

Proteínas homólogas de unión a reticulocitos de *Plasmodium falciparum* involucradas en el proceso de invasión al eritrocito: revisión de la literatura

Wendy Royero-Bermeo¹ , César Mauricio Reyes Santofimio² , Mabel Patricia Franky Rojas³ ,
Yelson Alejandro Picón Jaimes⁴ , Jessica Molina Franky⁵ 

RESUMEN

Introducción: la malaria es uno de los mayores retos de la salud pública mundial. Es causada principalmente por los parásitos *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax*. Durante el proceso de invasión, se encuentran involucradas las proteínas homólogas de unión a reticulocitos de *P. falciparum* PfrH1, PfrH2a, PfrH2b, PfrH4 y PfrH5, que tras su unión a receptores específicos de membrana permiten la invasión del merozoíto al eritrocito.

Objetivo: compilar y resumir las características moleculares y estructurales de las interacciones entre las proteínas pertenecientes a la familia de proteínas homólogas de unión a reticulocitos de *P. falciparum* y los receptores expresados en la célula del hospedero.

Método: revisión descriptiva sobre las proteínas homólogas de unión a reticulocitos de *P. falciparum* involucradas en el proceso de invasión al eritrocito. Esta revisión incluye literatura publicada hasta el año 2020 en bases de datos electrónicas especializadas en investigación biomédica. Se encontraron 105 documentos, de los cuales se seleccionaron 70 y se excluyeron 11, por no presentar los criterios de inclusión, analizando un total de 59 referencias.

Conclusión: la invasión del merozoíto es mediada por interacciones específicas de los ligandos de las familias EBL y PfrH. La unión de las proteínas PfrH1 y PfrH2b a sus receptores en el eritrocito da lugar a la liberación de la proteína EBL-175 que, junto con PfrH4, median la formación de una unión estrecha entre el parásito y los glóbulos rojos. Ello permite la unión de la proteína PfrH5 a la basigina y la entrada del parásito a la célula del hospedero.

Palabras clave: malaria; *Plasmodium falciparum*; ligandos; membrana eritrocítica; eritrocitos.

¹ Universidad Libre (Barranquilla, Colombia). ² Universidad del Rosario (Bogotá, Colombia). ³ Universidad de Boyacá (Tunja, Colombia).

⁴ Universidad Pedro de Valdivia (Santiago, Chile). ⁵ Fundación Instituto de Inmunología de Colombia (Bogotá, Colombia).

Autora de correspondencia: Jessica Molina-Franky. Correo electrónico: jessicamolinafranky@gmail.com

Citar este artículo así:

Royero-Bermeo W, Reyes Santofimio CM, Franky Rojas MP, Picón Jaimes YA, Molina Franky J. Proteínas homólogas de unión a reticulocitos de *Plasmodium falciparum* involucradas en el proceso de invasión al eritrocito: revisión de la literatura. Rev Investig Salud Univ Boyacá. 2020;7(2):100-118. doi: <https://doi.org/10.24267/23897325.464>

Plasmodium falciparum reticulocyte-binding homologous proteins involved in the process of erythrocyte invasion: literature review

ABSTRACT

Introduction: Malaria is one of the world's greatest public health challenges, caused mainly by *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*. During the invasion process, the *P. falciparum* reticulocyte-binding homologous proteins *PfRH1*, *PfRH2a*, *PfRH2b*, *PfRH4* and *PfRH5* are involved, which after binding to specific membrane receptors allow the invasion of the merozoite into the erythrocyte.

Objective: To compile and summarize the molecular and structural characteristics of the interactions between proteins belonging to the *P. falciparum* family of reticulocyte-binding homologous proteins and the receptors expressed in the host cell.

Method: Descriptive review of the *P. falciparum* reticulocyte-binding homologous proteins involved in the process of erythrocyte invasion. This review includes literature published until 2020 in electronic databases specialized in biomedical research. We found 105 papers, of which 70 were selected and 11 were excluded for not presenting the inclusion criteria, analyzing a total of 59 references.

Conclusion: The invasion of merozoite is mediated by specific interactions of the ligands of the LBS and *PfRH* families. The binding of the *PfRH1* and *PfRH2b* proteins to their receptors in the erythrocyte results in the release of the EBL-175 protein, which together with *PfRH4* mediates the formation of a close bond between the parasite and the red blood cells, thus allowing the binding of the *PfRH5* protein to basigin and the entry of the parasite into the host cell.

Key: malaria; *Plasmodium falciparum*; ligands; erythrocyte membrane; erythrocytes.

Proteínas de ligação a reticulócitos de *Plasmodium falciparum* homólogas envolvidas no pro-cesso de invasão de eritrócitos: revisão da literatura

RESUMO

Introdução: a malária é um dos maiores desafios globais de saúde pública. É causada principalmente pelos parasitas *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium vivax*. Durante o processo de invasão, proteínas homólogas de ligação a reticulócitos de *P. falciparum* PfrH1, PfrH2a, PfrH2b, PfrH4 e PfrH5 estão envolvidas, que após a ligação a receptores de membrana específicos permitem a invasão do merozoíta ao andritro.

Objetivo: compilar e resumir as características moleculares e estruturais das interações entre as proteínas pertencentes à família das proteínas reticulocitárias homólogas de *P. falciparum* e os receptores expressos na célula hospedeira.

Método: revisão descritiva das proteínas ho-mólogas de ligação a reticulócitos de *P. falciparum* envolvidas no processo de invasão eritrocitária. Esta revisão inclui literatura publicada até 2020 em bases de dados eletrônicas especializadas em pesquisa biomédica. Foram encontrados 105 documentos, dos quais 70 foram selecionados e 11 excluídos por não apresentarem os critérios de inclusão, analisando um total de 59 referências.

Conclusão: a invasão de merozoítos é mediada por interações específicas dos ligantes das famílias EBL e PfrH. A ligação das proteínas PfrH1 e PfrH2b aos seus receptores no eritrócito resulta na liberação da proteína EBL-175 que, junto com PfrH4, a mediação da formação de uma junção compacta entre o parasita e as hemácias. Isso permite a ligação da proteína PfrH5 à basigina e a entrada do parasita na célula hospedeira.

Palavras-chave: malária; *Plasmodium falciparum*; ligantes; membrana eritrocítica; eritrócitos.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la malaria es un problema mundial de salud pública. Durante el 2019, la Organización Mundial de la Salud reportó 219 millones de casos y 435.000 muertes (1). Las especies de *Plasmodium* causantes de infección en humanos son: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* y *Plasmodium knowlesi*. El primero es el que más muertes causa en la población mundial (2,3).

El ciclo de vida del parásito inicia cuando el mosquito hembra del género *Anopheles* pica e inyecta en el huésped esporozoítos que se encuentran alojados en sus glándulas salivales. Estos viajan a través del torrente sanguíneo en búsqueda de células hepáticas, las cuales invade por interacciones específicas establecidas entre las proteínas del parásito con los receptores de los hepatocitos (4). Cada esporozoítos modifica su morfología, se divide individualmente y da lugar a la formación de ~30.000 merozoítos (Mrz) en un periodo que tarda 14 días. Estos proliferan y causan la lisis de los hepatocitos y, con ello, su liberación al torrente sanguíneo (figura 1) (5).

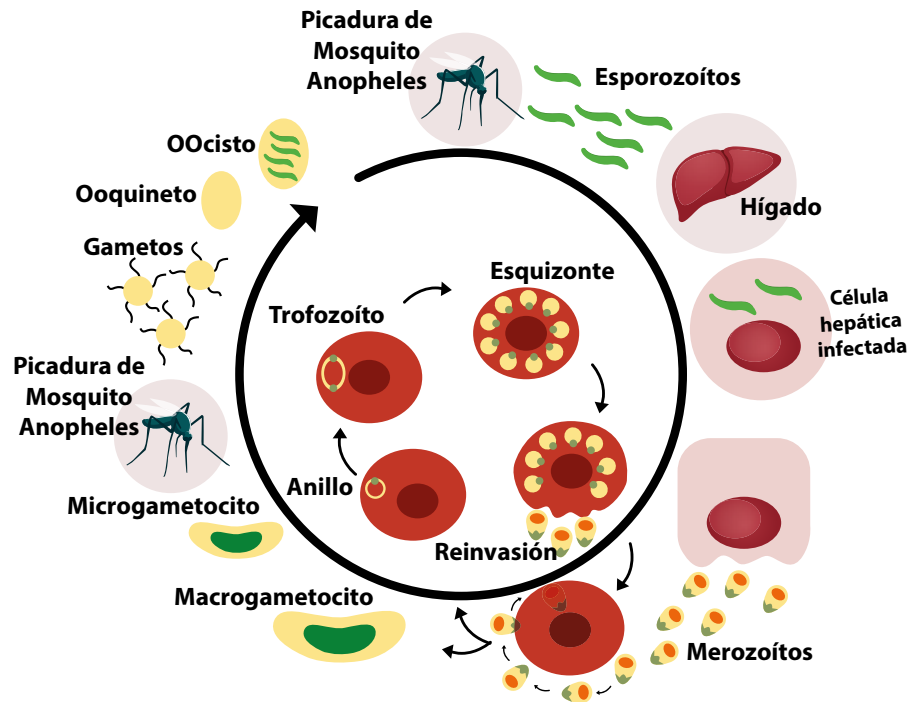
El Mrz posee en su estructura un lado apical, en el que se encuentran alojadas las roptrias y los micronemas, encargados de liberar las proteínas que median la unión con los receptores específicos del glóbulo rojo (GR). En el contacto inicial, los Mrz producen una leve deformación de la

membrana de la célula del hospedero, a través de interacciones de baja afinidad entre los miembros de la familia de proteínas de superficie del Mrz y los receptores banda 3 y glicoforina A (GlyA) presentes en la superficie del GR (6).

Posteriormente, se presenta la reorientación apical del parásito y una fuerte deformación de la membrana del GR, secundaria a la unión de las proteínas homólogas de unión al reticulocito 1 y 2b (*PfRH1* y *PfRH2b*). Estas elevan la concentración de Ca^{2+} en el Mrz para liberar y translocar de la membrana de los Mrz el antígeno de unión a los eritrocitos (EBA-175), seguido de cualquiera de las proteínas redundantes de la familia de unión a eritrocitos (EBL) (EBA-175, EBA-140/BAEBL, EBA-181/JESEBL, EBL-1 y MAEBL) (7), o de las proteínas *PfRH1*, *PfRH2a* y *PfRH4*, para permitir luego la unión de *PfRH5* a la basigin (BSG). Ello desencadena la liberación de las roptrias mediada por el flujo de Ca^{2+} en la interfaz parásito/huésped (8,9).

Luego se produce la unión irreversible de los Mrz a los GR, mediante una unión estrecha que requiere interacciones de alta afinidad entre las proteínas de cuello de roptrias (RON-2,4 y 5) y el antígeno apical de membrana 1. Estas se anclan a la membrana del GR y constituyen la formación del anillo de la unión estrecha, con lo cual se inicia la formación de la vacuola parasitófora, donde se reproduce el parásito dentro del GR (10-12).

Figura 1. Ciclo de vida de *Plasmodium falciparum*



Lo anterior resalta el complejo proceso de invasión de *P. falciparum* al GR, el cual es orquestado por interacciones de alta afinidad entre ligandos de la vía alternativa pertenecientes a las familias EBL y *PfRH5* con los receptores específicos del GR.

Así, el objetivo de esta revisión es compilar y resumir las características moleculares y estructurales de las interacciones descritas entre las proteínas pertenecientes a la familia *PfRH* y los receptores expresados en la célula del hospedero.

METODOLOGÍA

Se realizó una revisión descriptiva acerca de las interacciones entre las proteínas pertenecientes a la familia *PfRH* y los receptores expresados en la célula del hospedero. La búsqueda de la literatura relacionada con el tema de estudio se condujo a partir de artículos y guías de referencia mundial para esta entidad publicados en bases de datos electrónicas, como Medline-Pubmed, Science Direct, Web of Science, EBSCO Host y Embase.

Los tesauros se eligieron con base en los Descriptores de Ciencias de la Salud (DeCS) y su versión en inglés, correspondiente al Medical Subject Headings (MeSH). Las palabras escogidas para la búsqueda fueron: malaria, *Plasmodium falciparum*, ligandos, membrana eritrocítica y eritrocitos. Se seleccionaron todos los artículos y guías disponibles publicados hasta la fecha escritos en idioma inglés y español, que en total fueron 105 artículos, de los cuales se optó por 70 (por título y resumen), y de estos se excluyeron 11, por no presentar información acerca de las interacciones entre las proteínas pertenecientes a la familia *PfRH* de *P. falciparum* y los receptores expresados en la célula del hospedero. En total se analizaron 59 referencias, incluyendo 58 artículos y una guía.

RESULTADOS

Proteínas homólogas de unión a reticulocitos (*PfRH*)

Los ligandos de la familia de proteínas homólogas de unión a reticulocitos se identificaron mediante enfoques bioinformáticos como parte del proyecto del genoma de *P. falciparum* (13). En esta familia se encuentran las proteínas *PfRH1*, *PfRH2a*, *PfRH2b*, *PfRH3*, *PfRH4* y *PfRH5*. Sin embargo, *PfRH3* presenta mutaciones sin sentido y es un pseudogen que se transcribe pero no se traduce en ninguna de las etapas del ciclo de vida del parásito (14-16).

Los miembros de esta familia son proteínas de alto peso molecular homólogas a las proteínas de unión a reticulocitos de *P. vivax* (*PvRBP-1* y *-2*) y a *Py235* de *P. yoelii*; de ahí su nombre de proteínas homólogas de unión a reticulocitos (17-19). Estas proteínas tienen una conformación estructural similar y constan de un péptido señal: la región homóloga a las *PfRH* y un dominio transmembranal, a excepción de *PfRH5*, que no posee este dominio (figura 2) (20,21).

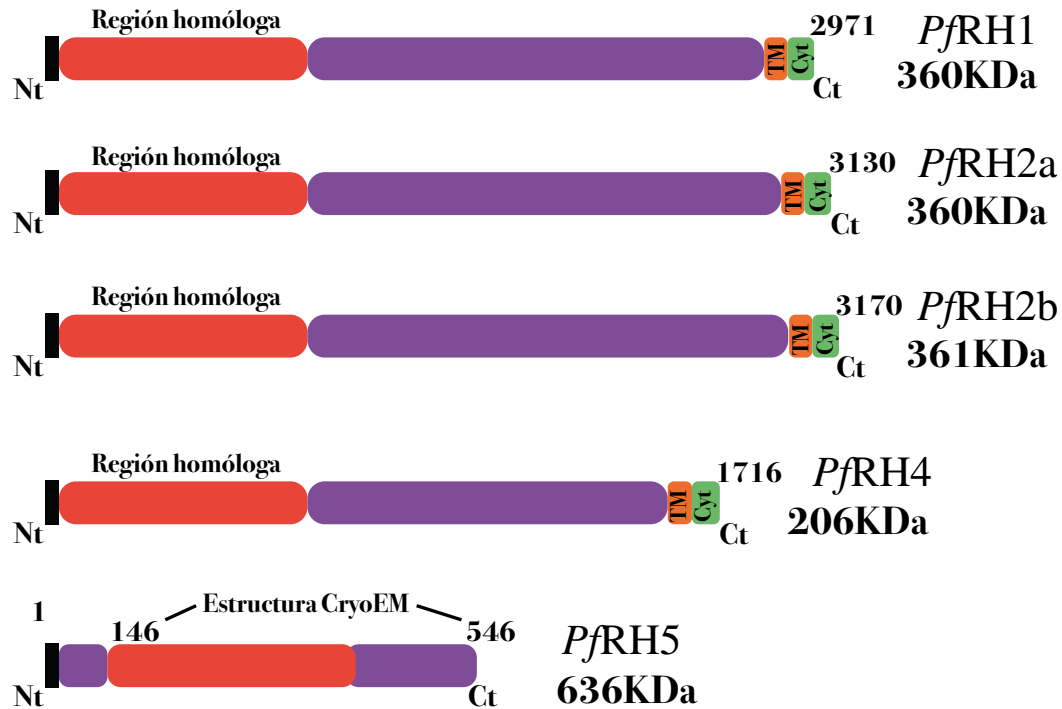
Proteína homóloga de unión al reticulocito 1 (*PfRH1*)

PfRH1 es una proteína de alto peso molecular (360 kDa), con una longitud de 2971 residuos, expresada en el cuello de las roprías (17). Cuenta en el dominio N-terminal con un péptido señal y en el dominio C-terminal con una secuencia transmembranal (figura 2).

Durante el proceso de invasión, esta proteína se somete a un procesamiento proteolítico que genera fragmentos de 120 kDa y 240 kDa, localizados en la unión estrecha con el GR. Aquí el fragmento de 120 kDa es el involucrado en la formación del anillo del parásito (22).

Se ha demostrado que la *PfRH1* tiene un importante rol dentro de los ligandos de la vía alternativa, al inducir la liberación de los micronemas de la proteína EBA-175 en un proceso dependiente de

Figura 2. Esquema de los miembros de la familia de proteínas homólogas de unión a reticulocitos



Ca²⁺ (23,24). Previo a la interacción de EBA-175 con GlyA, la *PfRH1* se une al GR a través de un fragmento de 333 aminoácidos (AA) (500-833), denominado *Ril-3*, a un receptor putativo denominado *Y* (25), resistente al tratamiento enzimático con tripsina y quimiotripsina, además de ser sensible a la neuraminidasa (18,26-28).

Proteínas homólogas de unión al reticulocito 2a-2b (*PfRH2a-Pf2b*)

Las proteínas *PfRH2a* y *PfRH2b* fueron los primeros miembros de la familia *PfRH* en identificarse. Tienen un peso molecular de 360 y 361 kDa, respectivamente, y se encuentran localizadas en el cuello de las roptrias (27,29). Estas proteínas están codificadas por dos genes contiguos en el cromosoma 13 y comparten en su secuencia una

identidad del 88% en los primeros 2776 residuos, con extremos C-terminales divergentes en aproximadamente 500 residuos, lo que determina la función de estas proteínas (figura 2) (30-32).

La *PfRH2a* se expresa en las cepas de *P. falciparum* 3D7, D10, T996, HB3, 7G8, K1, Pf120 y W2mef; mientras que la *PfRH2b* tiene un patrón de expresión similar; sin embargo, no está presente en la cepa D10 (29).

La *PfRH2a* se escinde del extremo N-terminal y libera dos fragmentos de 90 y 270 kDa. Este último se procesa en dos fragmentos de 130 y 140 kDa, los cuales se dirigen a la formación de la unión estrecha, ayudando al ingreso del Mrz al GR a través de un receptor hasta ahora no identificado (20).

La *PfRH2b* es una proteína de 361 kDa (figura 2), procesada en fragmentos de ~300, 250, 130 y 85 kDa en las cepas W2-mef y 3D7, donde junto con *PfRH1*, *PfRH4* y *PfRH5* interviene en la formación de la unión estrecha con el GR a través de la unión al receptor putativo Z, un receptor hasta ahora no caracterizado, resistente al tratamiento enzimático con tripsina y neuraminidasa y sensible a quimiotripsina (29,33).

Las alteraciones en el gen de la *PfRH2a* y la *PfRH2b* no producen diferencias entre los fenotipos de invasión en parásitos *knock-out* o silvestres, lo que sugiere que estas proteínas no son esenciales en

el proceso de invasión o que su función está compensada por otros ligandos del parásito (29).

Proteína homóloga de unión al reticulocito 4 (*PfRH4*)

La proteína *PfRH4* está conformada por 1716 AA y tiene un peso molecular de 206 kDa (figura 2). Cuando es sometida a procesamiento proteolítico, libera un fragmento de 160 kDa (22). Se une al GR a través de la interacción con el receptor de complemento 1 (CR1), una glucoproteína de membrana de ~250 kDa, conocida también como receptor C3b/C4b o receptor adherencia inmune (34), resistente al tratamiento enzimático con neuraminidasa y sensible a la tripsina y quimiotripsina (35).

La glucoproteína CR1 se divide en 30 dominios compactos ricos en láminas beta, denominadas *repeticiones de consenso corto* (SCR), cada uno de los cuales se encuentra formado por aproximadamente 59-72 AA. A su vez, las 30 SCR se pueden agrupar en 4 regiones más largas, denominadas *repeticiones homólogas largas* (LHR): LHR-A, -B, -C y -D, encargadas de mediar las interacciones de CR1 (36). De acuerdo con esto, se ha descrito que los SCR 5-7, 12-14 y 19-21 son los implicados en la unión con CR1 (8).

La *PfRH4* es una proteína de gran importancia, debido a que constituye un ligando esencial en la

ruta de invasión, independiente del ácido siálico (37-40), debido a que la disrupción del gen en la cepa W2mef elimina la capacidad del parásito para cambiar las vías de invasión y permitir la invasión exitosa a los GR tratados con neuraminidasa (15). Adicionalmente, se ha demostrado con el uso de Mrz con delección de la proteína EBA-175 (Δ EBA-175), que la *PfRH4* corresponde al ligando principal de invasión de RBC tratados con neuraminidasa, en presencia de CR1 soluble (36).

Adicionalmente, en condiciones de ausencia de ruta alterna, la tasa de invasión disminuye hasta 9 veces. Así mismo, se ha reportado una débil deformación de la membrana del GR con los Mrz Δ EBA-175 y con la cepa W2mef tratada con neuraminidasa, lo cual sugiere que la *PfRH4* y la EBA-175 desempeñan funciones similares. Se concluye que las interacciones EBL/*PfRH* son las encargadas de la fuerte deformación del GR en la etapa de preinvasión (24,41).

Algunos de los fenotipos de virulencia expresados por *P. falciparum* corresponden a la formación de rosetas entre los GR (8). El receptor CR1 media la formación de estas rosetas a través de su interacción con *PfEMP-1*, una proteína de membrana derivada de *P. falciparum* (42). La formación de rosetas contribuye a los microtrombos, que llevan a la obstrucción microvascular y a una alteración de la perfusión tisular (43).

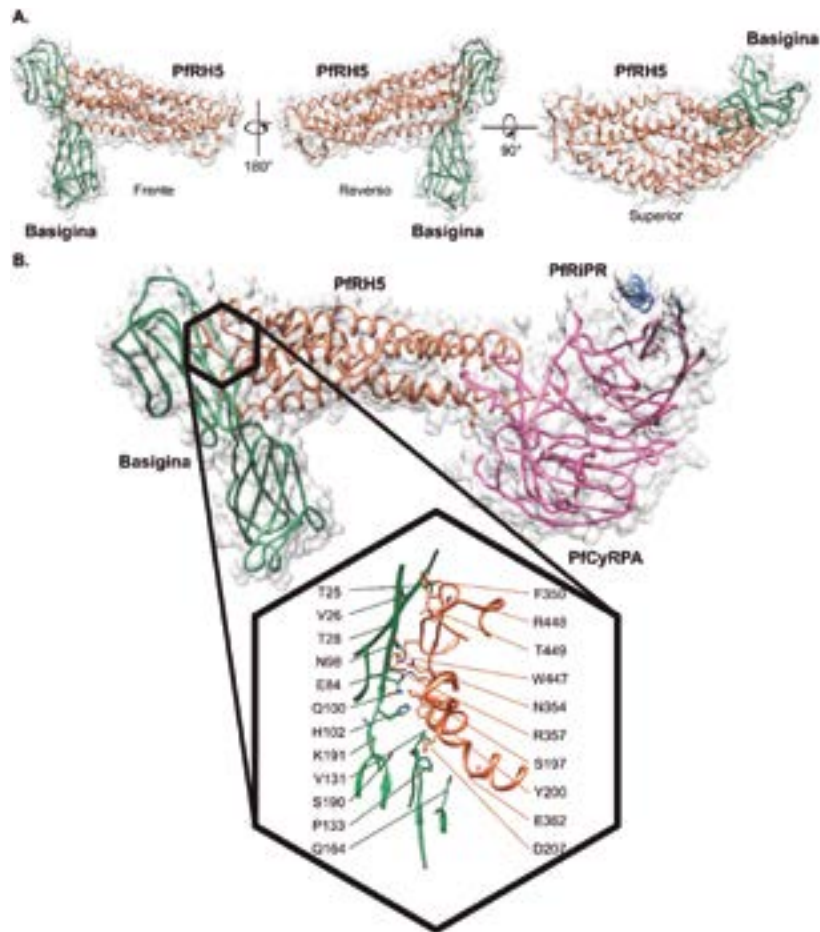
Estudios que incluyen alteraciones genéticas en el gen que expresa CR1, específicamente en el exón 27, intrón 22 y exón 31, han demostrado la producción de una baja expresión de este receptor en la membrana de los GR, lo que confiere protección contra la formación de rosetas y contra el desarrollo de enfermedades como la malaria (44).

Proteína homóloga de unión al reticulocito 5 (*PfRH5*)

La *PfRH5* es una proteína codificada por el gen PFD1145c, ubicado en la región subtelomérica del cromosoma 4. Su ADN está conformado por 1581 pares de bases y codifica para un polipéptido de 526 AA. Es un miembro atípico de la familia *PfRH*, al no poseer dominio transmembranal y citoplasmático y al tener un bajo peso molecular (63 kDa) (figura 2) (45-47).

Esta proteína tiene una estructura rígida plana, constituida por dos dominios, cada uno de ellos con tres hélices. El dominio N-terminal se inicia con una hoja β corta, seguido por una hélice α corta y dos hélices α largas conectadas por un bucle truncado, y el dominio C-terminal está conformado por tres hélices α largas que abarcan toda su longitud. A lo largo de su estructura se presentan cinco cisteínas (C). El bucle que une los dos dominios de la estructura está estabilizado

Figura 3. Complejo ternario *PfC* y RPA, *PfRiPR* y *PfRH5*, que interactúa con la basigina. En el recuadro se presentan los residuos de unión entre *PfRH5* y BSG (PDB: 4U0Q, 6MPV) (48-58)



por un enlace disulfuro ($C^{345}-C^{351}$); mientras que otro enlace disulfuro ($C^{224}-C^{317}$) une la segunda y tercera hélices en el dominio N-terminal, dejando una C sin par (C^{329}) (figura 3A) (48).

Al ser una proteína que carece de un dominio transmembranal y de anclaje glucosilfosfatidilinositol (49), se ha demostrado por estudios de criomicroscopía electrónica que la *PfRH5* se une al GR a través de un complejo conformado por

el antígeno protector rico en cisteína (CyRPA) y la proteína de interacción con *PfRH5* (RiPr) que lo ayudan a anclar a la membrana del GR (figura 3B) (14). Por otro lado, la proteína P113 ayuda a la *PfRH5* a anclarse a la membrana del Mrz a través de una interacción con 19 residuos en el N-terminal (50-53).

El complejo *PfRH5*/CyRPA/RiPR está conformado en una relación estequiométrica de 1:1:1. El CyRPA es el núcleo que estabiliza la unión de las proteínas *PfRH5*/RiPR en los lados opuestos del complejo ternario. El sitio de unión de *PfRH5* a CyRPA se produce en la punta de la estructura α -helicoidal, opuesto al sitio de unión a la BSG. Los bucles B4 y B4-B5 de CyRPA poseen residuos aromáticos enriquecidos con tirosinas, que se insertan en el surco hidrofóbico de *PfRH5* formado por las hélices $\alpha 5$ y $\alpha 7$. El CyRPA se une a RiPR a través de la interacción entre la hélice α -RiPr N-terminal a la hélice β -CyRPA (figura 3B) (48).

La BSG es el receptor específico de *PfRH5*, también llamado *CD147* (54,55). Presenta dos isoformas cortas con dos dominios (IGSF y BSG-S), siendo esta última la expresada por los GR y el receptor al cual se une el ligando *PfRH5* para mediar la entrada del Mrz a la célula (56,57).

El sitio de unión de la *PfRH5* a la BSG se produce en las hélices $\alpha 2$ y $\alpha 4$ y el bucle disulfuro (^{345}C - ^{351}C) (figura 3A) (54). La mayor parte del área de

contacto se produce a través de enlaces de hidrógeno entre la columna peptídica de las cadenas A y G del dominio N-terminal de la BSG y los bucles en la punta de la *PfRH5*. Esta interacción es estabilizada a través de enlaces de hidrógeno entre los residuos ^{350}F y ^{447}W de *PfRH5* y BSG; mientras que RiPR y CyRPA no hacen contacto con la BSG (figura 3A y 3B) (50,58).

La *PfRH5* es la única proteína expresada en todas las cepas conocidas de *P. falciparum* y es refractaria a modificaciones genéticas, lo que sugiere que es necesaria e indispensable durante el proceso de invasión del Mrz al GR; sin embargo, estudios realizados evidencian que la interacción entre *PfRH5* y su receptor de la superficie celular de los GR BSG es específica de cada especie (46,56).

CONCLUSIÓN

En el mundo, el *P. falciparum* es la especie de malaria responsable de la mayor mortalidad y, en la actualidad, no se cuenta con una vacuna efectiva para poder combatirla. Esto debido a que el parásito tiene un complejo ciclo de vida que involucra los ciclos de reproducción sexual y asexual, diferentes etapas de desarrollo y dos huéspedes (mosquito *Anopheles* y seres humanos). Adicional a esto, el intrincado y rápido proceso de invasión mediado por interacciones moleculares específicas y de alta afinidad, la capacidad del parásito para modificar su expresión genética y

la variabilidad genética de las cepas circulantes de *P. falciparum*.

Durante la etapa eritrocítica, el parásito expresa de forma organizada y compleja diversas proteínas que van a interactuar con los receptores de la membrana del GR para lograr invadir la célula del hospedero. Durante este ciclo, el parásito cuenta con dos principales rutas alternas y redundantes de invasión mediadas por las proteínas de las familias EBL y *PfRH*. Las proteínas pertenecientes a la familia EBL utilizan las vías de invasión dependientes de ácido siálico, a diferencia de las proteínas de la familia *PfRH*, las cuales invaden las células del hospedero a través de vías independientes de ácido siálico, exceptuando el ligando *PfRH1* (59).

La unión de las proteínas homólogas de reticulocito (*PfRH1* y *PfRH2b*) a sus receptores putativos específicos Y y Z, respectivamente, dan lugar a la liberación de la proteína EBA-175, que tras la interacción con su receptor GlyA y junto con *PfRH4* median la formación de una unión estrecha entre el parásito y los GR. Ello permite la unión de la proteína *PfRH5* con su receptor específico, BSG (35), y demuestra que las interacciones mediadas por las proteínas pertenecientes a las familias EBL y *PfRH* son las encargadas de la fuerte deformación del GR en la etapa de preinvasión.

En esta revisión se describieron las características moleculares y estructurales de las proteínas pertenecientes a la familia *PfRH* descritas a la fecha, involucradas en el complejo proceso llevado a cabo por el parásito para la exitosa invasión del GR. Se resalta la creciente necesidad de investigaciones que profundicen en el conocimiento molecular de las interacciones proteína-proteína tipo receptor-ligando, esenciales para conocer la biología del parásito y desarrollar medidas anti-maláricas eficaces.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

FINANCIACIÓN

Artículo realizado con financiación de la Universidad de Boyacá.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Conceptualización: J.M.-F, W.R.-B. Escritura del artículo: todos los autores. Revisión de escritura y edición: M.P.F.-R., Y.A.P.-J, C.R. Todos los autores han leído y acordado publicar esta versión del manuscrito.

REFERENCIAS

1. World Health Organization. Word malaria report 2019 [internet]. 2019. Disponible en: <https://www.who.int/publications/item/9789241565721>
2. Singh B, Kim Sung L, Matusop A, Radhakrishnan A, Shamsul SSG, Cox-Singh J, et al. A large focus of naturally acquired Plasmodium knowlesi infections in human beings. *Lancet*. 2004;363(9414):1017-24. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)15836-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)15836-4)
3. Rougemont M, Van Saanen M, Sahli R, Hinrikson HP, Bille J, Jatón K, et al. Detection of four Plasmodium species in blood from humans by 18S rRNA gene subunit-based and species-specific real-time PCR assays. *J Clin Microbiol*. 2004;42(12):5636-43. <https://doi.org/10.1128/jcm.42.12.5636-5643.2004>
4. Bray RS, Garnham PC. The life-cycle of primate malaria parasites. *Br Med Bull*. 1982;38(2):117-22. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a071746>
5. Kappe SHI, Buscaglia CA, Nussenzweig V. Plasmodium sporozoite molecular cell biology. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2004;20:29-59. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.20.011603.150935>
6. Patarroyo ME, Patarroyo MA. Emerging rules for subunit-based, multiantigenic, multistage chemically synthesized vaccines. *Acc Chem Res*. 2008;41(3):377-86. <https://doi.org/10.1021/ar700120t>
7. Harvey KL, Gilson PR, Crabb BS. A model for the progression of receptor-ligand interactions during erythrocyte invasion by Plasmodium falciparum. *Int J Parasitol*. 2012;42(6):567-73. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2012.02.011>
8. Tham W-H, Wilson DW, Lopaticki S, Schmidt CQ, Tetteh-Quarcoo PB, Barlow PN, et al. Complement receptor 1 is the host erythrocyte receptor for Plasmodium falciparum PfRh4 invasion ligand. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(40):17327-32. <https://doi.org/10.1073/pnas.1008151107>
9. Weiss GE, Crabb BS, Gilson PR. Overlaying molecular and temporal aspects of malaria parasite invasion. *Trends Parasitol*. 2016;32(4):284-95. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2015.12.007>
10. Cao J, Kaneko O, Thongkukiatkul A, Tachibana M, Otsuki H, Gao Q, et al. Rhoptry neck protein RON2 forms a complex with microneme protein AMA1 in Plasmodium falciparum merozoites. *Parasitol Int*. 2009;58(1):29-35. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2008.09.005>

11. Riglar DT, Richard D, Wilson DW, Boyle MJ, Dekiwadia C, Turnbull L, et al. Super-resolution dissection of coordinated events during malaria parasite invasion of the human erythrocyte. *Cell Host Microbe*. 2011;9(1):920. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2010.12.003>
12. Udeinya IJ, Schmidt JA, Aikawa M, Miller LH, Green I. Falciparum malaria-infected erythrocytes specifically bind to cultured human endothelial cells. *Science*. 1981;213(4507):555-7. <https://doi.org/10.1126/science.7017935>
13. Baum J, Chen L, Healer J, Lopaticki S, Boyle M, Triglia T, et al. Reticulocyte-binding protein homologue 5 - an essential adhesin involved in invasion of human erythrocytes by *Plasmodium falciparum*. *Int J Parasitol*. 2009;39(3):371-80. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.10.006>
14. Cowman AF, Crabb BS. Invasion of red blood cells by malaria parasites. *Cell*. 2006;124(4):755-66. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.006>
15. Stubbs J, Simpson KM, Triglia T, Plouffe D, Tonkin CJ, Duraisingh MT, et al. Molecular mechanism for switching of *P. falciparum* invasion pathways into human erythrocytes. *Science*. 2005;309(5739):1384-7. <https://doi.org/10.1126/science.1115257>
16. Hayton K, Gaur D, Liu A, Takahashi J, Henschen B, Singh S, et al. Erythrocyte binding protein PfRH5 polymorphisms determine species-specific pathways of *Plasmodium falciparum* invasion. *Cell Host Microbe*. 2008;4(1):40-51. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2008.06.001>
17. Taylor HM, Triglia T, Thompson J, Sajid M, Fowler R, Wickham ME, et al. *Plasmodium falciparum* homologue of the genes for *Plasmodium vivax* and *Plasmodium yoelii* adhesive proteins, which is transcribed but not translated. *Infect Immun*. 2001;69(6):3635-45. <https://dx.doi.org/10.1128/IAI.69.6.3635-3645.2001>
18. Galinski MR, Xu M, Barnwell JW. *Plasmodium vivax* reticulocyte binding protein-2 (PvRBP-2) shares structural features with PvRBP-1 and the *Plasmodium yoelii* 235 kDa rhoptry protein family. *Mol Biochem Parasitol*. 2000;108(2):257-62. [https://doi.org/10.1016/S0166-6851\(00\)00219-X](https://doi.org/10.1016/S0166-6851(00)00219-X)
19. Ogun SA, Holder AA. A high molecular mass *Plasmodium yoelii* rhoptry protein binds to erythrocytes. *Mol Biochem Parasitol*. 1996;76(1-2):321-4. [https://doi.org/10.1016/0166-6851\(95\)02540-5](https://doi.org/10.1016/0166-6851(95)02540-5)
20. Gunalan K, Gao X, Liew KJL, Preiser PR. Differences in erythrocyte receptor specificity

- of different parts of the Plasmodium falciparum reticulocyte binding protein homologue 2a. *Infect Immun*. 2011;79(8):3421-30. <https://doi.org/10.1128/IAI.00201-11>
21. Knuepfer E, Wright KE, Kumar Prajapati S, Rawlinson TA, Mohring F, Koch M, et al. Divergent roles for the RH5 complex components, CyRPA and RIPP in human-infective malaria parasites. *PLoS Pathog*. 2019;15(6):e1007809. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007809>
22. Triglia T, Tham W-H, Hodder A, Cowman AF. Reticulocyte binding protein homologues are key adhesins during erythrocyte invasion by Plasmodium falciparum. *Cell Microbiol*. 2009;11(11): 1671-87. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2009.01358.x>
23. Patarroyo ME, Alba MP, Rojas-Luna R, Bermúdez A, Aza-Conde J. Functionally relevant proteins in Plasmodium falciparum host cell invasion. *Immunotherapy*. 2017;9(2):131-55. <https://doi.org/10.2217/imt-2016-0091>
24. Weiss GE, Gilson PR, Taechalertpaisarn T, Tham W-H, Jong NWM de, Harvey KL, et al. Revealing the sequence and resulting cellular morphology of receptor-ligand interactions during Plasmodium falciparum invasion of erythrocytes. *PLOS Pathog*. 2015;11(2):e1004670. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004670>
25. Gao X, Yeo KP, Aw SS, Kuss C, Iyer JK, Genesan S, et al. Antibodies targeting the PfRH1 binding domain inhibit invasion of Plasmodium falciparum merozoites. *PLOS Pathog*. 2008;4(7):e1000104. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000104>
26. Beeson JG, Drew DR, Boyle MJ, Feng G, Fowkes FJI, Richards JS, et al. Merozoite surface proteins in red blood cell invasion, immunity and vaccines against malaria. *FEMS Microbiol Rev*. 2016;40(3):343-72. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw001>
27. Rayner JC, Vargas-Serrato E, Huber CS, Galinski MR, Barnwell JW. A Plasmodium falciparum homologue of Plasmodium vivax reticulocyte binding protein (PvRBP1) defines a trypsin-resistant erythrocyte invasion pathway. *J Exp Med*. 2001;194(11):1571-81. <https://doi.org/10.1084/jem.194.11.1571>
28. Triglia T, Duraisingh MT, Good RT, Cowman AF. Reticulocyte-binding protein homologue 1 is required for sialic acid-dependent invasion into human erythrocytes by Plasmodium falciparum. *Mol Microbiol*. 2005;55(1):162-74. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04388.x>
29. Duraisingh MT, Triglia T, Ralph SA, Rayner JC, Barnwell JW, McFadden GI, et al. Phenotypic

- variation of *Plasmodium falciparum* merozoite proteins directs receptor targeting for invasion of human erythrocytes. *EMBO J.* 2003;22(5):1047-57. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdg096>
30. Rayner JC, Galinski MR, Ingravallo P, Barnwell JW. Two *Plasmodium falciparum* genes express merozoite proteins that are related to *Plasmodium vivax* and *Plasmodium yoelii* adhesive proteins involved in host cell selection and invasion. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97(17):9648-53. <https://doi.org/10.1073/pnas.160469097>.
31. Reiling L, Richards JS, Fowkes FJI, Barry AE, Triglia T, Chokejindachai W, et al. Evidence that the erythrocyte invasion ligand PfRh2 is a target of protective immunity against *Plasmodium falciparum* malaria. *J Immunol.* 2010;185(10):6157-67. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1001555>
32. Triglia T, Thompson J, Caruana SR, Delorenzi M, Speed T, Cowman AF. Identification of proteins from *Plasmodium falciparum* that are homologous to reticulocyte binding proteins in *Plasmodium vivax*. *Infect Immun.* 2001;69(2):1084-92. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.2.1084-1092.2001>
33. Gaur D, Mayer DCG, Miller LH. Parasite ligand-host receptor interactions during invasion of erythrocytes by *Plasmodium* merozoites. *Int J Parasitol.* 2004;34(13-14):1413-29. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2004.10.010>
34. Park HJ, Guariento M, Maciejewski M, Hauhart R, Tham W-H, Cowman AF, et al. Using mutagenesis and structural biology to map the binding site for the *Plasmodium falciparum* merozoite protein PfRh4 on the human immune adherence receptor. *J Biol Chem.* 2014;289(1):450-63. <https://doi.org/10.1074/jbc.m113.520346>
35. Spadafora C, Awandare GA, Kopydlowski KM, Czege J, Moch JK, Finberg RW, et al. Complement receptor 1 is a sialic acid-independent erythrocyte receptor of *Plasmodium falciparum*. *PLoS Pathog.* 2010;6(6):e1000968. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000968>.
36. Tham W-H, Schmidt CQ, Hauhart RE, Guariento M, Tetteh-Quarcoo PB, Lopaticki S, et al. *Plasmodium falciparum* uses a key functional site in complement receptor type-1 for invasion of human erythrocytes. *Blood.* 2011;118(7):1923-33. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-03-341305>

37. Salinas ND, Paing MM, Tolia NH. Critical glycosylated residues in exon three of erythrocyte glycophorin a engage Plasmodium falciparum EBA-175 and define receptor specificity. *mBio*. 2014;5(5). <https://doi.org/10.1128/mBio.01606-14>
38. Reid ME, Takakuwa Y, Conboy J, Tchernia G, Mohandas N. Glycophorin C content of human erythrocyte membrane is regulated by protein 4.1. *Blood*. 1990;75(11):2229-34.
39. Rydzak J, Kaczmarek R, Czerwinski M, Lukasiewicz J, Tyborowska J, Szewczyk B, et al. The baculovirus-expressed binding region of Plasmodium falciparum EBA-140 ligand and its glycophorin C binding specificity. *PLoS ONE*. 2015;10(1):e0115437. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115437>
40. Jaskiewicz E, Peyrard T, Kaczmarek R, Zerka A, Jodlowska M, Czerwinski M, et al. The Gerbich blood group system: old knowledge, new importance. *Transfus Med Rev*. 2018;32(2):111-6. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2018.02.004>
41. Lopaticki S, Maier AG, Thompson J, Wilson DW, Tham W-H, Triglia T, et al. Reticulocyte and erythrocyte binding-like proteins function cooperatively in invasion of human erythrocytes by malaria parasites. *Infect Immun*. 2011;79(3):1107-17. <https://doi.org/10.1128/IAI.01021-10>
42. Rowe JA, Moulds JM, Newbold CI, Miller LH. P. falciparum rosetting mediated by a parasite-variant erythrocyte membrane protein and complement-receptor 1. *Nature*. 1997;388(6639):292-5. <https://doi.org/10.1038/40888>
43. Kaul DK, Roth EF, Nagel RL, Howard RJ, Handunnetti SM. Rosetting of Plasmodium falciparum-infected red blood cells with uninfected red blood cells enhances microvascular obstruction under flow conditions. *Blood*. 1991;78(3):812-9.
44. Cockburn IA, Mackinnon MJ, O'Donnell A, Allen SJ, Moulds JM, Baisor M, et al. A human complement receptor 1 polymorphism that reduces Plasmodium falciparum rosetting confers protection against severe malaria. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101(1):272-7. <https://doi.org/10.1073/pnas.0305306101>
45. Rodríguez M, Lustigman S, Montero E, Oksov Y, Lobo CA. PfrH5: a novel reticulocyte-binding family homolog of Plasmodium falciparum that binds to the erythrocyte, and an investigation of its receptor. *PLOS One*. 2008;3(10):e3300. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003300>

46. Chen L, Lopaticki S, Riglar DT, Dekiwadia C, Uboldi AD, Tham W-H, et al. An EGF-like protein forms a complex with PfRh5 and is required for invasion of human erythrocytes by *Plasmodium falciparum*. *PLoS Pathog.* 2011;7(9):e1002199. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002199>
47. Volz JC, Yap A, Sisquella X, Thompson JK, Lim NTY, Whitehead LW, et al. Essential Role of the PfRh5/PfRipr/CyRPA Complex during *Plasmodium falciparum* invasion of erythrocytes. *Cell Host Microbe.* 2016;20(1):60-71. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.06.004>
48. Wright KE, Hjerrild KA, Bartlett J, Douglas AD, Jin J, Brown RE, et al. Structure of malaria invasion protein RH5 with erythrocyte basigin and blocking antibodies. *Nature.* 2014;515(7527):427-30. <https://doi.org/10.1038/nature13715>
49. Reddy KS, Amlabu E, Pandey AK, Mitra P, Chauhan VS, Gaur D, et al. Multiprotein complex between the GPI-anchored CyRPA with PfRH5 and PfRipr is crucial for *Plasmodium falciparum* erythrocyte invasion. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2015;112(4):1179-84. <https://doi.org/10.1073/pnas.1415466112>
50. Galaway F, Yu R, Constantinou A, Prugnolle F, Wright GJ. Resurrection of the ancestral RH5 invasion ligand provides a molecular explanation for the origin of *P. falciparum* malaria in humans. *PLoS Biol.* 2019;17(10):e3000490. <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pbio.3000490>
51. Galaway F, Drought LG, Fala M, Cross N, Kemp AC, Rayner JC, et al. P113 is a merozoite surface protein that binds the N terminus of *Plasmodium falciparum* RH5. *Nat Commun.* 2017;8:14333. <https://doi.org/10.1038/ncomms14333>
52. Ord RL, Caldeira JC, Rodríguez M, Noe A, Chackerian B, Peabody DS, et al. A malaria vaccine candidate based on an epitope of the *Plasmodium falciparum* RH5 protein. *Malar J.* 2014;13:326. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-326>
53. Imboumy-Limoukou RK, Maghendi-Nzondo S, Kouna CL, Bounaadja L, Mbang S, Biteghe JC, et al. Immunoglobulin response to the low polymorphic Pf113 antigen in children from Lastoursville, South-East of Gabon. *Acta Trop.* 2016;163:149-56. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.08.014>
54. Muramatsu T. Basigin (CD147), a multifunctional transmembrane glycoprotein

with various binding partners. *J Biochem.* 2016 ;159(5):481-90. <https://doi.org/10.1093/jb/mvv127>

invasion in *Plasmodium falciparum*. *PLOS One.* 2012;7(1):e30251. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030251>

55. Wanaguru M, Liu W, Hahn BH, Rayner JC, Wright GJ. RH5-Basigin interaction plays a major role in the host tropism of *Plasmodium falciparum*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013;110(51):20735-40. <https://doi.org/10.1073/pnas.1320771110>

56. Crosnier C, Bustamante LY, Bartholdson SJ, Bei AK, Theron M, Uchikawa M, et al. Basigin is a receptor essential for erythrocyte invasion by *Plasmodium falciparum*. *Nature.* 2011;480(7378):534-7. <https://doi.org/10.1038/nature10606>

57. Zenonos ZA, Dummler SK, Müller-Sienerth N, Chen J, Preiser PR, Rayner JC, et al. Basigin is a druggable target for host-oriented antimalarial interventions. *J Exp Med.* 2015;212(8):1145-51. <https://doi.org/10.1084/jem.20150032>

58. Wong W, Huang R, Menant S, Hong C, Sandow JJ, Birkinshaw RW, et al. Structure of *Plasmodium falciparum* Rh5-CyRPA-Ripr invasion complex. *Nature.* 2019;565(7737):118-21. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0779-6>

59. Ord RL, Rodríguez M, Yamasaki T, Takeo S, Tsuboi T, Lobo CA, et al. Targeting sialic acid dependent and independent pathways of



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional