and are shedding by the snails in response to the light and heat (4). The cercariae penetrate the skin of the definitive host (5) and later transform into schistosomula. These larvae enter venous blood vessels and are passively carried to the lungs and heart (6). Upon reaching the hepatic portal system, schistosomula mature, become adult worms (male or female) and mate (7). The mated worms migrate to the lower mesenteric veins of the intestine, where the female sheds the eggs. Part of these eggs pass through the intestinal wall and are eliminated in the feces, starting the cycle again. However, some eggs are not eliminated and get trapped in several organs (mainly the liver and intestines), inducing a potent granulomatous inflammatory response, responsible for schistosomiasis pathology. Source: Created with [BioRender.com](https://www.biorender.com).

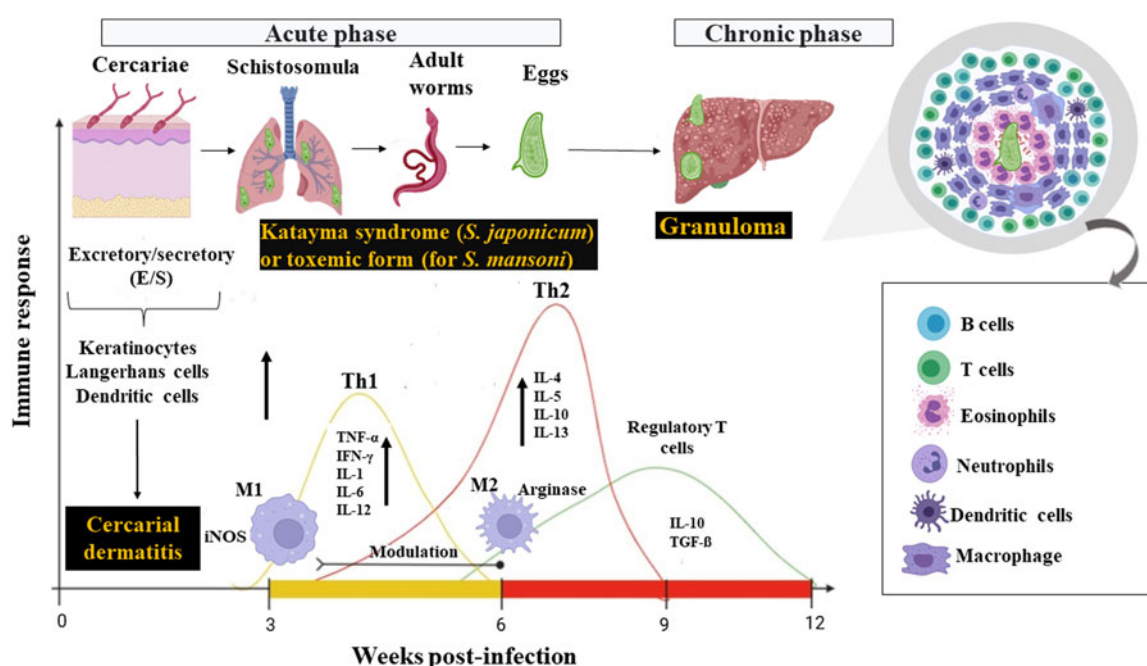


Fig. 2. Different immune response profiles during *S. mansoni* and *S. japonicum* infection. Source: Created with [BioRender.com](https://www.biorender.com).

3rd and 5th weeks after exposure to cercariae (Dunne and Cooke, 2005; Gryseels *et al.*, 2006). This response is characterized by high production of pro-inflammatory cytokines, such as IL-1, IL-2,

IL-6, IL-12, interferon-gamma (IFN- γ) and TNF- α (Fig. 2) (Grzych *et al.*, 1991; Pearce *et al.*, 1991; Egesa *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2020). Coinciding with the migration and sexual

maturation of adult worms, a systemic hypersensitivity reaction occurs in the host, called Katayama syndrome (for *S. japonicum*) or the toxæmic form (for *S. mansoni*), which is associated with an intense Th1 response (Neves, 1992; Ross *et al.*, 2007; Caldas *et al.*, 2008; Langenberg *et al.*, 2019). During primary infections in non-immune individuals, the main symptoms related to this systemic inflammation include a high fever accompanied by chills, profuse sweating, asthenia, myalgia, headache and a non-productive cough (Schwartz *et al.*, 2000; Bottieau *et al.*, 2006).

After parasite oviposition (between 5th and 6th weeks post-infection), there is a change in the profile of immune mediators produced by the host, and the immune response becomes predominantly Th2, which is associated with increasing production of IL-4, IL-5, IL-9 and IL-13 (MacDonald *et al.*, 2002; Pearce *et al.*, 2004; Bartley *et al.*, 2006; Burke *et al.*, 2009). Such changes are responses to soluble egg antigens (SEAs) (Hams *et al.*, 2013), that is composed of a complex mixture of immunostimulatory antigens that are known for their ability to condition DCs to initiate the induction of a Th2 profile (Mouser *et al.*, 2019).

DCs detect, capture and process antigens derived from eggs of *S. mansoni* (Cervi *et al.*, 2004; van Liempt *et al.*, 2007), resulting in their ability to lead to Th2 polarization both *in vitro* and *in vivo* (de Jong *et al.*, 2002; MacDonald *et al.*, 2002; Perona-Wright *et al.*, 2006). The main antigens responsible for this potent induction of a Th2 response are glycoproteins omega 1 (ω -1) and IPSE (IL-4-inducing principle of *S. mansoni* eggs)/alpha 1 (α -1) (Schramm *et al.*, 2006; Meevissen *et al.*, 2010). Glycoprotein ω -1 is present in both SEAs (Dunne *et al.*, 1991) and E/S products from live eggs (Cass *et al.*, 2007), and activates DCs (via C-type and Toll-type lectin receptors), which in turn promotes Th2 differentiation, the main source of type 2 cytokines such as IL-4, IL-5 and IL-13 (Everts *et al.*, 2009). On the other hand, a previous study (Schramm *et al.*, 2006) showed that the glycoprotein IPSE/ α -1 is exclusively released from mature eggs, but likely possesses the same potential to initiate a Th2 response during *S. mansoni* infection. IPSE/ α -1 binds to immunoglobulin and activates basophils, leading to the release of histamine and facilitating

the production of Th2-type cytokines, mainly IL-4 and IL-13 (Schramm *et al.*, 2007; Meyer *et al.*, 2015; Knuhr *et al.*, 2018). Thus, the Th2 response (Fig. 2) is related to low production of IFN- γ and high concentrations of anti-inflammatory cytokines (IL-4, IL-5, IL-10 and IL-13) (Grzych *et al.*, 1991; Pearce *et al.*, 2004; Zheng *et al.*, 2020).

Mechanisms associated with macrophage polarization

Macrophages are cells of the innate immune system that have phagocytic capacity and are involved in the elimination of foreign particles from the body (Gordon and Martinez-Pomares, 2017; Uribe-Querol and Rosales, 2020) and in the presentation of antigens, constituting an important link between innate and adaptive immunity. These cells are part of the mononuclear phagocytic system and are implicated in tissue homeostasis and various infectious and inflammatory processes (Rahman *et al.*, 2017; Shapouri-Moghaddam *et al.*, 2018).

Macrophages are activated during phagocytosis or by contact with molecular patterns associated with pathogenic microorganisms. This activation results in inflammatory responses and increased production of cytokines and/or physicochemical factors and, consequently, can differentiate into various phenotypes depending on the state and changes in the microenvironment (Schmall *et al.*, 2015; Murray, 2017). There are 2 main subtypes of macrophages classified according to the expression of their cell surface markers, production of specific factors and biological activities: classically activated or inflammatory M1 macrophages and alternatively activated or anti-inflammatory M2 macrophages (Parisi *et al.*, 2018) (Fig. 3). Macrophage subtypes play a role in the initiation and/or progression of many diseases. The M1/M2 paradigm emerged as homologous with the one previously described for Th response profiles, which also presents 2 subtypes: Th cell type 1 (Th1) and type 2 (Th2) (Mills, 2015).

M1 macrophage subtypes polarize in the presence of Th1 cytokines such as IFN- γ and TNF- α or when exposed to inflammatory molecules such as lipopolysaccharides (LPS) (Yunna *et al.*, 2020),

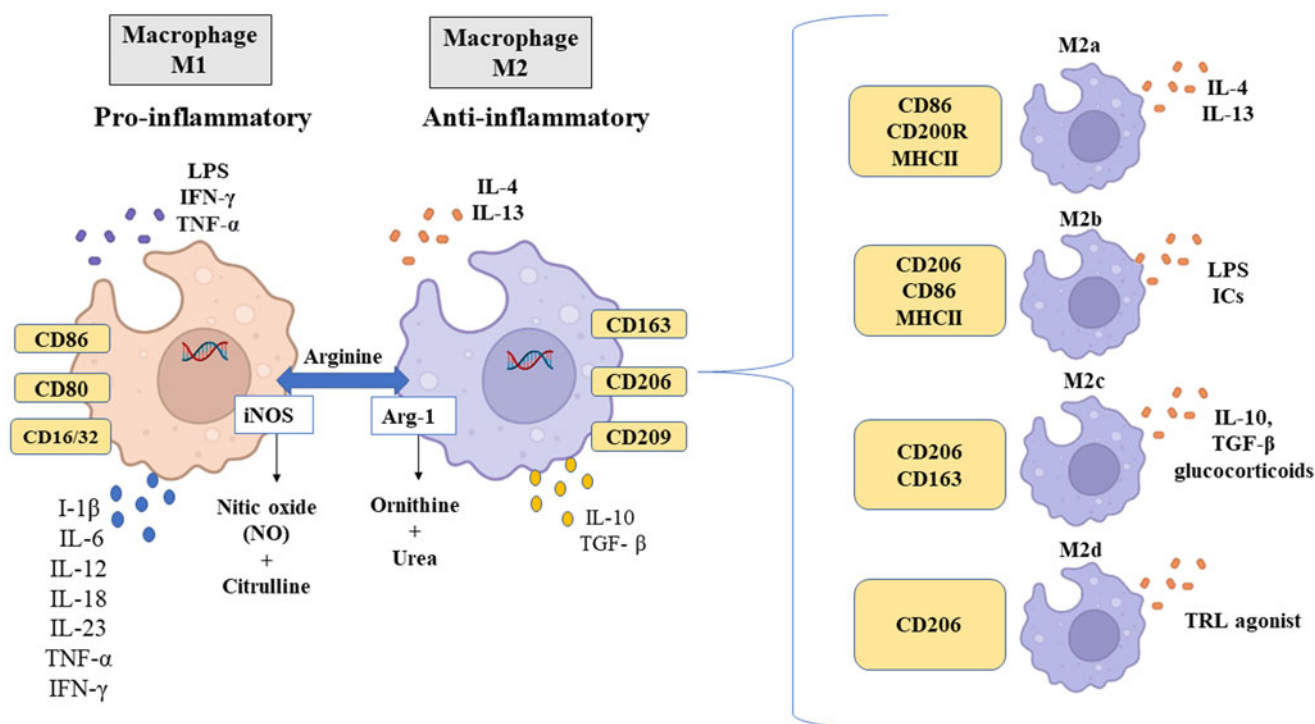


Fig. 3. Different macrophage phenotypes, specific stimuli and markers. Source: Created with BioRender.com.

through the following mechanisms: (1) JAK/STAT (Janus kinase/signal transducer and transcriptional activator) signalling pathway. IFN- γ activates JAK-inducing phosphorylation of STAT1, which in turn leads to macrophage polarization to M1 (Wang *et al.*, 2020); (2) Toll-like receptor (TLR) 4/nuclear factor κ B (NF- κ B) signalling pathway. LPS binds to TLR4 to activate NF- κ B and activator protein 1 (AP-1), promoting the expression of inflammatory factors (Chen *et al.*, 2017b; Ciesielska *et al.*, 2021) and (3) cytokine signalling through specific receptors that activate AP-1 (Liu *et al.*, 2014).

M1 macrophages are recruited soon after lesion formation and are mainly involved in the initial response to infectious processes (Vannella and Wynn, 2017). These increase local inflammation, producing large amounts of pro-inflammatory cytokines, including IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-23, TNF- α and IFN type 1 (Shapouri-Moghaddam *et al.*, 2018), as shown in Fig. 3. The M1 macrophage phenotype expresses high levels of inducible nitric oxide synthase (iNOS), major histocompatibility complex class II (MHC II), CD16/32, CD80 and CD86, as well as chemokines that attract Th1 cells, including CXCL9 and CXCL12 (Orecchioni *et al.*, 2019). Functionally, M1 macrophages are characterized by antimicrobial and antitumour activities and participate in the elimination of infectious agents through the activation of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase and, consequently, the generation of reactive oxygen species (ROS) (Murray *et al.*, 2014).

On the other hand, M2 macrophages are induced by Th2 cytokines IL-4 and IL-13 (Fig. 3), mainly via STAT6 activation (Sica and Mantovani, 2012; Enderlin *et al.*, 2014). This pathway is extremely important, as IL-4 inhibits M1 and induces M2 polarization (He *et al.*, 2020). Gao *et al.* (2015) demonstrated that the expression of STAT6 was positively regulated by curcumin and by the secretion of IL-4 and IL-13, capable of inducing M0 and M1 macrophages to polarize into M2. IL-4 type I and type II receptors also activate STAT6 (Gong *et al.*, 2017), which in turn induces the transcription of typical M2 polarization genes, such as mannose receptor 1, type α resistin (Retnla) and chitinase 3-like 3 (Chi3l3, Ym1) (Martinez and Gordon, 2014). M2 polarization can also be induced by IL-10 through STAT3 activation (Yin *et al.*, 2018). However, the STAT6 pathway is considered to activate M2 macrophages (Murray, 2017).

The M2 macrophage phenotype has a profile of anti-inflammatory cytokines, characterized by low production of IL-1, IL-6 and TNF- α , and high production of IL-10 and transforming growth factor-beta (TGF- β) (Fig. 3), as well as chemokines CCL1, CCL17, CCL18, CCL22 and CCL24 (Yunna *et al.*, 2020). Additionally, this phenotype can be characterized by the expression of arginase 1 (Arg-1), CD163, CD209 and CD206. CD206 interacts with glycoproteins and glycolipids found on the surfaces of pathogens (Suzuki *et al.*, 2018; Xu *et al.*, 2019). Thus, CD206 plays a role in immunological recognition of pathogens after antigen internalization and presentation (Hussell and Bell, 2014). Functionally, M2 macrophages can inhibit inflammation, promote tissue repair and wound healing, prevent parasitic infection and have proangiogenic and profibrotic properties (Jetten *et al.*, 2014; Braga *et al.*, 2015). Furthermore, because M2 macrophages produce complex cytokines and are characterized by the functional expression of alternative activation markers, they can be divided into 4 subtypes: M2a, M2b, M2c and M2d (Yao *et al.*, 2019). These subtypes differ from each other based on their cell surface markers, secreted cytokines and biological functions, as is demonstrated in Fig. 3.

M2a macrophages are induced by the cytokine IL-4 or IL-13 and express high levels of CD86, CD200R and MHC II and low levels of CD14 and TLR4 (Yao *et al.*, 2019). In addition to being major producers of CCL24, CCL17 and CCL22, they use

CCR3 and CCR4 receptors, resulting in the recruitment of eosinophils, basophils and Th2 cells, promoting the upregulation of a type 2 immune response (Fraternal *et al.*, 2015). M2b-type macrophages are induced by immune complexes, LPS or IL-1 receptor antagonist and are characterized by increased expression of CD206 and CD86 (Viola *et al.*, 2019). Upon activation, this subtype secretes pro- and anti-inflammatory cytokines TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-10 and functions in regulating the immune response and inflammation (Wang *et al.*, 2019). M2c macrophages are induced by IL-10, TGF- β or glucocorticoids, and express CD206 and CD163, in addition to secreting IL-10, TGF- β , CCL16 and CCL18, which play crucial roles in the phagocytosis of apoptotic cells (Ross *et al.*, 2021). Finally, induced by TLR antagonists, M2d macrophages express high levels of CD206, IL-10 and iNOS, secrete CCL5, CXCL10 and CXCL6 and express low levels of IL-12 and TNF- α (Viola *et al.*, 2019). This subtype also secretes the vascular endothelial growth factor and promotes angiogenesis and tumour progression (Ferrante *et al.*, 2013). Notably, all subtypes of M2 macrophages express IL-10.

M1 and M2 macrophages can also be differentiated by the way they metabolize arginine, as shown in Fig. 3. M1 macrophages metabolize arginine by the enzyme iNOS to produce nitric oxide (NO) and citrulline; on the contrary, M2 macrophages metabolize arginine by Arg-1 to produce L-ornithine and urea, a precursor molecule of polyamines involved in tissue repair and cell proliferation (Rath *et al.*, 2014; Yang and Ming, 2014).

The 2 macrophage populations must be balanced to maintain homeostasis and to protect the organism. Once an imbalance occurs, the exacerbated activity of M1 or M2 macrophages can lead to the development of inflammatory diseases or host immunosuppression (Sica *et al.*, 2015). However, the remarkable plasticity of macrophages confers significant benefits to the host, especially in the course of chronic helminth infections (Lechner *et al.*, 2021) since it limits excessive tissue damage when it is unable to overcome the initial injury. This feature has been well-documented in schistosomiasis.

Participation of M1 and M2 macrophages in the response to *Schistosoma* infection

Initially, blood monocytes differentiate into macrophages at inflammatory sites (Rückerl and Cook, 2019) and exhibit high plasticity as a result of exposure to various stimuli, signalling molecules, nutrients and metabolites in the context of schistosomiasis (Cortes-Selva and Fairfax, 2021). These phagocytes can exert pro-inflammatory or anti-inflammatory functions (Zhu *et al.*, 2014) in different clinical forms of schistosomiasis (acute and chronic phases) (Fig. 2). In the acute phase, macrophages secrete pro-inflammatory cytokines and consequently increase inflammation, recruit more immune cells and promote the formation of the initial granuloma. In the chronic phase, macrophages have an immunoregulatory activity to decrease the damage caused by granulomas (Wolde *et al.*, 2020).

During the life cycle of *S. mansoni* and *S. japonicum*, several antigens are excreted by their different evolutive forms (Curwen *et al.*, 2006; Jang-Lee *et al.*, 2007; Acharya *et al.*, 2021). For example, Sm16 – a low molecular weight protein that is secreted by *S. mansoni* cercariae, helps the parasite to enter the host's skin (Brännström *et al.*, 2009; Sanin and Mountford, 2015). Sm29, present in the tegument of schistosomula and adult *S. mansoni* worms, can induce the maturation and activation of human monocyte-derived DCs (Cardoso *et al.*, 2008; Lopes *et al.*, 2019). Sj-C is an example of a protein secreted from the tegument of *S. japonicum*, which may suppress the presentation of exogenous antigens by DCs (He *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2017a). IPSE/

Table 1. Molecules and/or antigens involved in macrophage polarization in *Schistosoma mansoni* infection

Macrophage profile	Molecule/antigen	Experimental model	Type of study	References
M1	Schistosomules	C57BL/6 mice	<i>In vivo</i>	Menson and Wilson (1990)
M2	SEA	BMDCs and DCs from C57BL/6 or TLR4 mice Macrophages derived from human monocytes	<i>In vitro</i>	Goh <i>et al.</i> (2009)
M2	p16 ^{INK4a}	Macrophages derived from mouse bone marrow Chimaeric mice	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	Cudejko <i>et al.</i> (2011)
M2	Cercariae	Peritoneal macrophages Mice IL4Rα ^{flox/Δ} LysM ^{WT/Cre}	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	Vanella <i>et al.</i> (2014)
	SEA	Mutant mice LysM ^{Cre/+} Shp2 ^{flox/flox} (control) and LysM ^{Cre/+} : Shp2 ^{flox/flox} (Shp2 ^{Δ/Δ})		
M2	CD14 TLR co-receptor	Mice <i>Cd14</i> ^{-/-} Wild-type mice (wt)	<i>In vivo</i>	Tundup <i>et al.</i> (2014)
M1 profile lock	Sm16 antigen	Macrophages derived from mouse bone marrow	<i>In vitro</i>	Sanin and Mountford (2015)
M2	LPC	Peritoneal macrophages and bone marrow derivatives of mice	<i>In vitro</i>	Assunção <i>et al.</i> (2017)
M2	IPSE/α-1	Human peripheral blood cells (monocytes and basophils)	<i>In vitro</i>	Knuhr <i>et al.</i> (2018)

α-1 and ω-1 are examples of proteins secreted by *S. mansoni* eggs, which help direct a Th2 response (Everts *et al.*, 2009; Knuhr *et al.*, 2018). These molecules can induce the activation and modulation of innate and adaptive immune responses and facilitate the evasion of the parasite from the host-defense mechanisms (Jenkins *et al.*, 2005a, 2005b; Hai *et al.*, 2014; Hambrook and Hanington, 2021). *Schistosoma* antigens can be proteins (such as enzymes), polysaccharides and the most commonly used are crude extracts prepared by breaking up worms, larvae or eggs (Doenhoff *et al.*, 1993; Doenhoff, 1998). Thus, it is clear that antigen changes in the microenvironment during schistosomiasis are important for the polarization of macrophages to the M1 or M2 profile (Xu *et al.*, 2014; Sanin and Mountford, 2015; Assunção *et al.*, 2017).

According to Tables 1 and 2, we highlight some *in vitro* and *in vivo* studies that demonstrate the relationship between the stimulation of *S. japonicum* and *S. mansoni* antigens and macrophage polarization. In addition, we also highlight other molecules involved in macrophage polarization in schistosomiasis, providing molecular evidence of great relevance in the process of differentiation of these cells, which will be discussed in this article.

Cercariae and schistosomula antigens can induce an M1 profile

During the penetrating of the human skin, cercariae of *S. mansoni* and *S. japonicum* release E/S products, which have remodelling and immunoregulatory functions (Liu *et al.*, 2015; Sanin and Mountford, 2015), that facilitate their penetration and subsequent establishment in the host's body, in the form of schistosomula (Janssen *et al.*, 2016). This phase represents the first contact with innate immune responses in the skin, especially Langerhans cells, which are considered tissue-resident macrophages (West and Bennett, 2018). These cells phagocytize E/S and secrete pro-inflammatory (IL-6 and IL-12p40) and anti-inflammatory (IL-10) cytokines in a TLR-dependent manner (Jenkins *et al.*, 2005a, 2005b).

One of the ways in which macrophages are activated is through the action of TLRs. These receptors are a family of pattern recognition receptors that are important for innate immune response (El-Zayat *et al.*, 2019). These receptors recognize invading pathogens, trigger innate immune responses and subsequently initiate adaptive immunity against infections, including Gram-positive and Gram-negative bacteria, fungi, viruses and parasites (Lu *et al.*, 2018). These receptors mediate macrophage recognition by microbial ligands, inducing the expression of microbicidal molecules and cytokines via the adapter protein MyD88 (Jin *et al.*, 2019). Xu *et al.* (2014) showed that normal cercariae antigen (NCA) and attenuated cercariae antigen (ACA) from *S. japonicum* induced polarization to the M1 profile, with increased levels of IL-12, CD136/32 and iNOS (Table 2). However, these values decreased when the TLR4 pathway blockers were used. Thus, the authors suggested that the polarization of the M1 profile is dependent on the TLR4 pathway and this may play a protective role in *S. japonicum* infection (Tang *et al.*, 2021).

In fact, the TLR4 pathway is extremely important for the polarization of macrophages to the M1 phenotype, as demonstrated in some studies (Freitas *et al.*, 2016; Shi *et al.*, 2020). Sanin and Mountford (2015) demonstrated that Sm16 (a molecule produced by *S. mansoni* cercariae) is able to block TLR4 and TLR3 pathways in human monocyte, which negatively affects the classic activation of macrophages (M1) in response to IFN-γ (Table 1). This is considered an important mechanism of immune evasion promoted by *S. mansoni* because it limits the production of NO, which is toxic to the parasite (Shiels *et al.*, 2020).

After complete transformation from a cercariae into a schistosomula, the larva migrates into the bloodstream, travelling through the lungs until reaching maturation in the mesenteric veins. This stage of the cycle is also characterized as a key target for the elimination of infection through innate host immune responses (Houlder *et al.*, 2021). Some histological studies conducted in the lungs of mice infected with *S. mansoni* and *S. japonicum* showed inflammatory foci consisting of neutrophils, eosinophils and macrophages (Crabtree and Wilson, 1986; Burke *et al.*, 2011).

Table 2. Molecules and/or antigens involved in macrophage polarization in *Schistosoma japonicum* infection

Macrophage profile	Molecule/antigen	Experimental model	Type of study	References
M1/M2	NCA	Macrophages RAW264.7	<i>In vitro</i>	Xu <i>et al.</i> (2014)
	ACA			
	SWAP	Mice	<i>In vivo</i>	
	SEA	C57BL/6J		
M1/M2	SWA	Peritoneal macrophages of mice	<i>In vitro</i>	Zhu <i>et al.</i> (2014)
	SEA			
M1	EVs	Macrophages RAW264.7	<i>In vitro</i>	Wang <i>et al.</i> (2015)
M2	Corilagin	Ana-1 cell line	<i>In vitro</i>	Li <i>et al.</i> (2017)
		C57BL/6 mice	<i>In vivo</i>	
M2b	Egg-derived ES antigens	Macrophages derived from bone marrow of wild-type mice and TLR2 ^{-/-}	<i>In vitro</i>	Gong <i>et al.</i> (2018)
		C57BL/6 mice	<i>In vivo</i>	
M2	Sj16	Mouse peritoneal macrophages	<i>In vitro</i>	Shen <i>et al.</i> (2019)
		BALB/c mice	<i>In vivo</i>	
M1	EV miRNAs EVs	Macrophages RAW264.7	<i>In vitro</i>	Liu <i>et al.</i> (2019)
		BALB/c mice and rabbits	<i>In vivo</i>	
M2	Eggs	Mouse peritoneal macrophages	<i>In vitro</i>	Ye <i>et al.</i> (2020)
		Mice	<i>In vivo</i>	
		Kunming		
M1	SWA	Macrophages RAW264.7	<i>In vitro</i>	Shen <i>et al.</i> (2021)
		C57BL/6 mice	<i>In vivo</i>	
M2	SEA	Macrophages J774A.1	<i>In vitro</i>	Yu <i>et al.</i> (2021)

Macrophages function as cytotoxic cells, mainly in schistosomula (James and Glaven, 1989). Oswald *et al.* (1994) demonstrated that macrophages could produce NO, leading to schistosomula death in animal models independent of the production of pro-inflammatory cytokines. In contrast, Cardoso *et al.* (2008) determined that the antigen Sm29, present in the integument of *S. mansoni* schistosomula, induced a Th1-type immune response, with an increase in pro-inflammatory cytokines (IFN- γ , TNF and IL-12) in mice, leading to a reduction in worm burden and liver pathology. James *et al.* (1998) demonstrated that IFN- γ was a cytokine of great importance in the activation of macrophages in the lungs for the immunological killing of *S. mansoni* larvae and played a critical role in protective immunity.

In the early stages of schistosomiasis, lung macrophages may have an M1 phenotypic trait. Menson and Wilson (1990) characterized the expression of surface markers in alveolar macrophages associated with the immune response to *S. mansoni*. The authors demonstrated an increase in IFN- γ expression in the lungs of C57BL/6 mice and suggested that activated macrophages might be responsible for initiating and maintaining focal inflammation that blocks parasite migration (Table 1).

Worm antigens can induce an M1 or M2 profile

During the acute phase of *Schistosoma* infection, before parasite oviposition (approximately 5–7 weeks post-infection), immune responses are largely of the CD4⁺ Th1 type, associated with increased numbers of M1 macrophages that produce IL-12, IL-6, TNF- α and NO (Pearce *et al.*, 1991; Coulson *et al.*, 1998;

Gordon, 2003). These early pro-inflammatory responses are mainly related to the antigens from immature worms (schistosomula) during their migration (Wilson, 1998; Egesa *et al.*, 2018). Activation of these responses may be through binding to TLR and C-type lectin receptors on macrophages; however, further studies are needed to clarify this mechanism of macrophage activation via schistosomula antigens.

In contrast to the schistosomula antigens, the adult worm antigen preparations [soluble worm antigen (SWAP or SWA)] were better explored in experimental studies. Although the antigenic composition is not the same as the live worm, the use of SWAP or SWA constitutes a valuable experimental tool to evaluate many aspects of immune responses promoted by different host cells (Xu *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 2014). This antigen is the easiest to obtain and is essentially an extract based on Tris-HCl or phosphate-buffered saline from mixed male and female worms and prepared in various ways, either by homogenization, sonication or freeze/thaw (or a combination of these) (Grenfell *et al.*, 2012; Neves *et al.*, 2015). Some studies have demonstrated that SWAP could induce an M1-like profile (Xu *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 2014). Thus, Zhu *et al.* (2014), when performing a co-culture of peritoneal macrophages obtained from mice with *S. japonicum* SWA (Table 2), observed that there was an increase in the expression of specific markers related to M1 (TNF- α , IL-12, CXCL9, CXCL10, CXCL11 and iNOS).

Aiming to understand which mechanisms lead SWAP to induce polarization of the M1 profile, Shen *et al.* (2021) demonstrated that this antigen promoted the expression of a protein called lipocalin 2 (LCN2) and, consequently, induced the M1 profile of macrophages (Table 2) through the upregulation of the

NF- κ B signalling pathway. It has already been reported that this protein is increased in macrophages and can potentiate the M1 phenotype of microglia in the central nervous system (Jang *et al.*, 2013). The NF- κ B signalling pathway can activate macrophages to produce M1 polarization upon LPS induction (Liu *et al.*, 2017). In addition, some studies have shown that this pathway could regulate the expression of LCN2, thereby stimulating the inflammatory response in infectious processes (Zhao and Stephens, 2014; Ghosh *et al.*, 2017).

In addition to the antigens of adult worms that induce an M1 profile, studies have shown that adult worms of *S. mansoni* and *S. japonicum* also release extracellular vesicles (EVs), known as exosomes, which modulate the host immune response (Nowacki *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2015; Sotillo *et al.*, 2016; Zhu *et al.*, 2016). Exosomes are membrane-bound vesicles secreted by various types of mammalian cells in normal and diseased states (Avni and Avni, 2021). Exosomes play an important role in cell-cell communication and have been implicated in the regulation of cell development, immune regulation, angiogenesis and cell migration (Raposo and Stoorvogel, 2013; Zhu *et al.*, 2016). Wang *et al.* (2015) observed that RAW264.7 macrophages, when cultured with exosome-like vesicles isolated from *S. japonicum*, exhibited an M1 profile (Table 2), due to the increase in the surface markers CD16/32, iNOS and TNF- α . Liu *et al.* (2019) investigated miRNAs from *S. japonicum* EVs and found that they increased macrophage proliferation *in vitro* (RAW264.7) and *in vivo* (mice and rabbits) as well as TNF- α expression. miRNAs are involved in the regulation of the development, differentiation and activation of immune cells, including macrophages (Montagner *et al.*, 2014; Mehta and Baltimore, 2016). Thus, the polarization of M1 induced by schistosome EVs may represent an important mechanism for parasite survival in vertebrate hosts, *via* modulation of the immune response. However, there are still controversies about the possible role of the schistosome tegument as a source of EVs, because, to date, no study has been performed to prove the exact origin of these vesicles (Wilson and Jones, 2021).

On the other hand, adult worm products can also bias the M2 profile (Smith *et al.*, 2018). Indeed, Xu *et al.* (2014) showed that adult *S. japonicum* worms could induce an M2 macrophage profile. The authors, when stimulating RAW264.7 macrophages with SWAP from *S. japonicum*, observed an increase in the expression of surface markers (CD16/32 and CD206) and in the production of cytokines (IL-12 and IL-10), suggesting that this antigen could induce both M1 and M2 macrophage profiles. The potential explanation for this could be related to how the antigens of adult worms were obtained since some adult female worms possess eggs in the process of maturation into their uterus/ootype, and consequently, this antigen could have been contaminated with SEAs. However, further studies are needed to understand macrophage polarization by SWAP and its relationship with SEA contamination.

Besides the classical macrophage polarization (M1 and M2), products excreted by schistosomes, such as haemozoin, are also able to induce immunomodulation. Adult worms of *S. mansoni* acquire nutrients by haematophagy of the host's blood, and this process can form toxic haem for the parasite (Zussman *et al.*, 1970). However, the schistosomes are able to neutralize the free haem in their intestine through crystallization in haemozoin (Oliveira *et al.*, 2000). This haemozoin is regurgitated by the worms into the host bloodstream and can be accumulated in the liver (Kloetzel and Lewert, 1966), which may activate the immune response of the host. From this perspective, a previous study (Truscott *et al.*, 2013) highlighted that haemozoin formed from *S. mansoni* is able to maintain the M2 macrophage profile previously activated by IL-4 stimulation, but also exerts specific

modulatory effects on these cells (Table 1). These authors showed that haemozoin mediated the suppression of *Retnla* (resistin-like molecule- α or *Fizz1*) expression and *Retnla* protein secretion in the M2 macrophages. The role of *Retnla* during experimental schistosomiasis is associated with the limitation of Th2 inflammatory response (Pesce *et al.*, 2009). However, further studies are necessary to better explain the possible impact of haemozoin in the immunopathology of schistosomiasis.

SEAs can induce an M2 profile

After maturation of the adult worms and subsequent oviposition, the activation of a type 2 profile begins in response to the soluble antigens secreted by the eggs of *S. mansoni* and *S. japonicum* (Tables 1 and 2) (Cheever *et al.*, 2000; Pearce and MacDonald, 2002; Pearce *et al.*, 2004; Burke *et al.*, 2009; Costain *et al.*, 2018). The type 2 profile of schistosomiasis is characterized by the expansion of Th2 cells, eosinophils and basophils, and increased production of IL-4, IL-5 and IL-13 (Hams *et al.*, 2013; Schwartz *et al.*, 2014), as previously described. IL-4 and IL-13 protect hosts against various helminth parasites by signalling through the IL-4R α chain (Barron and Wynn, 2011; Jenkins *et al.*, 2011). The production of these cytokines reduces the inflammation levels produced by the type 1 profile of the initial stage of acute phase, preventing acute pathology, such as intestinal haemorrhage and liver damage; however, the Th2 immune response is responsible for the formation of hepatic and intestinal granulomas (Brunet *et al.*, 1997; Hams *et al.*, 2013; Zheng *et al.*, 2020).

Granulomas are essential for sequestering toxic antigens produced by eggs and preventing further tissue damage. However, if unregulated by the immune response of the host, granulomas grow excessively and progress to fibrotic stages, which are responsible for severe forms of the disease, such as cirrhosis, portal hypertension, liver failure and even host death (Lenzi *et al.*, 1998; Cheever *et al.*, 2000; Takaki *et al.*, 2021). Macrophages are one of the main cellular components of hepatic granulomas (Beljaars *et al.*, 2014; Schwartz and Fallon, 2018). Recent studies have demonstrated that M2 macrophages play a direct and critical role in fibrosis, granuloma maintenance, tissue repair and host survival (Cortes-Selva *et al.*, 2018; Song *et al.*, 2020). Ye *et al.* (2020) showed that M2 macrophage markers (CD200R, Arg-1 and Ym1) were increased in the liver, spleen, large intestine and peritoneal macrophages of *S. japonicum*-infected mice. Jenkins *et al.* (2011) observed that IL-4/IL-13 signalling *via* IL-4R α induces an alternative phenotype in resident macrophages. In this sense, a study performed with macrophages derived from the bone marrow of mice infected with *S. mansoni* demonstrated that the tumour suppressor gene p16^{INK4a} was an excellent modulator of the activation and polarization of macrophages induced by IL-4 through the JAK2-STAT1 pathway (Cudejko *et al.*, 2011).

Egg antigens induce granulomas, consisting mainly of M2 macrophages (Yu *et al.*, 2021). Zhu *et al.* (2014) showed that peritoneal macrophages obtained from healthy mice, when stimulated with *S. japonicum* SEAs, expressed high levels of chemokines (CCL2, CCL17 and CCL22), IL-10 and Arg-1. Similarly, Xu *et al.* (2014), after stimulating RAW264.7 macrophages with *S. japonicum* SEAs, also observed higher levels of IL-10. In chronic schistosomiasis infection, the main function of IL-10 is to control liver damage and regulate antifibrotic processes (Dewals *et al.*, 2010; Kamdem *et al.*, 2018). Previous studies have shown that low levels of IL-10 expression are related to liver fibrosis in *S. mansoni*-infected patients (Mutengo *et al.*, 2018). On the other hand, little is known about the mechanisms by which an SEA preferentially induces M2 macrophage differentiation.

Previous studies have demonstrated that an SEA from *S. mansoni* could induce the expression of the notch Jagged1 ligand in mice and human macrophages, suggesting that Jagged1 might have a specific role in the M2 polarization process of macrophages (Goh *et al.*, 2009) (Table 1). Macrophages found in liver tissues exhibit functional M2 polarization, which is dependent on the activation of notch1/Jagged1 signalling (Zheng *et al.*, 2016).

During *S. mansoni* infection, basophils detect egg IPSE/ α -1 glycoprotein and stimulate the production of IL-4 and IL-13, which trigger the alternative activation of human monocytes (Table 1), as observed by the increased expression of CD206 and CD209 (Knuhr *et al.*, 2018). IL-13 is a key cytokine that induces M2 macrophage polarization via the IL-13 α 1 signalling pathway (Chiaromonte *et al.*, 1999; Liu *et al.*, 2012). Li *et al.* (2017) performed a study with corilagin, an active component of many medicinal plants, and found that this component could suppress *Schistosoma* egg-induced liver fibrosis by inhibiting M2 macrophage polarization (Table 1) in the IL-13 α 1 signalling pathway. Corilagin has great potential to reduce liver fibrosis caused by egg antigens in *S. japonicum* infection by decreasing the expression of molecules associated with the IL-13/STAT6 signalling pathway in liver M2 macrophages (Du *et al.*, 2016).

Signaling via TLR2 may be another way egg antigens polarize M2 macrophages during schistosomiasis. Gong *et al.* (2018) showed that antigens derived from *S. japonicum* eggs could activate macrophages, which exhibit M2b polarization dependent on NF- κ B signalling, mediated by the MyD88/mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway in a TLR2-dependent manner (Table 1). In contrast, Tundup *et al.* (2014) showed that the CD14 TLR co-receptor was upregulated in hepatic macrophages after *S. mansoni* infection and acted as a crucial negative regulator of M2 polarization, possibly as part of a parasitic defense mechanism against granuloma formation (Table 1). Gao *et al.* (2013) observed that an SEA of *S. japonicum*, known as SJEa, upregulated programmed death ligand 2 (PD-L2) expression in mouse bone marrow-derived macrophages (BMDCs) via TLR2, which binds PD-1 primarily on CD4⁺ T cells. This mechanism can help inhibit the T cell response during *S. japonicum* infection.

Lysophosphatidylcholine (LPC) from *S. mansoni* eggs can also induce macrophage differentiation into the M2 phenotype (Assunção *et al.*, 2017), as shown in Table 1. The authors observed that LPC from *S. mansoni* activates peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- γ), a transcription factor necessary for M2 polarization, leading to higher expression of Arg-1 and CD206, while increasing the production of IL-10, TGF- β and PGE2 in peritoneal macrophages *in vitro*. *Schistosoma mansoni* eggs induced a 7-fold increase in PPAR- γ expression in human liver cell cultures (Anthony *et al.*, 2010). PPAR- γ , in addition to being of great importance in M2 polarization, can regulate lipid uptake and metabolism (Ahmadian *et al.*, 2013; Abdalla *et al.*, 2020).

Fang *et al.* (2015) showed that BMDCs from C57BL/6 mice, when stimulated with a specific *S. japonicum* egg protein known as SJE16.7, promoted the production of pro- (IL-12, IL-6 and TNF- α) and anti-inflammatory (IL-10) cytokines through the phosphorylation of MAPKs and increased the expression of MHC II on the surface of macrophages. Previous studies have shown that *S. mansoni* and *S. japonicum* egg antigens could stimulate the MAPK pathway in macrophages (Wang *et al.*, 2006; de Andrade *et al.*, 2014). MAPKs are essential transmitters of extracellular signals that can mediate key cellular processes, including cell differentiation, division and death (Yang *et al.*, 2003). Thus, SJE16.7 is a potent macrophage activator. However, in another study, Shen *et al.* (2019), when using the Sj16 antigen, noticed that it decreased hepatic granulomas in

mice infected with *S. japonicum* and associated this improvement with the suppression of cytokine production, such as IFN- γ , TNF- α , IL-4 and IL-6. The authors reported that the mechanisms of Sj16 attenuation of hepatic granulomatous inflammation and fibrosis in these infected mice might be related to the induction of macrophages for M2 polarization (Table 2). These authors also demonstrated, by flow cytometry, the increase in the expression of CD206 after stimulation of Sj16 in peritoneal macrophages and leucocytes from the livers of mice. Corroborating these results, Hu *et al.* (2009) showed that Sj16 decreased the levels of pro-inflammatory cytokines, such as IL-6 and TNF- α , and increased the levels of IL-10 in RAW264.7 macrophages. Vannella *et al.* (2014) observed that mice infected with *S. mansoni* showed an increase in M2 macrophages that expressed Arg-1, which attenuated the progression of inflammation and fibrosis (Table 1). Stimulation of RAW264.7 macrophages with another *S. japonicum* egg protein (SjCP1412) also increased the expression of CD206, Arg-1 and IL-10, which are related to M2-type macrophage differentiation (Ke *et al.*, 2017). Overall, these findings emphasize that M2 macrophages are important in reducing the lesions caused by schistosomiasis through downregulation of the Th1 response and inflammation promoted by egg antigens. Additionally, the role of these cells was previously investigated in a mouse model of liver injury induced by acetaminophen (paracetamol) (Starkey Lewis *et al.*, 2020). The authors demonstrated that the injection of M2 macrophages in this experimental model was able to rapidly reduce liver damage and inflammation. These data indicate that M2 macrophages may constitute a new potential cell-based therapy for this disease. Based on this, it seems promissory also to apply these cells in the immunotherapy of schistosomiasis.

Interestingly, despite being produced by M1 macrophages, a recent study demonstrated that the production of ROS by egg antigens may be a potential mechanism for M2 macrophage differentiation (Table 2). ROS have several biological activities, such as participation in innate and adaptive immune responses, and can be cytotoxic against pathogens (Canton *et al.*, 2021). Yu *et al.* (2021) observed that a significant increase in ROS in the liver of mice infected with *S. japonicum* was related to fibrosis and the differentiation of M2 macrophages. The authors hypothesized that their findings were due to NADPH oxidase (NOX2) inhibiting SEA-stimulated ROS production in macrophages, suggesting that NOX might act as the main source of ROS production in SEA-stimulated macrophages. NADPH oxidase is the first source of ROS identified in macrophages (Nathan *et al.*, 2013). Macrophages produce large amounts of ROS, primarily through NOX2 activation (Paik *et al.*, 2014). Thus, the production of ROS induced by schistosome eggs may be a target for the treatment of schistosomiasis.

Future perspectives and final considerations

Findings about the mechanisms behind macrophage activation during different metabolic profiles in human diseases present an exciting prospect, as there are pathologies that have been associated with a particular macrophage phenotype. In this context, the polarization of macrophages in schistosomiasis and their consequent ability to promote an effective immune response seem to be an attractive therapeutic approach associated with conventional chemotherapy treatments.

Overall, the findings highlighted in this review demonstrate the relevance and complexity of understanding the mechanisms involved in macrophage polarization (M1/M2) in schistosomiasis. The *S. japonicum* and *S. mansoni* antigens in macrophage polarization are particularly important in this process. These products have been shown to have immunomodulatory effects in different

phases of schistosomiasis and are seen as potential therapeutic targets for this disease, especially in the chronic phase. Among the potential therapeutics, the combination of different schistosome antigens can result in higher levels of host protection, stimulating an adequate immune response for either an M1 or M2 profile; however, this can only be achieved after many *in vitro* and *in vivo* experiments.

Acknowledgements. We acknowledge the Graduate Program in Health Sciences at the Federal University of Maranhão for providing the support. We would like to acknowledge Editage (www.editage.com) for English-language editing.

Author's contributions. I. C. L. L.: investigation, conceptualization and writing of the original draft; I. C. L. L., G. C. C. G. F., R. A. N., M. G. S. L., V. A. F. S., J. G. M. R., G. S. M., R. C. C., L. A. S., R. N. M. G. and F. R. F. N.: review and editing of original draft. All the authors reviewed and approved the final version of this manuscript.

Financial support. I. C. L. L., G. C. C. G. F., R. A. N. and V. A. F. S. were supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior doctoral fellowship. R. N. M. G. and F. R. F. N. were supported by CNPq researcher fellowship. The research was supported by FAPEMA (Universal 01001/19) and by CAPES (Financial code 001).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

References

- Abdalla HB, Napimoga MH, Lopes AH, de Macedo Maganin AG, Cunha TM, Van Dyke TE and Clemente Napimoga JT (2020) Activation of PPAR- γ induces macrophage polarization and reduces neutrophil migration mediated by heme oxygenase 1. *International Immunopharmacology* **84**, 106565.
- Abdel-Ghany R, Rabia I, El-Ahwany E, Saber S, Gamal R, Nagy F, Mahmoud O, Hamad RS and Barakat W (2015) Blockade of PGE2, PGD2 receptors confers protection against prepatent *Schistosomiasis mansoni* in mice. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* **45**, 511–520.
- Acharya S, Da'dara AA and Skelly PJ (2021) Schistosome immunomodulators. *PLoS Pathogens* **17**, e1010064.
- Ahmadian M, Suh JM, Hah N, Liddle C, Atkins AR, Downes M and Evans RM (2013) PPAR γ signaling and metabolism: the good, the bad and the future. *Nature Medicine* **19**, 557–566.
- Angeli V, Faveeuw C, Roye O, Fontaine J, Teissier E, Capron A, Wolowezuk I, Capron M and Trottein F (2001) Role of the parasite-derived prostaglandin D2 in the inhibition of epidermal Langerhans cell migration during schistosomiasis infection. *The Journal of Experimental Medicine* **193**, 1135–1147.
- Anthony B, Mathieson W, de Castro-Borges W and Allen J (2010) *Schistosoma mansoni*: egg-induced downregulation of hepatic stellate cell activation and fibrogenesis. *Experimental Parasitology* **124**, 409–420.
- Assunção LS, Magalhães KG, Carneiro AB, Molinaro R, Almeida PE, Atella GC, Castro-Faria-Neto HC and Bozza PT (2017) Schistosomal-derived lysophosphatidylcholine triggers M2 polarization of macrophages through PPAR γ dependent mechanisms. *Biochimica et Biophysica Acta. Molecular and Cell Biology of Lipids* **1862**, 246–254.
- Atri C, Guerfali FZ and Laouini D (2018) Role of human macrophage polarization in inflammation during infectious diseases. *International Journal of Molecular Sciences* **19**, 1801.
- Avni D and Avni O (2021) Extracellular vesicles: schistosomal long-range precise weapon to manipulate the immune response. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* **11**, 196.
- Bajiro M, Dana D and Levecke B (2017) Prevalence and intensity of *Schistosoma mansoni* infections among schoolchildren attending primary schools in an urban setting in southwest, ethiopia. *BMC Research Notes* **10**, 1–6.
- Barron L and Wynn TA (2011) Macrophage activation governs schistosomiasis-induced inflammation and fibrosis. *European Journal of Immunology* **41**, 2509.
- Bartlett A, Brown M, Marriott C and Whitfield PJ (2000) The infection of human skin by schistosome cercariae: studies using Franz cells. *Parasitology* **121**, 49–54.
- Bartley PB, Ramm GA, Jones MK, Ruddell RG, Li Y and McManus DP (2006) A contributory role for activated hepatic stellate cells in the dynamics of *Schistosoma japonicum* egg-induced fibrosis. *International Journal for Parasitology* **36**, 993–1001.
- Beljaars I, Schippers M, Reker-Smit C, Martinez FO, Helming L, Poelstra K and Melgert BN (2014) Hepatic localization of macrophage phenotypes during fibrogenesis and resolution of fibrosis in mice and humans. *Frontiers in Immunology* **5**, 430.
- Bottiau E, Clerinx J, de Vega MR, Van den Enden E, Colebunders R, Van Esbroeck M, Vervoort T, Van Gompel A and Van den Ende J (2006) Imported Katayama fever: clinical and biological features at presentation and during treatment. *The Journal of Infection* **52**, 339–345.
- Bourke CD, Prendergast CT, Sanin DE, Oulton TE, Hall RJ and Mountford AP (2015) Epidermal keratinocytes initiate wound healing and pro-inflammatory immune responses following percutaneous schistosome infection. *International Journal for Parasitology* **45**, 215–224.
- Braga TT, Agudelo JSH and Camara NOS (2015) Macrophages during the fibrotic process: M2 as friend and foe. *Frontiers in Immunology* **6**, 602.
- Brännström K, Sellin ME, Holmfeldt P, Brattsand M and Gullberg M (2009) The *Schistosoma mansoni* protein Sm16/SmSLP/SmSPO-1 assembles into a nine-subunit oligomer with potential to inhibit Toll-like receptor signaling. *Infection and Immunity* **77**, 1144.
- Brink LH, McLaren DJ and Smithers SR (1977) *Schistosoma mansoni*: a comparative study of artificially transformed schistosomula and schistosomula recovered after cercarial penetration of isolated skin. *Parasitology* **74**, 73–86.
- Brunet LR, Finkelman FD, Cheever AW, Kopf MA and Pearce EJ (1997) IL-4 protects against TNF-alpha-mediated cachexia and death during acute schistosomiasis. *The Journal of Immunology* **159**, 777–785.
- Burke ML, Jones MK, Gobert GN, Li YS, Ellis MK and McManus DP (2009) Immunopathogenesis of human schistosomiasis. *Parasite Immunology* **31**, 163–176.
- Burke ML, McGarvey L, McSorley HJ, Bielefeldt-Ohmann H, McManus DP and Gobert GN (2011) Migrating *Schistosoma japonicum* schistosomula induce an innate immune response and wound healing in the murine lung. *Molecular Immunology* **49**, 191–200.
- Caldas IR, Campi-Azevedo AC, Oliveira LFA, Silveira AMS, Oliveira RC and Gazzinelli G (2008) Human *Schistosomiasis mansoni*: immune responses during acute and chronic phases of the infection. *Acta Tropica* **108**, 109–117.
- Canton M, Sánchez-Rodríguez R, Spera I, Venegas FC, Favia M, Viola A and Castegna A (2021) Reactive oxygen species in macrophages: sources and targets. *Frontiers in Immunology* **12**, 734229.
- Cardoso FC, Macedo GC, Gava E, Kitten GT, Mati VL, de Melo AL, Caliali MV, Almeida GT, Venancio TM, Verjovski-Almeida S and Oliveira SC (2008) *Schistosoma mansoni* tegument protein Sm29 is able to induce a Th1-type of immune response and protection against parasite infection. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **2**, e-308.
- Cass CL, Johnson JR, Califf LL, Xu T, Hernandez HJ, Stadecker MJ, Yates JR and Williams DL (2007) Proteomic analysis of *Schistosoma mansoni* egg secretions. *Molecular and Biochemical Parasitology* **155**, 84.
- Cervi L, MacDonald AS, Kane C, Dzierszinski F and Pearce EJ (2004) Cutting edge: dendritic cells copulsed with microbial and helminth antigens undergo modified maturation, segregate the antigens to distinct intracellular compartments, and concurrently induce microbe-specific Th1 and helminth-specific Th2 responses. *The Journal of Immunology* **172**, 2016–2020.
- Cheever AW, Hoffmann KF and Wynn TA (2000) Immunopathology of *Schistosomiasis mansoni* in mice and men. *Immunology Today* **21**, 465–466.
- Chen BL, Peng J, Li QF, Yang M, Wang Y and Chen W (2013) Exogenous bone morphogenetic protein-7 reduces hepatic fibrosis in *Schistosoma japonicum*-infected mice via transforming growth factor- β /Smad signaling. *World Journal of Gastroenterology* **19**, 1405.
- Chen L, He B, Hou W and He L (2017a) Cysteine protease inhibitor of *Schistosoma japonicum* – a parasite-derived negative immunoregulatory factor. *Parasitology Research* **116**, 901–908.
- Chen XX, Tang L, Fu YM, Wang Y, Han ZH and Meng JG (2017b) Paralemm-3 contributes to lipopolysaccharide-induced inflammatory response and is involved in lipopolysaccharide-Toll-like receptor-4 signaling in alveolar macrophages. *International Journal of Molecular Medicine* **40**, 1921–1931.
- Chiaromonte MG, Schopf LR, Neben TY, Cheever AW, Donaldson DD and Wynn TA (1999) IL-13 is a key regulatory cytokine for Th2 cell-mediated pulmonary granuloma formation and IgE responses induced by *Schistosoma mansoni* eggs. *Journal of Immunology* **162**, 920–930.

- Ciesielska A, Matyjek M and Kwiatkowska K (2021) TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling. *Cellular and Molecular Life Sciences* **78**, 1233–1261.
- Colley DG and Secor WE (2014) Immunology of human schistosomiasis. *Parasite Immunology* **36**, 347–357.
- Colley DG, Bustinduy AL, Secor WE and King CH (2014) Human schistosomiasis. *The Lancet* **383**, 2253–2264.
- Cortes-Selva D and Fairfax K (2021) Schistosome and intestinal helminth modulation of macrophage immunometabolism. *Immunology* **162**, 123–134.
- Cortes-Selva D, Elvington AF, Ready A, Rajwa B, Pearce EJ, Randolph GJ and Fairfax KC (2018) *Schistosoma mansoni* infection-induced transcriptional changes in hepatic macrophage metabolism correlate with an athero-protective phenotype. *Frontiers in Immunology* **9**, 2580.
- Costain AH, MacDonald AS and Smits HH (2018) Schistosome egg migration: mechanisms, pathogenesis and host immune responses. *Frontiers in Immunology* **9**, 3042.
- Coulson PS, Smythies LE, Betts C, Mabbott NA, Sternberg JM, Wei XG, Liew FY and Wilson RA (1998) Nitric oxide produced in the lungs of mice immunized with the radiation-attenuated schistosome vaccine is not the major agent causing challenge parasite elimination. *Immunology* **93**, 55–63.
- Crabtree JE and Wilson RA (1986) The role of pulmonary cellular reactions in the resistance of vaccinated mice to *Schistosoma mansoni*. *Parasite Immunology* **8**, 265–285.
- Cudejko C, Wouters K, Fuentes L, Hannou SA, Paquet C, Bantubungi K, Bouchaert E, Vanhoutte J, Fleury S, Remy P, Tailleux A, Chinetti-Gbaguidi G, Dombrowicz D, Staels B and Paumelle R (2011) p16^{INK4a} deficiency promotes IL-4-induced polarization and inhibits proinflammatory signaling in macrophages. *Blood* **118**, 2556–2566.
- Curwen RS and Wilson RA (2003) Invasion of skin by schistosome cercariae: some neglected facts. *Trends in Parasitology* **19**, 63–66.
- Curwen RS, Ashton PD, Sundaralingam S and Wilson RA (2006) Identification of novel proteases and immunomodulators in the secretions of schistosome cercariae that facilitate host entry. *Molecular and Cellular Proteomics* **5**, 835–844.
- de Andrade LF, de Mourão MM, Geraldo JA, Coelho FS, Silva LL, Neves RH, Volpini A, Machado-Silva JR, Araujo N, Nacif-Pimenta R, Caffrey CR and Oliveira G (2014) Regulation of *Schistosoma mansoni* development and reproduction by the mitogen-activated protein kinase signaling pathway. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **8**, e2949.
- de Jong EC, Vieira PL, Kalinski P, Schuitemaker JHN, Tanaka Y, Wierenga EA, Yazdanbakhsh M and Kapsenberg ML (2002) Microbial compounds selectively induce Th1 cell-promoting or Th2 cell-promoting dendritic cells *in vitro* with diverse Th cell-polarizing signals. *The Journal of Immunology* **168**, 1704–1709.
- De Oliveira Fraga LA, Torrero MN, Tocheva AS, Mitre E and Davies SJ (2010) Induction of type 2 responses by schistosome worms during prepatent infection. *The Journal of Infectious Diseases* **201**, 464.
- Dewals BG, Marillier RG, Hoving JC, Leeto M, Schwegmann A and Brombacher F (2010) IL-4R α -independent expression of mannose receptor and Ym1 by macrophages depends on their IL-10 responsiveness. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **4**, e689.
- Doenhoff MJ (1998) A vaccine for schistosomiasis: alternative approaches. *Parasitology Today* **14**, 105–109.
- Doenhoff MJ, Butterworth AE, Hayes RJ, Sturrock RF, Ouma JH, Koeh D, Prentice M and Bain J (1993) Seroepidemiology and serodiagnosis of schistosomiasis in Kenya using crude and purified egg antigens of *Schistosoma mansoni* in ELISA. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **87**, 42–48.
- Du P, Ma Q, Zhu Z, Li G, Wang Y, Li QQ, Chen YF, Shang ZZ, Zhang J and Zhao L (2016) Mechanism of corilagin interference with IL-13/STAT6 signaling pathways in hepatic alternative activation macrophages in schistosomiasis-induced liver fibrosis in mouse model. *European Journal of Pharmacology* **793**, 119–126.
- Dunne DW and Cooke A (2005) A worm's eye view of the immune system: consequences for evolution of human autoimmune disease. *Nature Reviews. Immunology* **5**, 420–426.
- Dunne DW, Jones FM and Doenhoff MJ (1991) The purification, characterization, serological activity and hepatotoxic properties of two cationic glycoproteins (alpha 1 and omega 1) from *Schistosoma mansoni* eggs. *Parasitology* **103**(Pt 2), 225–236.
- Egesa M, Lubyayi L, Tukahebwa EM, Bagaya BS, Chalmers IW, Wilson S, Hokke CH, Hoffmann KF, Dunne DW, Yazdanbakhsh M, Labuda IA and Cose S (2018) *Schistosoma mansoni* schistosomula antigens induce Th1/pro-inflammatory cytokine responses. *Parasite Immunology* **40**, e12592.
- El-Faham MH, Wheatcroft-Francklow KJ, Price HP, Sayers JR and Doenhoff MJ (2017) *Schistosoma mansoni* cercarial elastase (SmCE): differences in immunogenic properties of native and recombinant forms. *Parasitology* **144**, 1356–1364.
- El-Zayat SR, Sibaii H and Mannaa FA (2019) Toll-like receptors activation, signaling, and targeting: an overview. *Bulletin of the National Research Centre* **43**, 1–12.
- Enderlin Vaz Da Silva Z, Lehr HA and Velin D (2014) *In vitro* and *in vivo* repair activities of undifferentiated and classically and alternatively activated macrophages. *Pathobiology: Journal of Immunopathology, Molecular and Cellular Biology* **81**, 86–93.
- Everts B, Perona-Wright G, Smits HH, Hokke CH, van der Ham AJ, Fitzsimmons CM, Doenhoff MJ, van der Bosch J, Mohrs K, Haas H, Mohrs M, Yazdanbakhsh M and Schramm G (2009) Omega-1, a glycoprotein secreted by *Schistosoma mansoni* eggs, drives Th2 responses. *The Journal of Experimental Medicine* **206**, 1673–1680.
- Fang Y, Wu C, Chen Q, Wu J, Yang Y, Guo X, Chen G and Wang Z (2015) SJE16.7 activates macrophages and promotes *Schistosoma japonicum* egg-induced granuloma development. *Acta Tropica* **149**, 49–58.
- Fei-Yue L, Hong-Zhuan T, Jie Z, Rui-Hong Z, Jin-Hua Z, Xin-Ting C and Guang-Hui R (2017) Analysis of characteristics of medical assistance to advanced schistosomiasis patients in Hunan province, 2015. *Zhongguo xue xi chong bing fang zhi za zhi = Chinese Journal of Schistosomiasis Control* **29**, 281–285.
- Ferrante CJ, Pinhal-Enfield G, Elson G, Cronstein BN, Hasko G, Outram S and Leibovich SJ (2013) The adenosine-dependent angiogenic switch of macrophages to an M2-like phenotype is independent of interleukin-4 receptor alpha (IL4R α) signaling. *Inflammation* **36**, 921.
- Fraternali A, Brundu S and Magnani M (2015) Polarization and repolarization of macrophages. *Journal of Clinical and Cellular Immunology* **6**, 1000319.
- Freitas MS, Oliveira AF, Da Silva TA, Fernandes FF, Gonçalves RA, Almeida F and Roque-Barreira MC (2016) Paracoccin induces M1 polarization of macrophages via interaction with TLR4. *Frontiers in Microbiology* **7**, 1003.
- Gao Y, Chen L, Hou M, Chen Y, Ji M, Wu H and Wu G (2013) TLR2 directing PD-L2 expression inhibit T cells response in *Schistosoma japonicum* infection. *PLoS ONE* **8**, e82480.
- Gao S, Zhou J, Liu N, Wang L, Gao Q, Wu Y, Zhao Q, Liu P, Wang S, Liu Y, Guo N, Shen Y, Wu Y and Yuan Z (2015) Curcumin induces M2 macrophage polarization by secretion IL-4 and/or IL-13. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* **85**, 131–139.
- Ghosh S, Shang P, Yazdankhah M, Bhutto I, Hose S, Montezuma SR, Luo T, Chattopadhyay S, Qian J, Luttly GA, Ferrington DA, Zigler JS and Sinha D (2017) Activating the AKT2-nuclear factor- κ B-lipocalin-2 axis elicits an inflammatory response in age-related macular degeneration. *The Journal of Pathology* **241**, 583–588.
- Gobbi F, Tamarozzi F, Buonfrate D, van Lieshout L, Bisoffi Z and Bottieau E (2020) New insights on acute and chronic schistosomiasis: do we need a redefinition? *Trends in Parasitology* **36**, 660–667.
- Goh F, Irvine KM, Lovelace E, Donnelly S, Jones MK, Brion K, Hume DA, Kotze AC, Dalton JP, Ingham A and Sweet MJ (2009) Selective induction of the notch ligand Jagged-1 in macrophages by soluble egg antigen from *Schistosoma mansoni* involves ERK signalling. *Immunology* **127**, 326.
- Gong M, Zhuo X and Ma A (2017) STAT6 upregulation promotes M2 macrophage polarization to suppress atherosclerosis. *Medical Science Monitor Basic Research* **23**, 240–249.
- Gong W, Huang F, Sun L, Yu A, Zhang X, Xu Y, Shen Y and Cao J (2018) Toll-like receptor-2 regulates macrophage polarization induced by excretory-secretory antigens from *Schistosoma japonicum* eggs and promotes liver pathology in murine schistosomiasis. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **12**, e0007000.
- Gordon S (2003) Alternative activation of macrophages. *Nature Reviews Immunology* **3**, 23–35.
- Gordon S and Martinez-Pomares L (2017) Physiological roles of macrophages. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology* **469**, 365–374.
- Grenfell RFQ, Martins WH, Silva-Moraes V, Barata SVB, Ribeiro EG, Oliveira E and Coelho PMZ (2012) Antigens of worms and eggs showed

- a differentiated detection of specific IgG according to the time of *Schistosoma mansoni* infection in mice. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 45, 505–509.
- Grieco S, Sulekova LF, Nardelli S, Riggio O, Venditti M and Taliani G (2016) Portal hypertension related to schistosomiasis treated with a transjugular intrahepatic portosystemic shunt. *Journal of Clinical Gastroenterology* 50, 608–610.
- Grýseels B, Polman K, Clerinx J and Kestens L (2006) Human schistosomiasis. *The Lancet* 368, 1106–1118.
- Grzych JM, Pearce E, Cheever A, Caulada ZA, Caspar P, Heiny S, Lewis F and Sher A (1991) Egg deposition is the major stimulus for the production of Th2 cytokines in murine *Schistosomiasis mansoni*. *The Journal of Immunology* 146, 1322–13227.
- Hai Y, Edwards JE, Van Zandt MC, Hoffmann KF and Christianson DW (2014) Crystal structure of *Schistosoma mansoni* arginase, a potential drug target for the treatment of schistosomiasis. *Biochemistry* 53, 4671–4684.
- Hambrook JR and Hanington PC (2021) Immune evasion strategies of schistosomes. *Frontiers in Immunology* 11, 624178.
- Hams E, AvIELLO G and Fallon PG (2013) The schistosoma granuloma: friend or foe? *Frontiers in Immunology* 4, 89.
- Harizi H, Juzan M, Pitard V, Moreau JF and Gualde N (2002) Cyclooxygenase-2-induced prostaglandin e(2) enhances the production of endogenous IL-10, which down-regulates dendritic cell functions. *The Journal of Immunology* 168, 2255–2263.
- He YX, Yu QF, Yu P, Mao CS and Hu YQ (1990) Penetration of *Schistosoma japonicum* cercaria into host skin. *Chinese Medical Journal* 103, 34–44.
- He YX, Salafsky B and Ramaswamy K (2005) Comparison of skin invasion among three major species of *Schistosoma*. *Trends in Parasitology* 21, 201–203.
- He B, Cai G, Ni Y, Li Y, Zong H and He L (2011) Characterization and expression of a novel cystatin gene from *Schistosoma japonicum*. *Molecular and Cellular Probes* 25, 186–193.
- He Y, Gao Y, Zhang Q, Zhou G, Cao F and Yao S (2020) IL-4 switches microglia/macrophage M1/M2 polarization and alleviates neurological damage by modulating the JAK1/STAT6 pathway following ICH. *Neuroscience* 437, 161–171.
- Hervé M, Angeli V, Pinzar E, Wintjens R, Faveeuw C, Narumiya S, Capron A, Urade Y, Capron M, Riveau G and Trottein F (2003) Pivotal roles of the parasite PGD2 synthase and of the host D prostanoid receptor 1 in schistosome immune evasion. *European Journal of Immunology* 33, 2764–2772.
- Hesse M, Modolell M, La Flamme AC, Schito M, Fuentes JM, Cheever AW, Pearce EJ and Wynn TA (2001) Differential regulation of nitric oxide synthase-2 and arginase-1 by type 1/type 2 cytokines *in vivo*: granulomatous pathology is shaped by the pattern of L-arginine metabolism. *The Journal of Immunology* 167, 6533–6544.
- Hesse M, Piccirillo CA, Belkaid Y, Pruffer J, Mentink-Kane M, Leusink M, Cheever AW, Shevach EM and Wynn TA (2004) The pathogenesis of schistosomiasis is controlled by cooperating IL-10-producing innate effector and regulatory T cells. *The Journal of Immunology* 172, 3157–3166.
- Ho CH, Cheng CH, Huang TW, Peng SY, Lee KM and Cheng PC (2022) Switched phenotypes of macrophages during the different stages of *Schistosoma japonicum* infection influenced the subsequent trends of immune responses. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 55, 503–526.
- Hoffmann KF, Cheever AW and Wynn TA (2000) IL-10 and the dangers of immune polarization: excessive type 1 and type 2 cytokine responses induce distinct forms of lethal immunopathology in murine schistosomiasis. *The Journal of Immunology* 164, 6406–6416.
- Hogg KG, Kumkate S, Anderson S and Mountford AP (2003a) Interleukin-12 p40 secretion by cutaneous CD11c+ and F4/80+ cells is a major feature of the innate immune response in mice that develop Th1-mediated protective immunity to *Schistosoma mansoni*. *Infection and Immunity* 71, 3563–3571.
- Hogg KG, Kumkate S and Mountford AP (2003b) IL-10 regulates early IL-12-mediated immune responses induced by the radiation-attenuated schistosome vaccine. *International Immunology* 15, 1451–1459.
- Houlder EL, Costain AH, Cook PC and MacDonald AS (2021) Schistosomes in the lung: immunobiology and opportunity. *Frontiers in Immunology* 12, 1330.
- Hu S, Wu Z, Yang L and Fung MC (2009) Molecular cloning and expression of a functional anti-inflammatory protein, Sj16, of *Schistosoma japonicum*. *International Journal for Parasitology* 39, 191–200.
- Hussell T and Bell TJ (2014) Alveolar macrophages: plasticity in a tissue-specific context. *Nature Reviews. Immunology* 14, 81–93.
- Ingram RJ, Bartlett A, Brown MB, Marriott C and Whitfield PJ (2003) Penetration of human skin by the cercariae of *Schistosoma mansoni*: an investigation of the effect of multiple cercarial applications. *Journal of Helminthology* 77, 27–31.
- Ingram JR, Rafi SB, Eroly-Reveles AA, Ray M, Lambeth L, Hsieh I, Ruelas D, Lim KC, Sakanari J, Craik CS, Jacobson MP and McKerrow JH (2012) Investigation of the proteolytic functions of an expanded cercarial elastase gene family in *Schistosoma mansoni*. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6, e1589.
- Ismail HAHA, Hong ST, Babiker ATEB, Hassan RMAE, Sulaiman MAZ, Jeong HG, Kong WH, Lee SH, Cho HI, Nam HS, Oh CH and Lee YH (2014) Prevalence, risk factors, and clinical manifestations of schistosomiasis among school children in the White Nile River basin, Sudan. *Parasites & Vectors* 7, 478.
- James SL and Glaven J (1989) Macrophage cytotoxicity against schistosome of *Schistosoma mansoni* involves arginine-dependent production of reactive nitrogen intermediates. *The Journal of Immunology* 143, 4208–4212.
- James SL, Cheever AW, Caspar P and Wynn TA (1998) Inducible nitric oxide synthase-deficient mice develop enhanced type 1 cytokine-associated cellular and humoral immune responses after vaccination with attenuated *Schistosoma mansoni* cercariae but display partially reduced resistance. *Infection and Immunity* 66, 3510.
- Jang-Lee J, Curwen RS, Ashton PD, Tissot B, Mathieson W, Panico M, Dell A, Wilson RA and Haslam SM (2007) Glycomics analysis of *Schistosoma mansoni* egg and cercarial secretions. *Molecular & Cellular Proteomics* 6, 1485–1499.
- Jang E, Lee S, Kim JH, Kim JH, Seo JW, Lee WH, Mori K, Nakao K and Suk K (2013) Secreted protein lipocalin-2 promotes microglial M1 polarization. *FASEB Journal* 27, 1176–1190.
- Janssen L, Silva Santos GL, Muller HS, Vieira ARA, De Campos TA and De Paulo Martins V (2016) Schistosome-derived molecules as modulating actors of the immune system and promising candidates to treat autoimmune and inflammatory diseases. *Journal of Immunology Research* 2016, 5267485.
- Jenkins SJ, Hewitson JP, Ferret-Bernard S and Mountford AP (2005a) Schistosome larvae stimulate macrophage cytokine production through TLR4-dependent and -independent pathways. *International Immunology* 17, 1409–1418.
- Jenkins SJ, Hewitson JP, Jenkins GR and Mountford AP (2005b) Modulation of the host's immune response by schistosome larvae. *Parasite Immunology* 27, 385–393.
- Jenkins SJ, Ruckerl D, Cook PC, Jones LH, Finkelman FD, Van Rooijen N, MacDonald AS and Allen JE (2011) Local macrophage proliferation, rather than recruitment from the blood, is a signature of Th2 inflammation. *Science (New York, N.Y.)* 332, 1284–1288.
- Jetten N, Verbruggen S, Gijbels MJ, Post MJ, De Winther MPJ and Donners MMPC (2014) Anti-inflammatory M2, but not pro-inflammatory M1 macrophages promote angiogenesis *in vivo*. *Angiogenesis* 17, 109–118.
- Jin L, Yuan F, Chen C, Wu J, Gong R, Yuan G, Zeng H, Pei J and Chen T (2019) Degradation products of polydopamine restrained inflammatory response of LPS-stimulated macrophages through mediation TLR-4/MyD88 dependent signaling pathways by antioxidant. *Inflammation* 42, 658–671.
- Kaisar MMM, Ritter M, del Fresno C, Jónasdóttir HS, van der Ham AJ, Pelgrom LR, Schramm G, Layland LE, Sancho D, Prazeres da Costa C, Giera M, Yazdanbakhsh M and Everts B (2018) Dectin-1/2-induced auto-crine PGE2 signaling licenses dendritic cells to prime Th2 responses. *PLoS Biology* 16, e2005504.
- Kamdem SD, Moyou-Somo R, Brombacher F and Nono JK (2018) Host regulators of liver fibrosis during human schistosomiasis. *Frontiers in Immunology* 9, 2781.
- Ke XD, Shen S, Song LJ, Yu CX, Kikuchi M, Hirayama K, Gao H, Wang J, Yin X, Yao Y, Liu Q and Zhou W (2017) Characterization of *Schistosoma japonicum* CP1412 protein as a novel member of the ribonuclease T2 molecule family with immune regulatory function. *Parasites & Vectors* 10, 1–19.
- Khammo N, Bartlett A, Clothier RH and Whitfield PJ (2002) The attachment of *Schistosoma mansoni* cercariae to human skin cells. *Parasitology* 124, 25–30.
- Kloc M, Ghobrial RM, Wosik J, Lewicka A, Lewicki S and Kubiak JZ (2019) Macrophage functions in wound healing. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* 13, 99–109.

- Kloetzel K and Lewert RM (1966) Pigment formation in *Schistosoma mansoni* infections in the white mouse. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **15**, 28–31.
- Knuhr K, Langhans K, Nyenhuis S, Viertmann K, Overgaard Kildemoes AM, Doenhoff MJ, Haas H and Schramm G (2018) *Schistosoma mansoni* egg-released IPSE/alpha-1 dampens inflammatory cytokine responses via basophil interleukin (IL)-4 and IL-13. *Frontiers in Immunology* **9**, 2293.
- Kumkate S, Jenkins GR, Paveley RA, Hogg KG and Mountford AP (2007) CD207+ Langerhans cells constitute a minor population of skin-derived antigen-presenting cells in the draining lymph node following exposure to *Schistosoma mansoni*. *International Journal for Parasitology* **37**, 209–220.
- Lambertucci JR (2010) Acute *Schistosomiasis mansoni*: revisited and reconsidered. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **105**, 422–435.
- Langenberg MCC, Hoogerwerf MA, Janse JJ, Van Lieshout L, Corstjens PLAM, Roestenberg M, Van Dam GJ, Van Diepen A, De Dood CJ, Feijt C, Ganesh MS, Gerritsma H, Hardeman G, Hokke CH, Koopman JPR, Kos-Van Oosterhoud J, Kruize YCM, Meij P, Ozir-Fazalalikhan A, Van Schuijlenburg R, Smits HH, Verbeek-Menken PH, Visser LG, De Vries JJC, Winkel BMF and Yazdanbakhsh M (2019) Katayama syndrome without *Schistosoma mansoni* eggs. *Annals of Internal Medicine* **170**, 732–733.
- Lechner A, Bohnacker S and Esser-von Bieren J (2021) Macrophage regulation & function in helminth infection. *Seminars in Immunology* **53**, 101526.
- Lenzi HL, Kimmel E, Schechtman H, Pelajo-Machado M, Romanha WS, Pacheco RG, Mariano M and Lenzi JÁ (1998) Histoarchitecture of schistosomal granuloma development and involution: morphogenetic and biomechanical approaches. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **93**, 141–151.
- Leontovych A, Ulrychová L, Horn M and Dvořák J (2020) Collection of excretory/secretory products from individual developmental stages of the blood fluke *Schistosoma mansoni*. *Methods in Molecular Biology* **2151**, 55–63.
- Ley K (2017) M1 means kill; M2 means heal. *The Journal of Immunology* **199**, 2191–2193.
- Li YQ, Chen YF, Dang YP, Wang Y, Shang ZZ, Ma Q, Wang YJ, Zhang J, Luo L, Li QQ and Zhao L (2017) Corilagin counteracts IL-13R α 1 signaling pathway in macrophages to mitigate schistosome egg-induced hepatic fibrosis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* **7**, 443.
- Liu Y, Munker S, Müllenbach R and Weng HL (2012) IL-13 signaling in liver fibrogenesis. *Frontiers in Immunology* **3**, 116.
- Liu YC, Zou XB, Chai YF and Yao YM (2014) Macrophage polarization in inflammatory diseases. *International Journal of Biological Sciences* **10**, 520–529.
- Liu M, Ju C, Du XF, Shen HM, Wang JP, Li J, Zhang XM, Feng Z and Hu W (2015) Proteomic analysis on cercariae and schistosomula in reference to potential proteases involved in host invasion of *Schistosoma japonicum* larvae. *Journal of Proteome Research* **14**, 4623–4634.
- Liu CP, Zhang X, Tan QL, Xu WX, Zhou CY, Luo M, Li X, Huang RY and Zeng X (2017) NF- κ B pathways are involved in M1 polarization of RAW 264.7 macrophage by polyporus polysaccharide in the tumor microenvironment. *PLoS ONE* **12**, e0188317.
- Liu J, Zhu L, Wang J, Qiu L, Chen Y, Davis RE and Cheng G (2019) *Schistosoma japonicum* extracellular vesicle miRNA cargo regulates host macrophage functions facilitating parasitism. *PLoS Pathogens* **15**, e1007817.
- Locati M, Curtale G and Mantovani A (2020) Diversity, mechanisms, and significance of macrophage plasticity. *Annual Review of Pathology* **15**, 123–147.
- Lopes DM, Oliveira SC, Page B, Carvalho LP, Carvalho EM and Cardoso LS (2019) *Schistosoma mansoni* rSm29 antigen induces a regulatory phenotype on dendritic cells and lymphocytes from patients with cutaneous leishmaniasis. *Frontiers in Immunology* **9**, 3122.
- LoVerde PT (2019) Schistosomiasis. *Advances in Experimental Medicine and Biology* **1154**, 45–70.
- Lu Y, Li X, Liu S, Zhang Y and Zhang D (2018) Toll-like receptors and inflammatory bowel disease. *Frontiers in Immunology* **9**, 72.
- Lundy SK and Lukacs NW (2013) Chronic schistosome infection leads to modulation of granuloma formation and systemic immune suppression. *Frontiers in Immunology* **4**, 39.
- MacDonald AS, Straw AD, Dalton NM and Pearce EJ (2002) Cutting edge: Th2 response induction by dendritic cells: a role for CD40. *The Journal of Immunology* **168**, 537–540.
- Martinez FO and Gordon S (2014) The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000Prime Reports* **6**, 13.
- Masamba P and Kappo AP (2021) Immunological and biochemical interplay between cytokines, oxidative stress and schistosomiasis. *International Journal of Molecular Sciences* **22**, 7216.
- Masi B, Perles-Barbacaru TA, Bernard M and Viola A (2020) Clinical and preclinical imaging of hepatosplenic schistosomiasis. *Trends in Parasitology* **36**, 206–226.
- McManus DP, Dunne DW, Sacko M, Utzinger J, Vennervald BJ and Zhou XN (2018) Schistosomiasis. *Nature Reviews. Disease Primers* **4**, 13.
- Meevissen MHJ, Wuhrer M, Doenhoff MJ, Schramm G, Haas H, Deelder AM and Hokke CH (2010) Structural characterization of glycans on omega-1, a major *Schistosoma mansoni* egg glycoprotein that drives Th2 responses. *Journal of Proteome Research* **9**, 2630–2642.
- Mehta A and Baltimore D (2016) MicroRNAs as regulatory elements in immune system logic. *Nature Reviews. Immunology* **16**, 279–294.
- Menson EN and Wilson RA (1990) Lung-phase immunity to *Schistosoma mansoni*: definition of alveolar macrophage phenotypes after vaccination and challenge of mice. *Parasite Immunology* **12**, 353–366.
- Meyer NH, Mayerhofer H, Tripsianes K, Blindow S, Barths D, Mewes A, Weimar T, Köhli T, Bade S, Madl T, Frey A, Haas H, Mueller-Dieckmann J, Sattler M and Schramm G (2015) A crystallin fold in the interleukin-4-inducing principle of *Schistosoma mansoni* eggs (IPSE/ α -1) mediates IgE binding for antigen-independent basophil activation. *The Journal of Biological Chemistry* **290**, 22111–22126.
- Miller P and Wilson RA (1978) Migration of the schistosomula of *Schistosoma mansoni* from skin to lungs. *Parasitology* **77**, 281–302.
- Mills CD (2015) Anatomy of a discovery: M1 and M2 macrophages. *Frontiers in Immunology* **6**, 212.
- Molehin AJ (2020) Current understanding of immunity against schistosomiasis: impact on vaccine and drug development. *Research and Reports in Tropical Medicine* **11**, 119–128.
- Montagner S, Dehó L and Monticelli S (2014) MicroRNAs in hematopoietic development. *BMC Immunology* **15**, 14.
- Mouser EEIM, Pollakis G, Smits HH, Thomas J, Yazdanbakhsh M, De Jong EC and Paxton WA (2019) *Schistosoma mansoni* soluble egg antigen (SEA) and recombinant omega-1 modulate induced CD4+ T-lymphocyte responses and HIV-1 infection *in vitro*. *PLoS Pathogens* **15**, e1007924.
- Murray PJ (2017) Macrophage polarization. *Annual Review of Physiology* **79**, 541–566.
- Murray PJ, Allen JE, Biswas SK, Fisher EA, Gilroy DW, Goerdt S, Gordon S, Hamilton JA, Ivashkiv LB, Lawrence T, Locati M, Mantovani A, Martinez FO, Mege JL, Mosser DM, Natoli G, Saeij JP, Schultze JL, Shirey KA, Sica A, Suttles J, Udalova I, van Genderachter, Vogel SN and Wynn TA (2014) Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity* **41**, 14–20.
- Mutengo MM, Mduluzi T, Kelly P, Mwansa JCL, Kwenda G, Musonda P and Chipeta J (2018) Low IL-6, IL-10, and TNF- α and high IL-13 cytokine levels are associated with severe hepatic fibrosis in *Schistosoma mansoni* chronically exposed individuals. *Journal of Parasitology Research* **73**, 349–360.
- Nathan C and Cunningham-Bussell A (2013) Beyond oxidative stress: an immunologist's guide to reactive oxygen species. *Nature Reviews. Immunology* **13**, 349–361.
- Nation CS, Da'dara AA, Marchant JK and Skelly PJ (2020) Schistosome migration in the definitive host. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **14**, 1–12.
- Nelwan ML (2019) Schistosomiasis: life cycle, diagnosis, and control. *Current Therapeutic Research, Clinical and Experimental* **91**, 5–9.
- Neves LX, Sanson AL, Wilson RA and Castro-Borges W (2015) What's in SWAP? Abundance of the principal constituents in a soluble extract of *Schistosoma mansoni* revealed by shotgun proteomics. *Parasites & Vectors* **8**, 1–9.
- Nowacki FC, Swain MT, Klychnikov OI, Niazi U, Ivens A, Quintana JF, Hensbergen PJ, Hokke CH, Buck AH and Hoffmann KF (2015) Protein and small non-coding RNA-enriched extracellular vesicles are released by the pathogenic blood fluke *Schistosoma mansoni*. *Journal of Extracellular Vesicles* **4**, 28665.
- Oliveira MF, D'Ávila JCP, Torres CR, Oliveira PL, Tempone AJ, Rumjanek FD, Braga CMS, Silva JR, Dansa-Petretski M, Oliveira MA, De Souza W and Ferreira ST (2000) Haemozoin in *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology* **111**, 217–221.
- Orecchioni M, Ghosheh Y, Pramod AB and Ley K (2019) Macrophage polarization: different gene signatures in M1(LPS+) vs classically and M2(LPS-) vs alternatively activated macrophages. *Frontiers in Immunology* **10**, 1084.
- Oswald IP, Wynn TA, Sher A and James SL (1994) NO as an effector molecule of parasite killing: modulation of its synthesis by cytokines.

- Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* **108**, 11–18.
- Oyesola OO, Shanahan MT, Kanke M, Mooney BM, Webb LM, Smita S, Matheson MK, Campioli P, Pham D, Früh SP, McGinty JW, Churchill MJ, Cahoon JL, Sundaravaradan P, Flitter BA, Mouli K, Nadsjombati MS, Kamynina E, Peng SA, Cubitt RL, Gronert K, Lord JD, Rauch I, von Moltke J, Sethupathy P and Tait Wojno ED (2021) PGD2 and CRTH2 counteract type 2 cytokine-elicited intestinal epithelial responses during helminth infection. *The Journal of Experimental Medicine* **218**, e20202178.
- Paik YH, Kim J, Aoyama T, De Minicis S, Bataller R and Brenner DA (2014) Role of NADPH oxidases in liver fibrosis. *Antioxidants & Redox Signaling* **20**, 2854.
- Parisi L, Gini E, Baci D, Tremolati M, Fanuli M, Bassani B, Farronato G, Bruno A and Mortara L (2018) Macrophage polarization in chronic inflammatory diseases: killers or builders? *Journal of Immunology Research* **2018**, 8917804.
- Paveley RA, Aynsley SA, Cook PC, Turner JD and Mountford AP (2009) Fluorescent imaging of antigen released by a skin-invading helminth reveals differential uptake and activation profiles by antigen presenting cells. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **3**, e528.
- Pearce EJ and MacDonald AS (2002) The immunobiology of schistosomiasis. *Nature Reviews Immunology* **2**, 499–511.
- Pearce EJ, Caspar P, Grzych JM, Lewis FA and Sher A (1991) Downregulation of Th1 cytokine production accompanies induction of Th2 responses by a parasitic helminth, *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Experimental Medicine* **173**, 159–166.
- Pearce EJ, Kane CM, Sun J, Taylor JJ, McKee AS and Cervi L (2004) Th2 response polarization during infection with the helminth parasite *Schistosoma mansoni*. *Immunological Reviews* **201**, 117–126.
- Perona-Wright G, Jenkins SJ and MacDonald AS (2006) Dendritic cell activation and function in response to *Schistosoma mansoni*. *International Journal for Parasitology* **36**, 711–721.
- Pesce JT, Ramalingam TR, Wilson MS, Mentink-Kane MM, Thompson RW, Cheever AW, Urban JF, Wynn TA and Mansfield JM (2009) Retnla (relmalph/fizz1) suppresses helminth-induced Th2-type immunity. *PLoS Pathogens* **5**, e1000393.
- Piipponen M, Li D and Landén NX (2020) The immune functions of keratinocytes in skin wound healing. *International Journal of Molecular Sciences* **21**, 1–26.
- Rahman K, Vengrenyuk Y, Ramsey SA, Vila NR, Girgis NM, Liu J, Gusarova V, Gromada J, Weinstock A, Moore KJ, Loke P and Fisher EA (2017) Inflammatory Ly6Chi monocytes and their conversion to M2 macrophages drive atherosclerosis regression. *The Journal of Clinical Investigation* **127**, 2904–2915.
- Ramaswamy K, Kumar P and He YX (2000) A role for parasite-induced PGE2 in IL-10-mediated host immunoregulation by skin stage schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Immunology* **165**, 4567–4574.
- Raposo G and Stoorvogel W (2013) Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *The Journal of Cell Biology* **200**, 373–383.
- Rath M, Müller I, Kropf P, Closs EI and Munder M (2014) Metabolism via arginase or nitric oxide synthase: two competing arginine pathways in macrophages. *Frontiers in Immunology* **5**, 532.
- Ross AG, Vickers D, Olds GR, Shah SM and McManus DP (2007) Katayama syndrome. *The Lancet. Infectious Diseases* **7**, 218–224.
- Ross EA, Devitt A and Johnson JR (2021) Macrophages: the good, the bad, and the gluttony. *Frontiers in Immunology* **12**, 708186.
- Roupé KM, Nybo M, Sjöbring U, Alberius P, Schmidtchen A and Sørensen OE (2010) Injury is a major inducer of epidermal innate immune responses during wound healing. *The Journal of Investigative Dermatology* **130**, 1167–1177.
- Rückerl D and Cook PC (2019) Macrophages assemble! But do they need IL-4R during schistosomiasis? *European Journal of Immunology* **49**, 996–1000.
- Ruzicka T and Printz MP (1984) Arachidonic acid metabolism in skin: a review. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology* **100**, 121–160.
- Salter JP, Lim KC, Hansell E, Hsieh I and McKerrow JH (2000) Schistosome invasion of human skin and degradation of dermal elastin are mediated by a single serine protease. *Journal of Biological Chemistry* **275**, 38667–38673.
- Sanin DE and Mountford AP (2015) Sm16, a major component of *Schistosoma mansoni* cercarial excretory/secretory products, prevents macrophage classical activation and delays antigen processing. *Parasites & Vectors* **8**, 1–12.
- Schmall A, Al-Tamari HM, Herold S, Kampschulte M, Weigert A, Wietelmann A, Vipotnik N, Grimminger F, Seeger W, Pullamsetti SS and Savai R (2015) Macrophage and cancer cell cross-talk via CCR2 and CX3CR1 is a fundamental mechanism driving lung cancer. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **191**, 437–447.
- Schramm G, Gronow A, Knobloch J, Wipperfsteg V, Grevelding CG, Galle J, Fuller H, Stanley RG, Chiodini PL, Haas H and Doenhoff MJ (2006) IPSE/alpha-1: a major immunogenic component secreted from *Schistosoma mansoni* eggs. *Molecular and Biochemical Parasitology* **147**, 9–19.
- Schramm G, Mohrs K, Wodrich M, Doenhoff MJ, Pearce EJ, Haas H and Mohrs M (2007) Cutting edge: IPSE/alpha-1, a glycoprotein from *Schistosoma mansoni* eggs, induces IgE-dependent, antigen-independent IL-4 production by murine basophils *in vivo*. *The Journal of Immunology* **178**, 6023–6027.
- Schwartz C and Fallon PG (2018) *Schistosoma* ‘eggs-iting’ the host: granuloma formation and egg excretion. *Frontiers in Immunology* **9**, 2492.
- Schwartz E, Rozenman J and Perelman M (2000) Pulmonary manifestations of early schistosome infection among nonimmune travelers. *The American Journal of Medicine* **109**, 718–722.
- Schwartz C, Oeser K, Prazeres da Costa C, Layland LE and Voehringer D (2014) T cell-derived IL-4/IL-13 protects mice against fatal *Schistosoma mansoni* infection independently of basophils. *The Journal of Immunology* **193**, 3590–3599.
- Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaili SA, Mardani F, Seifi B, Mohammadi A, Afshari JT and Sahebkar A (2018) Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *Journal of Cellular Physiology* **233**, 6425–6440.
- Shen J, Wang L, Peng M, Liu Z, Zhang B, Zhou T, Sun X and Wu Z (2019) Recombinant Sj16 protein with novel activity alleviates hepatic granulomatous inflammation and fibrosis induced by *Schistosoma japonicum* associated with M2 macrophages in a mouse model. *Parasites & Vectors* **12**, 457.
- Shen H, Wang Z, Huang A, Zhu D, Sun P and Duan Y (2021) Lipocalin 2 is a regulator during macrophage polarization induced by soluble worm antigens. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* **11**, 1.
- Shi Y, Luo P, Wang W, Horst K, Bläsius F, Relja B, Xu D, Hildebrand F and Greven J (2020) M1 but not M0 extracellular vesicles induce polarization of RAW264.7 macrophages via the TLR4-NFκB pathway *in vitro*. *Inflammation* **43**, 1611–1619.
- Shiels J, Cwiklinskiid K, Alvarado R, Thivierge K, Cotton S, Santana BG, Toid J, Donnelly S, Taggart CC, Weldonid S and Dalton JP (2020) *Schistosoma mansoni* immunomodulatory molecule Sm16/SPO-1/SmSLP is a member of the trematode-specific helminth defence molecules (HDMs). *PLoS Neglected Tropical Diseases* **14**, 1–25.
- Sica A and Mantovani A (2012) Macrophage plasticity and polarization: *in vivo* veritas. *The Journal of Clinical Investigation* **122**, 787–795.
- Sica A, Erreni M, Allavena P and Porta C (2015) Macrophage polarization in pathology. *Cellular and Molecular Life Sciences* **72**, 4111–4126.
- Smith H, Forman R, Mair I and Else KJ (2018) Interactions of helminths with macrophages: therapeutic potential for inflammatory intestinal disease. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology* **12**, 997–1006.
- Song LJ, Yin XR, Mu SS, Li JH, Gao H, Zhang Y, Dong PP, Mei CJ and Hua ZC (2020) The differential and dynamic progression of hepatic inflammation and immune responses during liver fibrosis induced by *Schistosoma japonicum* or carbon tetrachloride in mice. *Frontiers in Immunology* **11**, 2633.
- Sotillo J, Pearson M, Potriquet J, Becker L, Pickering D, Mulvenna J and Loukas A (2016) Extracellular vesicles secreted by *Schistosoma mansoni* contain protein vaccine candidates. *International Journal for Parasitology* **46**, 1–5.
- Starkey Lewis P, Campana L, Aleksieva N, Cartwright JA, Mackinnon A, O’Duibhir E, Kendall T, Vermeren M, Thomson A, Gadd V, Dwyer B, Aird R, Man TY, Rossi AG, Forrester L, Park BK and Forbes SJ (2020) Alternatively activated macrophages promote resolution of necrosis following acute liver injury. *Journal of Hepatology* **73**, 349–360.
- Steinmann P, Keiser J, Bos R, Tanner M and Utzinger J (2006) Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk. *Lancet Infectious Diseases* **6**, 411–425.
- Stingl P and Stingl T (2017) Schistosomiasis. *MMW Fortschritte der Medizin* **159**, 51–54.
- Suzuki Y, Shirai M, Asada K, Yasui H, Karayama M, Hozumi H, Furuhashi K, Enomoto N, Fujisawa T, Nakamura Y, Inui N, Shirai T, Hayakawa H and Suda T (2018) Macrophage mannose receptor, CD206, predict prognosis in patients with pulmonary tuberculosis. *Scientific Reports* **8**, 1–9.

- Takaki KK, Rinaldi G, Berriman M, Pagán AJ and Ramakrishnan L (2021) *Schistosoma mansoni* eggs modulate the timing of granuloma formation to promote transmission. *Cell Host & Microbe* **29**, 58.
- Tang Y, Shen Y, Hong Y, Zhang Z, Zhai Q, Fu Z, Li H, Lu K and Lin J (2021) miR-181a regulates the host immune response against *Schistosoma japonicum* infection through the TLR4 receptor pathway. *Parasites & Vectors* **14**, 548.
- Truscott M, Evans DA, Gunn M and Hoffmann KF (2013) *Schistosoma mansoni* hemozoin modulates alternative activation of macrophages via specific suppression of Retnla expression and secretion. *Infection and Immunity* **81**, 133–142.
- Tundup S, Srivastava L, Nagy T and Harn D (2014) CD14 influences host immune responses and alternative activation of macrophages during *Schistosoma mansoni* infection. *Infection and Immunity* **82**, 3240.
- Uribe-Querol E and Rosales C (2020) Phagocytosis: our current understanding of a universal biological process. *Frontiers in Immunology* **11**, 1066.
- van Liempt E, van Vliet SJ, Engering A, García Vallejo JJ, Bank CMC, Sanchez-Hernandez M, van Kooyk Y and van Die I (2007) *Schistosoma mansoni* soluble egg antigens are internalized by human dendritic cells through multiple C-type lectins and suppress TLR-induced dendritic cell activation. *Molecular Immunology* **44**, 2605–2615.
- Vannella KM and Wynn TA (2017) Mechanisms of organ injury and repair by macrophages. *Annual Review of Physiology* **79**, 593–617.
- Vannella KM, Barron L, Borthwick LA, Kindrachuk KN, Narasimhan PB, Hart KM, Thompson RW, White S, Cheever AW, Ramalingam TR and Wynn T (2014) Incomplete deletion of IL-4Rα by LysMCre reveals distinct subsets of M2 macrophages controlling inflammation and fibrosis in chronic schistosomiasis. *PLoS Pathogens* **10**, e1004372.
- Verjee MA (2019) Schistosomiasis: still a cause of significant morbidity and mortality. *Research and Reports in Tropical Medicine* **10**, 153–163.
- Viola A, Munari F, Sánchez-Rodríguez R, Scolaro T and Castegna A (2019) The metabolic signature of macrophage responses. *Frontiers in Immunology* **10**, 1462.
- Wang L, Yang Z, Li Y, Yu F, Brindley PJ, McManus DP, Wei D, Han Z, Feng Z, Li Y and Hu W (2006) Reconstruction and *in silico* analysis of the MAPK signaling pathways in the human blood fluke, *Schistosoma japonicum*. *FEBS Letters* **580**, 3677–3686.
- Wang M, Altinoglu S, Takeda YS and Xu Q (2015) Integrating protein engineering and bioorthogonal click conjugation for extracellular vesicle modulation and intracellular delivery. *PLoS ONE* **10**, e0141860.
- Wang S, Ye Q, Zeng X and Qiao S (2019) Functions of macrophages in the maintenance of intestinal homeostasis. *Journal of Immunology Research* **2019**, 1512969.
- Wang L, Shang X, Qi X, Ba D, Lv J, Zhou X, Wang H, Shaxika N, Wang J and Ma X (2020) Clinical significance of M1/M2 macrophages and related cytokines in patients with spinal tuberculosis. *Disease Markers* **2020**, 2509454.
- Wei Y, Huang N, Chen S, Chen D, Li X, Xu J and Yang Z (2018) The diagnosis and treatment introspection of the first imported case of atypical cerebral schistosomiasis in Guangzhou city. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **12**, e0006171.
- West HC and Bennett CL (2018) Redefining the role of Langerhans cells as immune regulators within the skin. *Frontiers in Immunology* **8**, 1941.
- Wheater PR and Wilson RA (1979) *Schistosoma mansoni*: a histological study of migration in the laboratory mouse. *Parasitology* **79**, 49–62.
- Whitfield PJ, Bartlett A, Brown MB and Marriott C (2003) Invasion by schistosome cercariae: studies with human skin explants. *Trends in Parasitology* **19**, 339–340.
- Wilson RA (1987) Cercariae to liver worms: development and migration in the mammalian host. In D Rollinson, AJG Simpson (eds), *The Biology of Schistosomes*. New York: From Genes to Latrines, pp. 115–146.
- Wilson RA (1998) Interferon gamma is a key cytokine in lung phase immunity to schistosomes but what is its precise role? *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **31**, 157–161.
- Wilson RA and Jones MK (2021) Fifty years of the schistosome tegument: discoveries, controversies, and outstanding questions. *International Journal for Parasitology* **51**, 1213–1232.
- Wilson MS, Mentink-Kane MM, Pesce JT, Ramalingam TR, Thompson R and Wynn TA (2007) Immunopathology of schistosomiasis. *Immunology and Cell Biology* **85**, 148.
- Wolde M, Laan LC, Medhin G, Gadissa E, Berhe N and Tsegaye A (2020) Human monocytes/macrophage inflammatory cytokine changes following *in vivo* and *in vitro* *Schistosoma mansoni* infection. *Journal of Inflammation Research* **13**, 35–43.
- World Health Organization (2020) Status of Schistosomiasis Endemic Countries: 2018. Available at https://apps.who.int/neglected_diseases/ntddata/sch/sch.html.
- Xu J, Zhang H, Chen L, Zhang D, Ji M, Wu H and Wu G (2014) *Schistosoma japonicum* infection induces macrophage polarization. *Journal of Biomedical Research* **28**, 299–308.
- Xu ZJ, Gu Y, Wang CZ, Jin Y, Wen XM, Ma JC, Tang LJ, Mao ZW, Qian J and Lin J (2019) The M2 macrophage marker CD206: a novel prognostic indicator for acute myeloid leukemia. *Oncoimmunology* **9**, 1683347.
- Xue L, Gyles SL, Wettest FR, Gazi L, Townsend E, Hunter MG and Pettipher R (2005) Prostaglandin D2 causes preferential induction of proinflammatory Th2 cytokine production through an action on chemoattractant receptor-like molecule expressed on Th2 cells. *The Journal of Immunology* **175**, 6531–6536.
- Yang Z and Ming XF (2014) Functions of arginase isoforms in macrophage inflammatory responses: impact on cardiovascular diseases and metabolic disorders. *Frontiers in Immunology* **5**, 533.
- Yang SH, Sharrocks AD and Whitmarsh AJ (2003) Transcriptional regulation by the MAP kinase signaling cascades. *Gene* **320**, 3–21.
- Yao Y, Xu XH and Jin L (2019) Macrophage polarization in physiological and pathological pregnancy. *Frontiers in Immunology* **10**, 792.
- Ye Z, Huang S, Zhang Y, Mei X, Zheng H, Li M, Chen J and Lu F (2020) Galectins, eosinophiles, and macrophages may contribute to *Schistosoma japonicum* egg-induced immunopathology in a mouse model. *Frontiers in Immunology* **11**, 146.
- Yin Z, Ma T, Lin Y, Lu X, Zhang C, Chen S and Jian Z (2018) IL-6/STAT3 pathway intermediates M1/M2 macrophage polarization during the development of hepatocellular carcinoma. *Journal of Cellular Biochemistry* **119**, 9419–9432.
- Yu Y, Wang J, Wang X, Gu P, Lei Z, Tang R, Wei C, Xu L, Wang C, Chen Y, Pu Y, Qi X, Yu B, Chen X, Zhu J, Li Y, Zhang Z, Zhou S and Su C (2021) Schistosome eggs stimulate reactive oxygen species production to enhance M2 macrophage differentiation and promote hepatic pathology in schistosomiasis. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **15**, e0009696.
- Yunna C, Mengru H, Lei W and Weidong C (2020) Macrophage M1/M2 polarization. *European Journal of Pharmacology* **877**, 173090.
- Zhao P, Elks CM and Stephens JM (2014) The induction of lipocalin-2 protein expression *in vivo* and *in vitro*. *The Journal of Biological Chemistry* **289**, 5960–5969.
- Zheng S, Zhang P, Chen Y, Zheng S, Zheng L and Weng Z (2016) Inhibition of notch signaling attenuates schistosomiasis hepatic fibrosis *via* blocking macrophage M2 polarization. *PLoS ONE* **11**, e0166808.
- Zheng B, Zhang J, Chen H, Nie H, Miller H, Gong Q and Liu C (2020) T lymphocyte-mediated liver immunopathology of schistosomiasis. *Frontiers in Immunology* **11**, 61.
- Zhu J, Xu Z, Chen X, Zhou S, Zhang W, Chi Y, Li W, Song X, Liu F and Su C (2014) Parasitic antigens alter macrophage polarization during *Schistosoma japonicum* infection in mice. *Parasites & Vectors* **7**, 1–9.
- Zhu S, Wang S, Lin Y, Jiang P, Cui X, Wang X, Zhang Y and Pan W (2016) Release of extracellular vesicles containing small RNAs from the eggs of *Schistosoma japonicum*. *Parasites & Vectors* **9**, 1–9.
- Zussman RA, Bauman PM and Petruska JC (1970) The role of ingested hemoglobin in the nutrition of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology* **56**, 75–79.

CAPÍTULO 2

**Polarização dos macrófagos M1 e M2 em resposta aos diferentes estágios do
helminto *Schistosoma mansoni* na infecção esquistossomótica**

Polarização dos macrófagos M1 e M2 em resposta aos diferentes estágios do helminto *Schistosoma mansoni* na infecção esquistossomótica

Irla Correia Lima Licá Fonseca^{1,2}, Antonio Camilo Correia Mendes Filho², Jaianna Andressa Viana Campos², Gleycka Cristine Carvalho Gomes Frazão^{1,2}, Ranielly Araujo Nogueira^{1,2}, Maria Gabriela Sampaio Lira^{1,2}, Vitor Augusto Ferreira dos Santos^{1,2}, Jefferson Mesquita Brito^{1,2}, Sulayne Janayna Araújo Guimarães^{1,2}, João Gustavo Mendes Rodrigues², Guilherme Silva Miranda³, Lucas Martins França^{1,4}, Antonio Marcus de Andrade Paes^{1,4}, Rafael Cardoso Carvalho¹, Lucilene Amorim Silva^{1,2,5}, Rosane Nassar Meireles Guerra^{1,2,5}, Flávia Raquel Fernandes Nascimento^{1,2,5*}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil.

²Laboratório de Imunofisiologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Patologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Maranhão, Brasil.

³Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, Departamento de Biologia, São Raimundo das Mangabeiras, Brasil.

⁴Laboratório de Fisiologia Experimental, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Patologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Maranhão, Brasil.

⁵Departamento de Patologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil.

*Autor correspondente: Profa. Dra. Flávia Raquel Fernandes Nascimento.

Departamento de Patologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão. Av. dos Portugueses, 1966 - Vila Bacanga, São Luís, MA, Brasil. CEP: 65080-805. Endereço de e-mail: flavia.nascimento@ufma.br

Resumo

A esquistossomose humana é uma doença parasitária negligenciada de grande relevância para saúde pública, sendo causada por helmintos trematódeos da espécie *Schistosoma mansoni*. Durante a infecção por *S. mansoni* os macrófagos desempenham um papel crucial e podem adquirir diferentes fenótipos. Apesar da relevância dos macrófagos no controle de infecções, a participação dos tipos funcionais destas células na esquistossomose não é bem definida. O estudo avaliou a polarização de macrófagos M1 e M2 na infecção por *S. mansoni* *in vitro* e *in vivo*. Nos ensaios *in vitro* foram utilizados macrófagos (RAW 264.7) cultivados na concentração de 1×10^6 /mL não polarizados (M0). Também foram utilizados macrófagos M1 previamente polarizados com LPS (2000 ng/mL) e IFN- γ (100 ng/mL) e macrófagos M2 com IL-4 (400 ng/mL) e IL-13 (200 ng/mL). Essas células foram co-cultivadas com cercárias (10 cercárias/ poço) ou com vermes adultos (2 vermes/ poço) de *S. Mansoni*. Após 24 horas e 72 horas, avaliou-se a viabilidade das cercárias e vermes adultos, respectivamente. Em seguida, avaliou-se se vermes adultos poderiam interferir na polarização de macrófagos previamente ativados a partir da quantificação da expressão de iNOS e Arginase, da produção de óxido nítrico e de citocinas, além disso, da atividade da Arginase. Nos estudos *in vivo*, foi avaliada expressão de macrófagos M1 e M2 no tecido de hepático de camundongos infectados com 50 cercárias de *S. mansoni* após 90 dias de infecção. Camundongos sem infecção, foram utilizados como controle. Nos experimentos *in vitro*, demonstramos que macrófagos não polarizados e M1 possuem potencial citotóxicos frente a cercárias e vermes adultos de *S. mansoni*. Interessantemente, nós também observamos que vermes adultos potencializam a polarização de macrófagos previamente estimulados e induzem um perfil M1 em macrófagos não polarizados. Expandindo nossos estudos para experimentos *in vivo*, notamos um aumento significativo na expressão de marcadores específicos associados aos perfis M1 e M2 nos tecidos hepáticos de camundongos infectados. Além disso, constatamos que a expressão de macrófagos M2 supera a de macrófagos M1 no tecido hepático desses animais infectados, e essa predominância de macrófagos M2 está correlacionada com a redução do número de granulomas hepáticos. É importante ressaltar que nossa investigação revelou que nem os macrófagos M1 nem os M2 exerceram influência significativa no aumento do peso do fígado ou no tamanho dos granulomas hepáticos. Os achados deste estudo, demonstram a notável capacidade dos macrófagos de interagir de forma distinta, dependendo dos estágios da infecção pelo parasito *S. mansoni*, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Neste sentido, a estratégia de direcionar terapias para modular seletivamente a polarização dos macrófagos emerge como uma promissora abordagem terapêutica. Isso pode envolver a pesquisa de vacinas ou imunoterapias específicas para promover ou inibir a transição de macrófagos entre esses perfis, dependendo do estágio da infecção.

Palavras-chaves: Esquistossomose, imunoterapias, M1, M2, *Schistosoma mansoni*, vacinas

72 **Introdução**

73 A esquistossomose mansônica, uma doença de caráter infeccioso e parasitário,
74 resulta da infecção por vermes helmintos trematódeos da espécie *Schistosoma mansoni*,
75 Sambon, 1907 (Gryseels 2012; Colley e Secor 2014). Essa parasitose é endêmica nos
76 continentes Africano, Asiático e Sul-americano, sendo considerada um grave problema de
77 saúde pública mundial devido à elevada morbidade e gravidade resultantes da infecção,
78 afetando cerca de 240 milhões de pessoas em todo o mundo e resultando em
79 aproximadamente 280.000 óbitos a cada ano (Weerakoon et al. 2015; McManus et al. 2018;
80 WHO 2021).

81 Durante o curso da esquistossomose, células do sistema imunológico inato podem
82 ser ativadas em cada estágio em que o parasito se encontra, com destaque para os macrófagos
83 (Hogg et al. 2003; Sandler et al. 2003; Ho et al. 2021). Essas células têm como característica
84 principal o processo de fagocitose e atuam como células apresentadoras de antígenos (APCs),
85 mediando a interação entre a resposta imune inata e a adaptativa (Hirayama et al. 2017;
86 Watanabe et al. 2019).

87 Os macrófagos desempenham um papel central na resposta imune contra *S.*
88 *mansoni*, e a sua ativação é um ponto crítico no desfecho clínico da esquistossomose (Cortes-
89 Selva et al. 2018; Souza et al. 2020). Estudos iniciais demonstraram a capacidade dos
90 macrófagos de exercerem citotoxicidade contra *S. mansoni* (James et al. 1983; James e
91 Glaven 1989). Em vermes adultos e jovens de *S. japonicum*, essas células podem afetar o
92 crescimento e a reprodução do parasito (Shen et al. 2017). Na fase crônica, os macrófagos
93 desempenham um papel essencial na formação do granuloma e no reparo tecidual, processos
94 que estão associados à formação de fibrose caso não sejam bem modulados pela resposta
95 imune do hospedeiro (Schwartz e Fallon 2018; Ye et al. 2020; Llanwarne e Helmby 2021).

96 Devido à capacidade de apresentar respostas funcionais polarizadas em resposta a
97 estímulos inflamatórios, os macrófagos podem ser categorizados em macrófagos ativados
98 classicamente (M1) e macrófagos ativados alternativamente (M2) (Mills 2015; Ley 2017;
99 Parisi et al. 2018). Os macrófagos M1 são considerados citotóxicos e desempenham um papel
100 na resposta inflamatória inicial. São ativados por IFN- γ ou lipopolissacarídeo bacteriano
101 (LPS) e produzem citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12 e IL-23
102 (Vannella e Wynn, 2017; Shapouri-Moghaddam et al. 2018; Yunna et al. 2020). Esses
103 macrófagos também podem regular positivamente a enzima óxido nítrico sintase induzível

(iNOS) por meio da metabolização da L-arginina, levando à produção de óxido nítrico (NO), uma molécula importante para o controle de infecções e eliminação de agentes infecciosos (Lowenstein et al. 1994; Tripathi et al. 2007; Bogdan 2015). Por outro lado, os macrófagos M2 exibem um perfil anti-inflamatório e estão envolvidos na cicatrização de feridas (Mills 2015). São ativados por estímulos como compostos helmínticos ou citocinas como IL-4 e IL-13 (Rodriguez-Sosa et al. 2002; Herbert et al. 2004; Donnelly et al. 2005; Anthony et al. 2006; Kreider et al. 2007; Gao et al. 2015). Esses macrófagos secretam altos níveis de IL-10 e TGF- β e metabolizam a L-arginina pela arginase para produzir L-ornitina, uma molécula precursora de putrescina, espermidina, espermina e L-prolina, todas envolvidas nos processos de reparação tecidual e proliferação celular (Rath et al. 2014; Yang e Ming 2014; Gordon e Martinez-Pomares 2017).

Estudos anteriores demonstraram que a esquistossomose causada por *S. japonicum* pode induzir a polarização de macrófagos para os perfis M1 e/ou M2, tanto *in vitro* quanto *in vivo* (Xu et al. 2014; Zhu et al. 2014; Licá et al. 2023). No entanto, a ativação e ação desses tipos funcionais de macrófagos quando em contato com *S. mansoni* ainda não estão completamente esclarecidas. Além disso, há uma carência de trabalhos que se concentrem no papel imunoparasitário das cercárias de *S. mansoni* na progressão da infecção no hospedeiro e sua relação com a ativação de macrófagos. A compreensão mais aprofundada do funcionamento dos macrófagos na infecção por *S. mansoni* pode contribuir para a busca de alternativas terapêuticas que possam inibir o desenvolvimento da doença e, consequentemente, prevenir sua cronicidade.

Considerando os resultados preliminares que ressaltam o envolvimento dos macrófagos na esquistossomose, o presente estudo teve como objetivo avaliar as respostas dos macrófagos na presença de cercárias e vermes adultos de *S. mansoni in vitro*, bem como analisar a expressão de marcadores associados aos macrófagos M1 e M2 no tecido hepático em um modelo murino de infecção crônica por *S. mansoni*.

Material e Métodos

Cultura de macrófagos RAW 264.7

As células da linhagem murina RAW 264.7 (gentilmente cedidas pelo Laboratório de Imunologia Aplicada – Rio de Janeiro) foram cultivadas em frascos de cultura celular

estéreis contendo meio RPMI-1640 (SIGMA) acrescido de penicilina (100 µg/mL, SIGMA), estreptomicina (100 U/mL, Merck), anfotericina B (0,25 µg/mL, SIGMA) e suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB) (SIGMA). O cultivo foi realizado em estufa a 5% de CO₂ a 37 °C.

Polarização de macrófagos RAW 264.7

Para induzir a polarização dos macrófagos, inicialmente, as células (1x10⁶ células/mL) foram incubadas por uma hora em estufa a 5% de CO₂ a 37°C para promover a aderência ao fundo da placa de cultura. Em seguida, as células foram cuidadosamente lavadas com meio de cultura a fim de remover as células não aderentes. Para a indução do perfil M1, os macrófagos foram estimulados com 10 ng/mL de IFN-γ (PEPROTECH, Catálogo 315-05) e 200 ng/mL de lipopolissacarídeo - LPS (*Escherichia coli*, 0111:B4, SIGMA). Para a polarização no perfil M2, os macrófagos foram estimulados com 40 ng/mL de IL-4 (PEPROTECH, Catálogo 214-14) e 20 ng/mL de IL-13 (PEPROTECH, Catálogo 213-10). Como controle negativo, os macrófagos RAW 264.7 (M0) foram mantidos apenas em meio RPMI-1640 suplementado com 1% de Soro Fetal Bovino (SFB) (Ying et al., 2013). Os macrófagos foram então incubados novamente em estufa por um período de 24 horas antes de serem utilizados nos ensaios subsequentes.

Co-cultura de macrófagos RAW 264.7 com cercárias

Inicialmente, cercárias viáveis foram obtidas por meio de fotoestimulação de caramujos *Biomphalaria glabrata* experimentalmente infectados com a cepa LE, conforme descrito por Smithers e Terry (1965). Após a polarização bem-sucedida dos grupos de macrófagos M0, M1 e M2, as células foram co-incubadas (1x10⁶ células/mL) com cercárias viáveis (n=10/poço) em placas de 24 poços contendo 500µL de meio de cultura RPMI-1640 completo. Essa co-incubação ocorreu por 3 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37 °C (**Fig.1**). Cabe ressaltar que as cercárias incubadas apenas com meio RPMI-1640 foram utilizadas como grupo controle negativo. Para avaliar a viabilidade/mobilidade das larvas de *S. mansoni* incubadas com macrófagos Raw 264.7, utilizou-se como parâmetro o estado de viabilidade

das larvas. O experimento foi conduzido à temperatura ambiente (aproximadamente 25°C), e as observações foram realizadas em um microscópio estereoscópico com aumento de 40x/80x em intervalos de 15, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos (Adaptado de Rodrigues et al., 2021). Cada grupo foi submetido a bioensaios em quadruplicata.

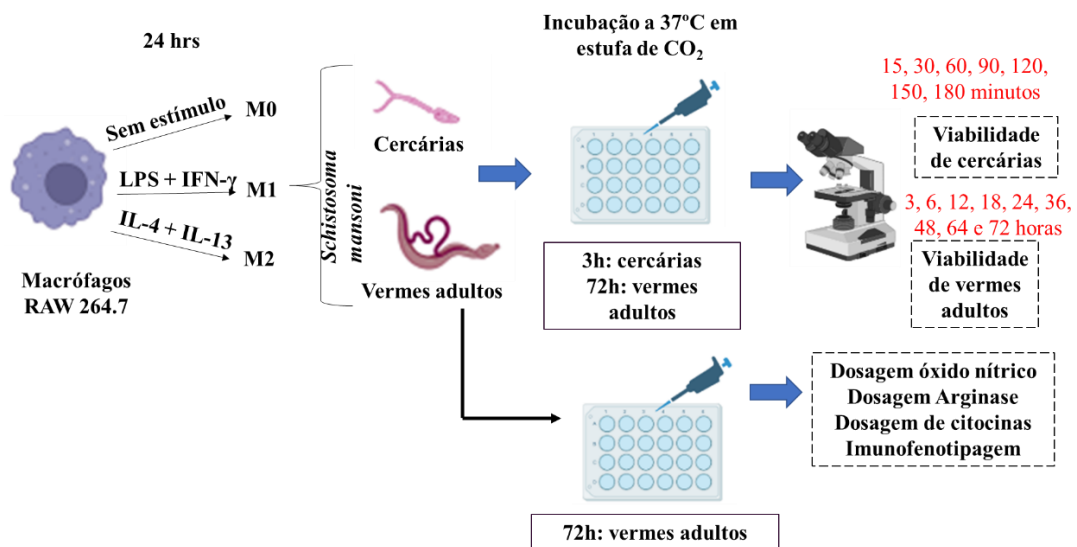


Fig.1 Delineamento experimental da co-cultura de macrófagos RAW 264.7 com cercárias e vermes adultos machos de *S. mansoni*. Macrófagos RAW 264.7 cultivados em placas de 24 e 96 poços a uma concentração de 1×10^6 /mL não polarizados (M0) e previamente polarizados com LPS (2000 ng/mL) e IFN- γ (100 ng/mL) para M1 e IL-4 (400 ng/mL) e IL-13 (200 ng/mL) para M2 que posteriormente foram cultivados por cercárias (10 cercárias/ poço) e vermes adultos (2 vermes/ poço) de *S. mansoni*.

Co-cultura de macrófagos RAW 264.7 com vermes adultos machos

Os vermes foram obtidos por meio de perfusão do sistema portal e das veias mesentéricas de camundongos Swiss machos após 60 dias de infecção com 50 cercárias de *S. mansoni*, utilizando uma solução salina estéril (NaCl a 0,9% p/v) (Smithers e Terry, 1965). Os vermes machos foram imediatamente transferidos para meio RPMI-1640 completo e lavados duas vezes com este meio. Previamente à adição dos vermes adultos de *S. mansoni* (conforme ilustrado na **Fig.1**), os macrófagos RAW 264.7 foram estimulados durante 24 horas de acordo

com o protocolo de polarização. Os vermes adultos machos viáveis (n=2/poço) foram co-incubados com macrófagos a uma concentração de 1×10^6 células/mL em placas de 24 poços, cada uma contendo 500µL de meio de cultura RPMI-1640 completo. Essa co-incubação ocorreu por um período de 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37 °C (Adaptado de Rodrigues et al., 2021). Os vermes incubados apenas em meio RPMI-1640 completo foram usados como grupo controle negativo. Para avaliar a viabilidade dos vermes adultos machos de *S. mansoni* após a incubação com macrófagos Raw 264.7, foram considerados a sobrevivência. As observações foram realizadas em um microscópio invertido com aumento de 20x nos seguintes intervalos de tempo: 3, 6, 12, 18, 24, 36, 48, 64 e 72 horas de cultura. Todos os experimentos foram realizados em quadruplicata para cada grupo.

Avaliação da produção de óxido nítrico

A dosagem de óxido nítrico foi após 72 horas de co-cultura de macrófagos RAW 264.7 com vermes adultos machos. Assim, foram transferidos 50µL dos sobrenadantes das culturas para placas de 96 poços aos quais foram adicionados 50µL de reagente de Griess (1% de sulfanilamida/0,1% de dihidrocloreto de naftileno/2,5% de ácido orto-fosfórico) em temperatura ambiente por 10 minutos. A absorbância foi determinada no leitor de microplaca (Molecular Devices, SpectraMax® Plus 384), com filtro de 540nm, com branco constituído por meio RPMI mais reagente de Griess. Os resultados obtidos em densidade óptica foram transformados em µM de NO, mediante equação de regressão linear com base na curva padrão obtida com concentrações de 0, 5, 10, 30 e 60µM de NO) (Ding et al. 1988).

Avaliação da atividade de arginase

Para avaliação da atividade da Arginase, o sobrenadante da co-cultura de macrófagos RAW 264.7 com vermes adultos machos foi coletado após 72 horas (Adaptado de Fialho et al. 2023). Em seguida, 100 µL do sobrenadante da cultura foi incubado em placa de 96 poços à 37°C por 2 horas com 10µL do substrato tamponado contendo arginina. Passado esse tempo, foram adicionados 200µL do reagente de ureia e a placa novamente incubada por 1 hora à temperatura ambiente. Os reagentes utilizados para a determinação da atividade da

arginase foram derivados do kit de Ensaio da Atividade da Arginase (Sigma Aldrich, St. Louis, EUA), de acordo com as instruções do fabricante.

A leitura das absorbâncias foi feita em espectrofotômetro à 430 nm e, após a subtração da leitura dos respectivos brancos das amostras, foi determinada a atividade da arginase tendo como referência a absorbância obtida por 50µL de padrão de ureia (1mM), seguindo a fórmula disponibilizada pelo fabricante. Os resultados foram expressos em unidades/litro, onde 1 unidade de arginase é a quantidade de enzima que converte 1µmole de L-arginina à ornitina e ureia por minuto à 37 °C e pH 9,5.

Avaliação das citocinas por CBA

Para a avaliação das citocinas, o sobrenadante da co-cultura de macrófagos RAW 264.7 com vermes adultos foi coletado após 72 horas. As citocinas TNF- α , INF- γ , IL-6, IL-10 e IL-4 foram estimadas pela técnica de Cytometric Bead Array (CBA), usando kit disponíveis comercialmente e de acordo com as instruções do fabricante (BD® Cytometric Bead Array (CBA) Mouse Th1/Th2).

Imunofenotipagem

Após 72 horas de co-culturas (macrófagos e vermes adultos) e retirada dos sobrenadantes, macrófagos RAW 264.7 foram desprendidos do fundo da placa com adição de 200µL de PBS (Solução Tamponada com Fosfato – pH 7,4) gelado com 10mM EDTA (do inglês *ethylenediamine tetraacetic acid*) e posteriormente ajustados para 1×10^6 /mL (Adaptado de Yu et al., 2016). Para analisar a população de M1 e M2, as células foram incubadas com anti-Arginase conjugado a FITC e anti-iNOS conjugado com PerCP-Cy5.5 (BD Biosciences Pharmingen). Para verificar a população de macrófagos, as células foram incubadas com anti-F4/80 conjugado com PE (BD Biosciences Pharmingen). As leituras foram realizadas no citômetro de fluxo FACScalibur (Becton Dickinson, San Jose, CA, EUA). Os resultados foram analisados usando o software Flow Jow® (Tree star Inc, Ashland, OR). Um total de 10.000 eventos foram analisados levando-se em consideração os parâmetros de tamanho (*Forward Scatter*, FSC) e complexidade celular (*Side Scatter*, SSC). Em seguida,

para análise das subpopulações majoritárias de F4/80 selecionou-se os parâmetros e as regiões duplo-positivas em Arginase versus iNOS (**Fig.2**).

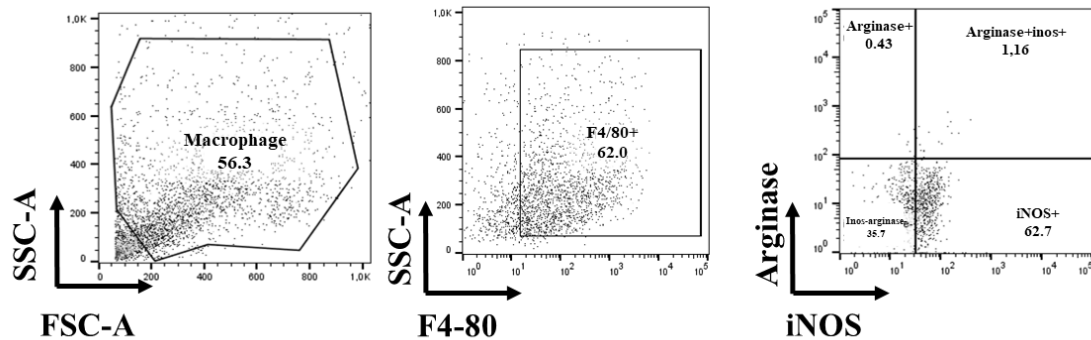


Fig. 2 Estratégia de análise da imunofenotipagem de macrófagos cultivados ou não com vermes adultos machos de *S. mansoni*. Macrófagos RAW 264.7 cultivados em placas de 96 poços a uma concentração de 1×10^6 /mL não polarizados (M0) e previamente polarizados com LPS (2000 ng/mL) e IFN- γ (100 ng/mL) para M1 eIL-4 (400 ng/mL) e IL-13 (200 ng/mL) para M2 que posteriormente foram cultivados por *S. mansoni* (2 vermes/ poço). Um total de 10.000 eventos foram analisados levando-se em consideração os parâmetros de tamanho (*Forward Scatter*, FSC) e complexidade celular (*Side Scatter*, SSC). Em seguida, para análise das subpopulações majoritárias de F4/80 selecionou-se os parâmetros e as regiões duplo-positivas em Arginase versus iNOS, para determinação e análise do número absoluto das células expressando os marcadores e média da intensidade de fluorescência (MFI).

Infecção e caracterização dos grupos experimentais

Camundongos Swiss machos, com 2 meses de idade ($\cong 35$ g), foram fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Camundongos Swiss ($n=12$) foram divididos em dois grupos com seis animais cada: um grupo controle (não infectados, que foram utilizados como parâmetro fisiológico) e um grupo infectado. Para os grupos infectados, 50 cercárias viáveis de *S. mansoni* obtidas de exemplares de *Biomphalaria glabrata* (cepa LE), foram inoculadas por via subcutânea (**Fig.3**) (Peters et al. 1969). Todos os animais foram eutanasiados 90 dias após a infecção, uma sobredose de anestésico (Cloridrato de Xilasina 2% - 1mL/Kg e Cloridrato de Ketamina 10% - 0,1mL/Kg, intramuscular) para realização dos ensaios propostos.

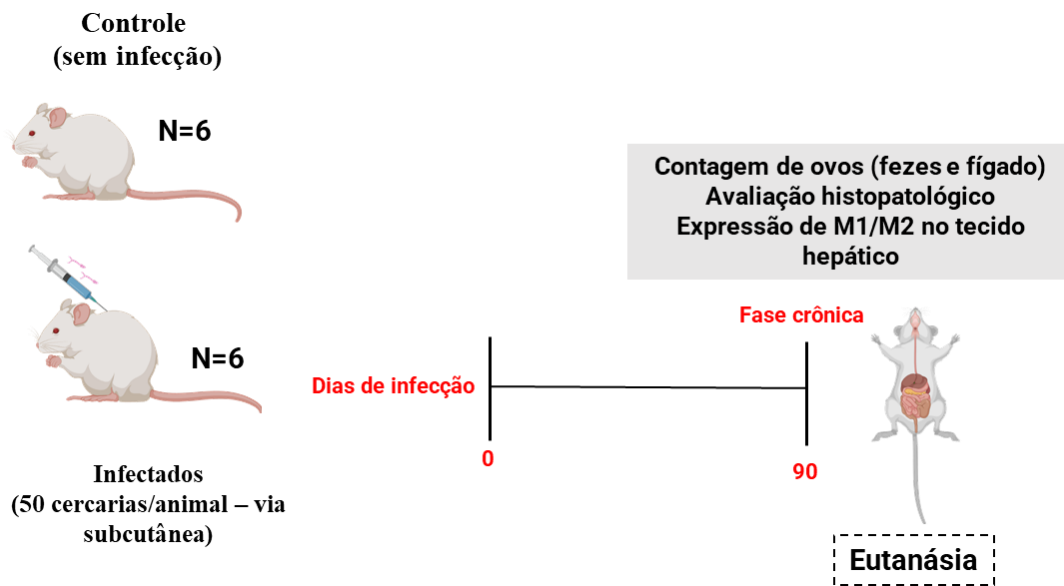


Fig. 3 Delineamento experimental dos ensaios realizados após eutanásia dos camundongos. Os animais foram infectados no dia 0 com 50 cercárias via subcutânea e eutanasiados no 90º dia. O Grupo controle não teve animais infectados.

Quantificação de ovos em fezes e tecido hepático

A quantificação da carga parasitária de cada animal infectado de ambos os grupos experimentais foi realizada através da contagem do número de ovos eliminados nas fezes, do número de ovos retidos no fígado. Resumidamente, amostras de fezes foram coletadas, pesadas e homogeneizadas em 10 mL de solução tamponada de formaldeído a 10% (Negrão-Corrêa et al. 2004). Os ovos presentes em duas amostras de 100 µL de suspensão fecal foram contados em microscópio óptico e registrados como ovos/g/fezes. Para a quantificar o número de ovos de *S. mansoni* por volume de tecido, o fígado (lobo direito) de cada animal foram retirados durante a necropsia e processados separadamente pela técnica de digestão com hidróxido de potássio (KOH 5%) conforme descrito por Cheever (1968).

Análises histopatológicas e morfométricas do tecido hepático

Após a eutanásia, amostras do fígado (parte central do lado direito do lobo bilobado) e intestino delgado dos animais foram coletadas, armazenadas em formol a 10% por 48 horas e colocadas em parafinas para posterior confecção das lâminas. Após a fixação, as amostras

foram lavadas e colocadas em álcool 70%. Em seguida, todo o material foi desidratado em séries crescentes de álcool, clarificado em xilol e incluído em parafina, para posterior confecção das lâminas histológicas, as quais foram coradas com hematoxilina e eosina (HE) (Luna 1968). A análise histopatológica foi realizada por microscopia ótica de luz.

Os parâmetros avaliados foram: infiltrado inflamatório, dano tecidual, necrose, presença de granulomas e congestão vascular. Por meio da pontuação, as intensidades de cada parâmetro foram classificadas em ausente (0), leve (1), moderada (2) ou intensa (3) (Liberio et al. 2011). A análise morfométrica (contagem do número e área dos granulomas) foi realizada com imagens de seis campos aleatórios por amostra histológica obtidas em fotomicroscópio, modelo Zeiss Axio Scope.A1, acoplado a um computador, utilizando o software ImageJ 6.0 (Bethesda, Maryland , EUA).

Avaliação da expressão de moléculas associadas aos perfis M1 e M2 no tecido hepático

A expressão de moléculas associadas ao perfil de macrófagos M1 e M2 no tecido hepático de camundongos infectados por *S. mansoni* foi detectada por Western blotting (Mahmood e Yang 2012). A proteína total foi extraída dos fígados de ambos os grupos experimentais. Trinta (30) µg de proteína do tecido hepático foram separados por eletroforese em gel de poliacrilamida de dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) a 8% e 12%, transferidos para membranas de difluoreto de polivinilideno (PVDF) e em seguida, foram incubados os seguintes anticorpos: anti-F4/80 (Cat.Nº E-AB-F0995A, Elabscience), anti-iNOS (Cat.Nº 160862, Cayman Chemical) e anti-Arg1 (Cat. Nº STJ113468, St John's Laboratory). O anticorpo secundário IgG anti-coelho conjugado com HRP (Cell Signaling Technology, Danvers, MA, EUA) foi utilizado para detectar anticorpos primários. As membranas foram removidas e sondadas novamente com um controle de carregamento interno, GAPDH (# 2118, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, EUA). As bandas de proteínas foram detectadas usando Lumigen Enhanced Chemiluminescence (ECL) Ultra (Lumigen Inc., Southfield, MI, EUA).

Análise estatística

Os dados foram analisados no software Prism 8 (GraphPad, San Diego, CA, EUA). Os resultados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão. A normalidade foi avaliada por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. Os dados foram analisados pelo teste t de Student ou pela análise de variância (ANOVA) com o pós-teste de Bonferroni. As curvas de Kaplan-Meier foram construídas para análise de sobrevivência, seguidas do teste Log-Rank. Para as análises de correlação, foi utilizado o teste de Pearson (dados paramétricos) ou de Spearman (dados não paramétricos). Em todos os casos, os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

Resultados

Macrófagos M0 e M1 demonstraram maior capacidade citotóxica ao contato com cercárias

A sobrevivência das cercárias de *S. mansoni* apresentou diferenças significativas quando incubadas com macrófagos M0, M1 ou M2, conforme ilustrado na **Fig.4**. As diferenças tornaram-se evidentes após 60 minutos, com a taxa de sobrevivência no grupo M0 atingindo 30%, enquanto os grupos M1 e M2 exibiram taxas de 70% e 75%, respectivamente. Aos 120 minutos, todas as cercárias do grupo M0 estavam mortas e a viabilidade no grupo M1 diminuiu para 20%, todavia, a do grupo M2 permaneceu em 75%. No intervalo de 180 minutos, todas as cercárias do grupo M1 morreram, contudo, a porcentagem de sobrevivência no grupo M2 permaneceu constante em 75% e manteve-se assim até o final das observações, aos 240 minutos.

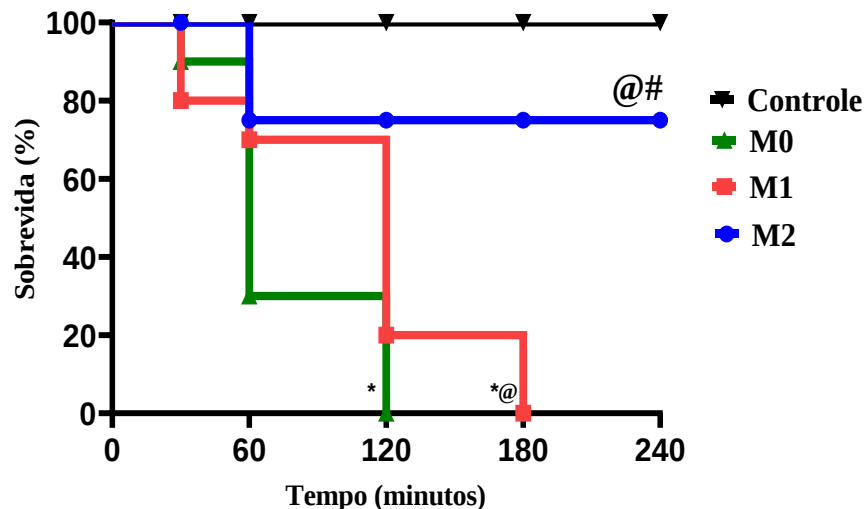


Fig. 4 Sobrevivência de cercárias de *S. mansoni* incubados ou não com macrófagos de linhagem murina RAW 264.7. Utilizou-se 10 larvas por poço em quadruplicata para cada grupo para cada grupo de macrófagos não polarizados (M0) e polarizados (M1 e M2). O grupo controle utilizou-se apenas meio. As cercárias foram analisadas quanto ao percentual de sobrevivência pela curva de Kaplan Meier e a análise estatística pelo teste de Log-Rank. * $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle; @ $p < 0,05$ em comparação ao grupo M0; # $p < 0,05$ em comparação ao grupo M1.

Macrófagos M1 apresentam maior capacidade citotóxica para os vermes adultos machos

Em relação a sobrevivência dos vermes adultos machos de *S. mansoni* cultivados com macrófagos M0, M1 e M2, observamos que macrófagos M1 induziram maior ação citotóxica do que os macrófagos M0 e M2 (Fig. 5). Os macrófagos M1 reduziram a viabilidade em 50% dos vermes após 36 horas e em 100% após 60 horas. No grupo M0 ocorreu redução da mobilidade dos vermes em 50% a partir das 48 horas, permanecendo estável até as 72 horas. O tempo médio de sobrevivência dos vermes do grupo controle e M2 foram semelhantes com viabilidade de 100% até as 72 horas de cultura.

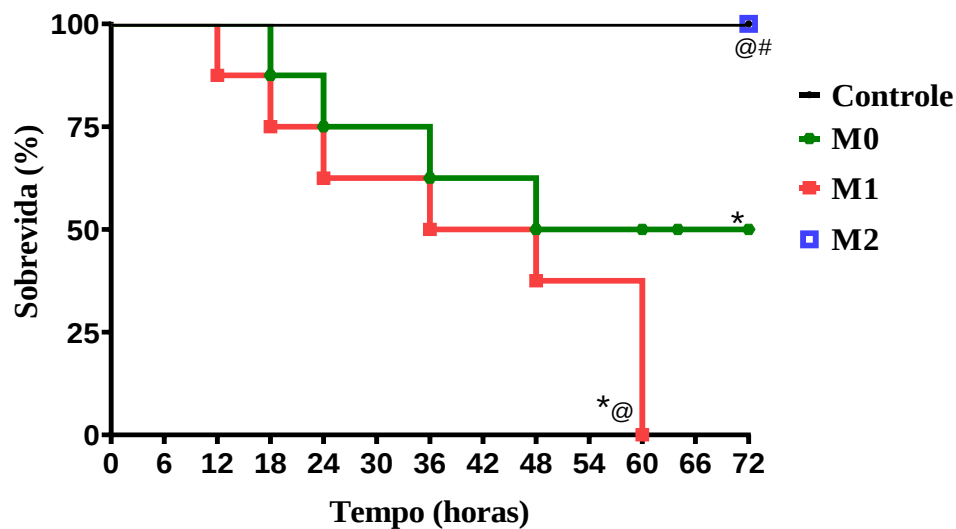


Fig. 5 Sobrevivência de vermes adultos machos de *S. mansoni* incubados ou não com macrófagos de linhagem murina RAW 264.7. Utilizou-se dois vermes adultos machos por poço em quadruplicata para cada grupo de macrófagos não polarizados (M0) e polarizados (M1 e M2). O grupo controle utilizou-se apenas meio. Os vermes foram analisados quanto ao percentual de sobrevivência pela curva de Kaplan Meier e a análise estatística pelo teste de Log-Rank. * $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle; @ $p < 0,05$ em comparação ao grupo M0; # $p < 0,05$ em comparação ao grupo M1.

Vermes adultos potencializam a polarização de macrófagos previamente estimulados e induzem um perfil M1 em macrófagos não polarizados

Com o objetivo de investigar a influência dos vermes adultos de *S. mansoni* nos macrófagos em diferentes estados de polarização, ou seja, macrófagos não ativados (M0) e

macrófagos previamente polarizados para os perfis M1 ou M2, conduzimos uma análise abrangente dos marcadores celulares de cada perfil. Nossa abordagem foi focada na identificação do número de células que expressam os marcadores específicos para M1 (iNOS) e M2 (Arginase). Os macrófagos não ativados (M0) e previamente polarizados (M1 e M2), foram agrupados de acordo com a presença ou ausência de vermes adultos de *S. mansoni*.

No contexto da resposta imune a vermes adultos machos de *S. mansoni*, os macrófagos M0 demonstraram uma resposta semelhante aos macrófagos M1 em relação à expressão da enzima iNOS (**Fig.6a**). No entanto, macrófagos M1 apresentaram uma maior capacidade de induzir a expressão de iNOS em comparação com o grupo M0 (**Fig.6a**). Ao contrário, macrófagos M2 não exibiram aumento na expressão de iNOS, seja nos grupos controle ou na presença de vermes adultos. Em vez disso, o grupo M2 demonstrou um aumento significativo na expressão da enzima Arginase quando exposto aos vermes adultos de *S. mansoni*, em comparação com os outros grupos (**Fig.6b**).

Além disso, quando procedemos à avaliação do MFI (Média da Intensidade de Fluorescência), observamos um padrão semelhante. Ou seja, foi possível constatar maior MFI no grupo de macrófagos M1 em relação à iNOS e no grupo de macrófagos M2 em relação à Arginase (dados não apresentados).

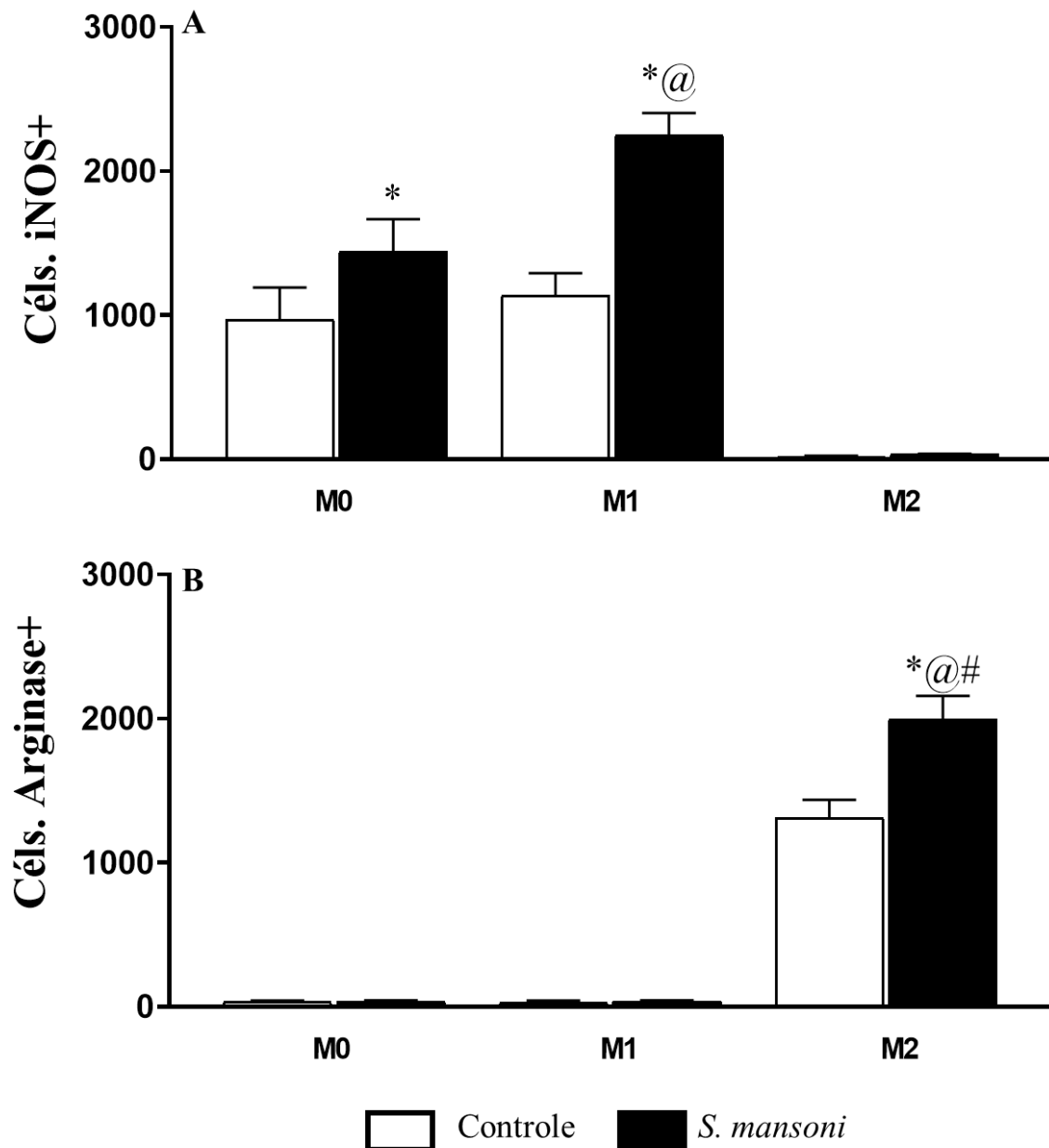


Fig. 6 Número de células que expressam marcadores de polarização em macrófagos de linhagem murina RAW 264.7 incubados ou não com vermes adultos de *S. mansoni*. Número de células que expressam iNOS (A) e Arginase (B). Macrófagos RAW 264.7 cultivados em placas de 96 poços a uma concentração de 1×10^6 /mL não polarizados (M0) e previamente polarizados com LPS (2000 ng/mL) e IFN- γ (100 ng/mL) para M1 e IL-4 (400 ng/mL) e IL-13 (200 ng/mL) para M2 que posteriormente foram cultivados por *S. mansoni* (2 vermes/ poço). Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. * $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle; @ $p < 0,05$ em comparação ao grupo M0; # $p < 0,05$ em comparação ao grupo M1.

Correlação de células que expressam iNOS e Arginase em macrófagos M0, M1 e M2 na presença de vermes adultos

No escopo da nossa investigação sobre a influência dos vermes adultos de *S. mansoni* nas respostas dos macrófagos, procedemos à análise de correlação entre células expressam as enzimas iNOS e Arginase (Fig.7). No grupo de macrófagos M0 cultivados com vermes adultos, observamos uma correlação positiva ($r = 0.9851$; valor $p = 0.0003$) entre as expressões das enzimas iNOS e Arginase (Fig.7a). Entretanto, ao examinar os grupos M1 e M2 cultivados com vermes adultos, não identificamos nenhuma correlação estatisticamente significativa entre a expressão de iNOS e Arginase (Fig.7b e 7c).

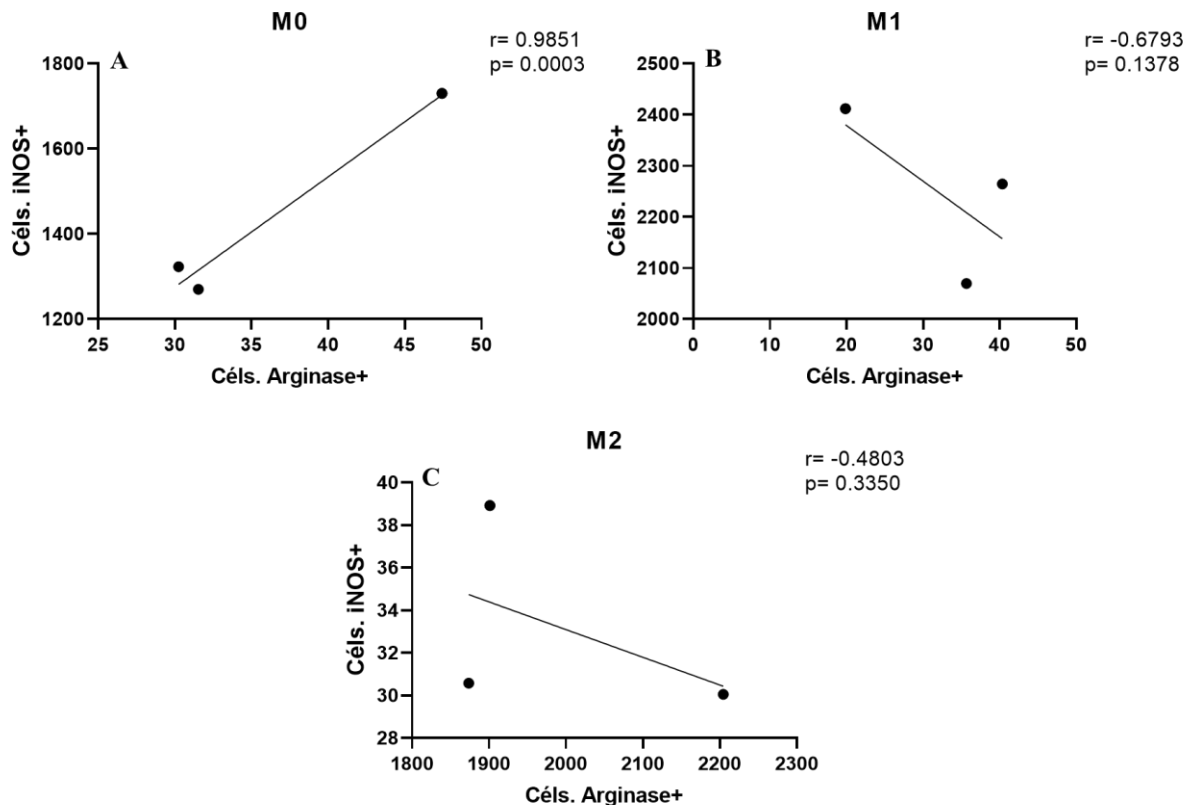


Fig. 7 Correlação entre o número de células que expressam as enzimas iNOS e Arginase em macrófagos de linhagem murina RAW 264.7 incubados ou não com vermes adultos de *S. mansoni*. Análise de correlação do número de células que expressam iNOS e Arginase de macrófagos M0 (A), M1 (B) e M2 (C). O valor r gera a linha teórica de melhor ajuste, e o valor p indica a significância da correlação. Nível de significância, $p < 0,05$.

Macrófagos M0 apresentaram produção de óxido nítrico semelhante a macrófagos M1 na presença de vermes adultos

Na avaliação da produção de óxido nítrico (NO), uma molécula associada à atividade inflamatória e microbicida dos macrófagos classicamente ativados (M1), comparativamente aos grupos de controle, tanto os macrófagos M0 quanto os M1 demonstraram um aumento no NO quando co-cultivados com vermes adultos, como ilustrado na **Fig.8a**. Além disso, observamos uma resposta similar entre os macrófagos M0 e M1 na presença de vermes adultos de *S. mansoni*.

Embora os grupos M0 e M1 tenham aumentado o NO na presença dos vermes adultos, não observamos distinções significantes entre os dois. Em contrapartida, o grupo de macrófagos M2 não exibiu um aumento substancial de NO nos grupos de controle e tampouco quando em co-cultura com os vermes adultos.

Macrófagos M2 cultivados com vermes adultos aumentam funcionalmente a atividade da Arginase

No âmbito do nosso estudo, ao avaliar a atividade da Arginase do sobrenadante de macrófagos M0, M1 e M2 na presença de vermes adultos após 72 horas, observou-se que houve diferença entre macrófagos M0 e M2 quando comparados aos grupos controles (**Fig.8b**). Todavia, ressaltamos que macrófagos M2 tiveram a capacidade de potencializar a atividade da Arginase quando comparados aos macrófagos M0 cultivados com vermes adultos (**Fig.8b**). No entanto, em relação aos macrófagos M1, não foi possível identificar diferenças significativas entre os grupos de controle e aqueles expostos aos vermes adultos.

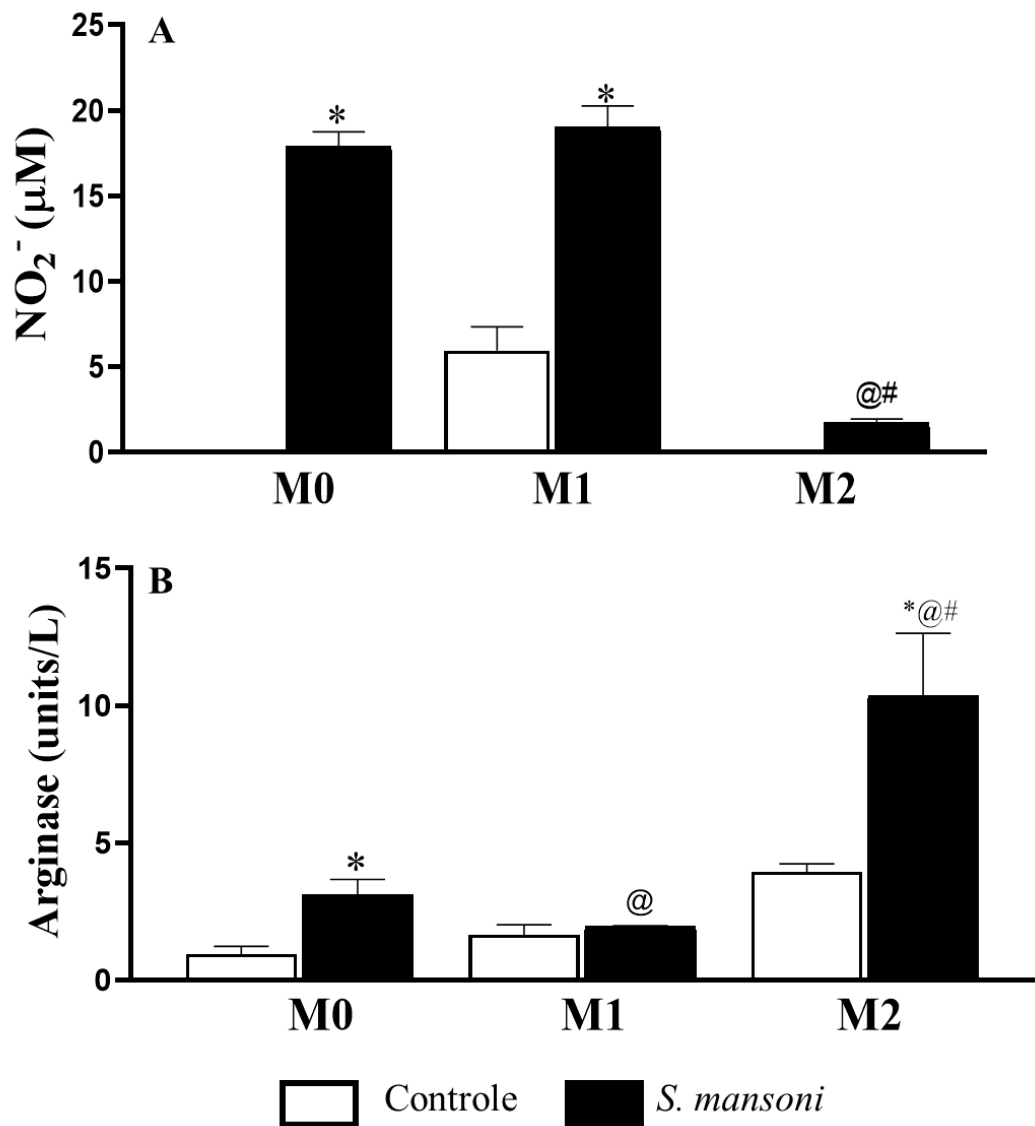


Fig. 8 Avaliação da produção de óxido nítrico e atividade da Arginase (units/L) de macrófagos de linhagem murina RAW 264.7 incubados ou não com vermes adultos de *S. mansoni*. Produção de óxido nítrico (A) e atividade da Arginase (B) de macrófagos RAW 264.7 (1×10^6) não polarizados (M0) e previamente polarizados com LPS (2000 ng/mL) e IFN- γ (100 ng/mL) para M1 e IL-4 (400 ng/mL) e IL-13 (200 ng/mL) para M2 que posteriormente foram cultivados por *S. mansoni* (2 vermes/ poço). Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. * $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle; @ $p < 0,05$ em comparação ao grupo M0; # $p < 0,05$ em comparação ao grupo M1.

Avaliação da produção de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias de macrófagos M0, M1 e M2 cultivados com vermes adultos

No que diz respeito às citocinas pró-inflamatórias, nossos achados indicam um aumento na produção de TNF- α em todos os grupos na presença de vermes adultos (**Fig.9a**). Observou-se uma produção significativamente maior dessa citocina nos grupos de macrófagos M0 e M1 quando cultivados com vermes adultos, em comparação com o grupo M2 (**Fig.9a**). Quanto ao IFN- γ , sua produção se mostrou elevada nos macrófagos M1 co-cultivados com vermes adultos, em comparação com os outros grupos (**Fig.9b**). Não foram identificadas diferenças significativas entre os macrófagos M0 e M2 cultivados com vermes adultos e os grupos de controle em relação a essa citocina. Adicionalmente, verificou-se um aumento da IL-6 nos macrófagos M1 quando cultivados com vermes adultos, em comparação com os demais grupos (**Fig.9c**).

No que concerne às citocinas anti-inflamatórias, apenas IL-10 e IL-4 apresentaram concentrações detectáveis nas amostras estudadas (**Fig.9d e 9e**). Nossos resultados, demonstram aumento de IL-10 nos grupos M0 e M2 cultivados com vermes adultos, sendo que a produção no grupo M2 foi maior do que no M0. A presença de vermes adultos resultou em aumento de IL-4 no grupo M2.

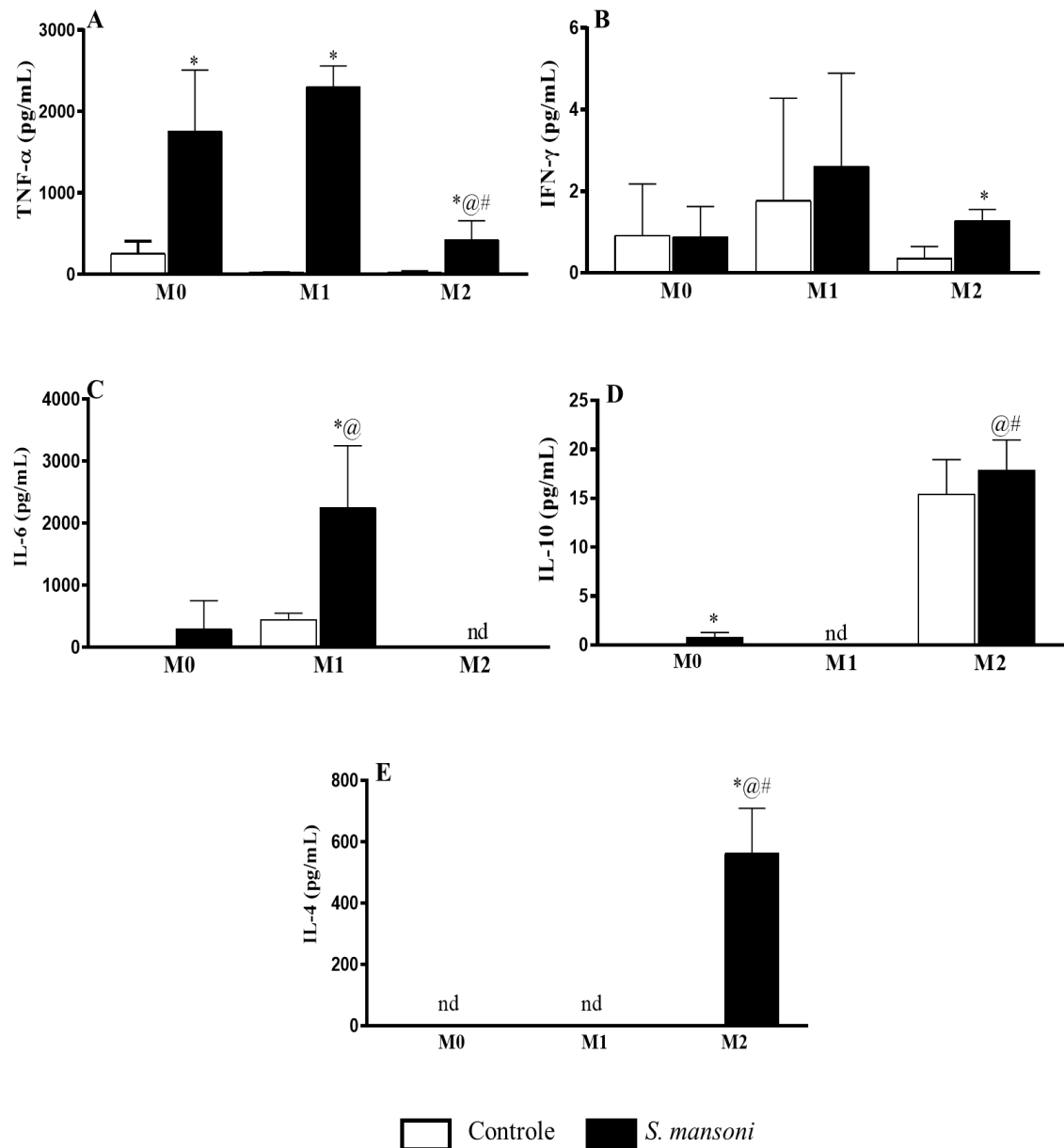


Fig.9 Quantificação de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias em macrófagos de linhagem murina RAW 264.7 incubados ou não com vermes adultos de *S. mansoni*. Produção de citocinas (pg/mL) TNF- α (A), INF- γ (B), IL-6 (C), IL-10 (D) e IL-4 (E) de macrófagos RAW 264.7 (1×10^6) não polarizados (M0) e previamente polarizados com LPS (2000 ng/mL) e IFN- γ (100 ng/mL) para M1 e IL-4 (400 ng/mL) e IL-13 (200 ng/mL) para M2 que posteriormente foram cultivados por *S. mansoni* (2 vermes/ poço). Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. * $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle; @ $p < 0,05$ em comparação ao grupo M0; # $p < 0,05$ em comparação ao grupo M1.

Macrófagos M0, M1 e M2 cultivados com vermes adultos de *S. mansoni* apresentaram relação entre células que expressam iNOS e citocinas pró-inflamatórias

A produção de iNOS demonstrou uma correlação positiva com a produção de TNF- α e IFN- γ nas culturas de vermes adultos de *S. mansoni* e macrófagos M0 ($r=1.000$; $p=0.022$), bem como em macrófagos M1 ($r=0.8677$; $p=0.0251$) (Fig.10a e 10b). No entanto, essa correlação não se manifestou nos macrófagos M2 (Fig.10c).

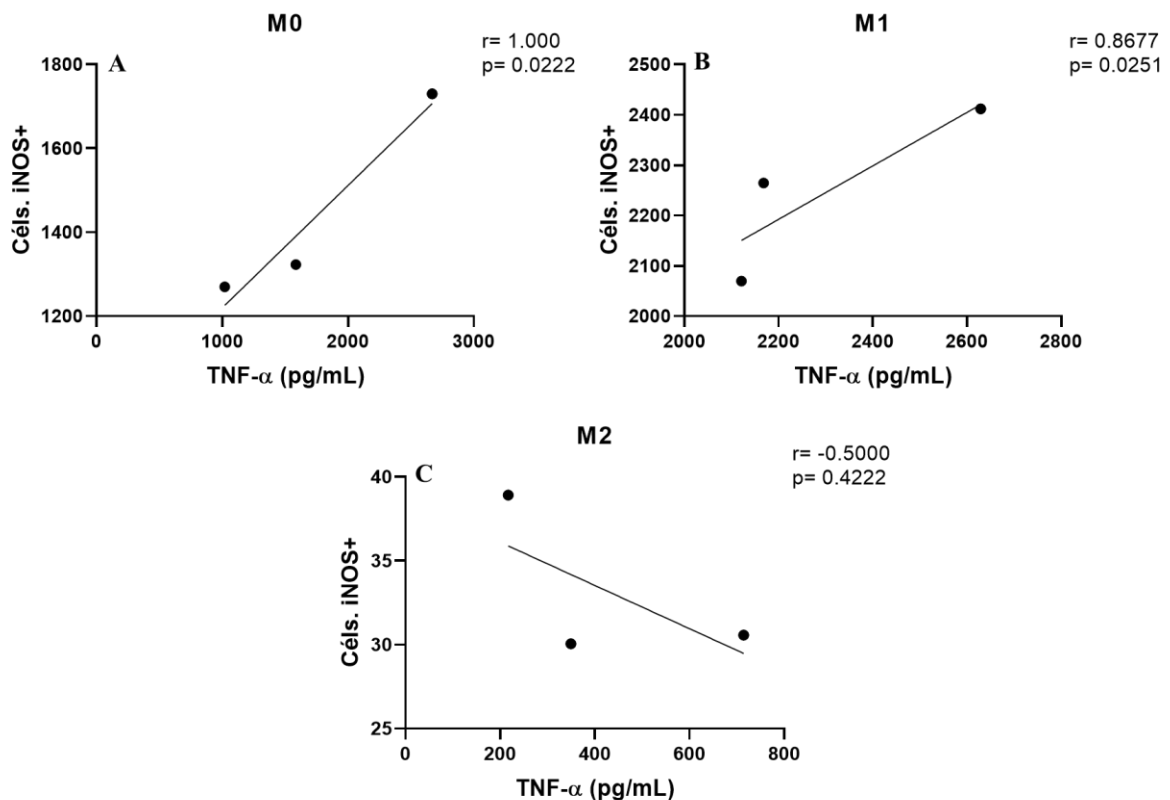


Fig. 10 Correlação entre a produção TNF- α e número de células que expressam a enzima iNOS em macrófagos de linhagem murina RAW 264.7 incubados ou não com vermes adultos de *S. mansoni*. Análise de correlação entre a produção TNF- α e número de células que expressam a enzima iNOS de macrófagos M0 (A), M1 (B) e M2 (C). O valor r gera a linha teórica de melhor ajuste, e o valor p indica a significância da correlação. Nível de significância, $p < 0,05$.

Com relação à correlação entre a expressão de iNOS e IFN- γ , identificou-se uma correlação positiva no grupo M1 ($r=1.000$; $p=0.022$) (**Fig.11b**) e uma correlação negativa no grupo M2 ($r= -1.000$; $p=0.022$) (Figura 12C). No entanto, não se verificou correlação no grupo M0 (**Fig.11c**).

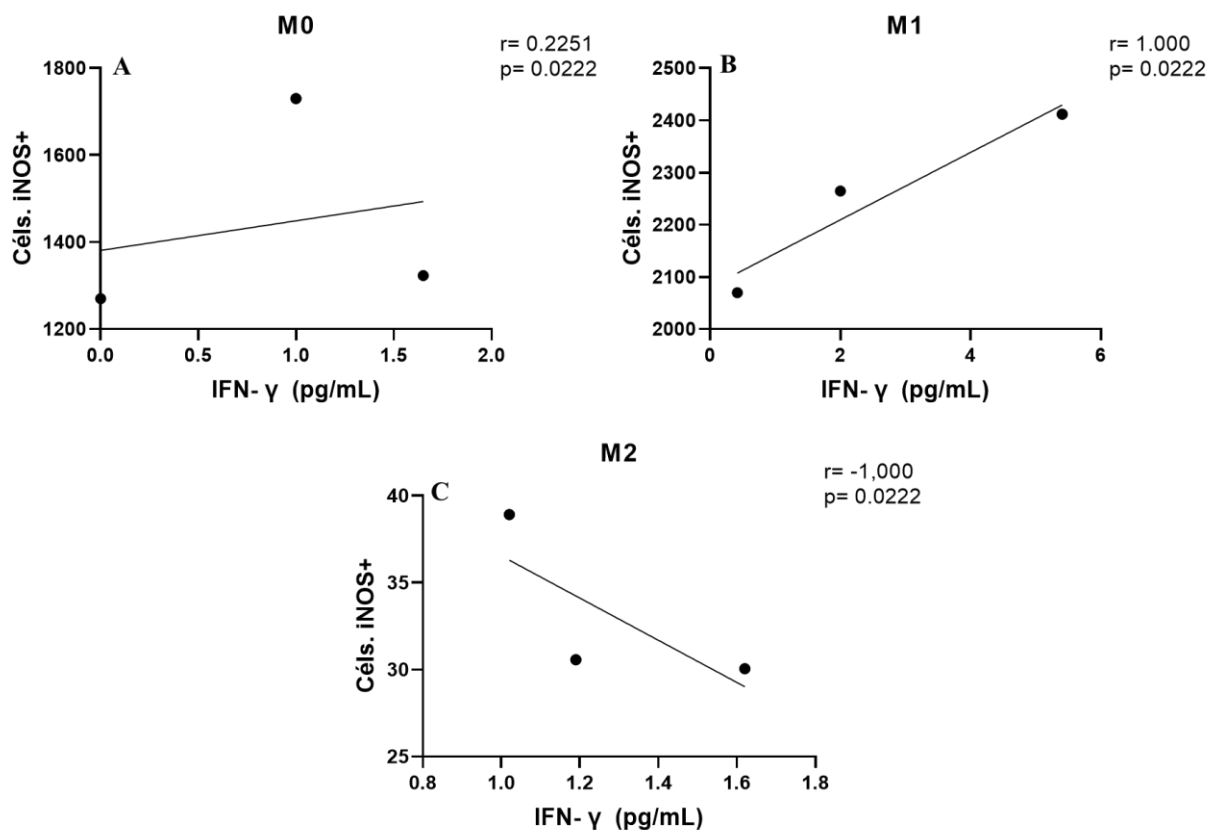


Fig 11. Correlação entre a produção IFN- γ e número de células que expressam a enzima iNOS em macrófagos de linhagem murina RAW 264.7 incubados ou não com vermes adultos de *S. mansoni*. Análise de correlação entre a produção IFN- γ e número de células que expressam a enzima iNOS de macrófagos M0 (A), M1 (B) e M2 (C). O valor r gera a linha teórica de melhor ajuste, e o valor p indica a significância da correlação. Nível de significância, $p < 0,05$.

Parâmetros macroscópicos, parasitológicos e histológicos confirmam a infecção por *S. mansoni*

Para investigar se os resultados obtidos *in vitro* se reproduziriam em um contexto *in vivo*, procedemos à avaliação dos macrófagos no fígado de animais infectados após um período de 90 dias. Inicialmente com o intuito de confirmar a infecção nesses animais, adotamos uma abordagem ampla, que englobou a análise de ovos presentes nas fezes e no fígado, bem como exames macroscópicos e microscópicos do tecido hepático, incluindo análises morfológicas (**Fig.12a-12i**). Ao avaliarmos os parâmetros macroscópicos, como tamanho, coloração e textura do fígado, notamos um aumento significativo no tamanho do órgão, uma alteração na coloração para um tom mais escuro e uma superfície irregular em animais infectados (**Fig. 12a e 12b**). As avaliações histopatológicas, por sua vez, revelaram alterações graves no tecido hepático desses camundongos. Tais modificações compreenderam a presença acentuada de um infiltrado inflamatório, granulomas ao redor dos ovos e um notável aumento na deposição de fibras de colágeno. Todos os dados atestam a infecção conforme esperado (**Tabela 1 e Fig.12d a 12i**).

Tabela 1. Análise histopatológica do tecido hepático de camundongos infectados ou não com *S. mansoni*.

Grupos		
	Controle	Infectado ^a
Infiltrado	0	3 ^b
Necrose	0	1
Lesão tecidual	0	2
Presença de granulomas	0	3
Quantidade de ovos	0	3
Extensão do granuloma	0	3
Fibrose	0	1

a Os animais foram infectados no dia 0 com 50 cercárias via subcutânea e eutanasiados no 90º dia. O Grupo Controle (C-) não teve animais infectados.

b Os dados representam a média de 6 animais por grupo.

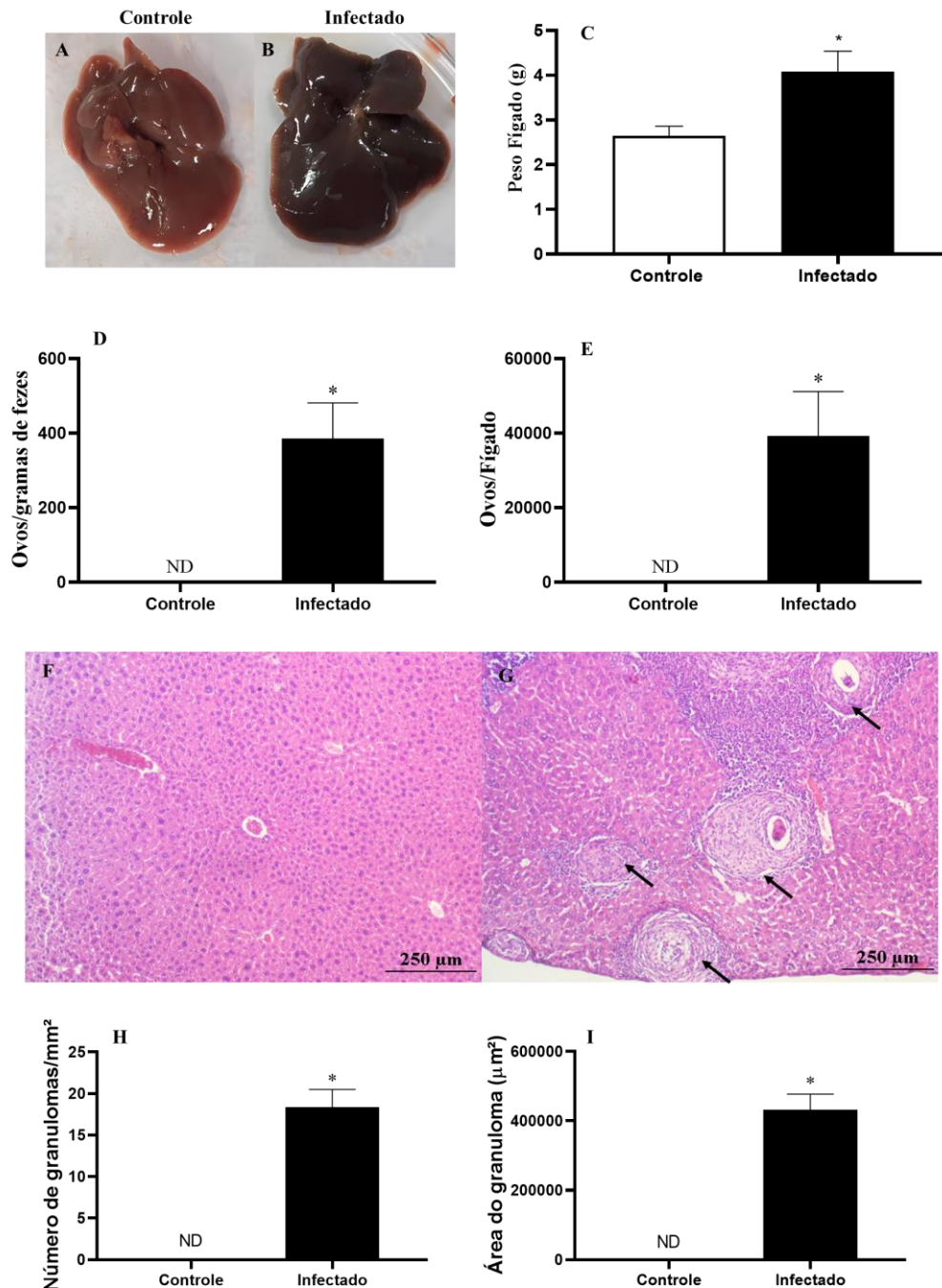


Fig. 12 Avaliações macroscópicas, parasitológicas e histopatológicas de camundongos infectados ou não com *S. mansoni*. Aspecto macroscópicos (A e B); Peso relativo do fígado (C). Número de ovos eliminados nas fezes (D) e retidos no fígado (E); Fotomicrografia de cortes histológicos hepáticos de camundongos não infectados (F) e (G) infectados corados com HE (100x); Análise morfométricas do número (H) e área (I) de granulomas no tecido hepático. Os animais foram infectados no dia 0 com 50 cercárias via subcutânea e eutanasiados no 90º dia. O Grupo Controle não teve animais infectados. Os valores são expressos como média $\pm$ desvio padrão de 6 animais por grupo. * $p < 0,05$ comparado ao grupo Controle.

Expressão de moléculas associadas ao perfil M1 e M2 no tecido hepático de camundongos infectados por *S. mansoni*

A fim de identificar o perfil dos macrófagos no fígado de camundongos infectados com *S. mansoni*, conduzimos uma análise de Western Blotting para iNOS e Arg-1. Houve um aumento significativo na expressão de iNOS (M1) e Arg-1 (M2) nos grupos infectados em comparação ao grupo controle (**Fig.13a e 13b**).

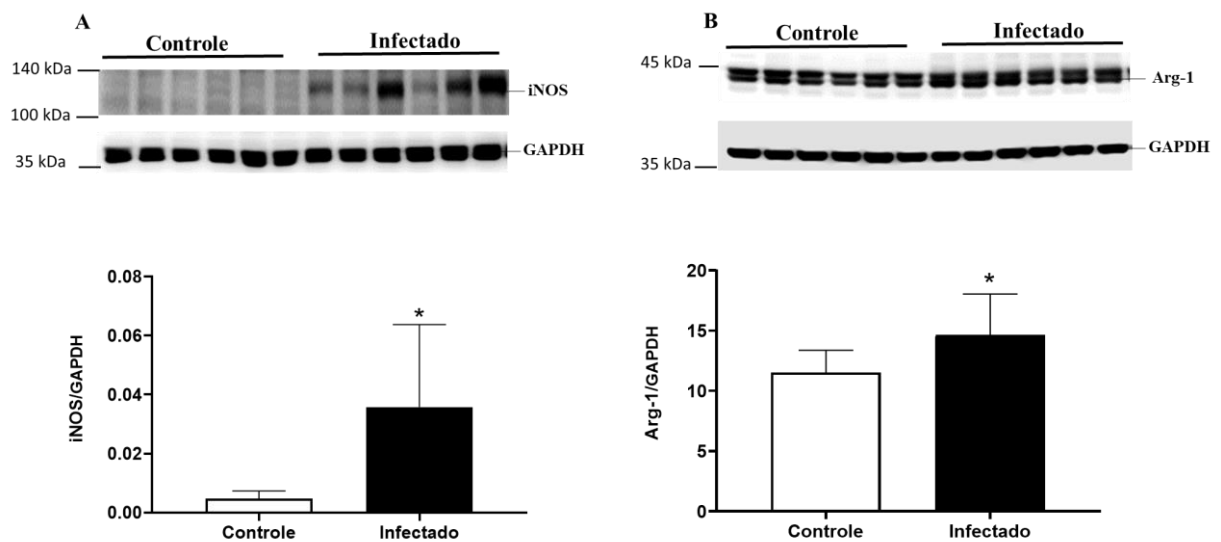


Fig. 13 Análise por Western blotting da expressão de moléculas associadas ao perfil M1 e M2 de camundongos infectados ou não com *S. mansoni*. Expressão relativa de iNOS (A) e Arg-1 (B). Os animais foram infectados no dia 0 com 50 cercárias via subcutânea e eutanasiados no 90º dia. O Grupo Controle não teve animais infectados. Os valores são expressos como média $\pm$ desvio padrão de 6 animais por grupo. * $p < 0,05$ comparado ao grupo Controle.

Predomínio de macrófagos M2 sobre M1 no fígado de camundongos infectados

Ao avaliar a expressão relativa de M1 e M2 nos grupos infectados, observamos uma diferença significativa entre os dois. A expressão relativa de M2 foi consideravelmente maior do que a de M1 no tecido hepático (**Fig.14**). Ou seja, há uma predominância da resposta de M2 em relação a M1 no tecido hepático durante a infecção por *S. mansoni*.

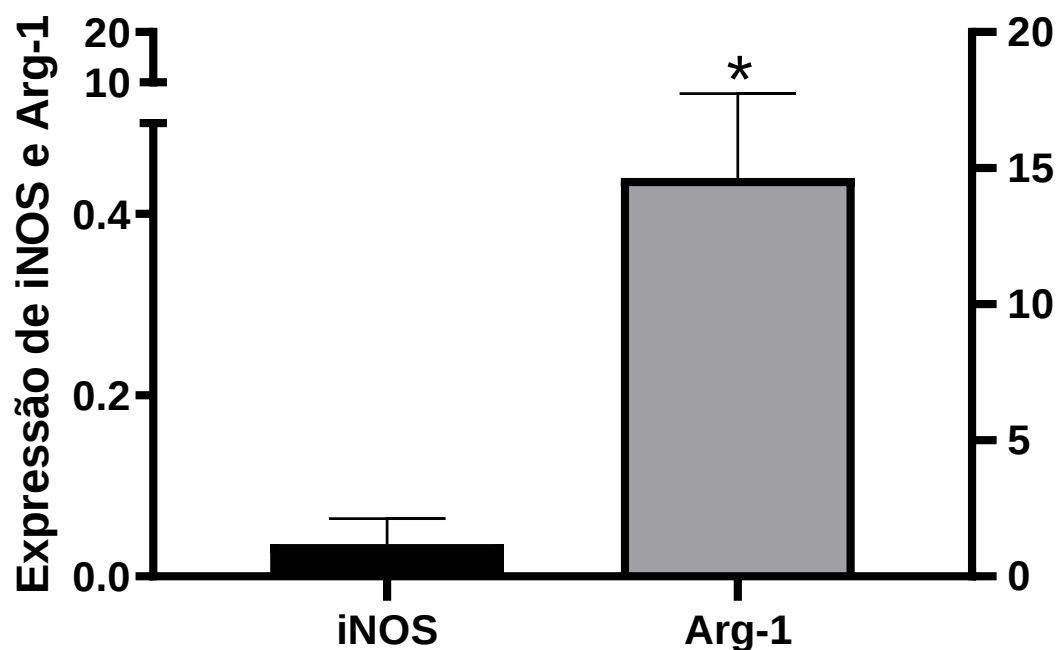


Fig. 14 Comparação da expressão relativa de iNOS e Arg-1 no tecido Hepático de camundongos infectados com *S. mansoni*. Expressão relativa de iNOS (A) e Arg-1 (B). Os animais foram infectados no dia 0 com 50 cercárias via subcutânea e eutanasiados no 90º dia. O Grupo Controle não teve animais infectados. Os valores são expressos como média ± desvio padrão de 6 animais por grupo. * $p < 0,05$ comparado ao grupo Controle.

Correlação entre expressão de iNOS e Arg-1 com a quantidade de ovos retidos no tecido hepático de camundongos infectados

Ao examinar a possível relação entre a expressão de iNOS e Arg-1 com a quantidade de ovos retidos no fígado dos camundongos infectados por *S. mansoni*, nossos resultados revelaram os seguintes achados: A correlação entre a expressão de iNOS e a quantidade de ovos no fígado apresentou um coeficiente de correlação positiva indicando uma tendência de aumento simultâneo desses dois fatores (**Fig.15a**). No entanto, o valor-p associado a essa correlação indicou que essa relação não alcançou significância estatística. De maneira similar, ao analisar a relação entre a expressão de Arg-1 e a quantidade de ovos no fígado, observamos um coeficiente de correlação positiva indicando uma associação também positiva entre esses dois fatores (**Fig.15b**). No entanto, mais uma vez, o valor-p sugeriu que essa correlação não atingiu um nível estatisticamente significativo no presente estudo.

Macrófagos M2 estão envolvidos na redução do número de granulomas hepáticos em camundongos infectados

Ao correlacionar a expressão de iNOS e Arg-1 com o número de granulomas hepáticos, nossos resultados revelaram que não foi identificada nenhuma correlação entre a expressão de iNOS e a quantidade de granulomas no tecido hepático de camundongos infectados. No entanto, chamou a atenção uma correlação negativa significativa entre a expressão da enzima Arg-1 e o número de granulomas ($r = -0.8181$; $p = 0.0466$). Este achado evidencia a possibilidade de que os macrófagos M2 presentes no tecido hepático possam estar relacionados com a redução do número de granulomas (**Fig.16a e 16b**).

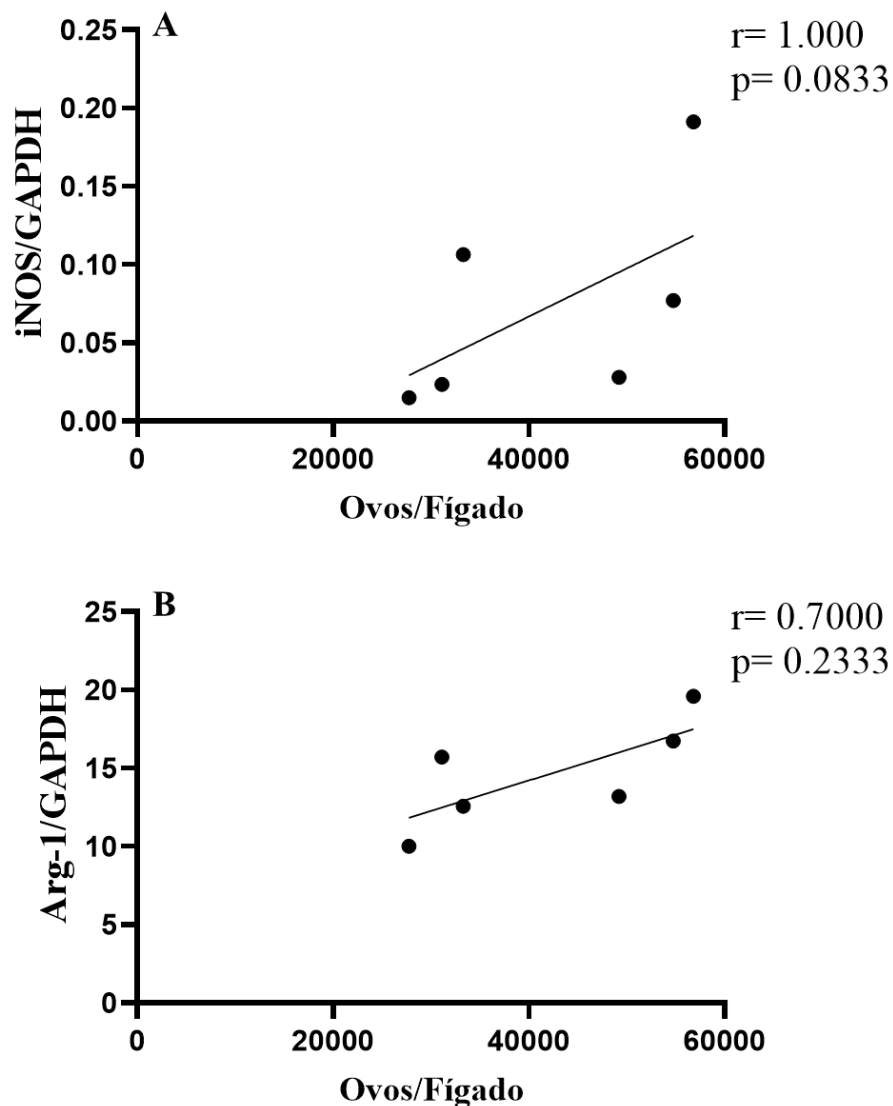


Fig. 16 Correlação entre expressão de marcadores de polarização M1/M2 e o número de ovos retidos no tecido hepático de camundongos infectados por *S. mansoni*. Expressão relativa de iNOS (A) e Arg-1 (B) versus número de granulomas. O valor r gera a linha teórica de melhor ajuste, e o valor p indica a significância da correlação. Nível de significância, $p < 0,05$. Os animais foram infectados no dia 0 com 50 cercárias via subcutânea e eutanasiados no 90º dia. O Grupo Controle não teve animais infectados. Os valores são expressos como média $\pm$ desvio padrão de 6 animais por grupo.

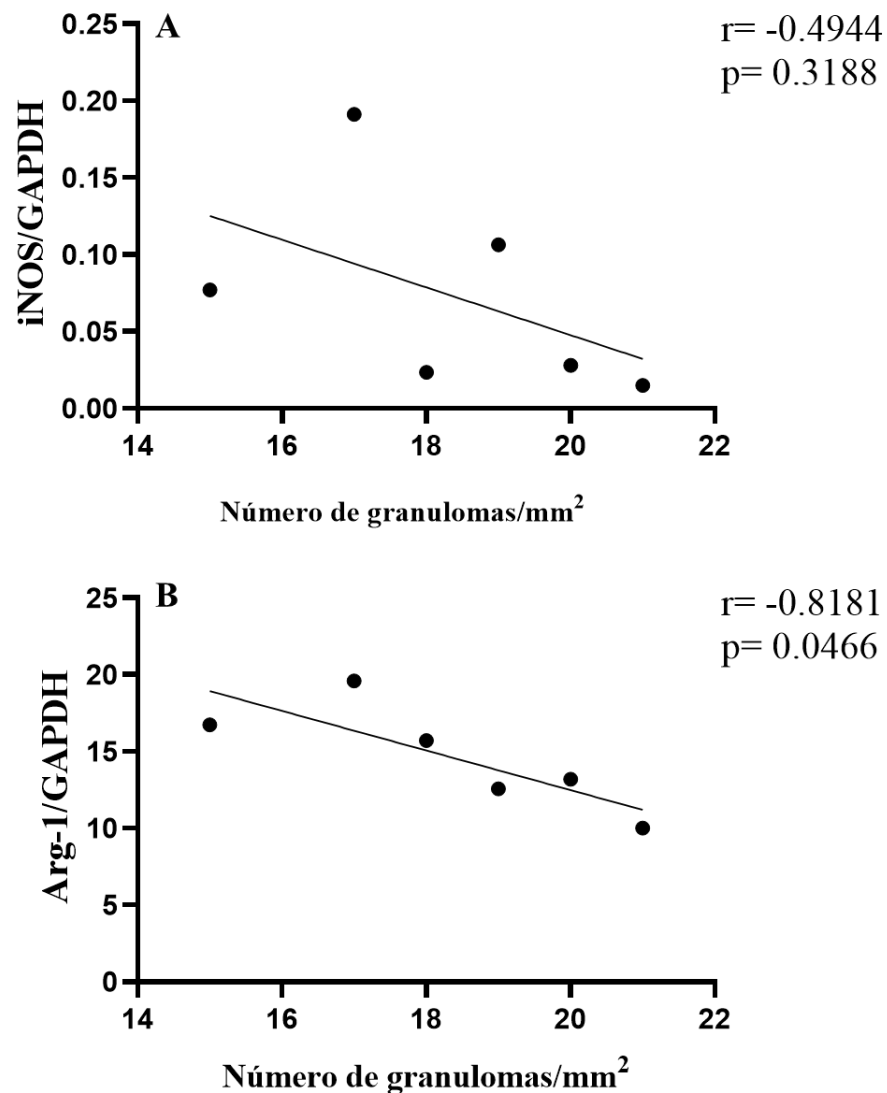


Fig. 16 Correlação entre expressão de marcadores de polarização M1/M2 e o número de granulomas hepáticos de camundongos infectados por *S. mansoni*. Expressão relativa de iNOS (A) e Arg-1 (B) versus número de granulomas. O valor r gera a linha teórica de melhor ajuste, e o valor p indica a significância da correlação. Nível de significância, $p < 0,05$. Os animais foram infectados no dia 0 com 50 cercárias via subcutânea e eutanasiados no 90º dia. O Grupo Controle não teve animais infectados. Os valores são expressos como média $\pm$ desvio padrão de 6 animais por grupo.

O tamanho dos granulomas hepáticos de camundongos infectados por *S. mansoni* não estão relacionados com a presença de macrófagos M1 e M2

Com o intuito de elucidar a possível influência dos macrófagos M1 e M2 na formação e tamanho dos granulomas hepáticos em camundongos infectados por *S. mansoni*, procedemos à análise da relação entre a expressão de iNOS e Arg-1 e a área dos granulomas. Ao examinar a correlação entre a expressão dessas enzimas e o número de granulomas hepáticos, nossos resultados indicam a ausência de qualquer correlação significativa entre a expressão de iNOS e Arg-1 com a área dos granulomas no tecido hepático dos camundongos infectados (Fig.17a e 17b).

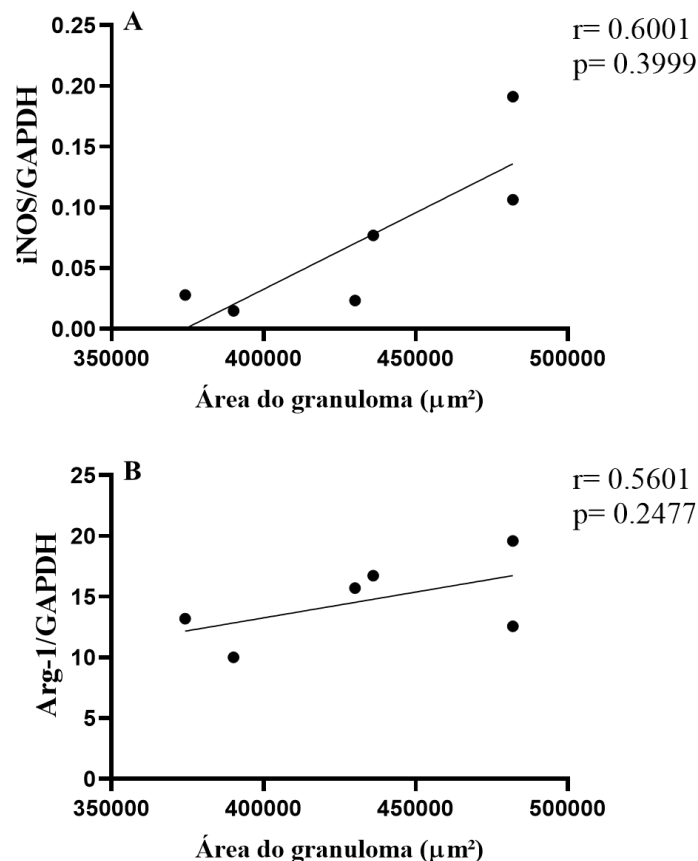


Fig. 17 Correlação entre expressão de marcadores de polarização M1/M2 e a área de granulomas hepáticos de camundongos infectados por *S. mansoni*. Expressão relativa de iNOS (A) e Arg-1 (B) versus a área de granulomas. O valor r gera a linha teórica de melhor ajuste, e o valor p indica a significância da correlação. Nível de significância, $p < 0,05$. Os animais foram infectados no dia 0 com 50 cercárias via subcutânea e eutanasiados no 90º dia. O Grupo Controle não teve animais infectados. Os valores são expressos como média $\pm$ desvio padrão de 6 animais por grupo.

Macrófagos M1 e M2 não influenciam no aumento do peso do fígado dos camundongos infectados

Ao investigarmos a correlação da expressão de iNOS e Arg-1 com o peso relativo do fígado dos animais infectados por *S. mansoni*, os resultados mostraram que não houve correlação entre os dois parâmetros (Fig.18).

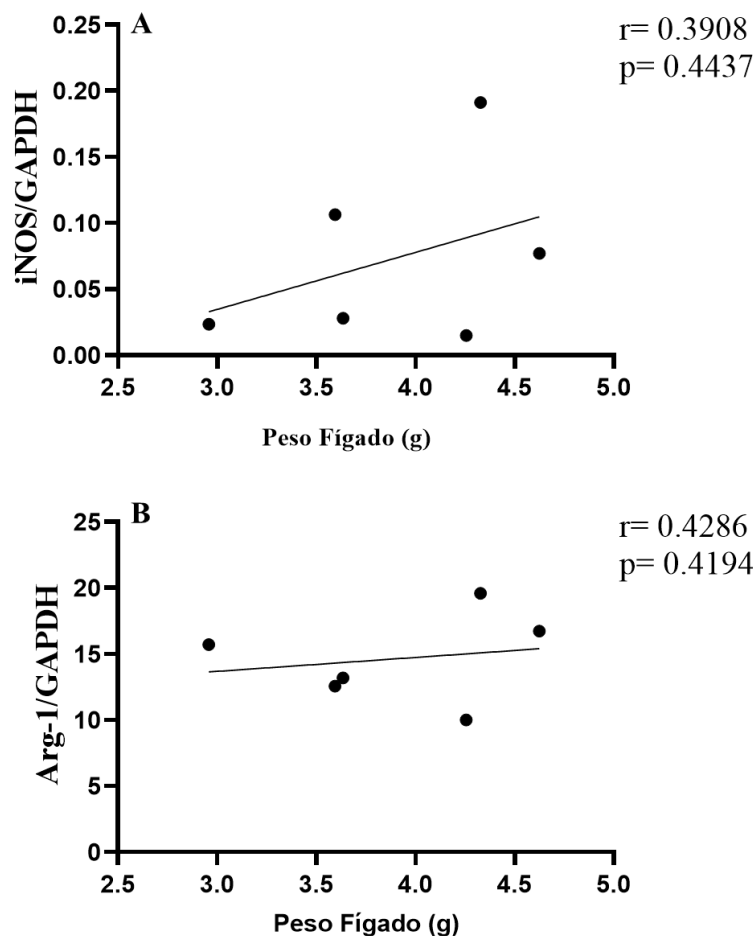


Fig. 18 Correlação entre expressão de marcadores de polarização M1/M2 e a peso do fígado de camundongos infectados por *S. mansoni*. Expressão relativa de iNOS (A) e Arg-1 (B) versus a área de granulomas. O valor r gera a linha teórica de melhor ajuste, e o valor p indica a significância da correlação. Nível de significância, $p < 0,05$. Os animais foram infectados no dia 0 com 50 cercárias via subcutânea e eutanasiados no 90º dia. O Grupo Controle não teve animais infectados. Os valores são expressos como média $\pm$ desvio padrão de 6 animais por grupo.

703 **Discussão**

704 Nossas observações revelaram resultados distintos nas interações entre macrófagos e
705 diferentes estágios do *parasito S. mansoni*. Nos experimentos *in vitro*, demonstramos que
706 tanto os macrófagos não polarizados quanto os M1 possuem potencial citotóxico em relação
707 às cercárias e vermes adultos de *S. mansoni*. De forma interessante, observamos que vermes
708 adultos têm a capacidade de potencializar a polarização de macrófagos previamente
709 estimulados, induzindo um perfil M1 em macrófagos não polarizados (M0). Expandindo
710 nossos estudos para experimentos *in vivo*, notamos um aumento significativo na expressão de
711 marcadores específicos associados aos perfis M1 e M2 nos tecidos hepáticos de camundongos
712 infectados. Além disso, constatamos que a expressão de macrófagos M2 foi maior que de
713 macrófagos M1 no tecido hepático desses animais infectados, e essa predominância de
714 macrófagos M2 está correlacionada com a redução no número de granulomas hepáticos. É
715 importante ressaltar que nossa investigação revelou que nem os macrófagos M1 nem os M2
716 exerceram influência significativa no aumento do peso do fígado ou no tamanho dos
717 granulomas hepáticos.

718 A interação entre os macrófagos e as cercárias é um aspecto importante da infecção
719 por *S. mansoni*, pois pode determinar o sucesso ou o fracasso da penetração do parasito na
720 pele do hospedeiro e a sua migração para os vasos sanguíneos (Thornhill et al. 2009).
721 Diversas pesquisas apontam para a capacidade dos macrófagos em identificar cercárias, o que
722 restringe a carga parasitária e limita a disseminação da infecção (Ward e McLaren 1988; Xu e
723 Xu 1991; Melo et al. 1992; Hambrook e Hanington 2021). Isso está em consonância com os
724 resultados de nosso estudo, no qual observamos que os macrófagos M0 e M1 demonstraram
725 uma notável eficácia na inativação dessas formas parasitárias.

726 As cercárias são larvas que se caracterizam pela presença de cauda bifurcada natatória,
727 movimentando-se em seu habitat natural sob fotoestimulação, sendo um dos principais
728 componentes desse estágio larvar responsáveis por sua mobilidade e também pela ação
729 mecânica durante a penetração na pele (Ingram et al. 2012; Pinto e Melo 2013). Em sua
730 porção anterior, as cercárias apresentam glândulas acetabulares que liberam produtos
731 excretórios/secretórios (E/S), como exemplo as proteases de forma a facilitar sua entrada na
732 derme do hospedeiro (Ingram et al. 2012; El-Faham et al. 2017). Alguns estudos indicam que
733 as cercárias podem escapar ou inibir a fagocitose dos macrófagos, utilizando mecanismos
734 como a secreção de proteases ou a liberação de moléculas imunomoduladoras (Winkel et al.

2018; Angeles et al. 2020; Hambrook e Hanington 2023). Assim, acreditamos que os macrófagos podem se aderir a cauda das cercárias como tentativa de fagocitose na infecção incapacitando este segmento. Esse mecanismo também pode burlar o maquinário glandular presente em sua região anterior, o qual contém os E/S e que configuram o primeiro material do parasito encontrado por células da resposta imune inata levando, em contrapartida, a produção de citocinas pelos macrófagos de modo dependente do receptor Toll Like (TLR) (Sanin e Mountford 2015). Diante de tal importância no que concerne a essa estrutura, seria este então, um inteligente mecanismo de evolução provável no direcionamento da fagocitose dos macrófagos, o qual carece de maiores observações e estudos.

Nossos resultados intrigantes apontam para a complexidade das interações entre macrófagos M0 e M1 na resposta à infecção por *S. mansoni*, particularmente no que diz respeito à redução da viabilidade das cercárias. Em nosso estudo, os macrófagos M1 podem ser capazes de reduzir a viabilidade das cercárias. Isso pode ser atribuído à sua ativação prévia, o que pode aumentar sua atividade celular e, por conseguinte, a fagocitose de agentes infecciosos (Chávez-Galán et al. 2015; Mills, 2015; Yunna et al. 2020). No entanto, de forma intrigante, nossos achados indicam que, em comparação com os macrófagos M0, o grupo de macrófagos M1 demonstrou uma eficácia menor na redução da viabilidade das cercárias. Uma explicação plausível para a maior eficácia dos macrófagos M0 em comparação com os macrófagos M1 pode estar relacionada, a rapidez da resposta e principalmente ao microambiente específico em que essas interações ocorrem.

Os macrófagos M0 têm a capacidade de responder rapidamente a estímulos, enquanto os macrófagos M1 podem requerer um período de ativação mais longo (Orekhov et al. 2019; Watanabe et al. 2019; Unuvar Purcu et al. 2022; Hickman et al. 2023). Isso pode ter permitido que os macrófagos M0 entrassem em ação mais prontamente, iniciando a eliminação das cercárias em um estágio precoce da interação (Winkel et al. 2018). Portanto, embora os macrófagos M1 estejam prontos para responder, eles podem não ter conseguido atingir a mesma eficácia no mesmo período. Entretanto, uma pergunta intrigante que surge é por que os macrófagos M1, que já estão previamente ativados, não apresentam uma resposta superior diante da infecção?

A exacerbada produção de fatores pelos macrófagos M1, devido à sua prévia polarização, é uma possível hipótese para a sua menor eficácia na eliminação das cercárias. Quando os macrófagos M1 são ativados, eles tendem a se especializar em respostas pró-

inflamatórias e citotóxicas, ou seja, eles podem aumentar a produção de moléculas pró-inflamatórias, TNF- α , IL-1 β , IL-6 e NO, entre outros (Nonnenmacher e Hiller 2018; Orekhov et al. 2019; Yunna et al. 2020). Essas moléculas são conhecidas por desempenhar papéis cruciais na resposta imune, mas também podem ser prejudiciais aos tecidos circundantes quando produzidas em excesso (Dinarello 2000; Ott et al. 2007; Tanaka et al. 2016; Radi 2018). Por exemplo, a superprodução de TNF- α e IL-1 β pode causar inflamação excessiva e danos aos tecidos (Shen et al. 2020; Gharamti et al. 2022). O NO, em níveis elevados, pode ser citotóxico e prejudicar não apenas os parasitos, mas também as próprias células do hospedeiro (Iwakiri 2015; Bath et al. 2021). Assim, no contexto da infecção por *S. mansoni*, essa superprodução de citocinas pró-inflamatórias e outros fatores citotóxicos pelos macrófagos M1 pode criar um microambiente mais hostil para as próprias células do hospedeiro, dificultando a eliminação das cercárias. Além disso, uma resposta inflamatória exacerbada pode desencadear reações imunológicas que podem favorecer a sobrevivência das cercárias ou até mesmo contribuir para a patogênese da doença (Hambrook e Hanington 2021).

O microambiente local desempenha um papel fundamental na polarização e na função dos macrófagos (Geissmann et al. 2010; Dey et al. 2014; Mills 2015; Ley 2017; Orecchioni et al. 2019). Em nosso estudo, podemos argumentar que condições específicas do ambiente imunológico local podem direcionar os macrófagos M0 a adquirir propriedades que os tornem altamente eficazes na inativação das cercárias. Isso pode incluir a produção de citocinas específicas ou a ativação de vias de sinalização intracelular que são particularmente eficazes contra as cercárias, o que corrobora com os estudos de Gordon e McLaren (1988). Os autores avaliaram a capacidade de macrófagos ativarem-se para eliminar larvas de *S. mansoni* em cobaias previamente vacinadas com cercárias atenuadas por radiação. Eles observaram que a ativação dos macrófagos dependia da interação com linfócitos T e da produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1.

Ao contrário dos macrófagos M1, que são especializados em respostas pró-inflamatórias e citotóxicas, os macrófagos M0 são mais versáteis em suas funções e podem responder de maneira adaptável a diferentes estímulos (Martinez et al. 2006; Xue et al. 2014; Tarique et al. 2015; Hickman et al. 2023). Neste cenário, a resposta inicial dos macrófagos M0 pode ter sido mais eficaz contra as cercárias, pois não estavam direcionados para uma função específica e, portanto, eram capazes de realizar uma variedade de funções eficazes

contra o parasito. Eles têm a capacidade de se adaptar rapidamente às demandas do ambiente (Huang et al. 2018), o que pode tê-los beneficiado na interação com as cercárias em um contexto específico de infecção (Xu e Xu 1991; Winkel et al. 2018). Essa plasticidade pode permitir que os macrófagos M0 mudem rapidamente seu perfil funcional para atender às necessidades da resposta antiparasitária (Rückerl e Allen 2014; Huang et al. 2018; Coakley e Harris 2020; Lechner et al. 2021). No entanto, não devemos subestimar a importância dos macrófagos M1. Embora tenham demonstrado uma eficiência um pouco mais tardia na eliminação das cercárias, sua capacidade citotóxica não deve ser subestimada. Essa dinâmica sugere que diferentes subpopulações de macrófagos podem ter papéis complementares em diferentes estágios da resposta imunológica (Maizels e McSorley 2016).

A incapacidade dos macrófagos do tipo M2 em eliminar as cercárias em nosso estudo, pode ser atribuída às características intrínsecas desse grupo celular, que se concentram principalmente na reparação e remodelamento tecidual (Mills 2015; Huang et al. 2018; Shapouri-Moghaddam et al. 2018). Uma explicação para esse fenômeno pode ser a natureza essencialmente não pró-inflamatória dos macrófagos M2 (Mills 2015). Isso fica em consonância com as descobertas de Paveley et al. (2011), que investigaram a fagocitose de E/S das cercárias de *S. mansoni* na pele de camundongos por macrófagos locais. Nesse estudo, os pesquisadores observaram que o CD206, um receptor de manose C tipo 1 (MRC1), pode ter um efeito negativo na produção de citocinas pró-inflamatórias. Notavelmente, na presença de CD206, os macrófagos não conseguiram secretar eficientemente IL-12p40 e IL-6. O CD206 é expresso em níveis elevados em macrófagos localizados na pele de camundongos e desempenha um papel crucial na resposta à esquistossomose, sendo responsável pela reparação dos danos causados pelas cercárias na pele do hospedeiro, através da produção de colágeno (Wollenberg et al. 2002; Martinez-Pomares et al. 2006; Napper et al. 2006; Paveley et al. 2011). Essas características são consistentes com o perfil dos macrófagos M2.

Nossos achados revelam uma dinâmica complexa nas interações entre macrófagos e vermes adultos de *S. mansoni*. Enquanto observamos que os macrófagos M0 foram capazes de inativar em menor tempo a viabilidade das cercárias, essas mesmas células foram capazes de reduzir a mobilidade dos vermes adultos, indicando um papel na contenção dos vermes após a sua fase de maturidade. Por outro lado, os macrófagos M1 se destacaram por sua eficácia em eliminar rapidamente os vermes adultos. Isso sugere que os macrófagos M1

desempenham um papel fundamental na resposta imune contra os vermes adultos de *S. mansoni*.

Ao analisarmos as respostas dos macrófagos diante da presença dos vermes adultos de *S. mansoni*, nossos resultados revelaram um fenômeno notável e altamente relevante para a compreensão das complexas interações entre o hospedeiro e o parasito. A notável capacidade dos vermes adultos de *S. mansoni* de influenciar diretamente a resposta imune do hospedeiro é um aspecto que se destaca. Eles conseguiram potencializar a polarização de macrófagos previamente estimulados e induzir um perfil M1 em macrófagos que anteriormente não estavam polarizados para nenhum perfil específico. Isso implica que a presença dos vermes adultos age como um fator direcionador, levando os macrófagos em direção a uma ativação pró-inflamatória, independentemente do seu estado prévio de polarização ou ativação. O impacto dessa ativação pró-inflamatória é ainda mais evidenciado quando consideramos a capacidade tanto dos macrófagos M0 quanto dos macrófagos M1 de aumentar o número de células que expressam a enzima iNOS, a produção de óxido nítrico (NO) e a secreção de TNF- α . No entanto, é crucial ressaltar que os macrófagos M1 sobressaíram-se nessa capacidade, demonstrando uma eficiência notavelmente superior na indução de iNOS e na secreção de citocinas pró-inflamatórias, como IFN- γ e IL-6, em comparação com os macrófagos M0.

O aumento dos marcadores acima, pode participar na proteção contra vermes adultos de *S. mansoni*. O TNF- α é uma citocina pró-inflamatória produzida principalmente por macrófagos através de vários mecanismos (Coppack 2001; Skoog et al. 2002). Estudos anteriores já mostraram os efeitos do TNF- α no metabolismo do *S. mansoni*, desenvolvimento e processo de postura de ovos (Amiri et al. 1992; Cheever et al. 1999). O IFN- γ desempenha um papel essencial no combate a doenças infecciosas (McNab et al. 2015; Kak et al. 2018). James et al. (1998), verificaram que IFN- γ pode ativar macrófagos na infecção por *S. mansoni*, exercendo um papel protetor contra o parasito. A IL-6 é uma citocina produzida de forma rápida e transitória em resposta a infecções e lesões teciduais, contribui para a defesa do hospedeiro por meio da estimulação de respostas de fase aguda, hematopoiese e reações imunes (Ishibashi et al. 1989; Heinrich et al. 1990). Entretanto, os mecanismos pelos quais essa citocina pode estar envolvida na imunopatogênese da infecção por *S. mansoni* não estão claros e carecem de mais estudos.

Macrófagos M1 quando estão ativados, exercem seu papel microbicida principalmente pela síntese de NO (Chávez-Galán et al. 2015). Estudos sugerem que os macrófagos M1 podem matar vermes adultos pela produção de NO (Oswald et al. 1994; Ahmed et al. 1997). Wynn et al. (1994), ao utilizarem a aminoguanidina, um inibidor da iNOS, verificaram que a carga de vermes de *S. mansoni* aumentava consideravelmente. Shen et al. (2017) ao realizarem estudo com ratos, demonstraram que o NO produzido pela expressão de iNOS pode inibir o crescimento de vermes de *S. japonicum*, bem como o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos, produção de ovos e até mesmo sua viabilidade. Abath et al. (1996), esclarecem que o tegumento de vermes adultos de *S. mansoni* serve para sobrevivência e proteção contra as respostas imunológicas do hospedeiro. Como NO pode se ligar a cisteínas (Gould et al. 2013), este pode diminuir assim a função e a estabilidade das proteínas afetadas presentes no tegumento de vermes adultos de *S. mansoni*.

Diante dos achados acima, surgiu o seguinte questionamento: Como a presença de vermes adultos de *S. mansoni* poderia aumentar a função de macrófagos de M1? Uma das hipóteses que poderia explicar tal fato, é a que presença da enzima iNOS no próprio parasito poderia potencializar sua expressão, como também o aumento da produção de NO. Konh et al. (2001) verificaram a presença de iNOs por imunocoloração no sistema nervoso e tecidos periféricos de vermes adultos de *S. mansoni*. Long et al. (2004), também verificaram a presença de iNOS em vermes adultos de *S. japonicum*. Esses estudos sugerem que presença de iNOS localizada nos vermes adultos de *S. mansoni* e *S. japonicum*, pode ser liberada e interagir com as respostas imunes do hospedeiro.

Diversos parasitos são sensíveis ao NO e seus derivados, entretanto, alguns podem modular a produção dessas moléculas tóxicas. Estes parasitos podem elaborar uma variedade de estratégias de escape, diminuindo a resposta pró-inflamatória e ativam macrófagos polarizados para o perfil M2, possibilitando sua reprodução e sobrevivência no hospedeiro (Noel et al. 2004; Kreider et al. 2007; Stempin et al. 2010). O parasito *S. mansoni* têm uma variedade de mecanismos à sua disposição para manipular a resposta imune local (Jenkins et al. 2005). Isto foi observado neste estudo, uma vez que a presença de vermes adultos foi associada ao aumento da expressão da enzima Arginase, produção de citocinas anti-inflamatórias como IL-10 e IL-4 e aumento da atividade da Arginase, o que pode ser um mecanismo do parasito para regular a resposta microbicida mediada por pelo NO, via iNOS. Estudos demonstram que *S. mansoni* expressa sua própria Arginase, em diferentes estágios de

vida e assim poderia potencializar macrófagos a induzirem um perfil M2 (Fitzpatrick et al. 2009; Hai et al. 2014). Hai et al. (2014), levantaram a hipótese de que a Arginase produzida pelo próprio parasito poderia limitar a produção de L-arginina que de outra forma seria utilizada para a biossíntese de NO e processos dependentes de NO na resposta imune. De fato, outros patógenos, como *Helicobacter pylori* (Chaturvedi et al. 2007; Fehlings et al. 2012) e *Trypanosoma cruzi* (Cuervo et al. 2008; Garrido et al. 2011), demonstraram induzir macrófagos M2 para escapar da morte por macrófagos M1. Macrófagos M1 pode agravar o dano tecidual ocasionado pela infecção, todavia, tais danos podem ser inibidos pela produção de citocinas IL-10 e IL-4. Estas citocinas são de grande importância na indução da atividade da Arginase (Munder et al. 1999). Estudos anteriores, demonstraram que o tegumento de *S. mansoni* foi capaz de estimular o aumento da IL-10, podendo modular processos inflamatórios (Araujo et al. 2012; Marinho et al. 2016).

No contexto da infecção por *S. mansoni*, a dinâmica das respostas M1/M2 no tecido hepático do hospedeiro ainda permanece pouco compreendida. A utilização de camundongos infectados com *S. mansoni* oferece um modelo bem estabelecido para explorar as respostas imunes durante a esquistossomose crônica (Cheever et al. 2002). Com base nessa abordagem, desenvolvemos um modelo de infecção em camundongos Swiss e direcionamos nossa avaliação para os macrófagos M1 e M2, utilizando marcadores específicos, como iNOS e Arg-1. Nossos resultados revelaram um aumento significativo na expressão tanto de iNOS quanto de Arg-1 nos grupos infectados por *S. mansoni*. Esse resultado sugere a coexistência dessas polarizações distintas no fígado dos animais infectados.

O fígado é o principal órgão afetado durante a infecção por *S. mansoni* e sofre alterações morfológicas e funcionais em resposta à infecção (Gryseels 2012; Hams et al. 2013; Colley et al. 2014). Dentre as principais alterações, destaca-se a hepatoesplenomegalia, causada pela formação de granulomas hepáticos induzidos pelos ovos do parasito, que são estruturas inflamatórias compostas células do sistema imune. Os granulomas hepáticos são estruturas complexas formadas em grande parte por macrófagos, desempenhando um papel crucial na regulação da fibrose (Lewis 2018; Heymann et al. 2009). Estudos anteriores, como o de Beljaars et al. (2014), identificaram e quantificaram diferentes subtipos de macrófagos no fígado de indivíduos com fibrose hepática, revelando aumentos significativos nos números de macrófagos M1 e M2 durante a fase de formação da fibrose. Assim, a detecção de um aumento significativo na expressão das enzimas iNOS (M1) e Arg-1 (M2) nos macrófagos do

tecido hepático demonstra a complexidade das respostas dos macrófagos diante dessa infecção.

Song et al. (2020), ao investigarem os mecanismos de fibrose hepática em modelos induzidos por CCl₄ e infecção por *S. japonicum*, também notaram um aumento dos macrófagos M1 e M2. Essa observação ressalta a importância de considerar não apenas a presença de um único fenótipo de macrófagos, mas sim a coexistência e interações de múltiplas subpopulações, cada uma com características específicas. Além disso, a ideia de que o equilíbrio entre M1 e M2 desempenha um papel crucial nos contextos inflamatórios e fibrogênicos é endossada por estudos de Lu et al. (2018). O trabalho demonstrou que a quercetina um flavonoide natural, tem a capacidade de alterar a relação entre macrófagos M1 e M2, favorecendo a polarização para M2, que está associada a respostas anti-inflamatórias e de reparação tecidual. Isso é particularmente relevante em doenças crônicas, como a fibrose renal, onde a resposta imune desequilibrada e inflamação sustentada são fatores contribuintes

A presença de iNOS pode ser interpretada como uma resposta imunológica voltada para contenção do parasito e controle da sua disseminação. Isso é típico de uma resposta M1, buscando manter a infecção sob controle e atenuar os danos teciduais (Förstermann e Sessa 2012; Rath et al. 2014). Observações paralelas sustentam essa ideia. No ambiente hepático, a geração limitada de óxido nítrico (NO) por meio da expressão de iNOS tem um papel crucial na manutenção da homeostase e na proteção contra situações patológicas (Nathan et al. 1992). Outros estudos corroboram o papel defensivo da iNOS na fibrose (Hesse et al. 2000; Noguchi et al. 2014). Ademais, é válido mencionar que a polarização M1 também demonstrou influenciar positivamente a redução da ativação e do número de células estreladas hepáticas em um modelo murino de fibrose hepática induzida por CCl₄ e ligação do ducto biliar (Ma et al. 2017). Em um contexto mais amplo, recentemente, Shen et al. (2022) exploraram a regulação positiva das respostas Th1/Th2, bem como o aumento das quimiocinas e citocinas em ratos infectados com *S. japonicum*, atribuído à presença de iNOS. Esta regulação resultou na eliminação do parasito, inibição do desenvolvimento dos vermes e a ausência do desenvolvimento de granulomas hepáticos. Todavia, vale destacar que os mecanismos subjacentes que conectam a enzima iNOS à infecção crônica por *S. mansoni* ainda necessitam de investigações mais aprofundadas.

Apesar do aumento significativo da iNOS no tecido hepático dos grupos infectados, observamos uma expressão relativa maior de Arg-1 do que de iNOS. É válido ressaltar que a

literatura já tem documentado que macrófagos M2 regulam positivamente a expressão da enzima Arg-1 (Morris 2007; Rath et al. 2014; Yang e Ming 2014). Esta enzima é amplamente utilizada como um marcador de macrófagos M2 e pode ser expressa em hepatócitos (Yan et al. 2010). Assim uma possível explicação para nossos achados, é que expressão de Arg-1 pode ter um efeito anti-inflamatório e antifibrótico, ao competir com a óxido nítrico sintase (NOS) pela arginina, um substrato comum para ambas as enzimas. Assim, os macrófagos M2 podem limitar a produção de óxido nítrico (NO), que pode contribuir para o dano hepático na esquistossomose (Rath et al. 2014; Lee et al. 2015; Palmieri et al. 2020). Corroborando com esses achados, Hesse et al. (2001) e Llanwarne e Helmby (2021) também tem apontado para a presença de macrófagos M2, marcados pela expressão de Arg-1, nos granulomas hepáticos em infecções por *S. mansoni*. Ye et al. (2020) também demonstraram um aumento significativo de Arg-1 no fígado de camundongos infectados por *S. japonicum*. Assim, a presença de macrófagos M2 está associada a uma maior propensão à fibrose em condições hepáticas e outras doenças crônicas, devido à sua capacidade de promover a regulação da resposta imune e a reparação tecidual, mas também contribuir para processos fibrogênicos (Friedman 2004; Wynn e Barron 2010; Ricardo et al. 2008; Braga et al. 2015).

A expressão de Arg-1 é uma resposta adaptativa dos macrófagos ao ambiente inflamatório gerado pela presença dos ovos do parasito (Kaplan et al. 1998; Pesce et al. 2009). A presença de ovos do parasito nos tecidos hepáticos desencadeia uma resposta inflamatória local, na qual os macrófagos desempenham um papel central na esquistossomose (Schwartz e Fallon 2018; Ye et al. 2020). Desta forma, analisamos a possível associação entre a expressão de Arg-1 com a quantidade de ovos retidos no fígado dos camundongos infectados por *S. mansoni*. Nossos resultados, embora não tenham alcançado significância estatística, demonstraram uma correlação positiva entre a expressão de Arg-1 e a quantidade de ovos retidos no fígado dos camundongos infectados, ressaltando o papel dos macrófagos M2 na resposta imune na infecção por *S. mansoni*. Essa hipótese é apoiada pelo estudo de Xu et al. (2014), que mostrou que os antígenos solúveis dos ovos (SEA) de *S. japonicum* podem estimular os macrófagos RAW264.7 a expressarem altos níveis de IL-10. Esta citocina é considerada um fator anti-inflamatório e indutor da polarização M2 (Ouyang et al. 2011; Makita et al. 2015; Saraiva et al. 2020).

Observando que houve um aumento de macrófagos de perfil M2 em camundongos infectados por *S. mansoni* em nosso estudo e sabendo que macrófagos que produzem Arg-1

são essenciais para suprimir a inflamação e fibrose, nos questionamos se os macrófagos M2 poderiam estar relacionados ao número de granulomas hepáticos, uma característica proeminente na patogênese da esquistossomose. Os resultados mostraram que houve uma correlação negativa significativa entre a expressão de Arg-1 e o número de granulomas hepáticos. Esses achados sugerem um papel potencial desses macrófagos na modulação da formação e tamanho dos granulomas. Ou seja, essa associação pode ser um indicativo da capacidade dos macrófagos M2 de regular a resposta inflamatória local e, consequentemente, influenciar na redução da quantidade de granulomas hepáticos, podendo controlar a evolução da fibrose em camundongos infectados por *S. mansoni*. Essa hipótese é apoiada por vários estudos que mostraram que os macrófagos M2 são capazes de produzir fatores anti-inflamatórios, como IL-10 e TGF- β , que podem inibir a ativação de células Th1 e Th17, responsáveis pela produção de citocinas pró-inflamatórias, como IFN- γ e IL-17. Além disso, os macrófagos M2 também podem expressar receptores para o colágeno, como o mannose receptor (MR), que pode facilitar a remoção do colágeno depositado no tecido hepático e reduzir a fibrose (Herbert et al. 2004; Anthony et al. 2006; Nascimento et al. 2014; Chen et al. 2016; Bouchery e Harris 2017).

Embora seja observado que os macrófagos M2 podem exercer um efeito benéfico na redução do tamanho dos granulomas hepáticos, é crucial enfatizar que essa associação não deve ser analisada de maneira isolada. Uma perspectiva importante a considerar é a permissividade desses macrófagos ao desenvolvimento do parasito. Resultados de estudos prévios ressaltam que a presença de macrófagos M2 podem criar um ambiente mais propício desenvolvimento de *S. mansoni* (Fitzpatrick et al. 2009; Araujo et al. 2012; Riner et al. 2013; Hai et al. 2014; Marinho et al. 2016). A solidificação desse cenário é fortalecida por nossos próprios resultados obtidos *in vitro*. Ao realizar experimentos nos quais incubamos macrófagos M2 com cercárias e vermes adultos, constatamos que essa polarização não foi eficaz na eliminação dos parasitos. A capacidade dos macrófagos M2 de suprimir a resposta imune pró-inflamatória pode, inadvertidamente, facilitar a sobrevivência dos ovos do parasito e contribuir para a evolução da infecção (Jenkins et al. 2005; Hai et al. 2014). Portanto, é importante entender que a influência dos macrófagos M2 não se limita apenas à modulação da inflamação e à formação dos granulomas, mas também engloba a interação complexa entre o parasito, o sistema imune e o microambiente hepático. Essa interação multifacetada destaca a

importância de considerar todas as implicações da polarização dos macrófagos M2 ao examinar a patogênese da fibrose hepática e a resposta imune na infecção por *S. mansoni*.

Apesar da infecção por *S. mansoni* causar aumento do fígado e envolver a participação dos macrófagos nos granulomas hepáticos, constatamos em nosso estudo a ausência de correlação significativa entre a expressão de iNOS e Arg-1 com a área dos granulomas no tecido hepático e peso relativo do fígado. Tal achado pode sugerir que a contribuição específica desses macrófagos polarizados para a formação e tamanho dos granulomas é mais complexa e talvez envolva interações com outros tipos celulares e fatores de crescimento. Por exemplo, o tipo e a quantidade de citocinas produzidas pelos linfócitos T, que também são componentes importantes dos granulomas, podem influenciar o grau de inflamação (Kalantari et al. 2019; Zheng et al. 2020; Liu et al., 2022). Portanto, são necessários mais estudos para investigar os mecanismos moleculares e celulares que regulam a formação e o tamanho dos granulomas hepáticos em camundongos infectados por *S. mansoni*.

Considerações Finais

Em resumo, nossos achados demonstram a notável capacidade dos macrófagos de interagir de forma distinta, dependendo dos estágios da infecção pelo parasito *S. mansoni*, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Neste sentido, a estratégia de direcionar terapias para modular seletivamente a polarização dos macrófagos emerge como uma promissora abordagem terapêutica. Isso pode envolver a pesquisa de vacinas ou imunoterapias específicas para promover ou inibir a transição de macrófagos entre esses perfis, dependendo do estágio da infecção. Por exemplo, a indução de macrófagos M1 pode fortalecer a resistência à infecção, pois essas células são eficazes na eliminação de formas parasitárias iniciais e na produção de citocinas pró-inflamatórias que ativam outras células do sistema imunológico. Vacinas contendo antígenos derivados de cercárias ou vermes adultos podem estimular a polarização de macrófagos M1, conferindo proteção contra a infecção e, potencialmente, prevenindo a cronicidade. Por outro lado, a indução de macrófagos M2 pode ser uma estratégia para reduzir a inflamação e a fibrose hepática, uma vez que essas células produzem fatores anti-inflamatórios que diminuem a formação de granulomas. No entanto, é crucial destacar a permissividade dos macrófagos M2 no desenvolvimento do parasito. Portanto, a redução da predominância de macrófagos M2, que pode estar associada as formas crônicas da doença, pode ser benéfica no controle da infecção por *S. mansoni*. Isso pode ser alcançado por meio

de agentes farmacológicos ou terapias genéticas que inibam a diferenciação de macrófagos para o perfil M2. Por exemplo, inibidores de IL-4 ou IL-13 podem reduzir a polarização para M2 ou inibidores de vias de sinalização, como agentes que interferem na via STAT6, que é crítica na polarização de macrófagos M2.

O desenvolvimento de vacinas e imunoterapias representam abordagens fascinantes no tratamento para esquistossomose. Além disso, essas abordagens terapêuticas podem ser combinadas com tratamentos convencionais, como o Praziquantel, para potencializar a eficácia e minimizar a resistência do parasito. Esses são apenas exemplos conceituais e, para serem eficazes na prática, essas abordagens precisam ser amplamente pesquisadas, refinadas e testadas em modelos experimentais antes de serem aplicadas clinicamente, para garantir que elas não causem efeitos adversos indesejados nos pacientes. A manipulação cuidadosa do sistema imunológico pode oferecer novas esperanças para o tratamento e controle dessa doença debilitante, potencialmente melhorando a qualidade de vida das populações afetadas por *S. mansoni*.

Agradecimentos

Agradecemos ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão (PPGCS-UFMA) pelo apoio.

Contribuição do autor

ICLL: investigação, conceituação e redação do rascunho original; ICLL, ACCMF, GCCGF, RAN, MGSL, VAFS, JMB, SJAG, JGMR, GSM, LMF: Experimentos realizados; ICLL, GSM, FRFN: Análise dos dados; ICLL, ACCMF, GCCGF, RAN, MGSL, VAFS, JMB, SJAG, JGMR, GSM, LMF, RCC, LAS, RNMG, FRFN: revisão e edição do rascunho original. Todos os autores revisaram e aprovaram a versão final deste manuscrito

Considerações éticas

Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Maranhão (UFMA, Brasil; protocolo nº 23115.002254/2020-18).

Suporte Financeiro

ICLL, GCCGF, RAN e VAFS foram apoiados pela bolsa de doutoramento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil). ACCMF foi apoiado pela bolsa de iniciação científica da Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA, Brasil). A RNMG e a FRFN foram apoiadas por bolsa pesquisadora do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq- Brasil). A pesquisa contou com apoio da FAPEMA (Universal 01001/19) e da CAPES (Código financeiro 001).

Conflito de interesse

Os autores declaram não haver interesses conflitantes.

Referências

- Abath FG, Werkhauser RC. The tegument of *Schistosoma mansoni*: Functional and immunological features. **Parasite Immunol.** 1996;18:15–20.
- Ahmed SF, Oswald IP, Caspar P, Hieny S, Keefer L, Sher A, James SL. Developmental differences determine larval susceptibility to nitric oxide-mediated killing in a murine model of vaccination against *Schistosoma mansoni*. **Infect Immun.** 1997 Jan;65(1):219-26.
- Amiri P, Locksley RM, Parslow TG, Sadick M, Rector E, Ritter D, McKerrow JH. Tumour necrosis factor alpha restores granulomas and induces parasite egg-laying in schistosome-infected SCID mice. **Nature.** 1992;356:604–607.
- Angeles JMM, Mercado VJP, Rivera PT. Behind Enemy Lines: Immunomodulatory Armamentarium of the Schistosome Parasite. **Front Immunol.** 2020 Jun 9;11:1018.
- Anthony RM, Urban JF Jr, Alem F, Hamed HA, Rozo CT, Boucher JL, Van Rooijen N, Gause WC. Memory T(H)2 cells induce alternatively activated macrophages to mediate protection against nematode parasites. **Nat Med.** 2006 Aug;12(8):955-60.

- 1108 Araujo JM, de Melo TT, de Sena IC, Alves CC, Araujo N, Durães Fdo V, Oliveira SC,
1109 Fonseca CT. *Schistosoma mansoni* schistosomula tegument (Smteg) immunization in absence
1110 of adjuvant induce IL-10 production by CD4⁺ cells and failed to protect mice against
1111 challenge infection. **Acta Trop.** 2012 Nov;124(2):140-6.
- 1112 Bath PM, Coleman CM, Gordon AL, Lim WS, Webb AJ. Nitric oxide for the prevention and
1113 treatment of viral, bacterial, protozoal and fungal infections. **F1000Res.** 2021 Jul 5;10:536.
- 1114 Beljaars L, Schippers M, Reker-Smit C, Martinez FO, Helming L, Poelstra K, Melgert BN.
1115 Hepatic Localization of Macrophage Phenotypes during Fibrogenesis and Resolution of
1116 Fibrosis in Mice and Humans. **Front Immunol.** 2014 Sep 8;5:430.
- 1117 Bogdan C. Nitric oxide synthase in innate and adaptive immunity: an update. **Trends**
1118 **Immunol.** 2015 Mar;36(3):161-78.
- 1119 Bouchery T, Harris NL. Specific repair by discerning macrophages. **Science.** 2017 Jun
1120 9;356(6342):1014.
- 1121 Braga TT, Agudelo JS, Camara NO. Macrophages During the Fibrotic Process: M2 as Friend
1122 and Foe. **Front Immunol.** 2015 Nov 25;6:602.
- 1123 Chaturvedi R, de Sablet T, Coburn LA, Gobert AP, Wilson KT. Arginine and polyamines in
1124 *Helicobacter pylori*-induced immune dysregulation and gastric carcinogenesis. **Amino Acids.**
1125 2012 Feb;42(2-3):627-40.
- 1126 Chávez-Galán L, Olleros ML, Vesin D, Garcia I. Much More than M1 and M2 Macrophages,
1127 There are also CD169(+) and TCR(+) Macrophages. **Front Immunol.** 2015 May 26;6:263.
- 1128 Cheever AW, Lenzi JA, Lenzi HL 2002. Experimental models of *Schistosoma*
1129 *mansoni* infection. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 97: 917-940.
1130
- 1131 Cheever AW, Poindexter RW, Wynn TA. Egg laying is delayed but worm fecundity is normal
1132 \in SCID mice infected with *Schistosoma japonicum* and *S. mansoni* with or without
1133 recombinant tumor necrosis factor alpha treatment. **Infect Immun.** 1999;67:2201–2208.
- 1134 Cheever AW. Conditions affecting the accuracy of potassium hydroxide Digestion techniques
1135 for counting *Schistosoma mansoni* eggs in tissues. **Bull World Health Organ**, 39 (2): 328-
1136 31; 1968.
- 1137 Chen X, Lu PH, Liu L, Fang ZM, Duan W, Liu ZL, Wang CY, Zhou P, Yu XF, He WT.
1138 TIGIT negatively regulates inflammation by altering macrophage phenotype.
1139 **Immunobiology.** 2016 Jan;221(1):48-55.
- 1140 Coakley G, Harris NL. Interactions between macrophages and helminths. **Parasite Immunol.**
1141 2020 Jul;42(7):e12717.

- 1142 Colley DG, Secor WE. Immunology of human schistosomiasis. **Parasite Immunol.** 2014
1143 Aug;36(8):347-57.
- 1144 Coppack SW. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. **Proc Nutr Soc.** 2001
1145 Aug;60(3):349-56.
- 1146 Cortes-Selva D, Elvington AF, Ready A, Rajwa B, Pearce EJ, Randolph GJ, Fairfax KC.
1147 *Schistosoma mansoni* Infection-Induced Transcriptional Changes in Hepatic Macrophage
1148 Metabolism Correlate With an Athero-Protective Phenotype. **Front Immunol.** 2018 Nov
1149 12;9:2580.
- 1150 Cuervo H, Pineda MA, Aoki MP, Gea S, Fresno M, Gironès N. Inducible nitric oxide
1151 synthase and arginase expression in heart tissue during acute *Trypanosoma cruzi* infection in
1152 mice: arginase I is expressed in infiltrating CD68+ macrophages. **J Infect Dis.** 2008 Jun
1153 15;197(12):1772-82.
- 1154 Dey A, Allen J, Hankey-Giblin PA. Ontogeny and polarization of macrophages in
1155 inflammation: blood monocytes versus tissue macrophages. **Front Immunol.** 2014;5:683.
- 1156 Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. **Chest.** 2000 Aug;118(2):503-8.
- 1157 Ding AH, Nathan CF, Stuehr DJ. Release of reactive nitrogen intermediates and reactive
1158 oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. Comparison of activating
1159 cytokines and evidence for independent production. **J Immunol.** 1988;141:2407–2412.
- 1160 Donnelly S, O'Neill SM, Sekiya M, Mulcahy G, Dalton JP. Thioredoxin peroxidase secreted
1161 by *Fasciola hepatica* induces the alternative activation of macrophages. **Infect Immun.** 2005
1162 Jan;73(1):166-73.
- 1163 El-Faham MH, Wheatcroft-Francklow KJ, Price HP, Sayers JR, Doenhoff MJ. *Schistosoma*
1164 *mansoni* cercarial elastase (SmCE): differences in immunogenic properties of native and
1165 recombinant forms. **Parasitology.** 2017 Sep;144(10):1356-1364.
- 1166 Fehlings M, Drobbe L, Moos V, Renner Viveros P, Hagen J, Beigier-Bompadre M, Pang E,
1167 Belogolova E, Churin Y, Schneider T, Meyer TF, Aebischer T, Ignatius R. Comparative
1168 analysis of the interaction of *Helicobacter pylori* with human dendritic cells, macrophages,
1169 and monocytes. **Infect Immun.** 2012 Aug;80(8):2724-34.
- 1170 Fialho EMS, Veras EM, Jesus CM, Gomes LN, Khouri R, Sousa PS, Ribeiro MRC, Batista
1171 RFL, Costa LC, Nascimento FRF, Silva AAM, Soeiro-Pereira PV. Maternal Th17 Profile
1172 after *Zika Virus* Infection Is Involved in Congenital Zika Syndrome Development in Children.
1173 **Viruses.** 2023 Jun 4;15(6):1320.
- 1174 Fitzpatrick JM, Fuentes JM, Chalmers IW, Wynn TA, Modolell M, Hoffmann KF, Hesse M.
1175 *Schistosoma mansoni* arginase shares functional similarities with human orthologs but

- 1176 depends upon disulphide bridges for enzymatic activity. **Int J Parasitol.** 2009 Feb;39(3):267-
1177 79.
- 1178 Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. **Eur Heart J.**
1179 2012 Apr;33(7):829-37, 837a-837d.
- 1180 Friedman SL. Mechanisms of disease: Mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic
1181 implications. **Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.** 2004 Dec;1(2):98-105.
- 1182 Gao S, Zhou J, Liu N, Wang L, Gao Q, Wu Y, Zhao Q, Liu P, Wang S, Liu Y, Guo N, Shen
1183 Y, Wu Y, Yuan Z. Curcumin induces M2 macrophage polarization by secretion IL-4 and/or
1184 IL-13. **J Mol Cell Cardiol.** 2015 Aug;85:131-9.
- 1185 Garrido VV, Dulgerian LR, Stempin CC, Cerbán FM. The increase in mannose receptor
1186 recycling favors arginase induction and *Trypanosoma cruzi* survival in macrophages. **Int J**
1187 **Biol Sci.** 2011;7(9):1257-72.
- 1188 Geissmann F, Manz MG, Jung S, Sieweke MH, Merad M, Ley K. Development of
1189 monocytes, macrophages, and dendritic cells. **Science.** 2010 Feb 5;327(5966):656-61.
- 1190 Gharamti AA, Samara O, Monzon A, Montalbano G, Scherger S, DeSanto K, Chastain DB,
1191 Sillau S, Montoya JG, Franco-Paredes C, Henao-Martínez AF, Shapiro L. Proinflammatory
1192 cytokines levels in sepsis and healthy volunteers, and tumor necrosis factor-alpha associated
1193 sepsis mortality: A systematic review and meta-analysis. **Cytokine.** 2022 Oct;158:156006.
- 1194 Gordon JR, McLaren DJ. Immunity to *Schistosoma mansoni* in guinea-pigs vaccinated with
1195 radiation-attenuated cercariae. T-cell activation of macrophages for larval killing.
1196 **Immunology.** 1988 Feb;63(2):173-80.
- 1197 Gordon S, Martinez-Pomares L. Physiological roles of macrophages. **Pflugers Arch.** 2017
1198 Apr;469(3-4):365-374.
- 1199 Gould N., Doulias P.-T., Tenopoulou M., Raju K. and Ischiropoulos H. (2013). Regulation of
1200 protein function and signaling by reversible cysteine S-nitrosylation. **J. Biol. Chem.** 288,
1201 26473-26479.
- 1202 Gryseels B. Schistosomiasis. **Infect Dis Clin North Am.** 2012 Jun;26(2):383-97.
- 1203 Hai Y, Edwards JE, Van Zandt MC, Hoffmann KF, Christianson DW. Crystal structure of
1204 *Schistosoma mansoni* arginase, a potential drug target for the treatment of schistosomiasis.
1205 **Biochemistry.** 2014 Jul 22;53(28):4671-84.
- 1206 Hambrook JR, Hanington PC. A cercarial invadolysin interferes with the host immune
1207 response and facilitates infection establishment of *Schistosoma mansoni*. **PLoS Pathog.** 2023
1208 Feb 2;19(2):e1010884.

- 1209 Hambrook JR, Hanington PC. Immune Evasion Strategies of Schistosomes. **Front Immunol.**
1210 2021 Feb 4;11:624178.
- 1211 Hams E, Aviello G, Fallon PG. The schistosoma granuloma: friend or foe? **Front Immunol.**
1212 2013 Apr 15;4:89.
- 1213 Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. **Biochem J.**
1214 1990 Feb 1;265(3):621-36.
- 1215 Herbert DR, Orekov T, Perkins C, Finkelman FD. IL-10 and TGF-beta redundantly protect
1216 against severe liver injury and mortality during acute schistosomiasis. **J Immunol.** 2008 Nov
1217 15;181(10):7214-20.
- 1218 Herbert, D. R., Hölscher, C., Mohrs, M., Arendse, B., Schwegmann, A., Radwanska, M., et al.
1219 (2004). Alternative macrophage activation is essential for survival during schistosomiasis and
1220 downmodulates T helper 1 responses and immunopathology. **Immunity** 20, 623–635.
- 1221 Hesse M, Cheever AW, Jankovic D, Wynn TA. NOS-2 mediates the protective anti-
1222 inflammatory and antifibrotic effects of the Th1-inducing adjuvant, IL-12, in a Th2 model of
1223 granulomatous disease. **Am J Pathol.** 2000 Sep;157(3):945-55.
- 1224 Hesse M, Modolell M, La Flamme AC, Schito M, Fuentes JM, Cheever AW, Pearce EJ,
1225 Wynn TA. Differential regulation of nitric oxide synthase-2 and arginase-1 by type 1/type 2
1226 cytokines *in vivo*: granulomatous pathology is shaped by the pattern of L-arginine
1227 metabolism. **J Immunol.** 2001 Dec 1;167(11):6533-44.
- 1228 Heymann F, Trautwein C, Tacke F. Monocytes and macrophages as cellular targets in liver
1229 fibrosis. **Inflamm Allergy Drug Targets.** 2009 Sep;8(4):307-18.
- 1230 Hickman E, Smyth T, Cobos-Urbe C, Immormino R, Rebuli ME, Moran T, Alexis NE,
1231 Jaspers I. Expanded characterization of in vitro polarized M0, M1, and M2 human monocyte-
1232 derived macrophages: Bioenergetic and secreted mediator profiles. **PLoS One.** 2023 Mar
1233 2;18(3):e0279037.
- 1234 Hirayama D, Iida T, Nakase H. The Phagocytic Function of Macrophage-Enforcing Innate
1235 Immunity and Tissue Homeostasis. **Int J Mol Sci.** 2017 Dec 29;19(1):92.
- 1236 Ho CH, Cheng CH, Huang TW, Peng SY, Lee KM, Cheng PC. Switched phenotypes of
1237 macrophages during the different stages of *Schistosoma japonicum* infection influenced the
1238 subsequent trends of immune responses. **J Microbiol Immunol Infect.** 2022 Jun;55(3):503-
1239 526.
- 1240 Hogg KG, Kumkate S, Anderson S, Mountford AP. Interleukin-12 p40 secretion by cutaneous
1241 CD11c+ and F4/80+ cells is a major feature of the innate immune response in mice that
1242 develop Th1-mediated protective immunity to *Schistosoma mansoni*. **Infect Immun.** 2003
1243 Jun;71(6):3563-71

- 1244 Huang X, Li Y, Fu M, Xin HB. Polarizing Macrophages In Vitro. **Methods Mol Biol.**
1245 2018;1784:119-126.
- 1246 Ingram JR, Rafi SB, Eroy-Reveles AA, Ray M, Lambeth L, Hsieh I, Ruelas D, Lim KC,
1247 Sakanari J, Craik CS, Jacobson MP, McKerrow JH. Investigation of the proteolytic functions
1248 of an expanded cercarial elastase gene family in *Schistosoma mansoni*. **PLoS Negl Trop Dis.**
1249 2012;6(4):e1589.
- 1250 Ishibashi T, Kimura H, Uchida T, Kariyone S, Friese P, Burstein SA. Human interleukin 6 is
1251 a direct promoter of maturation of megakaryocytes *in vitro*. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 1989
1252 Aug;86(15):5953-7.
- 1253 Iwakiri Y. Nitric oxide in liver fibrosis: The role of inducible nitric oxide synthase. **Clin Mol**
1254 **Hepatol.** 2015 Dec;21(4):319-25.
- 1255 James SL, Cheever AW, Caspar P, Wynn TA. Inducible nitric oxide synthase-deficient mice
1256 develop enhanced type 1 cytokine-associated cellular and humoral immune responses after
1257 vaccination with attenuated *Schistosoma mansoni* cercariae but display partially reduced
1258 resistance. **Infect Immun.** 1998 Aug;66(8):3510-8.
- 1259 James SL, Lazdins JK, Hieny S, Natovitz P. Macrophages as effector cells of protective
1260 immunity in murine schistosomiasis. VI. T cell-dependent, lymphokine-mediated, activation
1261 of macrophages in response to *Schistosoma mansoni* antigens. **J Immunol.** 1983
1262 Sep;131(3):1481-6.
- 1263 James SL, Glaven J. Macrophage cytotoxicity against schistosomula of *Schistosoma mansoni*
1264 involves arginine-dependent production of reactive nitrogen intermediates. **J Immunol.** 1989
1265 Dec 15;143(12):4208-12
- 1266 Jenkins SJ, Hewitson JP, Jenkins GR, Mountford AP. Modulation of the host's immune
1267 response by schistosome larvae. **Parasite Immunol.** 2005 Oct-Nov;27(10-11):385-93.
- 1268 Kak G, Raza M, Tiwari BK. Interferon-gamma (IFN- γ): Exploring its implications in
1269 infectious diseases. **Biomol Concepts.** 2018 May 30;9(1):64-79.
- 1270 Kalantari P, Bunnell SC, Stadercker MJ. The C-type Lectin Receptor-Driven, Th17 Cell-
1271 Mediated Severe Pathology in Schistosomiasis: Not All Immune Responses to Helminth
1272 Parasites Are Th2 Dominated. **Front Immunol.** 2019 Jan 30;10:26.
- 1273 Kaplan MH, Whitfield JR, Boros DL, Grusby MJ. Th2 cells are required for the *Schistosoma*
1274 *mansoni* egg-induced granulomatous response. **J Immunol.** 1998 Feb 15;160(4):1850-6.
- 1275 Kohn AB, Moroz LL, Lea JM, Greenberg RM. Distribution of nitric oxide synthase
1276 immunoreactivity in the nervous system and peripheral tissues of *Schistosoma mansoni*.
1277 **Parasitology.** 2001 Jan;122 Pt 1:87-92.

- 1278 Kreider T, Anthony RM, Urban JF Jr, Gause WC. Alternatively activated macrophages in
1279 helminth infections. **Curr Opin Immunol**. 2007 Aug;19(4):448-53.
- 1280 Kreider T, Anthony RM, Urban JF Jr, Gause WC. Alternatively activated macrophages in
1281 helminth infections. **Curr Opin Immunol**. 2007 Aug;19(4):448-53.
- 1282 Lechner A, Henkel FDR, Hartung F, Bohnacker S, Alessandrini F, Gubernatorova EO,
1283 Drutskaya MS, Angioni C, Schreiber Y, Haimerl P, Ge Y, Thomas D, Kabat AM, Pearce EJ,
1284 Ohnmacht C, Nedospasov SA, Murray PJ, Chaker AM, Schmidt-Weber CB, Esser-von Bieren
1285 J. Macrophages acquire a TNF-dependent inflammatory memory in allergic asthma. **J Allergy**
1286 **Clin Immunol**. 2022 Jun;149(6):2078-2090.
- 1287 Lee WJ, Tateya S, Cheng AM, Rizzo-DeLeon N, Wang NF, Handa P, Wilson CL, Clowes
1288 AW, Sweet IR, Bomsztyk K, Schwartz MW, Kim F. M2 Macrophage Polarization Mediates
1289 Anti-inflammatory Effects of Endothelial Nitric Oxide Signaling. **Diabetes**. 2015
1290 Aug;64(8):2836-46.
- 1291 Lewis J. Histopathology of granulomatous liver disease. **Clin Liver Dis (Hoboken)**. 2018
1292 Apr 6;11(3):77-80.
- 1293 Ley K. M1 Means Kill; M2 Means Heal. **J Immunol**. 2017 Oct 1;199(7):2191-2193.
- 1294 Liberio SA, Pereira AL, Dutra RP, Reis AS, Araújo MJ, Mattar NS, Silva LA, Ribeiro MN,
1295 Nascimento FR, Guerra RN, Monteiro-Neto V. Antimicrobial activity against oral pathogens
1296 and immunomodulatory effects and toxicity of geopropolis produced by the stingless bee
1297 *Melipona fasciculata* Smith. **BMC Complement Altern Med**. 2011 Nov 4;11:108.
- 1298 Licá ICL, Frazão GCCG, Nogueira RA, Lira MGS, Dos Santos VAF, Rodrigues JGM,
1299 Miranda GS, Carvalho RC, Silva LA, Guerra RNM, Nascimento FRF. Immunological
1300 mechanisms involved in macrophage activation and polarization in schistosomiasis.
1301 **Parasitology**. 2023 Apr;150(5):401-415.
- 1302 Liu Z, Zhang L, Liang Y, Lu L. Pathology and molecular mechanisms of *Schistosoma*
1303 *japonicum*-associated liver fibrosis. **Front Cell Infect Microbiol**. 2022 Oct 28;12:1035765.
- 1304 Llanwarne F, Helmby H. Granuloma formation and tissue pathology in *Schistosoma*
1305 *japonicum* versus *Schistosoma mansoni* infections. **Parasite Immunol**. 2021
1306 Feb;43(2):e12778.
- 1307 Long XC, Bahgat M, Chlichlia K, Ruppel A, Li YL. Detection of inducible nitric oxide
1308 synthase in *Schistosoma japonicum* and *S. mansoni*. **J Helminthol**. 2004 Mar;78(1):47-50.
- 1309 Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger. **Ann Intern**
1310 **Med**. 1994 Feb 1;120(3):227-37.
- 1311

- 1312 Lu H, Wu L, Liu L, Ruan Q, Zhang X, Hong W, Wu S, Jin G, Bai Y. Quercetin ameliorates
1313 kidney injury and fibrosis by modulating M1/M2 macrophage polarization. **Biochem**
1314 **Pharmacol.** 2018 Aug;154:203-212.
- 1315 Luna LG. **Manual of the histologic staining methods of the armed forces institute of**
1316 **pathology.** 3. ed. New York: McGraw Hill, 1968. 258.
- 1317 Ma PF, Gao CC, Yi J, Zhao JL, Liang SQ, Zhao Y, Ye YC, Bai J, Zheng QJ, Dou KF, Han H,
1318 Qin HY. Cytotherapy with M1-polarized macrophages ameliorates liver fibrosis by
1319 modulating immune microenvironment in mice. **J Hepatol.** 2017 Oct;67(4):770-779.
- 1320 Mahmood T, Yang PC. Western blot: technique, theory, and trouble shooting. **N Am J Med**
1321 **Sci.** 2012 Sep;4(9):429-34.
- 1322 Maizels RM, McSorley HJ. Regulation of the host immune system by helminth parasites. **J**
1323 **Allergy Clin Immunol.** 2016 Sep;138(3):666-675.
- 1324 Makita N, Hizukuri Y, Yamashiro K, Murakawa M, Hayashi Y. IL-10 enhances the
1325 phenotype of M2 macrophages induced by IL-4 and confers the ability to increase eosinophil
1326 migration. **Int Immunol.** 2015 Mar;27(3):131-41.
- 1327 Marinho FV, Alves CC, de Souza SC, da Silva CM, Cassali GD, Oliveira SC, Pacifico LG,
1328 Fonseca CT. *Schistosoma mansoni* Tegument (Smtteg) Induces IL-10 and Modulates
1329 Experimental Airway Inflammation. **PLoS One.** 2016 Jul 25;11(7):e0160118.
- 1330 Martinez FO, Gordon S, Locati M, Mantovani A. Transcriptional profiling of the human
1331 monocyte-to-macrophage differentiation and polarization: new molecules and patterns of gene
1332 expression. **J Immunol.** 2006 Nov 15;177(10):7303-11.
- 1333 Martinez-Pomares L, Wienke D, Stillion R, McKenzie EJ, Arnold JN, Harris J, McGreal E,
1334 Sim RB, Isacke CM, Gordon S. Carbohydrate-independent recognition of collagens by the
1335 macrophage mannose receptor. **Eur J Immunol.** 2006 May;36(5):1074-82.
- 1336 McLaren DJ, Smithers SR. Serum from CBA/Ca mice vaccinated with irradiated cercariae of
1337 *Schistosoma mansoni* protects naive recipients through the recruitment of cutaneous effector
1338 cells. **Parasitology.** 1988 Oct;97 (Pt 2):287-302.
- 1339 McManus DP, Dunne DW, Sacko M, Utzinger J, Vennervald BJ, Zhou XN. Schistosomiasis.
1340 **Nat Rev Dis Primers.** 2018 Aug 9;4(1):13.
- 1341 McNab F, Mayer-Barber K, Sher A, Wack A, O'Garra A. Type I interferons in infectious
1342 disease. **Nat Rev Immunol.** 2015 Feb;15(2):87-103.
- 1343 Melo AL, Pereira LH, Machado CRS. *Schistosoma mansoni*: host cell adhesion to the
1344 different stages of the parasite, *in vivo*. **Parasitol Res.** 1992;34(3):233-239.

- 1345 Mills CD. Anatomy of a discovery: m1 and m2 macrophages. **Front Immunol.** 2015 May
1346 5;6:212.
- 1347 Morris SM Jr. Arginine metabolism: boundaries of our knowledge. **J Nutr.** 2007 Jun;137(6
1348 Suppl 2):1602S-1609S.
- 1349 Munder M, Eichmann K, Morán JM, Centeno F, Soler G, Modolell M. Th1/Th2-regulated
1350 expression of arginase isoforms in murine macrophages and dendritic cells. **J Immunol.** 1999
1351 Oct 1;163(7):3771-7.
- 1352 Nascimento M, Huang SC, Smith A, Everts B, Lam W, Bassity E, Gautier EL, Randolph GJ,
1353 Pearce EJ. Ly6Chi monocyte recruitment is responsible for Th2 associated host-protective
1354 macrophage accumulation in liver inflammation due to schistosomiasis. **PLoS Pathog.** 2014
1355 Aug 21;10(8):e1004282.
- 1356 Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. **FASEB J.** 1992
1357 Sep;6(12):3051-64.
- 1358 Negrão-Corrêa D, Souza DG, Pinho V, Barsante MM, Souza AL, Teixeira MM. Platelet-
1359 activating factor receptor deficiency delays elimination of adult worms but reduces fecundity
1360 in *Strongyloides venezuelensis*-infected mice. **Infect Immun.** 2004 Feb;72(2):1135-42.
- 1361 Noël W, Raes G, Hassanzadeh Ghassabeh G, De Baetselier P, Beschin A. Alternatively
1362 activated macrophages during parasite infections. **Trends Parasitol.** 2004 Mar;20(3):126-33.
- 1363 Noguchi S, Yatera K, Wang KY, Oda K, Akata K, Yamasaki K, Kawanami T, Ishimoto H,
1364 Toyohira Y, Shimokawa H, Yanagihara N, Tsutsui M, Mukae H. Nitric oxide exerts
1365 protective effects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. **Respir Res.** 2014
1366 Aug 5;15(1):92.
- 1367 Nonnenmacher Y, Hiller K. Biochemistry of proinflammatory macrophage activation. **Cell**
1368 **Mol Life Sci.** 2018 Jun;75(12):2093-2109.
- 1369 Orecchioni M, Ghosheh Y, Pramod AB, Ley K. Macrophage Polarization: Different Gene
1370 Signatures in M1(LPS+) vs. Classically and M2(LPS-) vs. Alternatively Activated
1371 Macrophages. **Front Immunol.** 2019 May 24;10:1084.
- 1372 Orekhov AN, Orekhova VA, Nikiforov NG, Myasoedova VA, Grechko AV, Romanenko EB,
1373 Zhang D, Chistiakov DA. Monocyte differentiation and macrophage polarization. **Vessel Plus**
1374 2019;3:10.
- 1375 Oswald IP, Wynn TA, Sher A, James SL. NO as an effector molecule of parasite killing:
1376 modulation of its synthesis by cytokines. **Comp Biochem Physiol Pharmacol Toxicol**
1377 **Endocrinol.** 1994 May;108(1):11-8.

- 1378 Ott LW, Resing KA, Sizemore AW, Heyen JW, Cocklin RR, Pedrick NM, Woods HC, Chen
1379 JY, Goebel MG, Witzmann FA, Harrington MA. Tumor Necrosis Factor-alpha- and
1380 interleukin-1-induced cellular responses: coupling proteomic and genomic information. **J**
1381 **Proteome Res.** 2007 Jun;6(6):2176-85.
- 1382 Ouyang W, Rutz S, Crellin NK, Valdez PA, Hymowitz SG. Regulation and functions of the
1383 IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. **Annu Rev Immunol.** 2011;29:71-
1384 109.
- 1385 Palmieri EM, McGinity C, Wink DA, McVicar DW. Nitric Oxide in Macrophage
1386 Immunometabolism: **Hiding in Plain Sight. Metabolites.** 2020 Oct 26;10(11):429.
- 1387 Parisi L, Gini E, Baci D, Tremolati M, Fanuli M, Bassani B, Farronato G, Bruno A, Mortara
1388 L. Macrophage Polarization in Chronic Inflammatory Diseases: Killers or Builders? **J**
1389 **Immunol Res.** 2018 Jan 14;2018:8917804.
- 1390 Paveley RA, Aynsley SA, Turner JD, Bourke CD, Jenkins SJ, Cook PC, Martinez-Pomares L,
1391 Mountford AP. The Mannose Receptor (CD206) is an important pattern recognition receptor
1392 (PRR) in the detection of the infective stage of the helminth *Schistosoma mansoni* and
1393 modulates IFN γ production. **Int J Parasitol.** 2011 Nov;41(13-14):1335-45.
- 1394 Pesce JT, Ramalingam TR, Mentink-Kane MM, Wilson MS, El Kasmi KC, Smith AM,
1395 Thompson RW, Cheever AW, Murray PJ, Wynn TA. Arginase-1-expressing macrophages
1396 suppress Th2 cytokine-driven inflammation and fibrosis. **PLoS Pathog.** 2009
1397 Apr;5(4):e1000371.
- 1398 Peters, P.A. and Warren, K.S. (1969) A Rapid Method of Infecting Mice and Other
1399 Laboratory Animals with *Schistosoma mansoni*: Subcutaneous Injection. **The Journal of**
1400 **Parasitology**, 55, 558.
- 1401 Pinto HA, Melo AL. Larvas de trematódeos em moluscos do Brasil: panorama e perspectivas
1402 após um século de estudos. **Rev Patol Trop** Vol. 42 (4): 369-386, 2013.
- 1403 Radi R. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular
1404 medicine. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 2018 Jun 5;115(23):5839-5848.
- 1405 Rath M, Müller I, Kropf P, Closs EI, Munder M. Metabolism via Arginase or Nitric Oxide
1406 Synthase: Two Competing Arginine Pathways in Macrophages. **Front Immunol.** 2014 Oct
1407 27;5:532.
- 1408 Ricardo SD, van Goor H, Eddy AA. Macrophage diversity in renal injury and repair. **J Clin**
1409 **Invest.** 2008 Nov;118(11):3522-30.
- 1410 Riner DK, Ferragine CE, Maynard SK, Davies SJ. Regulation of innate responses during pre-
1411 patent schistosome infection provides an immune environment permissive for parasite
1412 development. **PLoS Pathog.** 2013;9(10):e1003708.

- Rodrigues JGM, Albuquerque PSV, Nascimento JR, Campos JAV, Godinho ASS, Araújo SJ, Brito JM, Jesus CM, Miranda GS, Rezende MC, Negrão-Corrêa DA, Rocha CQ, Silva LA, Guerra RNM, Nascimento FRF. The immunomodulatory activity of *Chenopodium ambrosioides* reduces the parasite burden and hepatic granulomatous inflammation in *Schistosoma mansoni*-infection. **J Ethnopharmacol**. 2021 Jan 10;264:113287.
- Rodríguez-Sosa M, Satoskar AR, Calderón R, Gomez-Garcia L, Saavedra R, Bojalil R, Terrazas LI. Chronic helminth infection induces alternatively activated macrophages expressing high levels of CCR5 with low interleukin-12 production and Th2-biasing ability. **Infect Immun**. 2002 Jul;70(7):3656-64.
- Rückerl D, Allen JE. Macrophage proliferation, provenance, and plasticity in macroparasite infection. **Immunol Rev**. 2014 Nov;262(1):113-33.
- Sandler NG, Mentink-Kane MM, Cheever AW, Wynn TA. Global gene expression profiles during acute pathogen-induced pulmonary inflammation reveal divergent roles for Th1 and Th2 responses in tissue repair. **J Immunol**. 2003 Oct 1;171(7):3655-67.
- Sanin DE, Mountford AP. Sm16, a major component of *Schistosoma mansoni* cercarial excretory/secretory products, prevents macrophage classical activation and delays antigen processing. **Parasit Vectors**. 2015 Jan 6;8:1.
- Saraiva M, Vieira P, O'Garra A. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. **J Exp Med**. 2020 Jan 6;217(1):e20190418.
- Schwartz C, Fallon PG. *Schistosoma* "Eggs-Itting" the Host: Granuloma Formation and Egg Excretion. **Front Immunol**. 2018 Oct 29;9:2492.
- Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaeili SA, Mardani F, Seifi B, Mohammadi A, Afshari JT, Sahebkar A. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. **J Cell Physiol**. 2018 Sep;233(9):6425-6440.
- Shen J, Lai DH, Wilson RA, Chen YF, Wang LF, Yu ZL, Li MY, He P, Hide G, Sun X, Yang TB, Wu ZD, Ayala FJ, Lun ZR. Nitric oxide blocks the development of the human parasite *Schistosoma japonicum*. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2017 Sep 19;114(38):10214-10219.
- Shen J, Yu SF, Peng M, Lai DH, Hide G, Wu ZD, Lun ZR. iNOS is essential to maintain a protective Th1/Th2 response and the production of cytokines/chemokines against *Schistosoma japonicum* infection in rats. **PLoS Negl Trop Dis**. 2022 May 18;16(5):e0010403.
- Shen Y, Malik SA, Amir M, Kumar P, Cingolani F, Wen J, Liu Y, Zhao E, Farris AB, Raeman R, Czaja MJ. Decreased Hepatocyte Autophagy Leads to Synergistic IL-1 β and TNF Mouse Liver Injury and Inflammation. **Hepatology**. 2020 Aug;72(2):595-608.

- 1448 Skoog T, Dichtl W, Boquist S, Skoglund-Andersson C, Karpe F, Tang R, Bond MG, de Faire
1449 U, Nilsson J, Eriksson P, Hamsten A. Plasma tumour necrosis factor-alpha and early carotid
1450 atherosclerosis in healthy middle-aged men. **Eur Heart J**. 2002 Mar;23(5):376-83.
- 1451 Smithers SR, Terry RJ. The infection of laboratory hosts with cercariae of *Schistosoma*
1452 *mansoni* and the recovery of the adult worms. **Parasitology**. 1965 Nov;55(4):695-700.
- 1453 Song LJ, Yin XR, Mu SS, Li JH, Gao H, Zhang Y, Dong PP, Mei CJ, Hua ZC. The
1454 Differential and Dynamic Progression of Hepatic Inflammation and Immune Responses
1455 During Liver Fibrosis Induced by *Schistosoma japonicum* or Carbon Tetrachloride in Mice.
1456 **Front Immunol**. 2020 Oct 7;11:570524.
- 1457 Souza COS, Gardinassi LG, Rodrigues V, Faccioli LH. Monocyte and Macrophage-Mediated
1458 Pathology and Protective Immunity During Schistosomiasis. **Front Microbiol**. 2020 Aug
1459 12;11:1973.
- 1460 Stempin CC, Dulgerian LR, Garrido VV, Cerban FM. Arginase in parasitic infections:
1461 macrophage activation, immunosuppression, and intracellular signals. **J Biomed Biotechnol**.
1462 2010;2010:683485.
- 1463 Wynn TA, Oswald IP, Eltoum IA, Caspar P, Lowenstein CJ, Lewis FA, James SL, Sher A.
1464 Elevated expression of Th1 cytokines and nitric oxide synthase in the lungs of vaccinated
1465 mice after challenge infection with *Schistosoma mansoni*. **J Immunol**. 1994 Dec
1466 1;153(11):5200-9.
- 1467 Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Immunotherapeutic implications of IL-6 blockade for
1468 cytokine storm. **Immunotherapy**. 2016 Jul;8(8):959-70.
- 1469 Tarique AA, Logan J, Thomas E, Holt PG, Sly PD, Fantino E. Phenotypic, functional, and
1470 plasticity features of classical and alternatively activated human macrophages. **Am J Respir**
1471 **Cell Mol Biol**. 2015 Nov;53(5):676-88.
- 1472 Thornhill J, Coelho PM, McVeigh P, Maule A, Jurberg AD, Kusel JR. *Schistosoma mansoni*
1473 cercariae experience influx of macromolecules during skin penetration. **Parasitology**. 2009
1474 Sep;136(11):1257-67.
- 1475 Tripathi P, Tripathi P, Kashyap L, Singh V. The role of nitric oxide in inflammatory
1476 reactions. **FEMS Immunol Med Microbiol**. 2007 Dec;51(3):443-52
- 1477 Unuvar Purcu D, Korkmaz A, Gunalp S, Helvacı DG, Erdal Y, Dogan Y, Suner A,
1478 Wingender G, Sag D. Effect of stimulation time on the expression of human macrophage
1479 polarization markers. **PLoS One**. 2022 Mar 14;17(3):e0265196.
- 1480 Vannella KM, Wynn TA. Mechanisms of Organ Injury and Repair by Macrophages. **Annu**
1481 **Rev Physiol**. 2017 Feb 10;79:593-617.

- 1482 Watanabe S, Alexander M, Misharin AV, Budinger GRS. The role of macrophages in the
1483 resolution of inflammation. **J Clin Invest**. 2019 May 20;129(7):2619-2628.
- 1484 Weerakoon KG, Gobert GN, Cai P, McManus DP. Advances in the Diagnosis of Human
1485 Schistosomiasis. **Clin Microbiol Rev**. 2015 Oct;28(4):939-67.
- 1486 Winkel BMF, Dalenberg MR, de Korne CM, Feijt C, Langenberg MCC, Pelgrom L, Ganesh
1487 MS, Yazdanbakhsh M, Smits HH, de Jong EC, Everts B, van Leeuwen FWB, Hokke CH,
1488 Roestenberg M. Early Induction of Human Regulatory Dermal Antigen Presenting Cells by
1489 Skin-Penetrating *Schistosoma Mansoni* Cercariae. **Front Immunol**. 2018 Oct 31;9:2510.
- 1490 Wollenberg A, Mommaas M, Oppel T, Schottdorf EM, Günther S, Moderer M. Expression
1491 and function of the mannose receptor CD206 on epidermal dendritic cells in inflammatory
1492 skin diseases. **J Invest Dermatol**. 2002 Feb;118(2):327-34.
- 1493 World Health Organization. Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals.
1494 **A global strategy on water, sanitation, and hygiene to combat neglected tropical diseases**
1495 **2021–2030**. Geneva: World Health Organization, 2021.
- 1496 Wynn TA, Barron L. Macrophages: master regulators of inflammation and fibrosis. **Semin**
1497 **Liver Dis**. 2010 Aug;30(3):245-57. doi: 10.1055/s-0030-1255354.
- 1498 Xu C, Xu S. Activated macrophages in highly irradiated cercariae-induced immunity to
1499 *Schistosoma japonicum* in rats. **Parasitology**. 1991 Feb;102 Pt 1:65-72.
- 1500 Xu J, Zhang H, Chen L, Zhang D, Ji M, Wu H, Wu G. *Schistosoma japonicum* infection
1501 induces macrophage polarization. **J Biomed Res**. 2014 Jul;28(4):299-308.
- 1502 Xue J, Schmidt SV, Sander J, Draffehn A, Krebs W, Quester I, De Nardo D, Gohel TD, Emde
1503 M, Schmidleithner L, Ganesan H, Nino-Castro A, Mallmann MR, Labzin L, Theis H, Kraut
1504 M, Beyer M, Latz E, Freeman TC, Ulas T, Schultze JL. Transcriptome-based network
1505 analysis reveals a spectrum model of human macrophage activation. **Immunity**. 2014 Feb
1506 20;40(2):274-88.
- 1507 Yan BC, Gong C, Song J, Krausz T, Tretiakova M, Hyjek E, Al-Ahmadie H, Alves V, Xiao
1508 SY, Anders RA, Hart JA. Arginase-1: a new immunohistochemical marker of hepatocytes and
1509 hepatocellular neoplasms. **Am J Surg Pathol**. 2010 Aug;34(8):1147-54.
- 1510 Yang Z, Ming XF. Functions of arginase isoforms in macrophage inflammatory responses:
1511 impact on cardiovascular diseases and metabolic disorders. **Front Immunol**. 2014 Oct
1512 27;5:533.
- 1513 Ye Z, Huang S, Zhang Y, Mei X, Zheng H, Li M, Chen J, Lu F. Galectins, Eosinophiles, and
1514 Macrophages May Contribute to *Schistosoma japonicum* Egg-Induced Immunopathology in a
1515 Mouse Model. **Front Immunol**. 2020 Mar 13;11:146.

- 1516 Ying W, Cheruku PS, Bazer FW, Safe SH, Zhou B. Investigation of macrophage polarization
1517 using bone marrow derived macrophages. **J Vis Exp**. 2013 Jun 23;(76):50323.
- 1518 Yunna C, Mengru H, Lei W, Weidong C. Macrophage M1/M2 polarization. *Eur J Pharmacol*.
1519 2020 Jun 15;877:173090.
- 1520 Zhu J, Xu Z, Chen X, Zhou S, Zhang W, Chi Y, Li W, Song X, Liu F, Su C. Parasitic
1521 antigens alter macrophage polarization during *Schistosoma japonicum* infection in mice.
1522 **Parasit Vectors**. 2014 Mar 25;7:122.
- 1523
- 1524
- 1525
- 1526
- 1527
- 1528
- 1529

5 CONCLUSÕES

De uma forma geral, os resultados deste estudo fornecem uma visão esclarecedora das respostas dos macrófagos em diferentes fases da infecção por *S. mansoni*, revelando a complexidade e a dinâmica da interação entre essas células imunes e o parasito. Ficou evidente que os macrófagos podem ser polarizados para diferentes perfis (M1 ou M2) em resposta aos antígenos provenientes de distintos estágios do ciclo de vida do parasito. Os antígenos de cercárias e esquistossômulos podem induzir um perfil M1, que é mais eficaz na inativação das larvas e na citotoxicidade contra os vermes adultos. Os antígenos de vermes podem induzir um perfil M1 ou M2, dependendo do contexto imunológico. Os antígenos de ovos solúveis (SEAs) podem induzir um perfil M2, que é mais associado à modulação da inflamação e à redução do número de granulomas hepáticos. Os macrófagos M0 podem se diferenciar em macrófagos M1 na presença de vermes adultos, potencializando a sua função efetora. Por outro lado, os vermes adultos também podem induzir um perfil M2 nos macrófagos como mecanismo de escape da resposta imune.

Esses achados são importantes para o desenvolvimento de vacinas e imunoterapias contra a esquistossomose, pois revelam os mecanismos pelos quais os macrófagos podem contribuir para a proteção ou a patogênese da infecção. A identificação dos antígenos que induzem os diferentes perfis de macrófagos pode auxiliar na seleção de candidatos a vacinas que estimulem uma resposta imune mais adequada. Além disso, a manipulação farmacológica ou genética dos macrófagos pode ser uma estratégia para potencializar a sua atividade antiparasitária ou para reduzir os danos teciduais causados pela inflamação.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-GHANY, R. et al. BLOCKADE OF PGE2, PGD2 RECEPTORS CONFERS PROTECTION AGAINST PREPATENT SCHISTOSOMIASIS MANSONI IN MICE. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v. 45, n. 3, p. 511–520, 2015.
- ACHARYA, S.; DA'DARA, A.A.; SKELLY, P.J. Schistosome immunomodulators. **PLoS Pathog**, v. 17, n. 12, p. e1010064, 2021.
- ADRIKO, M.; STANDLEY, C. J.; TINKITINA, B.; et al. Evaluation of circulating cathodic antigen (CCA) urine-cassette assay as a survey tool for *Schistosoma mansoni* in different transmission settings within Bugiri District, Uganda. **Acta Tropica**, v. 136, p. 50-57, 2014.
- ALARCON DE NOYA, B.; RUIZ, R.; LOSADA, S.; et al. Detection of schistosomiasis cases in low-transmission areas based on coprologic and serologic criteria. The Venezuelan experience. **Acta Tropica**, v. 103, n. 1-2, p. 41-49, 2007.
- AMARAL, K. B.; SILVA, T. P.; DIAS, F. F.; MALTA, K. K.; ROSA, F. M.; COSTA-NETO, S. F.; GENTILE, R.; MELO, R. C. N. Histological assessment of granulomas in natural and experimental *Schistosoma mansoni* infections using whole slide imaging. **PLoS One**, v. 12, n. 9, p. e0184696, 2017.
- ANGELES, J. M. M.; MERCADO, V. J. P.; RIVERA, P. T. Behind Enemy Lines: Immunomodulatory Armamentarium of the Schistosome Parasite. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 1018, 2020.
- ATRI, C.; GUERFALI, F. Z.; LAOUINI, D. Role of human macrophage polarization in inflammation during infectious diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, p. 1801, 2018.
- BARBOSA, F. S.; BARBOSA, I.; ARRUDA, F. *Schistosoma mansoni*: natural infection of cattle in Brazil. **Science**, v.138, n. 3542, p. 831, 1962.
- BARRON, L.; WYNN, T.A. Macrophage activation governs schistosomiasis-induced inflammation and fibrosis. **Eur J Immunol**, v. 41, n. 9, p. 2509-14, 2011.
- BLAGG, W.; SCHLOEGEL, E. L.; MANSOUR, N. S.; KHALAF, G. I. A New Concentration Technic for the Demonstration of Protozoa and Helminth Eggs in Feces. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 4, n. 1, p. 23-28, 1955.
- BOGÉA, T.; FAVRE, T. C.; ROTENBERG, L.; SILVA, H. S.; PIERI, O. S. Circadian pattern of cercarial emergence in *Schistosoma mansoni* (Platyhelminthes:Digenea) from isolated *Biomphalaria glabrata*. **Chronobiology International**, v. 13, n. 2, p. 93-101, 1996.
- BORGES DA SILVA, H. et al. Splenic Macrophage Subsets and Their Function during Blood-Borne Infections. **Frontiers in Immunology**, v. 6, n. SEP, p. 480, 2015.

BOURKE, C. D. et al. Epidermal keratinocytes initiate wound healing and pro-inflammatory immune responses following percutaneous schistosome infection. **International journal for parasitology**, v. 45, n. 4, p. 215–224, 2015.

BRAGA, T. T; AGUDELO, J. S. H.; CAMARA, N. O. S. Macrophages during the fibrotic process: M2 as friend and foe. **Frontiers in Immunology** 6, 602, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços**. Guia de Vigilância em Saúde: volume 3. 1.ed. atual. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

BÜCHLER, T. Immunoterapie karcinomu močového měchýře [Immunotherapy for Bladder Cancer]. **Klin Onkol**, 30(Supplementum3):6-9, 2017.

BURKE, M. L.; JONES, M. K.; GOBERT, G. N.; LI, Y. S.; ELLIS, M. K.; MCMANUS, D. P. Immunopathogenesis of human schistosomiasis. **Parasite Immunology**, v. 31, n. 4, p. 163-176, 2009.

BUTROUS, G. Schistosome infection and its effect on pulmonary circulation. **Global cardiology science & practice**, v. 2019, n. 1, 2019.

CAFIEIRO, T.M. et al. Epidemiological analysis of Schistosomiasis Mansoni in Brazilian regions. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e20298625579, 2022.

CANTANHEDE, S.P.D. et al. Freshwater gastropods of the Baixada Maranhense Microregion, an endemic area for schistosomiasis in the State of Maranhão, Brazil: I - qualitative study. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 47, n. 1, p. 79-85, 2014.

CARDOSO, F. C. et al. *Schistosoma mansoni* tegument protein Sm29 is able to induce a Th1-type of immune response and protection against parasite infection. **PLoS Neglected Tropical Diseases** 2, e-308, 2008.

CATALANO, S.; SÈNE, M.; DIOUF, N. D.; FALL, C. B.; BORLASE, A.; LÉGER, E.; BÂ, K.; WEBSTER, J. P. Rodents as natural hosts of zoonotic *Schistosoma* species and hybrids: an epidemiological and evolutionary perspective from West Africa. **The Journal of Infectious Diseases**, vol. 218, n. 3, p. 429-433, 2018.

CAVALCANTI, M. G.; CUNHA, A. F. A.; PERALTA, J. M. The Advances in Molecular and New Point-of-Care (POC) Diagnosis of Schistosomiasis Pre- and Post-praziquantel Use: In the Pursuit of More Reliable Approaches for Low Endemic and Non-endemic Areas. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 858, 2019.

CERVI, L. et al. Cutting edge: dendritic cells copulsed with microbial and helminth antigens undergo modified maturation, segregate the antigens to distinct intracellular compartments, and concurrently induce microbe-specific Th1 and helminth-specific Th2 responses. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 172, n. 4, p. 2016–2020, 2004.

CHAI, J. Y. Praziquantel treatment in trematode and cestode infections: an update. **Infection and Chemotherapy**, v. 45, n. 1, p. 32-43, 2013.

CHALA, B. Advances in Diagnosis of Schistosomiasis: Focus on Challenges and Future Approaches. **International Journal of General Medicine**, v. 16, n. 1, p. 983-995, 2023.

CHEEVER AW, HOFFMANN KF, WYNN TA. Immunopathology of schistosomiasis mansoni in mice and men. **Immunology Today**, 21 (9): 465-466; 2000.

CHEN, S. et al. Macrophages in immunoregulation and therapeutics. **Signal Transduct Target Ther**, v. 8, n. 1, p. 207, 2023.

CLAYTON, K. et al. Langerhans Cells-Programmed by the Epidermis. **Frontiers in immunology**, v. 8, n. NOV, 2017.

CLEENWERK, L.; GARSEN, J.; HOGENKAMP, A. Clinical Use of *Schistosoma mansoni* Antigens as Novel Immunotherapies for Autoimmune Disorders. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 1821, 2020.

COLLEY, D.G.; SECOR, W.E. Immunology of human schistosomiasis. **Parasite Immunol**, v. 36, n. 8, p. 347-57, 2014.

CORSINI, E.; GALLI, C. L. Epidermal cytokines in experimental contact dermatitis. **Toxicology**, v. 142, n. 3, p. 203–212, 2000.

CORTES-SELVA, D. et al. *Schistosoma mansoni* infection-induced transcriptional changes in hepatic macrophage metabolism correlate with an athero-protective phenotype. **Frontiers in Immunology**, v. 9, n. NOV, p. 2580, 2018.

CORTES-SELVA, D.; FAIRFAX, K. Schistosome and intestinal helminth modulation of macrophage immunometabolism. **Immunology** 162, 123–134, 2021.

COSTAIN, A. H.; MACDONALD, A. S.; SMITS, H. H. Schistosome egg migration: mechanisms, pathogenesis and host immune responses. **Frontiers in Immunology**, vol. 9, p. 3042, 2018.

CUPIT, P. M.; CUNNINGHAM, C. What is the mechanism of action of praziquantel and how might resistance strike? **Future Medicinal Chemistry**, v. 7, n. 6, p. 701-705, 2015.

de JONG, E. C. et al. Microbial compounds selectively induce Th1 cell-promoting or Th2 cell-promoting dendritic cells *in vitro* with diverse Th cell-polarizing signals. **The Journal of Immunology** 168, 1704–1709, 2002.

DI MEGLIO, P.; PERERA, G. K.; NESTLE, F. O. The multitasking organ: recent insights into skin immune function. *Immunity*, v. 35, n. 6, p. 857-869, 2011.

DOENHOFF, M. J.; CIOLI, D.; UTZINGER, J. Praziquantel: mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 21, n. 6, p. 659-666, 2008.

DOMBROWICZ, D. et al. Expression of a functional Fc epsilon RI on rat eosinophils and macrophages. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 165, n. 3, p. 1266–1271, 2000.

DRICIRU, E. et al. Immunological Considerations for Schistosoma Vaccine Development: Transitioning to Endemic Settings. **Front Immunol**, 4;12:635985, 2021.

DUNNE, D. W.; COOKE, A. A worm's eye view of the immune system: consequences for evolution of human autoimmune disease. **Nature reviews. Immunology**, v. 5, n. 5, p. 420–426, 2005.

EGESA, M. et al. *Schistosoma mansoni* schistosomula antigens induce Th1/Pro-inflammatory cytokine responses. **Parasite immunology**, v. 40, n. 12, 2018.

EGESA, M. et al. *Schistosoma mansoni* schistosomula antigens induce Th1/Pro-inflammatory cytokine responses. **Parasite immunology**, v. 40, n. 12, 2018.

EISSA, M. M.; ISMAIL, C. A.; EL-AZZOUNI, M. Z.; et al. Immuno-therapeutic potential of *Schistosoma mansoni* and *Trichinella spiralis* antigens in a murine model of colon cancer. **Investigational New Drugs**, v. 37, n. 1, p. 47-56, 2019.

ELBAZ, T.; ESMAT, G. Hepatic and intestinal schistosomiasis: review. **J Adv Res**, v. 4, n. 5, p. 445-52, 2013.

EL-FAHAM, M. H. et al. *Schistosoma mansoni* cercarial elastase (SmCE): differences in immunogenic properties of native and recombinant forms. **Parasitology**, v. 144, n. 10, p. 1356–1364, 2017.

EVERTS, B. et al. Schistosome-derived omega-1 drives Th2 polarization by suppressing protein synthesis following internalization by the mannose receptor. **The Journal of experimental medicine**, v. 209, n. 10, p. 1753–1767, 2012.

FAIRFAX, K et al. Th2 responses in schistosomiasis. **Semin Immunopathol**, v.34, n. 6, p. 863-71, 2012.

FALLON, P. G.; RICHARDSON, E. J.; MCKENZIE, G. J.; MCKENZIE, A. N. Schistosome infection of transgenic mice defines distinct and contrasting pathogenic roles for IL-4 and IL-13: IL-13 is a profibrotic agent. **Journal of Immunology**, v. 164, n. 5, p. 2585-2591, 2000.

GENTILE, R.; COSTA-NETO, S.F.; D'ANDREA, P.S. Uma revisão sobre a participação do rato d'água nectomys squamipes na dinâmica de transmissão da esquistossomose mansônica:

um estudo multidisciplinar de longo prazo em uma área endêmica. **Oecol Aust**, v. 14, n. 4, p. 711-725, 2010.

GIORGIO, S.; GALLO-FRANCISCO, P. H.; ROQUE, G. A. S.; FLÓRO E SILVA, M. Granulomas in parasitic diseases: the good and the bad. **Parasitology Research**, v. 119, n. 10, p. 3165-3180, 2020.

GOBBI, F. et al. New Insights on Acute and Chronic Schistosomiasis: Do We Need a Redefinition? **Trends in Parasitology**, v. 36, n. 8, p. 660–667, 1 ago. 2020.

GOBBI, F.; TAMAROZZI, F.; BUONFRATE, D.; VAN LIESHOUT, L.; BISOFFI, Z.; BOTTIEAU, E. New insights on acute and chronic schistosomiasis: do we need a redefinition? **Trends in Parasitology**, v. 36, p. 660-667, 2020.

GOBERT, G. **Schistosoma: Biology, pathology and control**. Nawaratna.Sujeevi. **Schistosomula**; CRC Press: pp. 184–212, 2017.

GOMES, E. C. de S.; SILVA, I. E. P. da; NASCIMENTO, W. R. C. do; et al. Urban schistosomiasis: An ecological study describing a new challenge to the control of this neglected tropical disease. **The Lancet Regional Health - Americas**, v. 8, p. 1-16, 2021.

GOMES, E.C.S.; DOMINGUES, A.L.C.; BARBOSA, C.S. **Esquistossomose: manejo clínico e epidemiológico na atenção básica**. Recife: Fiocruz Pernambuco, 2017.

GORDON, S. Elie Metchnikoff: father of natural immunity. **Eur J Immunol**, v. 38, p. 3257–64, 2008.

GORDON, S.; MARTINEZ-POMARES, L. Physiological roles of macrophages. **Pflugers Archiv : European journal of physiology**, v. 469, n. 3–4, p. 365–374, 2017.

GRENFELL, R.; MARTINS, W.; SILVA-MORAES, V.; et al. The schistosomula tegument antigen as a potential candidate for the early serological diagnosis of schistosomiasis mansoni. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 2, p. 75-78, 2013.

GRYSEELS, B. et al. Human schistosomiasis. **Lancet (London,England)**, v. 368, n. 9541, p. 1106–1118, 2006.

GRYSEELS, B. Schistosomiasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v.26, n. 2, p. 383–397, 2012.

GUEGAN, H.; FILLAU, J.; CHARPENTIER, E.; et al. Real-time PCR for diagnosis of imported schistosomiasis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 9, p. e0007711, 2019.

HALDAR, M.; MURPHY, K. M. Origin, development, and homeostasis of tissue-resident macrophages. **Immunological reviews**, v. 262, n. 1, p. 25–35, 2014.

HAMBROOK, J. R.; HANINGTON, P. C. Immune evasion strategies of schistosomes. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 624178, 2021.

HAMS, E.; AVIELLO, G.; FALLON, P.G. The Schistosoma Granuloma: Friend or Foe? **Front Immunol**, v. 4, n. APR, 2013.

HÄNEL, K. H. et al. Cytokines and the skin barrier. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 4, p. 6720–6745, 2013.

HARIZI, H.; JUZAN, M.; PITARD, V.; MOREAU, J. F.; GUALDE, N. Cyclooxygenase-2-issued prostaglandin e(2) enhances the production of endogenous IL-10, which down-regulates dendritic cell functions. **The Journal of Immunology**, v. 168, p. 2255-2263, 2002.

HERVÉ, M. et al. Pivotal roles of the parasite PGD2 synthase and of the host D prostanoid receptor 1 in schistosome immune evasion. **European Journal of Immunology**, v. 33, n. 10, p. 2764–2772, 2003.

HIRAYAMA, D.; IIDA, T.; NAKASE, H. The Phagocytic Function of Macrophage-Enforcing Innate Immunity and Tissue Homeostasis. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 1, 2017.

HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The sedimentation-concentration method in *Schistosomiasis mansoni*. **Puerto Rico Journal of Public Health and Tropical Medicine**, v. 9, n. 4, p. 281-298, 1934.

HOLANDA, E. C.; VERDE, R. M. C. L.; NETO, J. A. de O.; SOARES, L. Caracterização epidemiológica e prevalência de esquistossomose no Estado do Maranhão, Brasil. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e735986622, 2020.

INGRAM, J. R.; RAFI, S. B.; EROY-REVELES, A. A.; RAY, M.; LAMBETH, L.; HSIEH, I.; RUELAS, D.; LIM, K. C.; SAKANARI, J.; CRAIK, C. S.; JACOBSON, M. P.; MCKERROW, J. H. Investigation of the proteolytic functions of an expanded cercarial elastase gene family in *Schistosoma mansoni*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, p. e1589, 2012.

INOBAYA, M. T.; OLVEDA, R. M.; CHAU, T. N.; et al. Prevention and control of schistosomiasis: a current perspective. **Research and Reports in Tropical Medicine**, v. 2014, n. 5, p. 65-75, 2014.

ISHIDA, K.; JOLLY, E. R. Hsp70 May Be a Molecular Regulator of Schistosome Host Invasion. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 9, 2016.

JAMES, S. L.; GLAVEN, J. Macrophage cytotoxicity against schistosomula of *Schistosoma mansoni* involves arginine-dependent production of reactive nitrogen intermediates. **The Journal of Immunology**, v. 143, n. 12, 1989.

JETTEN, N. Anti-inflammatory M2, but not pro-inflammatory M1 macrophages promote angiogenesis *in vivo*. **Angiogenesis** 17, 109–118, 2014.

KAISAR, M. M. M. et al. Dectin-1/2-induced autocrine PGE2 signaling licenses dendritic cells to prime Th2 responses. **PLoS biology**, v. 16, n. 4, 2018.

KAPLAN, D. H. et al. Epidermal langerhans cell-deficient mice develop enhanced contact hypersensitivity. **Immunity**, v. 23, n. 6, p. 611–620, dez. 2005.

KAŠNÝ, M., HAAS, W., JAMIESON, B. G. M., HORÁK, P. **Cercaria of schistosoma. Schistosoma: biology, pathology and control**. Boca Raton, FL United States: CRC Press. 149- 183, 2017.

KATZ, N.; ALMEIDA, K. Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. **Ciência e Cultura**, vol.55, n.1, p. 38-43, 2003.

KATZ, N.; CHAVES, A.; PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 14, n. 6, p. 397-400, 1972.

KOURILOVA, P.; HOGG, K. G.; KOLAROVA, L.; MOUNTFORD, A. P. Cercarial dermatitis caused by bird schistosomes comprises both immediate and late phase cutaneous hypersensitivity reactions. **Journal of Immunology**, v. 172, p. 3766-3774, 2004.

KREIDER, T. et al. Alternatively activated macrophages in helminth infections. **Curr Opin Immunol**, v.19, n.4, p.448-53, 2007.

KUMAR, R. et al. The causal role of IL-4 and IL-13 in *Schistosoma mansoni* pulmonary hypertension. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 192, n. 8, p. 998–1008, 2015.

KUMKATE, S. et al. CD207+ Langerhans cells constitute a minor population of skin-derived antigen-presenting cells in the draining lymph node following exposure to *Schistosoma mansoni*. **International journal for parasitology**, v. 37, n. 2, p. 209–220, fev. 2007.

LANGENBERG, M. C. C. et al. Katayama Syndrome Without *Schistosoma mansoni* Eggs. **Annals of internal medicine**, v. 170, n. 10, p. 732–733, 2019.

LAVIN, Y.; MORTHA, A.; RAHMAN, A.; MERAD, M. Regulation of macrophage development and function in peripheral tissues. **Nat Rev Immunol**, v.15, n. 12, p. 731-44.

LE, L. et al. Schistosoma egg-induced liver pathology resolution by Sm-p80-based schistosomiasis vaccine in baboons. **Pathology**, v. 50, n.4, p.442-449, 2018.

LECHNER, A.; BOHNACKER, S.; ESSER-VON BIEREN, J. Macrophage regulation & function in helminth infection. **Semin Immunol**, v.53, p. 101526.

LEITE, C.L. et al. Análise Epidemiológica da Esquistossomose Mansonica no Município de Bacuri (Área Endêmica da Baixada Ocidental do Estado do Maranhão - Brasil) entre 2011 e 2020. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e20298625579, 2021.

LENZ, K. M.; NELSON, L. H. Microglia and Beyond: Innate Immune Cells As Regulators of Brain Development and Behavioral Function. **Frontiers in immunology**, v. 9, n. APR, 2018.

LENZI, H. L.; KIMMEL, E.; SCHECHTMAN, H.; PELAJO-MACHADO, M.; ROMANHA, W. S.; PACHECO, R. G.; MARIANO, M.; LENZI, J. A. Histoarchitecture of schistosomal granuloma development and involution: morphogenetic and biomechanical approaches. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, p. 141-151, 1998.

LEONTOVYČ, A.; ULRYCHOVÁ, L.; HORN, M.; DVOŘÁK, J. Collection of excretory/secretory products from individual developmental stages of the blood fluke *Schistosoma mansoni*. **Methods in Molecular Biology**, v. 2151, p. 55-63, 2020.

LEY, K. M1 Means Kill; M2 Means Heal. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 199, n. 7, p. 2191–2193, 2017.

LICÁ, I. C. L et al. Immunological mechanisms involved in macrophage activation and polarization in schistosomiasis. **Parasitology**, v. 150, n. 5, p. 401-415.

LICÁ, I. C. L., MIRANDA, G. S., RODRIGUES, J. G. M., LIRA, M. G. S., NOGUEIRA, R. A., SOUZA, N. S.; RIBEIRO, H. S.; SOUSA, A. R. F.; CARDOSO, A. S. Fauna endoparasitária em roedores *Holochilus sciureus* (Rodentia: Cricetidae), reservatório silvestre da esquistossomose no Maranhão, Brasil. **Amazonian Biota**, 8(2), 44-47, 2018.

LIMA, C.D. et al. *Schistosoma mansoni* no Maranhão entre 1997 e 2019: uma prospecção tecnológica e científica. **Cad Prospec**, v. 14, n. 1, p. 169-184, 2021.

LIRA, M.G.S. et al. Ocorrência de *Schistosoma mansoni* no município de São Bento, Baixada Ocidental Maranhense, estado do Maranhão, Brasil. **Rev Pan-Amaz Saude**, v. 8, n. 4, p. 169-184, 2017.

LIU, Z. et al. Pathology and molecular mechanisms of *Schistosoma japonicum*-associated liver fibrosis. **Front Cell Infect Microbiol**, v. 12, p. 1035765, 2022.

LIU, Z.; ZHANG, L.; LIANG, Y.; LU, L. Pathology and molecular mechanisms of *Schistosoma japonicum*-associated liver fibrosis. **Front Cell Infect Microbiol**. 12:1035765, 2022.

LO, N. C.; BEZERRA, F. S. M.; COLLEY, D. G.; et al. Review of 2022 WHO guidelines on the control and elimination of schistosomiasis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 22, n. 11, p. e327-e335, 2022.

LOCATI, M.; CURTALE, G.; MANTOVANI, A. Diversity, mechanisms, and significance of macrophage plasticity. **Annual Review of Pathology** 15, 123–147, 2020.

LOVERDE, P.T. **Schistosomiasis. Adv Exp Med Biol**, v. 1154, p. 45-70, 2019.

LUNDY SK, LUKACS NW. Chronic schistosome infection leads to modulation of granuloma formation and systemic immune suppression. **Frontiers in Immunology**, 4: 39; 2013.

MA, Y. et al. The Biological Function of Kupffer Cells in Liver Disease. **Biology of Myelomonocytic Cells**, 2017.

MACDONALD, A. S.; STRAW, A. D.; DALTON, N. M.; PEARCE, E. J. Cutting edge: Th2 response induction by dendritic cells: a role for CD40. **The Journal of Immunology**, v. 168, p. 537-540, 2002.

MAESTAS, D. R Jr. et al. Helminth egg derivatives as proregenerative immunotherapies. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 120, n. 8, p. e2211703120, 2023.

MAKITA, N. et al. IL-10 enhances the phenotype of M2 macrophages induced by IL-4 and confers the ability to increase eosinophil migration. **Int Immunol**, v.27. n.3, p. 131-41, 2015.

MASAMBA, P.; KAPPO, A. P. Immunological and Biochemical Interplay between Cytokines, Oxidative Stress and Schistosomiasis. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 13, 2021.

MASI, B. et al. Clinical and Preclinical Imaging of Hepatosplenic Schistosomiasis. **Trends Parasitol**, v. 36, n. 2, p. 206-226, 2020.

MASS, E.; LACHMANN, N. From macrophage biology to macrophage-based cellular immunotherapies. **Gene Ther**, v. 28, n.9, p. 473-476.

MATHIESON, W.; WILSON, R. A. A comparative proteomic study of the undeveloped and developed *Schistosoma mansoni* egg and its contents: the miracidium, hatch fluid and secretions. **International Journal for Parasitology**, v. 40, p. 617-628, 2010.

MBONG NGWESE, M.; MANOUANA, G. P.; NGUEMA MOURE, P. A.; RAMHARTER, M.; ESEN, M.; ADÉGNKA, A. A. Diagnostic Techniques of Soil-Transmitted Helminths: Impact on Control Measures. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 5, n. 2, p. 93, 2020.

MBONG NGWESE, M.; PRINCE MANOUANA, G.; NGUEMA MOURE, P. A.; RAMHARTER, M.; ESEN, M.; ADÉGNKA, A. A. Diagnostic Techniques of Soil-Transmitted Helminths: Impact on Control Measures. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 5, n. 2, p. 93-108, 2020.

MCGAHA, T. L. et al. Marginal zone macrophages suppress innate and adaptive immunity to apoptotic cells in the spleen. **Blood**, v. 117, n. 20, p. 5403–5412, 19 maio 2011.

MCMANUS, D.P.; DUNNE, D.W.; SACKO, M.; UTZINGER, J.; VENNERVALD, B.J.; ZHOU, X.N. Schistosomiasis. **Nat Rev Dis Primers**, v. 4, n. 1, p. 13, 2018.

MEEVISSSEN, M. H. J.; WUHRER, M.; DOENHOFF, M. J.; SCHRAMM, G.; HAAS, H.; DEELDER, A. M.; HOKKE, C. H. Structural characterization of glycans on omega-1, a major *Schistosoma mansoni* egg glycoprotein that drives Th2 responses. **Journal of Proteome Research**, v. 9, p. 2630-2642, 2010.

MELO, A. G. S. DE, MELO, C. M., OLIVEIRA, C. C. C., OLIVEIRA, D. S., SANTOS, V.B.& JERALDO, V. DE L. S. Esquistossomose em área de transição rural-urbana: reflexões epidemiológicas. **Ciência, Cuidado E Saúde**, 10(3), 506-513, 2012.

MEYER, N. H. et al. A Crystallin Fold in the Interleukin-4-inducing Principle of *Schistosoma mansoni* Eggs (IPSE/ α -1) Mediates IgE Binding for Antigen-independent Basophil Activation. **The Journal of biological chemistry**, v. 290, n. 36, p. 22111–22126, 2015.

MILLER, P.; WILSON, R. A. Migration of the schistosomula of *Schistosoma mansoni* from the lungs to the hepatic portal system. **Parasitology**, vol. 80, n. 2, p. 267-288, 1980.

MILLS, C. D. Anatomy of a discovery: m1 and m2 macrophages. **Frontiers in immunology**, v. 6, n. MAY, 2015.

MILLS, C. D. et al. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. **J Immunol**, v.164, n.12, p. 6166-73, 2000.

MIRANDA, G. S.; MIRANDA, B. S.; RODRIGUES, J. G. M.; LIRA, M. G. S.; NOGUEIRA, R. A.; VIEGAS-MELO, D.; SILVA-SOUZA, N. Research Note. The wild water-rats and their relevance in the context of schistosomiasis mansoni in Brazil: what we know and recommendations for further research. **Helminthologia**, vol. 54, n. 2, p. 165-169, 2017.

MODENA, C. M.; LIMA, W. S.; COELHO, P. M. Wild and domesticated animals as reservoirs of schistosomiasis mansoni in Brazil. **Acta Tropica**, vol. 108, n. 2-3, p. 242–244, 2008.

MOLEHIN, A. J. et al. Process Development of Sj-p80: A Low-Cost Transmission-Blocking Veterinary Vaccine for Asiatic Schistosomiasis. **Front Immunol**, v. 23, n.11, p. 578715, 2021.

MOLEHIN, A. J. Current Understanding of Immunity Against Schistosomiasis: Impact on Vaccine and Drug Development. **Res Rep Trop Med**, 11, 119-128, 2020.

MOLEHIN, A. J. Current Understanding of Immunity Against Schistosomiasis: Impact on Vaccine and Drug Development. **Research and reports in tropical medicine**, v. 11, p. 119–128, nov. 2020.

MOLEHIN, A. J.; MCMANUS, D. P.; YOU, H. Vaccines for Human Schistosomiasis: Recent Progress, New Developments and Future Prospects. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 4, p. 2255, 2022.

MORAES, J.; NASCIMENTO, C.; LOPES, P.O.; NAKANO, E.; YAMAGUCHI, L.F.; KATO, M.J.; KAWANO, T. *Schistosoma mansoni*: in vitro schistosomicidal activity of pipartine. **Exp Parasitol**, v. 127, n. 2, p. 357-364, 2011.

MOREL, P. A.; BUTTERFIELD, L. H. Dendritic cell control of immune responses. **Frontiers in immunology**, v. 6, n. FEB, 2015.

MOSSALLAM, S. F. et al. *Schistosoma mansoni* egg-derived extracellular vesicles: A promising vaccine candidate against murine schistosomiasis. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 15, n.10, p. e0009866, 2021.

MOUAHID, G. et al. Transplantation of schistosome sporocysts between host snails: A video guide. **Wellcome Open Research**, v. 3, 2018.

MOUSER, E. E. I. M. et al. *Schistosoma mansoni* soluble egg antigen (SEA) and recombinant Omega-1 modulate induced CD4⁺ T-lymphocyte responses and HIV-1 infection in vitro. **PLoS pathogens**, v. 15, n. 9, 2019.

MUÑOZ, J. et al. Macrophage Polarization and Osteoporosis: A Review. **Nutrients**, v. 12, n. 10, p. 1–16, 2020.

MUNRO, D. A. D.; HUGHES, J. The origins and functions of tissue-resident macrophages in kidney development. **Frontiers in Physiology**, v. 8, n. OCT, p. 837, 2017.

MURRAY, P. J. Macrophage polarization. **Annual Review of Physiology**, v.79, 541–566, 2017.

MUTENGO, M. M. et al. Low IL-6, IL-10, and TNF- α and High IL-13 Cytokine Levels Are Associated with Severe Hepatic Fibrosis in *Schistosoma mansoni* Chronically Exposed Individuals. **Journal of Parasitology Research**, v. 2018, 2018.

NATION, C. S. et al. Schistosome migration in the definitive host. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 14, n. 4, p. 1–12, 2020.

NELSON, G. S. Schistosome infections as zoonoses in Africa. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 54, p. 301 – 324, 1960.

NELWAN, M. L. Schistosomiasis: Life Cycle, Diagnosis, and Control. **Current Therapeutic Research, Clinical and Experimental**, v. 91, p. 5-9, 2019.

NELWAN, M. L. Schistosomiasis: Life Cycle, Diagnosis, and Control. **Current therapeutic research, clinical and experimental**, v. 91, p. 5–9, 2019.

NEVES, D. P.; MELO, A. L.; LINARDI, P. M.; VITOR, R. W. A. **Parasitologia Humana**. 13^a ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2016. 616 p.

NGUYEN, A. V.; SOULIKA, A. M. The Dynamics of the Skin's Immune System. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 8, 2019.

NONO, J. K. et al. Host regulation of liver fibroproliferative pathology during experimental schistosomiasis via interleukin-4 receptor alpha. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 8, 2017.

NONO, J. K. et al. Influence of schistosomiasis on host vaccine responses. **Trends Parasitol**, v. 38, n.1, p. 67-79, 2022.

OLUWOLE, A. S.; EKPO, U. F.; NEBE, O. J.; et al. The new WHO guideline for control and elimination of human schistosomiasis: implications for the Schistosomiasis Elimination Programme in Nigeria. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 11, p. 111, 2022.

ORECCHIONI, M. et al. Macrophage Polarization: Different Gene Signatures in M1(LPS+) vs. Classically and M2(LPS-) vs. Alternatively Activated Macrophages. **Frontiers in immunology**, v. 10, n. MAY, 2019.

OSWALD, I. P. et al. NO as an effector molecule of parasite killing: modulation of its synthesis by cytokines. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* 108, 11–18, 1994.

OTHMAN, R. A. Indirect haemagglutination test and ELISA as compared to Kato thick-smear in diagnosing *Schistosoma mansoni*. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v. 43, n. 3, p. 841-848, 2013.

OYESOLA, O. O. et al. PGD2 and CRTH2 counteract Type 2 cytokine-elicited intestinal epithelial responses during helminth infection. **The Journal of experimental medicine**, v. 218, n. 9, 2021.

PAGÁN, A. J.; RAMAKRISHNAN, L. The Formation and Function of Granulomas. **Annual Review of Immunology**, v. 36, p. 639–665, 2018.

PARISI, L. et al. Macrophage Polarization in Chronic Inflammatory Diseases: Killers or Builders? **Journal of immunology research**, v. 2018, 2018.

PAVELEY, R. A.; AYNSLEY, S. A.; COOK, P. C.; TURNER, J. D.; MOUNTFORD, A. P. Fluorescent imaging of antigen released by a skin-invading helminth reveals differential uptake and activation profiles by antigen presenting cells. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 3, p. e528, 2009.

PERONA-WRIGHT, G.; JENKINS, S. J.; MACDONALD, A. S. Dendritic cell activation and function in response to *Schistosoma mansoni*. **International Journal for Parasitology**, v. 36, p. 711-721, 2006.

PETERS, P. A.; EL ALAMY, M.; WARREN, K. S.; et al. Quick Kato smear for field quantification of *Schistosoma mansoni* eggs. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 29, n. 2, p. 217-219, 1980.

PLIKUS, M. V. et al. Epithelial stem cells and implications for wound repair. **Seminars in cell & developmental biology**, v. 23, n. 9, p. 946–953, 2012.

RABELLO, A. Diagnosing Schistosomiasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, n. 5, p. 669-676, 1997.

RAHMAN, K. et al. Inflammatory Ly6Chi monocytes and their conversion to M2 macrophages drive atherosclerosis regression. **The Journal of clinical investigation**, v. 127, n. 8, p. 2904–2915, 2017.

RAMASWAMY, K.; KUMAR, P.; HE, Y. X. A role for parasite-induced PGE2 in IL-10-mediated host immunoregulation by skin stage schistosomula of *Schistosoma mansoni*. **The Journal of Immunology**, v. 165, p. 4567-4574, 2000.

RATH, M. et al. Metabolism via arginase or nitric oxide synthase: Two competing arginine pathways in macrophages. **Frontiers in Immunology**, v. 5, n. OCT, p. 532, 2014.

REY, L. Non-human vertebrate hosts of *Schistosoma mansoni* and schistosomiasis transmission in Brazil. **Research and Reviews in Parasitology**, vol. 53, n. 1-2, p. 13-25, 1993.

RIBEIRO, S. R.; FURST, C. Parasitological stool sample exam by spontaneous sedimentation method using conical tubes: effectiveness, practice, and biosafety. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 3, p. 399-401, 2012.

RODRIGUES, J.G.M. et al. The immunomodulatory activity of *Chenopodium ambrosioides* reduces the parasite burden and hepatic granulomatous inflammation in *Schistosoma mansoni*-infection. **J Ethnopharmacol**, v. 264, p. 11328, 2021.

ROLOT, M.; DEWALS, B. G. Macrophage Activation and Functions during Helminth Infection: Recent Advances from the Laboratory Mouse. **J Immunol Res**, 2: 2018:2790627.

ROSS, A. G. P.; OLVEDA, R. M.; ACOSTA, L.; et al. Road to the elimination of schistosomiasis from Asia: the journey is far from over. **Microbes and Infection**, v. 15, n. 10, p. 858-865, 2013.

SAILER, A.; MCDERMOTT, E.; HUYNH, K. N.; KEARNS, C. Schistosomiasis. **RadioGraphics**, v. 43, n. 2, p. 1-24, 2023.

- SANTINI-OLIVEIRA, M. et al. Development of the Sm14/GLA-SE Schistosomiasis Vaccine Candidate: An Open, Non-Placebo-Controlled, Standardized-Dose Immunization Phase Ib Clinical Trial Targeting Healthy Young Women. **Vaccines (Basel)**, v.10, n. 10, p. 1724, 2022.
- SAPERO, J. J.; LAWLESS, D. K. The “MIF” Stain-Preservation Technic for the Identification of Intestinal Protozoa. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 2, n. 4, p. 613-619, 1953.
- SCHRAMM, G. et al. Cutting edge: IPSE/alpha-1, a glycoprotein from *Schistosoma mansoni* eggs, induces IgE-dependent, antigen-independent IL-4 production by murine basophils in vivo. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 178, n. 10, p. 6023–6027, 2007.
- SCHWARTZ, C. et al. T Cell–Derived IL-4/IL-13 Protects Mice against Fatal *Schistosoma mansoni* Infection Independently of Basophils . **The Journal of Immunology**, v. 193, n. 7, p. 3590–3599, 2014.
- SCHWARTZ, C.; FALLON, P. G. *Schistosoma* “Eggs-Itting” the Host: Granuloma Formation and Egg Excretion. **Frontiers in immunology**, v. 9, 2018.
- SHAPOURI-MOGHADDAM, A. et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. **J Cell Physiol**, v. 233, n. 9, p. 6425-6440, 2018.
- SHKLOVSKAYA, E. et al. Langerhans cells are precommitted to immune tolerance induction. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 44, p. 18049–18054, 2011.
- SILVA, B.M.D. et al. High schistosomiasis-related mortality in Northeast Brazil: trends and spatial patterns. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 55, p. e0431, 2022.
- SILVA, L. L. et al. Evolutionary histories of expanded peptidase families in *Schistosoma mansoni*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 7, p. 864–877, 2011.
- SILVESTRE, M. C.; DOS REIS, V. M. S.; SATO, M. N. Innate immunity and effector and regulatory mechanisms involved in allergic contact dermatitis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 93, n. 2, p. 242–250, 2018.
- SKELLY, P. J. Intravascular schistosomes and complement. **Trends in parasitology**, v. 20, n. 8, p. 370–374, 2004.
- SONG, L.G.; WU, Z.D. Pathology and pathogenesis of liver fibrosis induced by *Schistosoma japonicum*. **Chin J Schisto Control**, v. 27, n. 2, p. 213-216, 2015.
- SOUZA, C. O. S. et al. Monocyte and Macrophage-Mediated Pathology and Protective Immunity During Schistosomiasis. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1973, 2020.

STANDLEY, C.J. et al. Confirmed infection with intestinal schistosomiasis in semi-captive wild- born chimpanzees on Ngamba Island, Uganda. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v.11, n. 2, p. 169–176, 2011.

STEINAUER, M. L.; BLOUIN, M. S.; CRISCIONE, C. D. Applying evolutionary genetics to schistosome epidemiology. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 10, n. 4, p. 433-443, 2010.

STRIZOVA, Z. et al. M1/M2 macrophages and their overlaps - myth or reality? **Clin Sci (Lond)**, v. 137, n.15, p. 1067-1093, 2023.

SUZUKI, Y. et al. Macrophage mannose receptor, CD206, predict prognosis in patients with pulmonary tuberculosis. **Scientific Reports** 8, 1–9, 2018.

TAKAKI, K. K. et al. *Schistosoma mansoni* Eggs Modulate the Timing of Granuloma Formation to Promote Transmission. **Cell Host & Microbe**, v. 29, n. 1, p. 58, 2021.

TAMAROZZI, F.; FITTIPALDO, V. A.; ORTH, H. M.; RICHTER, J.; BUONFRATE, D.; RICCARDI, N.; GOBBI, F. G. Diagnosis and clinical management of hepatosplenic schistosomiasis: A scoping review of the literature. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 3, p. e0009191, 2021.

TURNER, J. D.; JENKINS, G. R.; HOGG, K. G.; AYNLEY, S. A.; PAVELEY, R. A.; COOK, P. C.; COLES, M. C.; MOUNTFORD, A. P. CD4+CD25+ regulatory cells contribute to the regulation of colonic Th2 granulomatous pathology caused by schistosome infection. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 8, p. e1269, 2011.

URIBE-QUEROL, E.; ROSALES, C. Phagocytosis: Our Current Understanding of a Universal Biological Process. **Frontiers in immunology**, v. 11, 2020.

UTZINGER, J.; BECKER, S. L.; VAN LIESHOUT, L.; et al. New diagnostic tools in schistosomiasis. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 21, n. 6, p. 529-542, 2015.

UTZINGER, J.; BERGQUIST, R.; SHU-HUA, X.; SINGER, B.H.; TANNER, M. Sustainable schistosomiasis control—the way forward. **Lancet**, v. 362, n. 9399, p. 1932-4, 2003.

VAN LIEMPT, E.; VAN VLIET, S. J.; ENGERING, A.; GARCÍA VALLEJO, J. J.; BANK, C. M. C.; SANCHEZ-HERNANDEZ, M.; VAN KOOYK, Y.; VAN DIE, I. *Schistosoma mansoni* soluble egg antigens are internalized by human dendritic cells through multiple C-type lectins and suppress TLR-induced dendritic cell activation. **Molecular Immunology**, v. 44, p. 2605-2615, 2007.

VANNELLA, K. M.; WYNN, T. A. Mechanisms of Organ Injury and Repair by Macrophages. **Annual review of physiology**, v. 79, p. 593–617, 2017.

VAROL, C.; MILDNER, A.; JUNG, S. Macrophages: development and tissue specialization. **Annual review of immunology**, v. 33, p. 643–675, 2015.

VAROL, C.; MILDNER, A.; JUNG, S. Macrophages: development and tissue specialization. **Annual review of immunology**, v. 33, p. 643–675, 2015.

VERSINI, M. et al. Unraveling the Hygiene Hypothesis of helminthes and autoimmunity: origins, pathophysiology, and clinical applications. **BMC medicine**, v. 13, n. 1, 2015.

VITORINO, R.R. et al. Esquistossomose mansônica: diagnóstico, tratamento, epidemiologia, profilaxia e controle. **Rev Bras Clin Med**, v. 10, n. 1, p. 39-45, 2012.

VOIETA, I et al. Imaging techniques and histology in the evaluation of liver fibrosis in hepatosplenic schistosomiasis mansoni in Brazil: a comparative study. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 4, p. 399-401, 2010.

WANG, S. et al. Functions of macrophages in the maintenance of intestinal homeostasis. **Journal of Immunology Research**, v. 2019, 2019.

WANG, T. et al. Proteomic Analysis of the *Schistosoma mansoni* Miracidium. **PloS one**, v. 11, n. 1, 1 jan. 2016.

WANG, W.; WANG, L.; LIANG, Y.-S. Susceptibility or resistance of praziquantel in human schistosomiasis: a review. **Parasitology Research**, v. 111, n. 5, p. 1871-1877, 2012.

who.int/features/factfiles/schistosomiasis/en/HO, C.H. et al. Switched phenotypes of macrophages during the different stages of *Schistosoma japonicum* infection influenced the subsequent trends of immune responses. **J Microbiol Immunol Infect**, v. 55, n. 3, p. 503-526, 2022.

WICHMANN, D.; POPPERT, S.; VON THIEN, H.; et al. Prospective European-wide multicentre study on a blood based real-time PCR for the diagnosis of acute schistosomiasis. **BMC Infectious Diseases**, v. 13, p. 55, 2013.

WILSON, M. S.; MENTINK-KANE, M. M.; PESCE, J. T.; RAMALINGAM, T. R.; THOMPSON, R.; WYNN, T. A. Immunopathology of schistosomiasis. **Immunology and Cell Biology**, v. 85, n. 2, p. 148-154, 2007.

WINKEL, B. M. F.; DALENBERG, M. R.; DE KORNE, C. M.; FEIJT, C.; LANGENBERG, M. C. C.; PELGROM, L.; GANESH, M. S.; YAZDANBAKHS, M.; SMITS, H. H.; DE JONG, E. C.; EVERTS, B.; VAN LEEUWEN, F. W. B.; HOKKE, C. H.; ROESTENBERG, M. Early Induction of Human Regulatory Dermal Antigen Presenting Cells by Skin-Penetrating *Schistosoma mansoni* Cercariae. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 2510, 2018.

WOLDE, M. et al. Human monocytes/macrophage inflammatory cytokine changes following *in vivo* and *in vitro* *Schistosoma mansoni* infection. **Journal of Inflammation Research** 13, 35–43, 2020.

WOLMARANS, C. T.; DE KOCK, K. N.; STRAUSS, H. D.; BORNMAN, M. Daily emergence of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* cercariae from naturally infected snails under field conditions. **Journal of Helminthology**, vol. 76, n. 3, p. 273-277, 2002.

World Health Organization. [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2021 [cited 2021 Jul 20]. Available from: <https://www.who.int/>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals. **A global strategy on water, sanitation, and hygiene to combat neglected tropical diseases 2021–2030**. Geneva: World Health Organization, 2021.

WYNN, T. A.; CHAWLA, A.; POLLARD, J. W. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. **Nature** 2013 **496**:7446, v. 496, n. 7446, p. 445–455, 2013.

WYNN, T. A.; THOMPSON, R. W.; CHEEVER, A. W.; MENTINK-KANE, M. M. Immunopathogenesis of schistosomiasis. **Immunological Reviews**, vol. 201, p. 156–167, 2004.

XIA, C. M.; RONG, R.; LU, Z. X.; et al. *Schistosoma japonicum*: a PCR assay for the early detection and evaluation of treatment in a rabbit model. **Experimental Parasitology**, v. 121, n. 2, p. 175-179, 2009.

XIAO, S.-H.; SUN, J.; CHEN, M.-G. Pharmacological and immunological effects of praziquantel against *Schistosoma japonicum*: a scoping review of experimental studies. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 7, n. 1, p. 9, 2018.

XU, J. et al. *Schistosoma japonicum* infection induces macrophage polarization. **J Biomed Res**, v. 28, n. 4, p. 299-308, 2014.

XU, Z. J. et al. The M2 macrophage marker CD206: a novel prognostic indicator for acute myeloid leukemia. **Oncoimmunology**, 9, 1683347, 2019.

XUE, L.; GYLES, S. L.; WETTEY, F. R.; GAZI, L.; TOWNSEND, E.; HUNTER, M. G.; PETTIPHER, R. Prostaglandin D2 causes preferential induction of proinflammatory Th2 cytokine production through an action on chemoattractant receptor-like molecule expressed on Th2 cells. **The Journal of Immunology**, v. 175, p. 6531-6536, 2005.

YE, Z. et al. Galectins, Eosinophiles, and Macrophages May Contribute to *Schistosoma japonicum* Egg-Induced Immunopathology in a Mouse Model. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 146, 2020.

YOSHIKI, R.; KABASHIMA, K.; SUGITA, K.; ATARASHI, K.; SHIMAUCHI, T.; TOKURA, Y. IL-10-producing Langerhans cells and regulatory T cells are responsible for depressed contact hypersensitivity in grafted skin. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 129, n. 3, p. 705-713, 2009.

YOSHINO, T. P.; GOURBAL, B.; THÉRON, A. **Schistosoma sporocysts. In: Jamieson BGM, editor. Schistosoma: biology, pathology and control.** Boca Raton: CRC Press; 2017. pp. 118–148.

YU, J. M.; DE VLAS, S. J.; JIANG, Q. W.; et al. Comparison of the Kato-Katz technique, hatching test and indirect hemagglutination assay (IHA) for the diagnosis of *Schistosoma japonicum* infection in China. **Parasitology International**, v. 56, n. 1, p. 45-49, 2007.

YU, J. M.; DE VLAS, S. J.; YUAN, H. C.; GRYSEELS, B. Variations in fecal *Schistosoma japonicum* egg counts. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 59, n. 3, p. 370-375, 1998.

YUNNA, C. et al. Macrophage M1/M2 polarization. **European journal of pharmacology**, v. 877, 2020.

ZACCONE, P.; BURTON, O. T.; GIBBS, S.; MILLER, N.; JONES, F. M.; DUNNE, D. W.; COOKE, A. Immune modulation by *Schistosoma mansoni* antigens in NOD mice: effects on both innate and adaptive immune systems. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2010, p. 1-11, 2010.

ZHANG, J. M; AN, J. Cytokines, inflammation, and pain. **Int Anesthesiol Clin**, v. 45, n. 2, p. 27-37, 2007.

ZHANG, T. et al. Enzyme activity of *Schistosoma japonicum* cercarial elastase SjCE-2b ascertained by *in vitro* refolded recombinant protein. **Acta Tropica**, v. 187, p. 15–22, 2018.

ZHAO, Y. et al. The origins and homeostasis of monocytes and tissue-resident macrophages in physiological situation. **Journal of cellular physiology**, v. 233, n. 10, p. 6425–6439, 2018.

ZHENG, B. et al. T Lymphocyte-Mediated Liver Immunopathology of Schistosomiasis. **Frontiers in immunology**, v. 11, 18 fev. 2020.

ZHOU, Y. B.; YANG, M. X.; WANG, Q. Z.; et al. Field comparison of immunodiagnostic and parasitological techniques for the detection of *Schistosoma japonicum* in the People's Republic of China. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 76, n. 6, p. 1138-1143, 2007.

ZHOU, Y. B.; ZHENG, H. M.; JIANG, Q. W. A diagnostic challenge for Schistosomiasis japonica in China: consequences on praziquantel-based morbidity control. **Parasites & Vectors**, v. 4, n. 1, p. 194, 2011.

ZHU, J. et al. Parasitic antigens alter macrophage polarization during *Schistosoma japonicum* infection in mice. **Parasites and Vectors**, v. 7, n. 1, p. 1–9, 2014.

APÊNDICES

Apêndices A - Produções durante o doutorado (2019-2023)

ARTIGO COMO PRIMEIRA AUTORA:

1) LICÁ, I. C. L.; SOARES, A. M. S. ; FERREIRA, A. S ; PERALES, J. ; CUNHA, I. A. L. ; SOUZA, P. ; COSTA JUNIOR, L. M. . *In vitro* assessment of the efficacy of protein exudates from seeds against *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, v. 292, p. 109399, 2021.

ARTIGOS COMO CO-AUTORA:

1) NOGUEIRA, RANIELLY ARAUJO ; LIRA, MARIA GABRIELA SAMPAIO; LICÁ, IRLLA CORREIA LIMA ; FRAZÃO, GLEYCKA CRISTINE CARVALHO GOMES ; DOS SANTOS, VITOR AUGUSTO FERREIRA ; FILHO, ANTONIO CAMILO CORREIA MENDES ; RODRIGUES, JOÃO GUSTAVO MENDES ; MIRANDA, GUILHERME SILVA ; CARVALHO, RAFAEL CARDOSO; NASCIMENTO, FLÁVIA RAQUEL FERNANDES. Praziquantel: An update on the mechanism of its action against schistosomiasis and new therapeutic perspectives. ***Molecular and Biochemical Parasitology***, v. 252, p. 111531, 2022.

2) RODRIGUES, J. G. M.; LIRA, M. G. S.; NOGUEIRA, R. A.; GOMES, G. C. C.; LICÁ, I. C. L.; SILVA, J. K. A. O.; MIRANDA, G. S.; SILVA-SOUZA, N. Alterations in blood glucose concentration in wild rodents, *Holochilus sciureus*, naturally infected with *Schistosoma mansoni*. ***Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária***, v. 31, p. e021921, 2022.

3) RODRIGUES, J. G. M.; LIRA, M. G. S.; NOGUEIRA, R. A.; GOMES, G. C. C.; LICÁ, I. C. L.; VIEGAS-MELO, D.; TELES-REIS, A.; MIRANDA, G. S.; SILVA SOUZA, N. Effectiveness of a handmade shell-based substrate for the breeding of *Biomphalaria glabrata* under laboratory conditions. ***Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo***, v. 62, p. 1-6, 2020.

4) ALVES, R. R. S.; RODRIGUES, J. G. M.; TELES-REIS, A.; NOGUEIRA, R. A.; LICÁ, I. C. L.; LIRA, M. G. S.; ALVES, R. D. S.; SILVA-SOUZA, N.; ANDRADE, T.D. J. A. D.; MIRANDA, G. S. M. Antiparasitic effects of ethanolic extracts of *Piper arboreum* and *Jatropha gossypifolia* leaves on cercariae and adult worms of *Schistosoma mansoni*. **Parasitology**, v. 147, n.14, p. 1689-1699, 2020.

CAPÍTULOS DE LIVROS:

1) LICÁ, I. C. L.. **ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA DE PLANTAS SOBRE NEMATOIDES DE CAPRINOS: BREVE REVISÃO. ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA DE PLANTAS SOBRE NEMATOIDES DE CAPRINOS: BREVE REVISÃO.** 1ed.São Luís: Editora Pascal, 2022, v. 1, p. 26-35. D.O.I.: 10.29327/5144556.1-2

2) CARVALHO, B. M. M. MENDES FILHO, A. C. C. ; KOS, B. M. ; FERREIRA, L. P. ; RIBEIRO, R. F. S. ; LICÁ, I. C. L. ; NASCIMENTO, F. R. F. . **ESQUISTOSSOMOSE: AVANÇOS E PANORAMA DO BRASIL. Atualidades em parasitologia humana.** 1ed.Campina Grande: Editora Amplla, 2022, v. 1, p. 88-101.

Apêndice B – Artigo de parasitologia selecionado como Journal Paper of the Month

----- Forwarded message -----

De: **Derick Osakunor** <osakunor@gmail.com>

Date: seg., 3 de abr. de 2023 às 09:49

Subject: Parasitology article selected as Journal Paper of the Month

To: <flavia.nascimento@ufma.br>

Cc: Russell Stothard <russell.stothard@lstmed.ac.uk>

Dear Prof Nascimento

The editorial team at *Parasitology* would like to congratulate you, as your article (DOI: <https://doi.org/10.1017/S0031182023000021>), “Immunological mechanisms involved in macrophage activation and polarization in schistosomiasis” has been selected to be featured as a Paper of the Month. The editors, including the Editor-in-Chief (Dr. Stothard, in cc), feel that this paper is timely and deserves to be highlighted, as the role of the functional types of macrophages in different stages of schistosomiasis, until recently, has been unclear.

Parasitology would thus like to invite you to submit a blog post on this paper, **before 28 April, 2023**, to be published on the [Cambridge Core Blog](#), a widely-read and highly visible online resource. In addition, we will advertise the blog on our *Parasitology* social media accounts (@JnlParasitology). Please reply to this email by **14 April, 2023**, to let us know as to whether you would like to write the post.

Blog Post Guidelines

Blog posts should be approximately 300-500 words. However, if everything important can be written in less than this, or if a video is included, for example, then a shorter post is also appropriate.

We aim for a blog post that an educated person with no specific knowledge in the field could comprehend. A conversational blog style is best, as a less formal post is more likely to engage the audience. As an example, imagine explaining your work to a friend who doesn't work



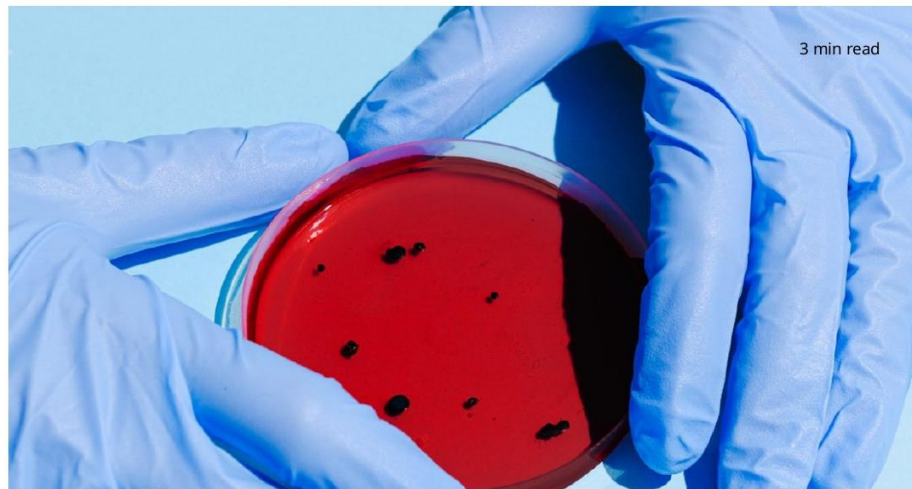
Apêndice C – Texto publicado Cambridge Core Blog

19/09/23, 22:02 Macrophages polarization and perspectives of immunotherapy in different stages of schistosomiasis « Global Health# « Cambr...

Cambridge **Core** blog



Macrophages polarization and perspectives of immunotherapy in different stages of schistosomiasis



Flávia Raquel Fernandes do Nascimento

(<https://www.cambridge.org/core/blog/author/flavia-raquel-fernandes-do-nascimento/>)

26 May 2023

Last update: 08/06/23 08:38



Privacidade - Termos de Utilização

<https://www.cambridge.org/core/blog/2023/05/26/macrophages-polarization-and-perspectives-of-immunotherapy-in-different-stages-of-schistosom...> 1/5



The latest Paper of the Month for *Parasitology* (<https://www.cambridge.org/core/journals/parasitology>) is "Immunological mechanisms involved in macrophage activation and polarization in schistosomiasis" (<https://www.cambridge.org/core/journals/parasitology/article/immunological-mechanisms-involved-in-macrophage-activation-and-polarization-in-schistosomiasis/E2F674F0E9737938C6F4C714D23481D4>)" and is freely available.

Schistosomiasis, caused by *Schistosoma* sp. parasite is a neglected infectious disease that affects over 200 million people worldwide, particularly those living in low-income areas with poor sanitary services. The parasite's life cycle includes the infected snails that release cercariae (larvae) into freshwater, which penetrate human skin. The larvae mature into adult worms in the human body, releasing eggs into the bloodstream to continue the life cycle. Symptoms of schistosomiasis range from mild to severe, including itchy skin, fever, cough, diarrhea, and hepatosplenomegaly. The formation of inflammatory lesions and granulomas around trapped parasite eggs determines the severity because they can cause tissue fibrosis. The only drug available for schistosomiasis is Praziquantel, which cannot revert fibrosis and possesses low efficacy against some strains of *Schistosoma*. Therefore, there is an urgent need to develop new therapeutic strategies, to overcome the effects of this disease.

Our recent publication entitled "Immunological mechanisms involved in macrophage activation and polarization in schistosomiasis" (<https://www.cambridge.org/core/journals/parasitology/article/immunological-mechanisms-involved-in-macrophage-activation-and-polarization-in-schistosomiasis/E2F674F0E9737938C6F4C714D23481D4>)," provided new insights into the role of macrophages in *S. mansoni* and *S. japonicum* infection and perspectives to use these cells as a target for new approaches using immunotherapy. Macrophages play a critical role in the body's response to infection. These cells can acquire different

phenotypes depending on the type of stimulus they receive. M1 macrophages are called 'classically activated' and exhibit a pro-inflammatory phenotype, while M2 macrophages or 'alternatively activated' are considered anti-inflammatory cells.

The polarization of macrophages into these two subtypes can dictate the severity of schistosomiasis; however, we still do not fully understand how these cells are activated during different stages of schistosomiasis. This knowledge gap may interfere with the development of immunotherapies for schistosomiasis. To address this issue, we conducted *in vitro* and *in vivo* studies that investigated the participation of macrophages in schistosomiasis.

Our results demonstrated that activation and polarization of M1 and M2 macrophages depend on antigenic stimulus derived from different evolutive forms of *S. mansoni* and *S. japonicum*. Specifically, we observed that antigens derived from cercariae, schistosomula, and adult worms induced the M1 profile. In contrast, egg antigens predominantly induce the M2 profile. On the other hand, data related to adult worms remains controversial and indicates that antigens derived from this form can induce both M1 and M2 profiles. Thus, our findings suggest that the polarization of M1 and M2 macrophages depends on the stage of infection since M1 macrophages are more predominant in the early stages and M2 macrophages are more abundant in the later stages.

The mechanisms involved in macrophage M1/M2 polarization during schistosomiasis is relevant and complex. The role of *S. japonicum* and *S. mansoni* antigens in this process is crucial, as they have immunomodulatory effects in different phases of the disease and may be a therapeutic target, especially in the chronic phase. In addition, the combination of different schistosome antigens can enhance host protection due to the stimulation of an adequate immune response, including activation of either an M1 or M2 profile. These findings provide a promising clue for further research on using macrophages in immunotherapy for schistosomiasis.

ANEXOS

Anexo A – Comitê de Ética Animal (CEUA)

	UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA CIAEP: 02.0341.2019							
		Comissão de Ética no Uso de Animais						
<u>C E R T I F I C A D O</u>								
09/2020								
Certificamos que a proposta intitulada: "INVESTIGAÇÃO PARASITOLÓGICA E IMUNOLÓGICA EM CAMUNDONGOS INFECTADOS POR <i>Schistosoma mansoni</i> SAMBON, 1907", Processo n. 23115.002254/2020-18, sob a responsabilidade do Profa. Dra. Flávia Raquel Fernandes do Nascimento, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado APROVADO pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UFMA) da Universidade Federal do Maranhão, na reunião realizada em 21/02/2020.								
We certify that the proposal: "PARASITOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL INVESTIGATION IN INFECTED MICE BY <i>Schistosoma mansoni</i> SAMBON, 1907", Process n. 23115.002254/2020-18, under the responsibility of Prof. Dr. Flávia Raquel Fernandes do Nascimento, which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, sub phylum Vertebrata (except humans beings) for scientific research purposes (or teaching) - is in accordance with Law No. 11.794, of October 8, 2008, Decree No. 6.899, of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was APPROVED by the Ethics Committee on Animals Use of the Federal University of Maranhão (CEUA - UFMA), in meeting of 02/21/2020.								
Finalidade da Proposta: Pesquisa Área: Ciências da Saúde								
Vigência da Proposta: 01/08/2020 à 01/08/2024.								
Origem	Biotério Central da Universidade Federal do Maranhão							
Espécie	Camundongos <i>Mus musculus</i>	<table border="0"> <tr> <td>Sexo</td> <td>Macho</td> </tr> <tr> <td>Idade</td> <td>60 a 90 dias</td> </tr> <tr> <td>Peso</td> <td>20-25g</td> </tr> </table>	Sexo	Macho	Idade	60 a 90 dias	Peso	20-25g
Sexo	Macho							
Idade	60 a 90 dias							
Peso	20-25g							
		Amostra						
		316						
Linhagem/Raça: Swiss								
Local do experimento: Biotério Setorial da Pós-Graduação do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - CCBS/UFMA.								
São Luís, 28 de abril de 2020.								
 Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho Presidente da Comissão de Ética no uso de Animais - CEUA/UFMA								