






## Sistemas colinérgicos neuronales y no-neuronales en infecciones parasitarias. Revisión sistemática y metaanálisis

### *(Neuronal and non-neuronal cholinergic systems in parasitic infections. Systematic review and meta-analysis).*

José Ramón Vielma-Guevara <sup>1,2</sup>  , Juana del Carmen Villarreal-Andrade <sup>3</sup> 

<sup>1</sup> Hospital Clínico, Maracaibo, estado Zulia

<sup>2</sup> Laboratorio de Análisis Químico (LAQUNESUR), Universidad Nacional Experimental Sur del Lago “Jesús María Semprum” (UNESUR), Santa Bárbara de Zulia, estado Zulia.

<sup>3</sup> Escuela Técnica Agropecuaria Robinsoniana Nacional “Mesa Cerrera”, Timotes, estado Mérida, Venezuela.

Recibido: 08 de Mayo de 2022

Aceptado: 05 Julio de 2022

Publicado online: 27 de Julio de 2022

[REVISIÓN]

PII: S2477-9369(22)11002-R

#### Resumen(español)

Para destacar el papel de los sistemas colinérgicos neuronales y no neuronales en las infecciones por parásitos de interés humano y veterinario, se realizó una revisión sistemática y metaanálisis consistente con una búsqueda documental en las bases de datos PubMed, Google Scholar y Scielo, con combinaciones de palabras claves en inglés y español, sin restricciones de tiempo, en base a un esquema expositivo. Un total de 40.538 documentos fueron encontrados, y solo 67 fueron incluidos de acuerdo a los criterios de selección definidos. Para el metaanálisis seleccionamos 7 artículos originales a fin de evaluar la efectividad preliminar de las vacunas con el uso del paquete MAVIS. Desde los experimentos de Otto Loewi en 1921, nuestro conocimiento sobre los sistemas colinérgicos neuronales y no neuronales se ha incrementado considerablemente. En infecciones por protozoarios el efecto inmunomodulador de estos microorganismos afectan la liberación de acetilcolina y promueven el establecimiento de respuestas de células Th1 en infecciones por *Trypanosoma cruzi*. En *T. equiperdum* se ha podido establecer una “hipótesis del calcio” para los receptores nicotínicos colinérgicos. En *Schistosoma haematobium*, la existencia de componentes de un sistema colinérgico no neuronal, permite postular una hipótesis para la “ingesta de glucosa”. Al tener conocimientos detallados de los efectos sobre los sistemas colinérgicos neuronales y no neuronales del hospedador en protozoos y establecer el papel de los sistemas colinérgicos no neuronales en metazoarios, se pueden explotar como blancos potenciales para el desarrollo de nuevas drogas y para obtener candidatos para vacunas en las infecciones parasitarias.

#### Palabrasclave(español)

*Sistemas colinérgicos neuronales, Sistemas colinérgicos no neuronales, infecciones parasitarias, protozoarios, metazoarios, acetilcolina, receptores nicotínicos.*

## Abstract(english)

To aim the role of neuronal and non-neuronal cholinergic systems in infections by parasites of human and veterinary interest, a systematic review and meta-analysis was carried out, consisting of a documentary search in the PubMed, Google Scholar and Scielo databases, with combinations of keywords in English and Spanish, without time restrictions, based on an expository scheme. A total of 40,538 documents were found, and only 67 were included according to the defined selection criteria. For the meta-analysis, we selected 7 original articles in order to evaluate the preliminary effectiveness of the vaccines using the MAVIS package. Since Otto Loewi's experiments in 1921, our knowledge of neuronal and non-neuronal cholinergic systems has increased considerably. In protozoan infections, the immunomodulatory effect of these microorganisms affects the release of acetylcholine and promotes the establishment of Th1 cell responses in *Trypanosoma cruzi* infections. In *T. equiperdum* it has been possible to establish a "calcium hypothesis" for cholinergic nicotinic receptors. In *Schistosoma haematobium*, the existence of components of a non-neuronal cholinergic system allows us to postulate a hypothesis for "glucose intake". By gaining detailed insights into the effects on host neuronal and non-neuronal cholinergic systems in protozoa and establishing the role of non-neuronal cholinergic systems in metazoans, they can be exploited as potential targets for new drug development and vaccine candidates in parasitic infections.

## Keywords(english)

Neuronal cholinergic systems, Non-neuronal cholinergic systems, parasitic infections, protozoans, metazoans, acetylcholine, nicotinic receptors.

## Introducción

Para la realización de la revisión se ejecutó una búsqueda de información en las bases de datos: PubMed, Scielo y Google Scholar con las siguientes frases: Acetylcholinesterase parasites, vaccine acetylcholinesterase parasites, nicotinic receptors parasites, muscarinic receptor parasites and acetylcholine parasites, sin restricciones de tiempo y en idioma inglés para PubMed y Google Scholar. Se utilizaron estas mismas palabras claves en inglés y español para la base de datos Scielo. Un total de 40.538 documentos fueron identificados preliminarmente: 7.444 derivaron de PubMed, 5 de Scielo y 33.089 de Google Scholar. Los estudios que cumplieron con los siguientes criterios fueron seleccionados para una lectura rápida inicial: a) revisiones sistemáticas sobre los sistemas colinérgicos neuronales (NCS) y sistemas colinérgicos no neuronales (NNCS) en infecciones por parásitos, b) trabajos originales sobre la caracterización bioquímica total o parcial de los componentes de estos sistemas, c) estudios clínicos descriptivos, comparativos con grupo control, sobre el efecto de los tratamientos basados en los NCS y NNCS en estos organismos, d) estudios analíticos de asignación aleatoria, para evaluar la eficacia provisional de potenciales vacunas, e) estudios en animales de

experimentación, f) referencias claves de los estudios seleccionados.

Para evaluar la calidad metodológica de los estudios clínicos se utilizaron las escalas de evidencia de Sackett y la lista de criterios de Sniekers para analizar la calidad de los estudios en animales. Utilizamos la lectura rápida de títulos y resúmenes para eliminar los artículos no relacionados con el esquema expositivo propuesto, eliminando más del 99% de los trabajos. Un total de 203 trabajos cumplieron los criterios de validación. Para la redacción del manuscrito final solo 67 referencias fueron incluidas.

A fin de evaluar la eficacia de las vacunas que utilizan como inmunógenos componentes de los NCS y NNCS, se realizó un metaanálisis con 7 publicaciones que cumplieron con los criterios de inclusión: realización de los ensayos de reto con la inclusión de grupos de prueba, controles no vacunados, animales tratados solo con adyuvantes, evaluación de reducción de carga parasitaria, número de huevos (ovipostura), niveles de inmunoglobulinas, ensayos de viabilidad, respuesta de citocinas, vías de administración de las vacunas, con la ayuda del paquete MAVIS (Meta-analysis via Shiny) <http://kylehamilton.net/shiny/MAVIS/>

El sistema nervioso autónomo o neurovegetativo de los mamíferos posee dos ramas: una simpática y otra parasimpática. Este sistema ayuda a controlar la presión arterial, la motilidad y secreción digestiva, la emisión urinaria, el sudor y la temperatura corporal, entre otras funciones. Las terminaciones nerviosas simpáticas y parasimpáticas secretan uno de los dos siguientes neurotransmisores: la acetilcolina (ACh) o la noradrenalina. Las primeras terminaciones nerviosas se denominan colinérgicas y las segundas adrenérgicas. En la rama parasimpática, tanto las neuronas pre como las posganglionares son colinérgicas, siendo la ACh uno de los neurotransmisores excitatorios mejor caracterizados (1-4).

Para referir un sistema colinérgico neuronal (NCS), incluiríamos al neurotransmisor ACh, a las enzimas acetiltransferasa de colina (AChT) y a la esterasa de acetilcolina (AChE) y finalmente a los receptores nicotínicos (nAChRs) y muscarínicos (mAChRs). El primer grupo de receptores son canales iónicos y el segundo grupo, son estructuralmente más complejos y se conocen como receptores muscarínicos metabotrópicos. Los receptores muscarínicos poseen una estructura típica, consistente en siete dominios transmembranales y están acoplados a las proteínas G (excitatorias o inhibitorias) (5-6).

Sin embargo, en otros tipos celulares diferentes a las neuronas, son descritos de forma total o parcialmente elementos de un sistema colinérgico no neuronal (NNCS) (2-3). El mejor caracterizado de éstos se ubica en los cardiomiocitos del humano (4). El NNCS también posee elementos característicos como el receptor nicotínico nAChR $\alpha$ 7, expresado en alta proporción en los macrófagos (5-6).

Las infecciones por parásitos representan una de las mayores causas de morbimortalidad a nivel mundial con la malaria, esquistosomosis, enfermedad de Chagas, toxoplasmosis, leishmaniosis, filariasis y parasitosis intestinales como la amibiosis, criptosporidiosis y ciclosporiasis, entre las más destacadas (7-13). Ahora bien, existen vínculos entre los NCS y los NNCS y las infecciones parasitarias. Desde el punto de vista fisiológico, el sistema nervioso entérico

(donde están incluidos los NCS y NNCS) del hospedador buscan la expulsión de los metazoarios (14). En relación a los parásitos, éstos buscan modular, interferir o controlar los NCS y NNCS del hospedador para su beneficio (15). Es importante conocer ¿cómo hacen los parásitos para modular éstos dos sistemas? y si existen diferencias entre los sistemas NCS y NNCS de los parásitos y de los humanos; entonces, los primeros podrían constituir blancos para el desarrollo de vacunas y fármacos con fines curativos (16-17).

Mediante estudios de los conectomas en *Caenorhabditis elegans* se ha podido inferir entre otras particularidades, un cambio del neurotransmisor glutamato hasta ACh, relacionado al dimorfismo sexual, en neuronas de asociación y más interesante aún, en este helminto, a diferencia de lo observado en seres humanos, la ACh funciona como un neurotransmisor inhibitorio (18). *C. elegans* no es infeccioso para los seres humanos. Sin embargo, nos ayuda a ilustrar la complejidad funcional de los sistemas colinérgicos en éstos parásitos.

En *Trypanosoma evansi* se logró la caracterización farmacológica parcial de los receptores nicotínicos (19) y la ubicación subcelular de la AChE mediante estrategias de centrifugación diferencial y en gradiente isopícnico (sacarosa) y de microscopía de láser con focal, logrando determinar su presencia en los glicosomas del Trypanosomatidae (20). Estos dos últimos trabajos fueron realizados con la cepa TEVA del protozoario, reclasificada en estudios posteriores como *Trypanosoma equiperdum*. En *Schistosoma haematobium* la secuenciación del gen que codifica para la AChE, experimentos de inmunolocalización, la expresión de la enzima en oocitos de *Xenopus laevis*, y los estudios inhibición enzimática, permitieron plantear la hipótesis que esta vía media la captura de glucosa desde el hospedador hasta el parásito, con el objeto de metabolizarla (21-22). En contraposición, lo que se plantea para *Trypanosoma* sobre la posible función de la AChE del parásito (y de los receptores nicotínicos), sería su relación con el metabolismo del calcio, regulando el ingreso exógeno del catión hasta los depósitos intracelulares en el Kinetoplastidae (19-20). Estos dos modelos hacen

pensar en excelentes blancos para el desarrollo de fármacos con potencial curativo en enfermedades humanas y de équidos.

El trabajo de Jones y col., 2002 (21) señala aspectos importantes con respecto a las similitudes estructurales de la AChE de *S. haematobium* y de los mamíferos: la triada catalítica, es decir, los seis residuos de cisteína, los tres enlaces puentes disulfuro intramoleculares y los residuos aromáticos alineados en el centro catalítico. En este sentido, existen dos alternativas quimioterapéuticas posibles: La primera, implicaría interferir con la vía tanto del hospedador como la del parásito. La segunda (con un enfoque más racional), involucraría la caracterización molecular completa de las vías en los parásitos (enzimas y receptores) y luego explotarlas, mediante el diseño y posterior uso de drogas dirigidas solo a las vías del agente infeccioso (tomando en cuenta dichas diferencias estructurales), porque esto supondría interferir con funciones vitales como el transporte de la glucosa o del calcio (19-22). Estas aproximaciones serían válidas para otros agentes infecciosos no parasitarios, cáncer y enfermedades neurodegenerativas (23). Por último, el desarrollo de vacunas basado en los sistemas colinérgicos ha sido abordado con éxito en los modelos experimentales de infección por *Nippostrongylus brasiliensis* y *Schistosoma* spp. (15, 24).

El objetivo de la presente revisión es describir los NCS y NNCS en las infecciones por parásitos de interés clínico humano y veterinario, y su posible uso como blancos para desarrollos quimioterapéuticos y de vacunas

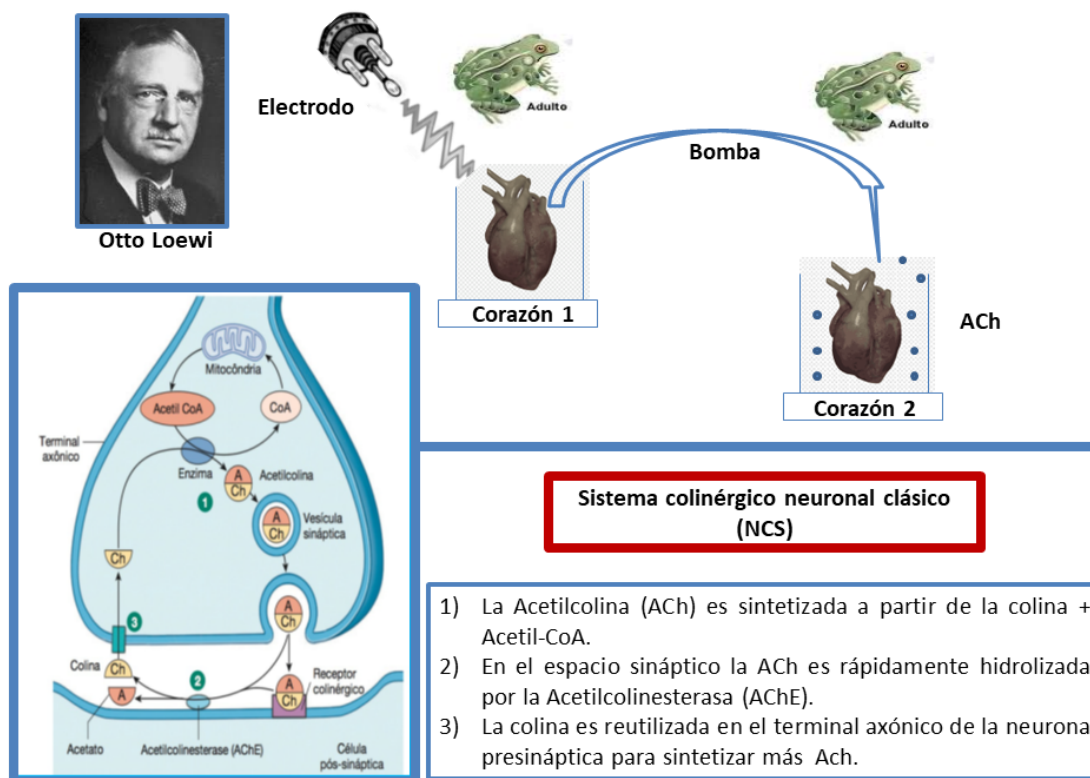
### Sistemas colinérgicos y su estructura química

La ACh fue el primer neurotransmisor en ser caracterizado. Ocurrió en el año 1921 cuando el médico alemán Otto Loewi logró demostrar la existencia de una sustancia, a la que denominó "vagusstoff", que disminuía la frecuencia de los latidos del corazón de rana. Dispuso, previa disección, de dos corazones de anfibios aislados y perfundidos con solución de Ringer o solución salina, uno de los cuales contenía el nervio vago. Luego estimuló el nervio vago eléctricamente y

observó el enlentecimiento de los latidos del corazón, y en una ingeniosa manera de demostrar que esto se debía a la sustancia "vagusstoff", bañó al segundo corazón con dicha sustancia y observó el mismo fenómeno, concluyendo que en la sinapsis del primer corazón era liberada vía nervio vago, un compuesto, que provocaba una respuesta en la musculatura del segundo corazón (figura 1) (25).

La ACh ( $\text{CH}_3\text{-CO-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N-(CH}_3)_3$ ) es un éter del ácido acético y la colina, formado a partir de la Acetil Coenzima A (Acetil CoA), un intermediario del catabolismo de la glucosa y de los ácidos grasos, y de la colina, en una reacción catalizada por la AChT (EC 2.3.1.6) en el citosol de las neuronas. La enzima AChT se expresa en las neuronas colinérgicas, en la mayoría de las neuronas en el núcleo basal de Meynert, las grandes neuronas del cuerpo estriado (putamen y núcleo caudado), la mayoría de las neuronas del núcleo pedunculopontino, el núcleo hipogloso, el núcleo dorsal del nervio vago y subgrupos de neuronas en el núcleo olivar accesorio medial. Las vesículas sinápticas incorporan y concentran ACh a partir del citosol en contra de un gradiente de concentración, utilizando un sistema antiportador  $\text{H}^+/\text{ACh}$ , ubicado en la membrana de la vesícula. El gen que codifica este antiportador está contenido dentro del primer intrón del gen que codifica la AChT, para coordinar la expresión de ambas proteínas (26).

En los terminales nerviosos colinérgicos, la AChT existe en al menos dos isoformas: la primera es soluble y la segunda está unida a la membrana mediante interacciones no iónicas. Varias moléculas del ARNm de la AChT (designadas como tipos R, N y M) se transcriben a partir de tres regiones promotoras diferentes y se producen por diferentes empalmes alternativos en las regiones 5' no codificantes en el ADN del ratón, la rata y del humano (26). Existen diferencias en la ubicación subcelular de las dos enzimas involucradas en la síntesis y la degradación de la acetilcolina: así la AChT (síntesis) está concentrada en mayor



**Figura 1.** Experimento clásico de Otto Loewi y papel fisiológico de la acetilcolina. El premio Nobel de fisiología fue concedido en 1936 a Otto Loewi y Henry Dale por sus descubrimientos sobre la transmisión química de los impulsos nerviosos. Loewi dedujo que una sustancia química liberada por las terminaciones nerviosas del nervio vago (la ACh), que se disolvía en solución salina, era la responsable de la inhibición (disminución de los latidos del corazón de rana). Loewi repitió los experimentos para comprobar si los nervios del sistema nervioso simpático, que aceleraban el latido cardíaco, funcionaban igual. Imágen tomada y modificada de: <https://escolaeducacao.com.br/acetilcolina/>

proporción en la fracción sinaptosomal, mientras que la AChE (EC 3.1.1.7) (degradación) está asociada a la membrana celular. Casi toda la AChT aislada a partir de fracciones sinaptosómicas existe en forma libre y es esta la enzima que caracteriza a las neuronas colinérgicas; en cambio, la AChE está contenida en todas las neuronas colinérgicas y colinoceptivas (27).

La AChE, es una hidrolasa de la serina, también catalogada como esterasa de tipo B, que se encarga de escindir la ACh hasta colina y acetato. Mediante el empleo de técnicas de simulaciones de dinámica molecular, el grupo de Zhou y col., en el año 2010 (28) caracterizaron el mecanismo de la hidrólisis del neurotransmisor ACh en las terminales sinápticas colinérgicas, determinando los valores de variación de energía libre de Gibbs ( $\Delta G$ ) de cada uno de los pasos de la

reacción. Tanto en las etapas de la reacción de acilación, como en la de desacilación, el primer paso implica el ataque nucleofílico al carbono carbonílico con la tríada catalítica y el residuo de histidina en la posición 477 (His447), que sirve como base general, y conduce a la formación de un intermediario covalente tetraédrico, estabilizado por el orificio del oxi-anión. Desde el paso de formación del intermediario hasta el producto final, la orientación del anillo His447 necesita ajustarse muy ligeramente, y luego el protón ( $H^+$ ) se transfiere de la His447 hasta el producto y la ruptura del enlace escindible ocurre espontáneamente.

**Ubicuidad e importancia clínica de los sistemas colinérgicos**

La AChE se localiza principalmente en los eritrocitos y en las hendiduras neuronales y musculares de las sinapsis colinérgicas. La inhibición de la AChE es relevante en las enfermedades neurodegenerativas de gran impacto en salud colectiva como la enfermedad de Alzheimer, miastenia gravis y trastornos de los ojos como el glaucoma (29).

Los nAChRs pertenecen a una superfamilia de proteínas reguladas por ligandos del tipo “Cys-loop”, que responden a la ACh endógena y a otros ligandos de naturaleza colinérgica. Los nAChRs no neuronales se encuentran en las células endoteliales, las glías, las células inmunitarias (macrófagos), las células del epitelio pulmonar y aún en las células cancerosas, en las que regulan la diferenciación celular, la proliferación y las respuestas inflamatorias (2).

Estructuralmente, los nAChRs se componen de cinco subunidades dispuestas alrededor de un poro hidrofílico. Las subunidades de las neuronas se dividen en varios grupos: con arreglos de subunidades alfa ( $\alpha 2$ - $\alpha 7$ ,  $\alpha 9$  y  $\alpha 10$ ) y subunidades beta ( $\beta 2$ - $\beta 4$ ). Gran parte de la diversidad estructural y funcional de nAChRs surge de las múltiples posibles combinaciones de estas subunidades. En tal sentido, se describen 3 grupos para las subunidades neuronales designados como: I ( $\alpha 9$ ,  $\alpha 10$ ), II ( $\alpha 7$ ,  $\alpha 8$ ) y III. Este grupo posee a su vez tres subgrupos designados como 1 ( $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$ ,  $\alpha 6$ ), 2 ( $\beta 2$ ,  $\beta 4$ ) y tres ( $\beta 3$ ,  $\alpha 5$ ). En el caso de las subunidades del músculo se describe el tipo IV, donde se pueden encontrar otras subunidades distintas a  $\alpha$  o  $\beta$  ( $\alpha 1$ ,  $\beta 1$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$ ), lo cual representa un total de 17 subunidades de los nAChRs descritas hasta el presente (30). El objetivo de estos complejos oligoméricos es convertir una señal química (ligando) hasta un flujo iónico a partir de la membrana o densidad pos-sináptica.

#### **Funciones generales de los sistemas colinérgicos no neuronales**

Algunas de las funciones descritas incluyen:

a) Contribuyen a la resistencia a los corticosteroides en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (31).

b) La respuesta al flujo de calcio mediado por el endotelio vascular se debe a una acción autocrina de la ACh no neuronal, liberada por el propio endotelio (32).

c) Regulan la esqueletogénesis en embriones de pollo. En este proceso existen mecanismos dependientes e independientes de la ACh (33).

d) En ratones, el NNCS cardiaco es el responsable de la resistencia a la isquemia o a la hipoxia, vía la modulación del metabolismo energético celular y la angiogénesis. Oikawa y col., en 2016 (34) señalaron la hipótesis que la activación del NNCS cardiaco modifica al sistema nervioso central para generar una mayor resistencia al estrés, a partir de la actividad del nervio vago.

e) La ACh polariza a las células dendríticas hasta la promoción de un perfil de células Th2 (35). En términos más sencillos, posee un papel antiinflamatorio.

f) Pickett y col., en 2017 (36) informaron que la AChE se requiere específicamente en el tejido endodérmico del intestino, donde media la adhesión a la fibronectina y regula los eventos de reordenamiento celular que impulsan el alargamiento intestinal y la morfogénesis epitelial digestiva. En particular, la actividad esterasa clásica de la AChE es prescindible en este proceso.

g) Los NNCS regulan la fagocitosis en los macrófagos vía sistemas de señalización múltiples incluyendo a la dinamina-2 y a JAK/STAT 3. Los NNCS pueden suprimir señales anti-apoptóticas como la interacción del CD47 y la proteína reguladora de señal alfa entre los macrófagos y las células cancerosas. En contraposición, los NNCS pueden inducir señales apoptóticas como la translocación de la calreticulina a partir del retículo endoplásmico hasta la superficie celular en las células blanco. Lo anterior lógicamente hace pensar que la modulación farmacológica de los NNCS representa un nuevo y promisorio concepto en materia de prevención del cáncer y las terapias de las enfermedades infecciosas y no infecciosas (37).

h) En seres humanos, los NNCS participan en el metabolismo de la glucosa. Hay evidencias del papel del receptor muscarínico M3 (M3

mAChR), localizado sobre las células beta del páncreas, en la promoción de la secreción de la insulina y compromiso en la tolerancia a la glucosa. Las células alfa del páncreas humano sintetizan y liberan ACh en respuesta a un nivel reducido de glucosa (38).

### NCS y NNCS en infecciones por protozoarios

**Efecto de los protozoarios sobre el sistema colinérgico del hospedador.** *Trypanosoma cruzi* es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas, una zoonosis característica del continente americano desde la frontera de los Estados Unidos-México hasta Argentina, la cual compromete de 16 a 18 millones de personas en todo el mundo por la gran cantidad de inmigrantes que viajan a zonas sin reportes previos de infecciones por *T. cruzi*. La transmisión en áreas endémicas es principalmente vectorial, a través de un insecto de hábitos hematófagos,

perteneciente a la familia Reduviidae con los géneros *Pastronylus*, *Triatoma* y *Rhodnius* como principales vectores biológicos del parásito. La transmisión (en áreas no endémicas) también ocurre a través de transfusiones sanguíneas, porque los inmigrantes procedentes de países en desarrollo venden su sangre y hemoderivados para poder subsistir y generalmente en los bancos de sangre de países desarrollados como Japón, Canadá y los Estados Unidos no se realizan tamizajes en búsqueda de anticuerpos anti-*T. cruzi*. En países con transmisión vectorial activa, como Venezuela, se ha reportado la transmisión oral, con un curso agudo en pacientes que ingieren alimentos contaminados con las excretas del vector (39).

La enfermedad de Chagas presenta varias fases: una fase aguda caracterizada por elevados títulos de IgM sérica en pacientes infectados por *T. cruzi*. Desde el punto de vista clínico puede presentarse: fiebre, linfadenopatías, malestar

**Tabla 1.** Efecto de la infección por protozoarios sobre el NCS y NNCS del hospedador.

Parásito	Modelo de estudio	Efecto sobre el sistema colinérgico	Observaciones	Ref.
<i>Trypanosoma cruzi</i> (Cepa Romildo)	Ratón C57BL/6J	Disminución de la ACh.	El tratamiento con bromuro de piridostigmina dirige la respuesta inmune del hospedador hacia un perfil Th2.	41
<i>Trypanosoma cruzi</i> (Cepa Y)	Ratón Swiss	Aumento de la actividad AChE en los linfocitos y disminución de la actividad AChE en sangre total y cerebro	Los niveles del neurotransmisor ACh se encontraron incrementados en el grupo de estudio al compararse con el control. Estos hallazgos refuerzan la hipótesis que las colinesterasas pueden tener características pro-inflamatorias o antiinflamatorias durante el curso de la infección por <i>T. cruzi</i> .	43
<i>Rangelia vitalii</i>	Perros	Aumento de la actividad AChE en sangre total, disminución de AChE en linfocitos.	Existe una reducción en la actividad de la butirilcolinesterasa (BChE) en el suero, la cual ocurre posiblemente como consecuencia del daño hepático.	44
<i>Trypanosoma cruzi</i> (Cepa Berenice)	Perros	En la fase aguda de la enfermedad de Chagas existe compromiso de las fibras nerviosas colinérgicas.	A los 34 días de infección aguda experimental se observó una rarefacción de moderada a intensa en fibras nerviosas adrenérgicas y colinérgicas en el atrio de todos los animales, lo cual coincide con la miocarditis.	45
<i>Entamoeba histolytica</i> HM1:IMSS	Hámster	La ACh mejoró la patogenicidad del parásito al regular diversos factores de virulencia.	El tratamiento con ACh aumentó la expresión de subunidad pesada de lectina L220, Gal/GalNAc (170 kDa), ameboporo C, cisteína proteasa 2 (ehcp-a2) y la cisteína proteasa 5 (ehcp-a5)	46
<i>Toxoplasma gondii</i> (Cepa Tehran)	Ratones BALB/c	La infección por <i>T. gondii</i> a través del aumento de AChE reduce el nivel de acetilcolina (ACh) y, en consecuencia, afecta la actividad de aprendizaje y memoria en los hospedadores infectados.	La administración del donepezil, como inhibidor de AChE, mejora estas deficiencias al restaurar los niveles de ACh en las sinapsis de las neuronas en el cerebro.	47

ACh = Acetilcolina, AChE = Acetilcolinesterasa, Ref = referencias.

general, dolor de cabeza, pápulas en la piel (chagoma de inoculación), edema palpebral con adenopatías satélites (signo de Romaña), además de náuseas, diarreas y vómitos (40). Entre la fase aguda y la fase crónica, diferentes autores describen una fase indeterminada, caracterizada por la ausencia de signos y síntomas sugestivos de la infección. No obstante, en algunos pacientes, entre los dos y cuatro meses desde su infección pueden presentarse: aumento de tamaño de los ganglios linfáticos, erupciones cutáneas, fiebre, dolor de cabeza, entre otros. De acuerdo a la sospecha epidemiológica (procedencia del paciente) y a los signos y síntomas, las pruebas de diagnóstico, orientan al clínico sobre la etiología. La última fase es la crónica, caracterizada por elevados títulos de IgG sérica y signos y síntomas que pueden incluir: dolor estomacal o estreñimiento debido al agrandamiento del colon, latidos irregulares del corazón, insuficiencia cardíaca, paro cardíaco repentino, dificultad para tragar debido al agrandamiento del esófago, complicaciones neurológicas, entre otros (40).

En el modelo de infección crónica de la enfermedad de Chagas utilizando ratones C57BL/6J, infectados con la cepa Romildo de *T. cruzi*, se estudió el efecto del bromuro de piridostigmina (un agente anti-colinesterasa). Se evidenció una reducción significativa de la infiltración inflamatoria, fibrosis e hipertrofia miocárdica, con disminución en los niveles séricos de interferón gamma (INF- $\gamma$ ), sin cambios en los niveles de interleucina-10 (IL-10), sugiriendo un cambio de respuesta inmune hacia un perfil Th2 (anti-inflamatorio) en los ratones infectados, al ser comparados con ratones no infectados (controles). De igual forma, con el empleo de la PCR, un bajo número de copias de ADN del parásito fue obtenido tanto en los ratones tratados como controles. Dicho efecto esta en concordancia con la hipótesis previa que postula que *T. cruzi* logra modular la respuesta inmune del hospedador hacia un perfil de interleucinas tipo Th1 (pro-inflamatorio) y esto conduce a inflamación y destrucción de los cardiomiocitos, a través del sistema colinérgico del hospedador, disminuyendo los niveles de la ACh. Uno de los aspectos más resaltantes de este diseño es tener

en cuenta el tipo de cepa empleada, ya que es muy importante por el viscerotropismo diferencial de éstas hacia el corazón, otras hacia el intestino y otras hacia el sistema nervioso central. Así como también la diferencia entre los múltiples factores de virulencia de cada aislado/cepa del parásito, y tener en cuenta que la patología de la fase crónica en la enfermedad de Chagas implica diferentes mecanismos: autoinmunidad, persistencia parasitaria, denervación, teoría inmunogénica o el razonamiento más plausible, un inter-juego dinámico entre diferentes teorías o postulados; sin embargo, hoy día el debate es abierto y es terreno fértil en materia de investigación (41-42). La tabla 1 (41, 43-47) presenta diferentes efectos de los protozoos sobre el sistema colinérgico de su hospedador.

La cepa Y de *T. cruzi* es muy virulenta y evidencia un marcado viscerotropismo por el sistema nervioso central. En un elegante diseño experimental el grupo de Silva y col., en el año 2017 (43) evidenciaron cambios en el NCS y NNCS de ratones Swiss infectados experimentalmente. El periodo de sus observaciones a 6 y 12 días pos-infección cubre la fase aguda de la enfermedad de Chagas. Algunos de los cambios en los biomarcadores del NCS y NNCS del hospedador son descritos en la tabla 1. El pico de la parasitemia se obtuvo a los 7 días, inoculando por vía intraperitoneal con 10.000 tripomastigotes. El recuento parasitario se realizó cada dos días. En el tejido cerebral se evidenció aumento en los niveles de óxido nítrico de los ratones infectados a los 6 y 12 días pos-infección. De igual forma un incremento en los niveles de mieloperoxidasa cerebral fue evidenciado solo a los 12 días pos-infección. Desde el punto de vista histopatológico en el corazón, hubo presencia de múltiples pseudoquistes que contenían amastigotes dentro de los cardiomiocitos, extensa necrosis focalizada, asociada con un infiltrado inflamatorio de moderado a severo a predominio linfocitario. En el tejido cerebral hubo presencia de un ligero infiltrado linfoplasmocítico focalizado en las meninges.

De los últimos resultados expuestos y de los del grupo de Cuba y col., 2014 (41) encontramos que el efecto de *T. cruzi* sobre el NCS



y NNCS del hospedador es variable y complejo, no existiendo una forma simplista de explicarlo, a la luz de la afirmación que sostiene que la ACh es capaz de inhibir la proliferación de ciertas citocinas, del óxido nítrico y de las enzimas lisosomales, los cuales son todos mediadores claves de los procesos inflamatorios (41, 43).

**¿Cómo se explican los mecanismos de daño inducido por *T. cruzi* en pacientes chagásicos sobre el NCS y NNCS?** Diferentes trabajos evidencian la presencia de anticuerpos (IgG) contra receptores acoplados a proteína G cardíaca en sueros de pacientes chagásicos crónicos y otras cardiomiopatías no parasitarias, pero los efectos y el mecanismo subyacente de interacción entre estos anticuerpos y los cardiomiocitos no están completamente establecidos. Para abordar este punto, el grupo de Quintero-Hernández y col., en 2002 (48) demostraron la unión de anticuerpos purificados a partir de sueros de pacientes chagásicos crónicos con cardiomiopatía (CChP) y derivados de donantes de sangre normales hasta los receptores de acetilcolina muscarínicos cardíacos (mAChR) y su efecto sobre las corrientes de  $Ca^{2+}$  tipo L. Los experimentos de unión-saturación de [ $^3H$ ]NMS con membranas auriculares de porcinos, mostraron que la  $B_{max}$  en presencia de CChP-inmunoglobulina G (IgG) disminuyó de  $280.2 \pm 16.08$  fmol/mg (control) hasta  $91.00 \pm 5.98$  fmol/mg (grupo de prueba), sin cambios aparentes en la constante de disociación ( $K_D$ ). En conjunto, los resultados muestran que los anticuerpos de CChP se unen a mAChR de manera no competitiva, y son capaces de activar el receptor en una forma similar a la de un agonista, que da como resultado la inhibición de la corriente de  $Ca^{2+}$  de tipo L.

Con el propósito de dilucidar si las alteraciones neurogénicas y/o inmunogénicas están relacionadas con cambios en la expresión de mAChR, se estudiaron dos modelos de infección por *T. cruzi* (*in vivo* e *in vitro*): 1) en ratas Sprague Dawley machos de 3 semanas de edad, crónicamente infectadas con este protozooario y 2) en cardiomiocitos primarios aislados y luego cocultivados con el parásito y en células mononucleares de sangre periférica (PBMC). Usando ensayos de unión de [ $^3H$ ]-

quinuclidinilbencilato ([ $^3H$ ]-QNB), fue evaluada la expresión de mAChR en homogenatos de regiones cardíacas seleccionadas, PBMC y cardiomiocitos cocultivados. También fue determinada la expresión de proteínas *in vitro* y la expresión de citoquinas proinflamatorias en suero y medio de cultivo celular por ELISA. Los resultados obtenidos sugieren que las citoquinas están involucradas en la regulación positiva de mAChR en la enfermedad de Chagas crónica (49).

Estos resultados corresponden al efecto de *T. cruzi* sobre receptores muscarínicos durante la fase crónica de la enfermedad, pero ¿Cuáles son los efectos durante la fase aguda? Para determinar la funcionalidad y expresión de receptores colinérgicos muscarínicos en la enfermedad de Chagas aguda, se ensayaron 62 ratas Sprague Dawley machos, de 3 semanas de edad; 32 de las cuales fueron infectados con tripomastigotes de *T. cruzi* y 30 animales fueron controles sanos. Se realizaron estudios electrocardiográficos en ausencia o presencia de agonistas muscarínicos directos (oxotremorina y McN-A-343) o agonistas indirectos (fenilefrina) o antagonistas (pirenzepina). Se determinó la expresión de los receptores muscarínicos M1 y M2 mediante ensayo de unión de radioligando [ $^3H$ ]-QNB e inmunotransferencia. La miocarditis chagásica aguda fue sustentada por los signos electrocardiográficos y los hallazgos histopatológicos. La bradicardia inducida por oxotremorina fue significativamente mayor en ratas sanas (controles) y las diferencias aumentaron por acción del cloruro de cesio CsCl. En ausencia del agonista, CsCl indujo una mayor bradicardia en ratas chagásicas (ChR). En los controles, el McN-A-343 indujo taquicardia, sin embargo, este indujo bradicardia en presencia de un inhibidor de la acetilcolinesterasa (neostigmina), no hubo efectos observados en las ratas infectadas. La pirenzepina indujo una taquicardia más elevada en ratas del grupo control. La fenilefrina en presencia de pirenzepina indujo un efecto similar bradicardia en ambos grupos, pero la recuperación fue más rápida en ChR. La densidad de receptores muscarínicos M1 y M2 fue mayor en animales controles. En resumen, la expresión y la funcionalidad de los receptores

muscarínicos están disminuidas durante la fase aguda de la enfermedad de Chagas impactando la evolución y el pronóstico de la enfermedad (50).

La ciclofosfamida (CF) facilita el desarrollo de enfermedades autoinmunes por una disminución selectiva de las células T supresoras. Labrador-Hernández y col., en 2008 (51) caracterizaron el reflejo vasovagal inducido por fenilefrina usando drogas colinérgicas, en dos modelos animales: ratas infectadas con *T. cruzi* (TC) y ratas con miocardiopatía crónica MCC inducida por ciclofosfamida. 90 ratas Sprague Dawley fueron divididas en 4 grupos: Control (C), CF, TC y el grupo con miocardiopatía inducida por CF e infectados experimentalmente con el tripanosomatidae (TCCF); los grupos TC y TCCF fueron inoculadas con 1000 tripomastigotes/g; los grupos CF y TCCF fueron tratados con CF 20 mg/kg dos veces por semana por 5 veces. Después de 6 meses de evolución de la infección, las ratas fueron sometidas a estudios electrocardiográficos (EKG), radiológicos (Rx) e histopatológicos (HP). La integridad vagal fue evaluada mediante fenilefrina y tacrina, la funcionalidad colinérgica mediante antagonistas muscarínicos selectivos. Los resultados mostraron que las ratas del grupo TCCF presentaron mayor frecuencia de trastornos electrocardiográficos, radiológicos e histopatológicos. Las ratas de los grupos TC y TCCF mostraron una respuesta disminuida a: fenilefrina que induce bradicardia refleja; metocramina, 4-DAMP y tropicamida que inducen taquicardia; metocramina que induce acortamiento del complejo QRS; y tropicamida que induce un alargamiento del intervalo QT. En conclusión, CF facilita el desarrollo de MCC en ratas infectadas con TC, promoviendo trastornos parasimpáticos que aparecen como consecuencia de alteraciones en la distribución de los receptores muscarínicos a diferentes niveles de integración neural (51).

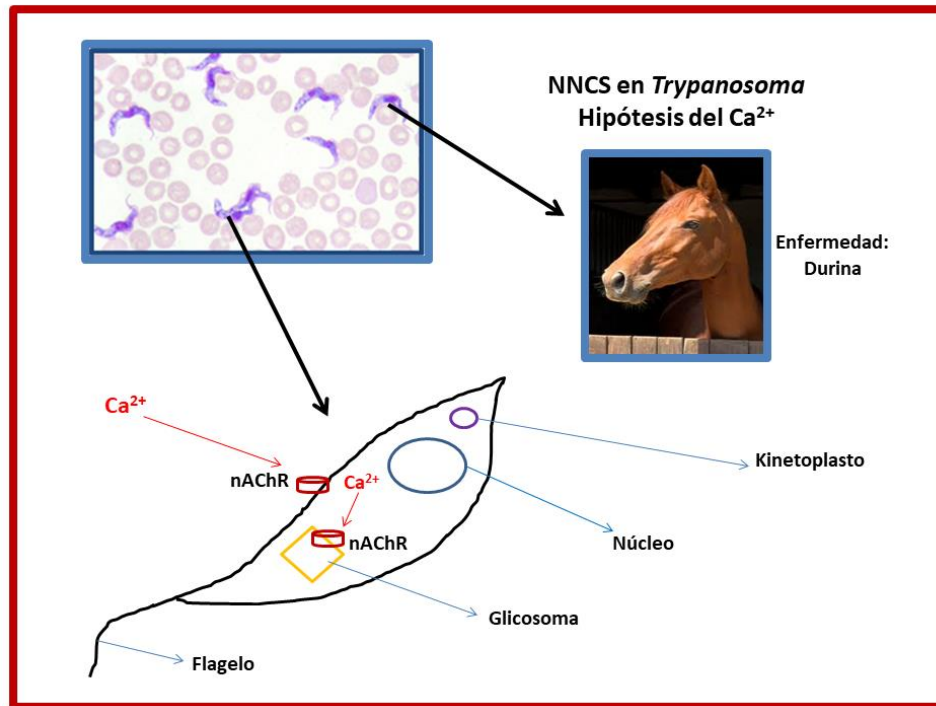
#### Otros kinetoplastidaes

En la figura 2 se muestra la “hipótesis del calcio” propuesta para los receptores nicotínicos en *T. equiperdum*. La durina es una enfermedad contagiosa de curso agudo o crónico de los équidos de cría principalmente, se transmite de

animal a animal directamente durante el coito. El agente etiológico es *T. equiperdum*. Desde el punto de vista clínico, puede observarse: fiebre, edema local de los genitales y de las glándulas mamarias, erupciones cutáneas, falta de coordinación, parálisis facial, lesiones oculares, anemia y demacración. Las placas edematosas cutáneas, de 5-8 cm de diámetro y 1 cm de grosor, son patognomónicas. La durina es la única tripanosomosis que no se transmite por un vector invertebrado. No se conoce la existencia de ningún otro reservorio natural del parásito más que los équidos infectados. La infección no siempre se transmite en cada cópula por el animal infectado. No existen vacunas disponibles. El único control efectivo consiste en el sacrificio de los animales infectados (52).

En *T. cruzi* los nAChR median el ingreso de los iones de  $Ca^{2+}$  al interior del parásito. Una caracterización farmacológica parcial fue realizada en la cepa TEVA de *T. equiperdum*. Después de cargar con el compuesto FURA-2AM, células individuales de *T. equiperdum*, fueron expuestas a compuestos colinérgicos, y las células presentaron una respuesta dosis dependiente al carbacol. En principio esta observación indicó que receptores colinérgicos podrían estar presentes en este protozoo. Sin embargo, una respuesta dosis dependiente a la muscarina no pudo ser demostrada, la nicotina pudo promover un incremento en la respuesta dosis-dependiente. Hay aproximadamente unos 1020 receptores nicotínicos en cada parásito, lo cual es unas 15 veces más bajo que el número estimado para células de *Torpedo californica* (19). La ubicación subcelular dual de los nAChR en membrana plasmática y en glicosomas (20), y el trabajo de Portillo y col., de 2010 (19) permiten inferir un rol análogo para estos receptores como para *T. cruzi*, permitiendo el ingreso del  $Ca^{2+}$  desde el exterior al interior del protozoo para funciones metabólicas importantes (figura 2). Sin embargo, no se realizó la clonación, secuenciamiento, sobre-expresión de los genes que codifican para estos receptores y tampoco los estudios de estructura-función.

La leishmaniosis sigue siendo una de las enfermedades más desatendidas del mundo.

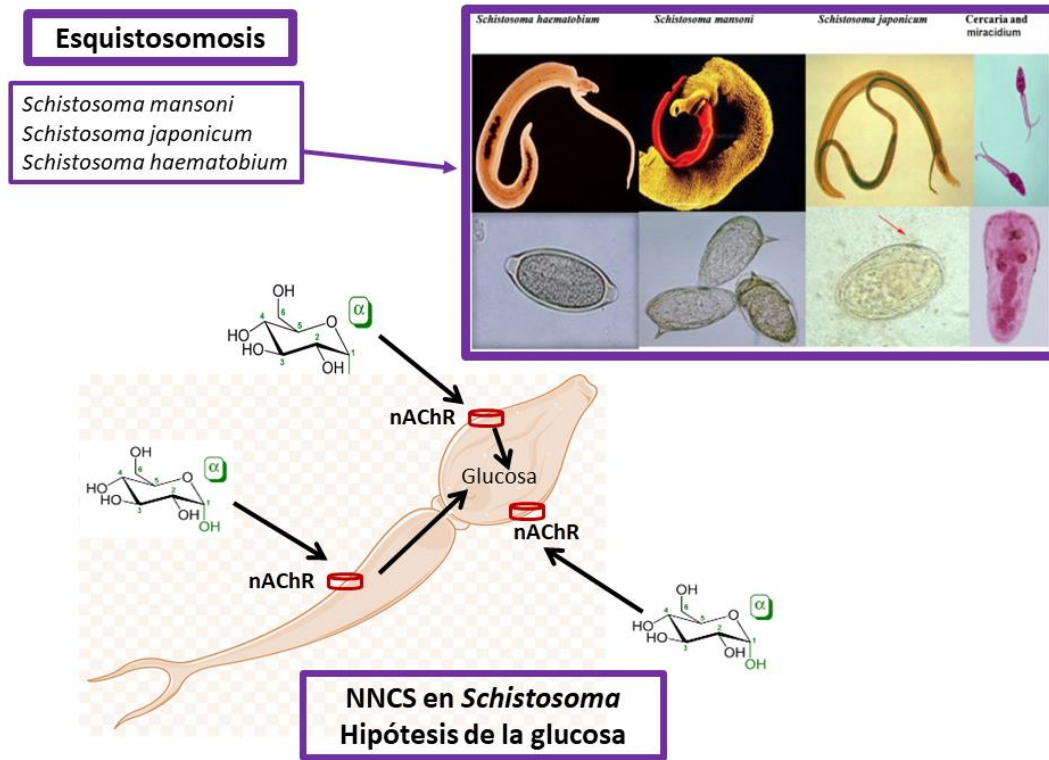


**Figura 2.** "Hipótesis del calcio" sobre el papel de los sistemas colinérgicos no neuronales (NNCS) en *Trypanosoma*. En *T. equiperdum* los nAChR ubicados en membrana plasmática median el ingreso de los iones  $Ca^{2+}$  al interior del protozoo y de allí esos iones pueden acceder al interior de organelos como los glicosomas, donde están compartimentalizadas rutas metabólicas imprescindibles para el metabolismo celular como la ruta glicolítica, por ejemplo. No se describen nAChR en otros organelos como los acidocalcisomas

Durante los últimos 10 años, muchos estudios científicos relacionados con esta enfermedad se han relacionado con estrategias de tratamiento y condujeron a una reducción en los precios de los medicamentos; sin embargo, la morbilidad y la mortalidad de esta enfermedad han seguido aumentando en todo el mundo (53). La leishmaniosis es una enfermedad con un amplio repertorio clínico: desde formas cutáneas, mucocutáneas, hasta formas graves con desenlace fatal que incluye la forma visceral. Sus agentes etiológicos corresponden a especies pertenecientes al género *Leishmania*. En el modelo de Hámster dorado infectado experimentalmente con *Leishmania Leishmania infantum* (modelo de leishmaniosis visceral experimental) se pudo observar cambios histológicos severos al inicio de la infección (30 días posinfección) en el tracto gastrointestinal como hipertrofia de las capas estatigráficas y la presencia de linfocitos en la mucosa. A los 60 y 90 días posinfección, fue posible observar la

mitigación de los efectos del protozoo sobre el tracto gastrointestinal. No obstante, sobre neuronas y la estatigrafía del tejido hubo alteraciones evidentes. Los autores concluyeron que *L. L infantum* puede promover cambios en la barrera intestinal, así como en la densidad neuronal, y la morfometría del yeyuno en hámster dorado (*Mesocricetus auratus*) (54).

Un enfoque abordado en leishmaniosis es la inhibición de la biosíntesis de fosfolípidos como la fosfatidilcolina, mediante el uso de drogas anticolinérgicas, porque estos son los mayores componentes estructurales de la membrana de los promastigotes. Bajo estas premisas, se aislaron compuestos de plantas de *Dimorphandra gardneriana* y *Platymiscium floribundum*, y se buscó investigar su toxicidad frente a las formas promastigote y amastigote de *Leishmania infantum chagasi*, principal parásito responsable de la leishmaniosis visceral sudamericana, y evaluar su capacidad para inhibir la AChE. Todos



**Figura 3.** “Hipótesis de la ingesta de glucosa” propuesta para el sistema colinérgico no neuronal (NNCS) en *Schistosoma haematobium* y *S. bovis*. Los esquistosomas tienen AChE y nAChR en sus tegumentos. Tanto AChE como nAChR se concentran en la superficie dorsal del macho adulto, una superficie importante para la absorción de nutrientes por parte de los trematodos (22, 58-59).

los compuestos fueron probados *in vitro* por sus propiedades anticolinesterásicas (55).

#### NCS y NNCS en parásitos metazoarios

***Schistosoma spp.*** La esquistosomiasis es una enfermedad aguda y crónica causada por trematodos parásitos pertenecientes al género *Schistosoma*. Tres especies revisten importancia en humanos: *S. mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum* (figura 3). Las estimaciones indican que en 2019 necesitaron tratamiento profiláctico contra la esquistosomiasis al menos 236,6 millones de personas, de las cuales más de 105,4 millones lo recibieron. La zona endémica para esquistosomiasis mansoni en Venezuela está localizada en los valles de la región montañosa central al norte del país, con una extensión de 15000 Km<sup>2</sup> y densamente poblada. La enfermedad se conoce desde 1906, pero los programas de

control iniciaron en 1943, centrados en el control del vector (caracol), tratamiento con praziquantel, educación para la salud, acceso al agua potable, prevención del contacto hombre-caracol (aguas) y el adecuado diagnóstico (56).

Estudios previos demostraron que la AChE y los nAChR desempeñan funciones importantes en el sistema nervioso del esquistosoma y los canales iónicos, los cuales son el objetivo de una serie de fármacos antihelmínticos actualmente aprobados y comercializados (15). En *S. mansoni*, la estimulación colinérgica produce relajación muscular y parálisis flácida, lo que sugiere un modo de acción inhibitorio. Sin embargo, falta información sobre el mecanismo farmacológico de esta inhibición. Para dar respuesta a esta interrogante el grupo de Mac Donald y col., en 2014 (57), utilizaron una combinación de técnicas para evaluar el papel de los receptores

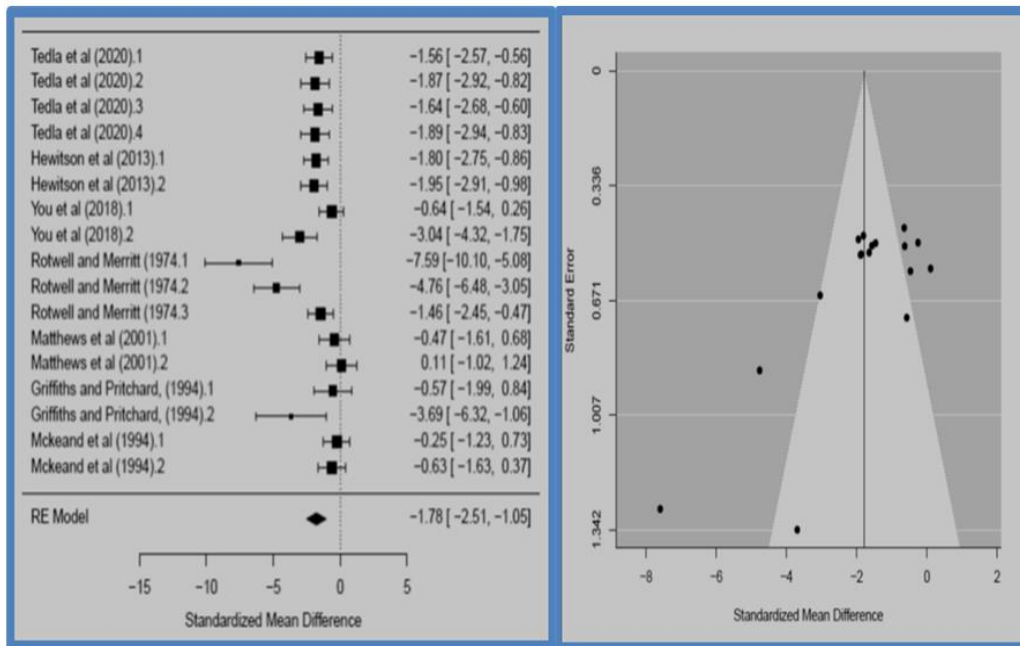
**Tabla 2.** Efecto de la infección por helmintos sobre el NCS y NNCS del hospedador.

Parásito	Modelo de estudio	Efecto sobre el sistema colinérgico	Observaciones	Ref.
<i>Nippostrongylus brasiliensis</i>	Rata/ratón	El transporte de los fluidos está comprometido en los animales durante la etapa aguda de la infección. Esta característica es mediada parcialmente por el ENS.	La disminución en el transporte de fluidos es mitigada por la administración del hexametonio (un bloqueador de nAChRs) y de la lidocaína (anestésico local), ambos fármacos restauran la absorción de los fluidos.	60
<i>Trichinella spiralis</i>	Rata	Supresión reversible de la liberación de ACh desde el plexo mientérico del músculo longitudinal del yeyuno.	La respuesta contráctil al KCl y a la ACh estuvieron incrementadas desde el día 6-23 pos-infección y estuvo correlacionada con cambios en el adelgazamiento de las capas musculares, sugiriendo que el incremento en la contractilidad inducida podría ser una consecuencia de la hipertrofia y/o hiperplasia.	61
<i>Demodex canis</i>	Perros	<i>D. canis</i> podría estar afectando las vías colinérgicas para inducir inmunosupresión en su hospedador y luego proliferar incesantemente en el microambiente de la piel para causar demodicosis.	Incremento de la actividad colinesterasa y de la IL-10 y disminución del TNF- $\alpha$ en circulación de perros con demodicosis.	62
<i>Schistosoma spp.</i>	NA	AChR no pudieron detectarse en las etapas migratorias usando la unión de isotiocianato de fluoresceína- $\alpha$ -bungarotoxina, pero la cantidad de marcación específica aumentó en el emparejamiento sexual y cuando los parásitos maduraron hasta convertirse en adultos productores de huevos. Tanto AChE como nAChR se concentraron en la superficie dorsal del macho adulto.	La AChE y AChR están asociados con la función de transporte de la membrana de <i>Schistosoma</i> .	22, 58-59

colinérgicos en la función motora del esquistosoma. Los efectos neuromusculares de la ACh suelen estar mediados por canales catiónicos pertenecientes a la familia de nAChR. Los análisis bioinformáticos identificaron numerosas subunidades de nAChR en el genoma de *S. mansoni* pero, curiosamente, casi la mitad de estas subunidades portaban un motivo normalmente asociado con la selectividad al cloruro (un anión). Estos supuestos canales de cloruro activados por ACh de esquistosoma (SmACC) son evolutivamente divergentes de otros nematodos y forman un grupo único dentro de la familia más grande de los nAChR. Se realizaron aproximaciones farmacológicas y de RNA de interferencia (RNAi) para evaluar el papel de los SmACC en la función motora de las larvas. El tratamiento con antagonistas produjo el mismo efecto que la supresión de SmACC por ARNi;

ambos condujeron a un fenotipo hipermóvil compatible con la anulación de un mediador neuromuscular inhibitorio. Los autores señalan que el ensayo de flujo de yoduro utilizado para caracterizar SmACC-1, representa una nueva herramienta de alto rendimiento para la detección de nuevos fármacos diseñados contra estos canales de iónicos únicos en estos trematodos.

En *S. haematobium* la localización exclusiva de ShAR1 $\alpha$  en la superficie de la membrana, sugiere fuertemente que esta subunidad contribuye a la función regulatoria del receptor nAChR, cuyo objetivo es potenciar la ingesta de glucosa desde la sangre del hospedador, en respuesta a las concentraciones de ACh, figura 3 (22, 58-59). La tabla 2 muestra los efectos de la infección por metazoarios sobre los NCS y NNCS del hospedador (22, 58-62).



**Figura 4.** Diagrama de bosque (lado izquierdo) y diagrama de embudo (lado derecho) con el metaanálisis realizado para verificar el efecto en la carga parasitaria de las vacunas que se han utilizado con componentes de los SCN y SCNN en las infecciones por parásitos. Con el uso del modelo de efectos aleatorizados, se obtuvieron los siguientes valores para la prueba de heterogeneidad:  $Q$  ( $df = 16$ ) = 71,8926,  $pVal < 0,0001$ ;  $I^2 = 85,38 \%$ ;  $H^2 = 6,84$ ;  $Tau^2 = 1,9349$  ( $SE = 0,8291$ ) y  $Tau = 1,3910$ .

### Conclusiones

Antes de finalizar, es importante realizar la siguiente interrogante: ¿Cuál será el efecto de la aplicación de vacunas en las infecciones por parásitos, si se toman en cuenta componentes de los NCS y los NNCS? Para tratar de generar una respuesta realizamos un metaanálisis con el uso del paquete MAVIS (Meta-analysis via Shiny). Los trabajos que incluyeron un ensayo de reto controlado con grupos de prueba, grupos controles, grupos adyuvantes y que incluyeron parámetros como: carga parasitaria, ovipostura, niveles de inmunoglobulinas, perfiles de citocinas, viabilidad de los parásitos, rutas de aplicación de la vacuna, fueron incluidos (15, 63-68). La figura 4 muestra el diagrama de bosque y de embudo con la comparación de la diferencia de promedios estandarizados, utilizando el modelo de efectos aleatorios, porque en estos sistemas son una gran cantidad de variables que influyen sobre el efecto de las potenciales vacunas en los animales

experimentación utilizados: vacas, corderos, cerdos, ratas, ratones. No es igual comparar las cargas parasitarias de animales de gran envergadura, con la de un pequeño roedor, por ejemplo. El valor del estadístico  $I^2 = 85.38\%$  indica que los estudios comparados no son homogéneos, por lo que es difícil arribar a conclusiones a partir del análisis de una única variable, en este caso, la carga parasitaria. Otras variables como la reducción en la ovipostura de los parásitos, no formo parte de este metaanálisis. Solo se incluyeron trabajos originales en helmintos, no se consiguieron documentos que ensayaran vacunas en protozoarios; en otras palabras, pudimos acceder al efecto de componentes del NCS y los NNCS de los metazoarios como inmunógenos, incluidos en potenciales vacunas para diferentes enfermedades parasitarias.

### Conflicto de intereses

Ninguno por declarar.

## Referencias

1. Nees F. The nicotinic cholinergic system function in the human brain. *Neuropharmacology* 2015; 96: 289-301. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
2. Zoli M, Pucci S, Vilella A, Gotti C. Neuronal and extraneuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Curr Neuropharmacol* 2018; 16: 338-49. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
3. Oda A, Tanaka H. Activities of nicotinic acetylcholine receptors modulate neurotransmission and synaptic architecture. *Neural Regen Res* 2014; 9: 2128-31. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
4. Kučera M, Hrabovská A. [Cholinergic system of the heart]. *Ceska Slov Farm* 2015; 64: 254-63. [\[PubMed\]](#)
5. Fujii T, Mashimo M, Moriwaki Y, Misawa H, Ono S, Horiguchi K, Kawashima K. Physiological functions of the cholinergic system in immune cells. *J Pharmacol Sci* 2017; 134: 1-21. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
6. Fujii T, Mashimo M, Moriwaki Y, Misawa H, Ono S, Horiguchi K, Kawashima K. Expression and Function of the Cholinergic System in Immune Cells. *Front Immunol* 2017; 8: 1085. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
7. Chacín-Bonilla L. Enfermedades parasitarias como un problema de salud pública. *Invest Clin* 2013; 54: 1-4. [\[Google Scholar\]](#)
8. Yé Y, Eisele TP, Eckert E, Korenromp E, Shah JA, Hershey CL, Ivanovich E, Newby H, Carvajal-Velez L, Lynch M, Komatsu R, Cibulskis RE, Moore Z, Bhattarai A. Framework for Evaluating the Health Impact of the Scale-Up of Malaria Control Interventions on All-Cause Child Mortality in Sub-Saharan Africa. *Am J Trop Med Hyg* 2017; 97: 9-19. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
9. Eckert E, Florey LS, Tongren JE, Salgado SR, Rukundo A, Habimana JP, Hakizimana E, Munguti K, Umulisa N, Mulindahabi M, Karema C. Impact Evaluation of Malaria Control Interventions on Morbidity and All-Cause Child Mortality in Rwanda, 2000-2010. *Am J Trop Med Hyg* 2017; 97: 99-110. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
10. Stolk WA, Kulik MC, le Rutte EA, Jacobson J, Richardus JH, de Vlas SJ, Houweling TAJ. Between-Country Inequalities in the Neglected Tropical Disease Burden in 1990 and 2010, with Projections for 2020. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; 10: e0004560. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
11. Chacín-Bonilla L, Vielma JR. Ciclosporiasis: distribución, prevalencia y control. *Investigación Clínica*. 2018; 59: 67-93. [\[Google Scholar\]](#)
12. Vielma J, Pérez I, Villarreal J, Vegas M, Yunasaiki R, Belisario M, Prieto M, Uzcátegui D, Hernández H, Pineda C, González E, Gutiérrez L. *Acta Bioclínica*. 2017; 7: 80-99. [\[Google\]](#)
13. Vielma JR, Yelitz Delgado Y, Bravo YA, Gutiérrez Peña LV, Villarreal JC. Enteroparasites and thermotolerant coliforms in water and human feces of sectors Juan de Dios González and El Moralito, Colón Municipality, Zulia State. *Acta Bioclínica*. 2016; 6: 25-43. [\[Google Scholar\]](#)
14. McKay DM, Fairweather I. A role for the enteric nervous system in the response to helminth infections. *Parasitol Today* 1997; 13: 63-9. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
15. You H, Liu C, Du X, McManus DP. Acetylcholinesterase and Nicotinic Acetylcholine Receptors in Schistosomes and Other Parasitic Helminths. *Molecules* 2017; 22: 1550. doi: 10.3390/molecules22091550. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
16. Grando SA, Kawashima K, Kirkpatrick CJ, Meurs H, Wessler I. The non-neuronal cholinergic system: basic science, therapeutic implications and new perspectives. *Life Sci* 2012; 91: 969-72. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
17. Grando SA, Kawashima K, Kirkpatrick CJ, Kummer W, Wessler I. Recent progress in revealing the biological and medical significance of the non-neuronal cholinergic system. *Int Immunopharmacol* 2015; 29: 1-7. [\[PubMed\]](#)
18. Pereira L, Kratsios P, Serrano-Saiz E, Sheftel H, Mayo AE, Hall DH, White JG, LeBoeuf B, Garcia LR, Alon U, Hobert O. A cellular and regulatory map of the cholinergic nervous system of *C. elegans*. *Elife* 2015; 4: e12432. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
19. Portillo R, Bruges G, Delgado D, Betancourt M, Mijares A. Trypanosoma evansi: pharmacological evidence of a nicotinic acetylcholine receptor. *Exp Parasitol* 2010; 125: 100-5. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
20. Mijares A, Concepción JL, Vielma JR, Portillo R. Immune detection of acetylcholinesterase in subcellular compartments of Trypanosoma evansi. *Parasitol Res* 2011; 108: 1-5. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
21. Jones AK, Bentley GN, Oliveros Parra WG, Agnew A. Molecular characterization of an acetylcholinesterase implicated in the regulation of glucose scavenging by the parasite Schistosoma. *FASEB J* 2002; 16: 441-3. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
22. Camacho M, Alsford S, Agnew A. Molecular forms of tegumental and muscle acetylcholinesterases of Schistosoma. *Parasitology* 1996; 112: 199-204. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
23. Xu H, Shen Z, Xiao J, Yang Y, Huang W, Zhou Z, Shen J, Zhu Y, Liu XY, Chu L. Acetylcholinesterase overexpression mediated by oncolytic adenovirus exhibited potent anti-tumor effect. *BMC Cancer* 2014; 14: 668. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
24. Ball G, Selkirk ME, Knox DP. The effect of vaccination with a recombinant Nippostrongylus brasiliensis acetylcholinesterase on infection outcome in the rat. *Vaccine* 2007; 25: 3365-72. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
25. McCoy AN, Tan SY. Otto Loewi (1873-1961): Dreamer and Nobel laureate. *Singapore Med J* 2014; 55: 3-4. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
26. Oda Y. Choline acetyltransferase: the structure, distribution and pathologic changes in the central nervous system. *Pathol Int* 1999; 49: 921-37. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
27. Ferreira-Valbuena H, Bonilla E, Andrade A, Ferreira E. Actividades de la Colinaacetiltransferasa y Acetilcolinesterasa en

- el Adenoma folicular no captante. *Invest Clin* 1982; 23: 267-72. [\[Google\]](#)
28. Zhou Y, Wang S, Zhang Y. Catalytic reaction mechanism of acetylcholinesterase determined by Born-Oppenheimer ab initio QM/MM molecular dynamics simulations. *J Phys Chem B* 2010; 114: 8817-25. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  29. Castellanos-Castillo FA. Estudio de la inhibición de la acetilcolinesterasa y la relación estructura-actividad de terpenoides aislados de organismos marinos del caribe colombiano. [Trabajo Especial de Grado]. Departamento de Química, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. 2014. 133 pp. [\[Google Scholar\]](#)
  30. Wu ZS, Cheng H, Jiang Y, Melcher K, Xu HE. Ion channels gated by acetylcholine and serotonin: structures, biology, and drug discovery. *Acta Pharmacol Sin* 2015; 36: 895-907. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  31. Milara J, Cervera A, de Diego A, Sanz C, Juan G, Gavalda A, Miralpeix M, Morcillo E, Cortijo J. Non-neuronal cholinergic system contributes to corticosteroid resistance in chronic obstructive pulmonary disease patients. *Respir Res* 2016; 17: 145. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  32. Wilson C, Lee MD, McCarron JG. Acetylcholine released by endothelial cells facilitates flow-mediated dilatation. *J Physiol* 2016; 594: 7267-307. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  33. Spieker J, Ackermann A, Salfelder A, Vogel-Höpker A, Layer PG. Acetylcholinesterase Regulates Skeletal in Ovo Development of Chicken Limbs by ACh-Dependent and -Independent Mechanisms. *PLoS One* 2016; 11: e0161675. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  34. Oikawa S, Kai Y, Tsuda M, Ohata H, Mano A, Mizoguchi N, Sugama S, Nemoto T, Suzuki K, Kurabayashi A, Muramoto K, Kaneda M, Kakinuma Y. Non-neuronal cardiac cholinergic system influences CNS via the vagus nerve to acquire a stress-refractory propensity. *Clin Sci (Lond)* 2016; 130: 1913-28. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  35. Gori S, Vermeulen M, Remes-Lenicov F, Jancic C, Scordo W, Ceballos A, Towstyka N, Bestach Y, Belli C, Sabbione F, Geffner J, Salamone G. Acetylcholine polarizes dendritic cells toward a Th2-promoting profile. *Allergy* 2017; 72: 221-31. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  36. Pickett MA, Dush MK, Nascone-Yoder NM. Acetylcholinesterase plays a non-neuronal, non-esterase role in organogenesis. *Development* 2017; 144: 2764-70. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  37. Reichrath S, Reichrath J, Moussa AT, Meier C, Tschernig T. Targeting the non-neuronal cholinergic system in macrophages for the management of infectious diseases and cancer: challenge and promise. *Cell Death Discovery* 2016; 2: 16063; doi:10.1038/cddiscovery.2016.63. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  38. Gautam D, Han SJ, Duttaroy A, Mears D, Hamdan FF, Li JH, Cui Y, Jeon J, Wess J. Role of the M3 muscarinic acetylcholine receptor in beta-cell function and glucose homeostasis. *Diabetes Obes Metab* 2007; 9: 158-69. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  39. García-Jordán N, Berrizbeitia M, Concepción JL, Aldana E, Cáceres A, Quiñones W. Estudio entomológico de vectores transmisores de la infección por *Trypanosoma cruzi* en la población rural del estado Sucre, Venezuela. *Biomédica* 2015; 33: 247-57. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  40. Vielma JR, Concepción JL. Diagnóstico de la enfermedad de Chagas utilizando como antígeno la proteína recombinante de 24 kDa (Pgr24). [Trabajo especial de grado], Maestría en Biología Celular, Posgrado Interdisciplinario en Biología Celular. Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. 2005. 155 p. [\[Google Scholar\]](#)
  41. de Cuba MB, Ribeiro-Machado MP, Farnesi TS, Alves AC, Martins LA, de Oliveira LF, Capitelli CS, Leite CF, Silva MV, Machado JR, Borges-Kappel H, Sales de Campos H, Paiva L, da Silva-Gomes NL, Guimarães-Faleiros AC, de Paoli de Carvalho Britto CF, Savino W, Cruz-Moreira O, Rodrigues Jr V, Montano N, Lages-Silva E, Ramirez LE, Dias da Silva VJ. Effects of cholinergic stimulation with pyridostigmine bromide on chronic chagasic cardiomyopathic mice. *Mediators Inflamm* 2014; 475946. doi: 10.1155/2014/475946. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  42. Bonney KM, Luthringer DJ, Kim SA, Garg NJ, Engman DM. Pathology and Pathogenesis of Chagas Heart Disease. *Annu Rev Pathol* 2019; 14: 421-447. doi: 10.1146/annurev-pathol-020117-043711. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  43. Silva AD, Bottari NB, do Carmo GM, Baldissera MD, Souza CF, Machado VS, Morsch VM, Schetinger MRC, Mendes RE, Monteiro SG, Da Silva AS. Chagas disease: modulation of the inflammatory response by acetylcholinesterase in hematological cells and brain tissue. *Mol Cell Biochem* 2018; 438: 59-65. doi: 10.1007/s11010-017-3113-y. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  44. Schafer da Silva A, Teresinha França R, Machado Costa M, Breno Paim C, Chimelo Paim F, Schmatz R, Augusto Jaques J, Rosa Schetinger M, Maria Morsch Vera, Melazzo Mazzanti C, Terezinha dos Anjos Lopes S. Cholinesterase activity in serum, whole blood and lymphocytes of dogs experimentally infected with *Rangelia vitalii*. *Acta sci vet* 2013; 41: 1-7. [\[Google Scholar\]](#)
  45. Machado CRS, Caliari MV, de Lana M, Tafuri WL. Heart autonomic innervation during the acute phase of the experimental American trypanosomiasis in the dog. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59: 492-6. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  46. Medina-Rosales MN, Muñoz-Ortega MH, García-Hernández MH, Talamás-Rohana P, Medina-Ramírez IE, Salas-Morón LG, Martínez-Hernández SL, Ávila-Blanco ME, Medina-Rosales B, Ventura-Juárez J. Acetylcholine Upregulates Entamoeba histolytica Virulence Factors, Enhancing Parasite Pathogenicity in Experimental Liver Amebiasis. *Front Cell Infect Microbiol* 2021; 10: 586354. doi: 10.3389/fcimb.2020.586354. eCollection 2020. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  47. Mahmoudvand H, Sheibani V, Keshavarz H, Shojaee S, Smaeelpour K, Ziaali N. Acetylcholinesterase Inhibitor Improves Learning and Memory Impairment Induced by Toxoplasma gondii Infection. *Iran J Parasitol* 2016; 11: 177-85. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  48. Quintero Hernández CC, Barcellos LC, Díaz Giménez LE, Bonfante Cabarcas RA, Garcia S, Coury Pedrosa R, Matheus Nascimento JH, Kurtenbach E, Masuda MO, Campos de Carvalho AC. Human chagasic IgGs bind to cardiac muscarinic receptors and impair L-type Ca<sup>2+</sup> currents. *Cardiovascular Research* 2003; 58: 55-65,



- [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(02\)00811-8](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(02)00811-8). [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
49. Peraza-Cruces K, Gutiérrez-Guédez L, Castañeda Perozo D, Lankford CR, Rodríguez-Bonfante C, Bonfante-Cabarcas R. Trypanosoma cruzi infection induces up-regulation of cardiac muscarinic acetylcholine receptors in vivo and in vitro Braz J Med Biol Res 2008; 41: 796-803.. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  50. Labrador-Hernández M, Jiménez L, Leon G, López R, Mendoza W, Bonfante-Rodríguez C, Torres-Peraza J, Bonfante-Cabarcas R. A Decreased Expression and Functionality of Muscarinic Cholinergic Receptor in Acute Chagas Myocarditis. World Journal of Cardiovascular Diseases 2014; 4: 46491. doi:10.4236/wjcd.2014.46040. [\[Google Scholar\]](#)
  51. Labrador-Hernández M, Suárez-Graterol O, Romero-Contreras U, Rumenoff L, Rodríguez-Bonfante C, Bonfante-Cabarcas, R. El sistema colinérgico en ratas infectadas con Trypanosoma cruzi con miocardiopatía chagásica inducida por ciclofosfamida: estudio electrocardiográfico. Invest Clin 2008; 49: 207-24. [\[Google Scholar\]](#)
  52. Hagos A, Goddeeris BM, Yilkal K, Alemu T, Fikru R, Yacob HT, Feseha G, Claes F. Efficacy of Cymelarsan and Diminasan against Trypanosoma equiperdum infections in mice and horses. Vet Parasitol 2010; 171: 200-6. doi: 10.1016/j.vetpar.2010.03.041. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  53. WHO. Control of the Leishmaniasis. Report of a Meeting of the WHO Expert Committee on the Control of the Leishmaniasis. World Health Organization, Geneva. 2010. [\[Google Scholar\]](#)
  54. Santos de Lima KS, Cavallone IN, Oliveira KS, Passero LFD, Laurenti MD, Jesus JA, Marinsek GP, Chucrí TM, Mari RdB. Infection with Leishmania (Leishmania) infantum Changes the Morphology and Myenteric Neurons of the Jejunum of Golden Hamsters. Parasitol 2021; 1: 225–237. <https://doi.org/10.3390/parasitologia1040024>. [\[Google Scholar\]](#)
  55. Vila-Nova NS, Morais SM, Falcão MJC, Bevilacqua CML, Rondon FCM, Wilson ME, Vieira IGP, Andrade HF. Leishmanicidal and cholinesterase inhibiting activities of phenolic compounds of Dimorphandra gardneriana and Platymiscium floribundum, native plants from Caatinga biome. Pesq Vet Bras 2012; 32: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2012001100015>. [\[Google Scholar\]](#)
  56. Incani RN. The Venezuelan experience in the control of Schistosomiasis mansoni. Mem Inst Oswaldo Cruz 1987; 82: 89-93. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  57. MacDonald K, Buxton S, Kimber MJ, Day TA, Robertson AP, Ribeiro P. Functional Characterization of a Novel Family of Acetylcholine-Gated Chloride Channels in Schistosoma mansoni. Plos Pathogen 2014; 10: e1004181. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004181>. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  58. Camacho M, Agnew A. Glucose uptake rates by Schistosoma mansoni, S. haematobium, and S. bovis adults using a flow in vitro culture system. J Parasitol 1995; 81: 637-40. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  59. Camacho M, Alsford S, Jones A, Agnew A. Nicotinic acetylcholine receptors on the surface of the blood fluke Schistosoma. Mol Biochem Parasitol 1995; 71: 127-34. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  60. Jodal M, Wingren U, Jansson M, Heidemann M, Lundgren O. Nerve involvement in fluid transport in the inflamed rat jejunum. Gut 1993; 34: 1526-30. doi: 10.1136/gut.34.11.1526. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  61. Collins SM, Blennerhassett PA, Blennerhassett MG, Vermillion DL. Impaired acetylcholine release from the myenteric plexus of Trichinella-infected rats. Am J Physiol 1989; 257: G898-903. doi: 10.1152/ajpgi.1989.257.6.G898. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  62. Kumari P, Nigam R, Singh A, Nakade UP, Sharma A, Garg SK, Singh SK. Demodex canis regulates cholinergic system mediated immunosuppressive pathways in canine demodicosis. Parasitol 2017; 144: 1412-6. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  63. Rothwell TLW, Merritt GC. Vaccination against the nematode Trichostrongylus colubriformis—II. Attempts to protect guinea-pigs with worm acetylcholinesterase. Int J Parasitol 1975; 5: 453-60. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  64. Griffiths G, Pritchard DI. Vaccination against gastrointestinal nematodes of sheep using purified secretory acetylcholinesterase from Trichostrongylus colubriformis—an initial pilot study. Parasite Immunol 1994; 16: 507-10. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  65. McKeand JB, Knox DP, Duncan JL, Kennedy MW. Immunisation of guinea pigs against Dictyocaulus viviparus using adult ES products enriched for acetylcholinesterases. Int J Parasitol 1995; 25: 829-37. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  66. Hewitson JP, Ivens AC, Harcus Y, Filbey KJ, McSorley HJ, Murray J, Bridgett S, Ashford D, Dowle AA, Maizels RM. Secretion of Protective Antigens by Tissue-Stage Nematode Larvae Revealed by Proteomic Analysis and Vaccination-Induced Sterile Immunity. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  67. Matthews JB, Davidson AJ, Freeman KL, French NP. Immunisation of cattle with recombinant acetylcholinesterase from Dictyocaulus viviparus and with adult worm ES products. Int J Parasitol 2001; 31: 307-317. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
  68. Tedla BA, Pickering D, Becker L, Loukas A, Pearson MS. Vaccination with Schistosoma mansoni Cholinesterases Reduces the Parasite Burden and Egg Viability in a Mouse Model of Schistosomiasis. Vaccines (Basel) 2020; 8: 162. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)

**Como citar este artículo:** Vielma-Guevara JR, Villarreal-Andrade JC. Sistemas colinérgicos neuronales y no-neuronales en infecciones parasitarias. Revisión sistemática y metaanálisis. *Avan Biomed* 2022; 11: 6-23.



Avances en Biomedicina se distribuye bajo la Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 3.0 Venezuela, por lo que el envío y la publicación de artículos a la revista son completamente gratuitos.



<https://me-qr.com/qWSobM>