

Artículo de revisión – Review article**PROPIEDADES BIOMECÁNICAS DE ERITROCITOS INFECTADOS
POR Plasmodium Y SU ESTUDIO CON PINZAS OPTICAS****BIOMECHANICAL PROPERTIES OF ERYTHROCYTES INFECTED
BY Plasmodium AND THEIR STUDY WITH OPTICAL TWEEZERS****Eveline Alaín.**

Universidad de Panamá. Facultad de Ciencias naturales, Exactas y Tecnología. Panamá.

evi_d1b@hotmail.com<https://orcid.org/0000-0003-2148-4035>**Recepción**

09-05-2023

Aprobación

27/10/2023

DOI <https://doi.org/10.48204/j.scientia.v34n1.a4578>**Resumen**

La malaria es una enfermedad transmitida por el parásito *Plasmodium* cuando una hembra del género *Anopheles* inocula el parásito en el hospedero vertebrado. *P. falciparum* es la especie causante de la forma más grave de la enfermedad. Este parásito altera la deformabilidad de los eritrocitos al invadirlos volviéndolos más esféricos y rígidos, esta condición es responsable de la sintomatología de la enfermedad. Los fármacos utilizados para tratar la malaria también alteran la deformabilidad de los eritrocitos lo que provoca diferentes afecciones luego del tratamiento. Las pinzas ópticas son herramientas innovadoras que consisten en un haz de luz acoplados a un microscopio para manipular y estirar partículas microscópicas, lo que permite conocer las propiedades biomecánicas de las células. Esta técnica se puede utilizar como método diagnóstico de la enfermedad o para medir la efectividad de tratamientos antimaláricos.

Palabras clave: Antimaláricos, deformabilidad, malaria, membrana, pinzas ópticas

Abstract

Malaria is a disease transmitted by the *Plasmodium* parasite when a female of the genus *Anopheles* inoculates the parasite into the vertebrate host. *P. falciparum* is the species that causes the most severe form of the disease. This parasite alters the deformability of erythrocytes by invading them, making them more spherical and rigid. This condition is responsible for the symptoms of the disease. The drugs used to treat malaria also alter the deformability of erythrocytes, which causes different conditions after treatment. Optical tweezers are innovative tools that consist of a beam of light coupled to a microscope to manipulate and stretch microscopic particles, which allows knowing the biomechanical properties of cells. This technique can be used as a diagnostic method of the disease or to measure the effectiveness of antimalarial treatments.

Keywords: Antimalarials, deformability, malaria, membrane, optical tweezers.

Introducción

La malaria es una enfermedad causada por protozoos del género *Plasmodium*, que se transmite a hospederos vertebrados por mosquitos hembra del género *Anopheles* (Pimenta et al., 2015). Las principales especies que infectan a los humanos son *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* y *P. knowlesi* (Milner, 2018).

De los cinco especies *P. vivax* es la más extendida geográficamente, es capaz de sobrevivir en latencia durante períodos prolongados cuando las condiciones no son propicias para su transmisión continua, por lo que se atribuye sintomatologías más leves en comparación con *P. falciparum* (Price et al 2020), este último causa la malaria grave, además es la especie en la que ha reportado mayores casos de resistencia a fármacos (Dayananda et al., 2018)

Cientos de millones de personas se infectan anualmente en las regiones tropicales y subtropicales, principalmente en África, América del Sur y Central, India, el Sudeste Asiático y Oceanía (Lover et al., 2018). Esta enfermedad ha sido responsable de más de 400 000 muertes, en su mayoría de niños pequeños en el África subsahariana, con un estimado de 3200 millones de personas en todo el mundo susceptibles a la enfermedad (OMS, 2020).

La infección inicia cuando el mosquito inocula los esporozoítos en la piel del hospedero y estos entran al torrente sanguíneo, donde son transportados al hígado. Luego, ingresan a los hepatocitos para iniciar un ciclo de esquizogonia, creciendo y dividiéndose en merozoítos exoeritrocitarios (Sinnis y Zavala, 2012).

En las infecciones por *P. vivax* y *P. ovale*, algunos parásitos se vuelven formas latentes, llamadas hipnozoítos, después de la invasión de los hepatocitos del hospedero (Adams y Mueller, 2017), donde pueden permanecer inactivos durante meses o años antes de entrar en esquizogonia (White y Imwong, 2012; Shanks y White, 2013). *P. falciparum*, *P. malariae* y *P. knowlesi* no producen hipnozoítos. Después de la esquizogonia, los merozoítos se liberan de los hepatocitos al torrente sanguíneo, donde invaden los eritrocitos. Allí comienzan un nuevo ciclo que consta de las etapas de anillo, trofozoíto y esquizonte. Después de varios ciclos eritrocíticos se convierten en gametocitos, los cuales son los estadios infectantes para el mosquito (Smith et al., 2014).

Durante el desarrollo intraeritrocitario, el parásito exporta proteínas que interactúan con la membrana plasmática de la célula del hospedero, estas proteínas modifican las propiedades mecánicas de los eritrocitos, lo que da como resultado una circulación celular alterada (Weißbach et al., 2017; Lavazec, 2017). La patogenia de la malaria se debe en gran medida a la rigidez de los eritrocitos infectados (Miller et al., 2002)

La pérdida de la deformabilidad de los eritrocitos comienza poco después de la invasión del parásito. A medida que se desarrolla, el eritrocito infectado pierde su forma bicóncava y progresivamente se vuelve esférico y rígido.

Esta revisión corta tiene el objetivo de proporcionar información sobre el efecto que generan los parásitos del género *Plasmodium* sobre la biomecánica de los eritrocitos.

Como el parásito modifica la estructura de los eritrocitos

Los eritrocitos están formados por un citoesqueleto de espectrina-actina que les confiere la capacidad de deformarse y así pasar a través de capilares y vasos estrechos, mientras que el parásito presenta un motor de actomiosina que le permite invadir los eritrocitos y reordenar su estructura provocando la pérdida de deformabilidad (Vahokoski et al., 2022).

Durante la etapa de anillo (es decir, dentro de las primeras 16 a 24 horas, los eritrocitos experimentan una pérdida de área de superficie de hasta un 9,6 % (Safeukui et al., 2013; Jaureguiberry et al., 2014).

Se descubrió que el Antígeno de superficie de eritrocitos infectados por anillo o Pf155 (RESA) es una proteína del parásito que desempeña un papel importante en la reducción de la deformabilidad de las células del hospedero en la etapa inicial del desarrollo del parásito, pero no en una etapa más avanzada. (Mills et al., 2007) esta proteína interactúa con la espectrina, lo que posiblemente estabiliza la membrana de los eritrocitos contra el estado febril que se produce en los pacientes después de la ruptura y reinvasión de los eritrocitos infectados (Diez-Silva et al., 2012)

Al igual que RESA las proteínas KAHRP y PfEMP3 interactúan con la espectrina lo que contribuye a la rigidez de los eritrocitos en las etapas de trofozoíto/esquizonte (Pei et al., 2005; Tiburcio et al., 2012).

La rigidez eritrocitaria disminuye la invasión

Los parásitos *Plasmodium* tienen poca capacidad de invadir eritrocitos con mayor rigidez que pueden estar relacionadas por mutaciones de la membrana de los eritrocitos del hospedero que su vez le brindan protección contra la malaria (Fröhlich et al., 2019).

Unas de las mutaciones más reportadas son las variantes del grupo sanguíneo Dantu. Esta mutación es causada por una reordenación estructural de los grupos

de genes de la glicoforina (GYP) que da como resultado la expresión de una proteína Dantu híbrida con una fusión de dominio extracelular GYPA/GYPB que no interactúa con el citoesqueleto de los eritrocitos afectando la entrada del parásito (Ndila et al., 2018).

Se ha demostrado que las mutaciones de algunas proteínas de membrana eritrocitaria como la CR1, GPC, espectrina, anquirina y la banda 3 alteran la deformabilidad de los eritrocitos, mientras que ATP2B4 y PIEZO1 conducen cambios en la hidratación que terminan afectando la entrada del parásito al eritrocito (Groomes et al., 2022).

La deficiencia de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) se ha asociado con una protección contra la malaria debido a que produce estrés oxidativo en el eritrocito provocando su hemólisis (Ebel et al., 2021). La deficiencia del piruvato quinasa (PK) ha sido poco estudiada, pero se ha reportado que su protección está asociada con envejecimiento y fagocitosis acelerada de eritrocitos infectados por las etapas tempranas del parásito (Carvalho et al., 2023).

Estas enzimonopatías son difíciles de detectar ya que la mayoría de los portadores no presentan síntomas hasta que se exponen a los desencadenantes (Mbanefo et al., 2017).

Rigidez eritrocitaria inducida por fármacos

Varios medicamentos se utilizan como tratamiento contra la malaria, aunque en los últimos años se han reportado resistencia por parte del parásito (Menard y Dondorp, 2017). Estos incluyen quinina, cloroquina, mefloquina, pirimetamina, sulfadoxina, atovacuona, artesunato, primaquina, artemisinina y sus derivados (Phillips et al., 2017; Su et al., 2019). Estudios previos han informado rigidez inducida en eritrocitos infectados después de la exposición a diferentes fármacos antimaláricos.

Se informó sobre la influencia del artesunato en la deformabilidad de los eritrocitos infectados por *P. falciparum* en etapa de anillo (Huang et al., 2013). Después del

tratamiento con artesunato, se realizaron los experimentos con la técnica aspiración con micropipeta que mostró una disminución del 50 % en la velocidad de tránsito de los eritrocitos infectados, mientras que solo se observó una pequeña reducción de velocidad (~10 %) entre los RBC no infectados. Los resultados también revelaron rigidez inducida en los eritrocitos sanos (Huang et al., 2014).

Deng et al 2015 demostró con la técnica de microfluidos que tanto los eritrocitos infectados como los no tratados con cloroquina mostraron una rigidez dependiente del tiempo. Sin embargo, después de 4 horas de incubación, los eritrocitos infectados tratados con cloroquina eran significativamente más rígidos que los eritrocitos no tratados.

Estos estudios demuestran que algunos fármacos alteran aún más la deformabilidad de los eritrocitos, lo que posteriormente puede influir en el bloqueo de los vasos sanguíneos y capilares que pueden provocar diferentes sintomatologías luego del tratamiento (Pivkin et al., 2016).

En la actualidad existen pocos estudios que establezcan una relación entre la deformabilidad de los eritrocitos y los fármacos antimaláricos con la técnica de pinzas ópticas.

Pinzas ópticas y su aplicación en malaria

Las pinzas ópticas utilizan un rayo láser altamente enfocado para generar un gradiente tridimensional de energía electromagnética que permite atrapar y controlar objetos microscópicos (Ashkin, 1970) como células, ADN, ARN, orgánulos celulares, moléculas de lípidos o biopolímeros. (Mills et al., 2004) No ejercen fuerzas a través de un punto de contacto físico con el objeto manipulado, por lo tanto, evitan daños potenciales debido a la fricción o la química de la superficie (Banerjee et al., 2011). Usualmente se utilizan una o dos microesferas unidas a extremos diametralmente opuestos a la célula que son atrapadas y desplazadas para estirarlas ([Suresh et al., 2005](#)).

Se puede manipular una gran cantidad de objetos en paralelo que se pueden liberar

de las trampas ópticas al apagar el rayo láser (Banerjee y Gupta, 2009). La fuerza aplicada es dada en pico-Newton y requieren una calibración de la trampa óptica antes de la manipulación. (Sarshar et al., 2014)

La configuración incluye un fotodiodo para monitorear la posición del láser y un microscopio acoplado a una cámara para generar imágenes. (Fedosov et al., 2011; Hosseini y Feng, 2012; Ye et al., 2013). Las pinzas ópticas son más sensibles que otras técnicas que solo dan información sobre la elasticidad de la membrana mientras que las pinzas ópticas generan datos sobre el comportamiento mecánico de toda la célula (Depond et al., 2020).

Los primeros estudios de pinzas ópticas en malaria se basaron en establecer una diferencia entre la elasticidad de la membrana de eritrocitos sanos como infectados con *Plasmodium* cultivados *in vitro*, los resultados mostraron mayor rigidez en los eritrocitos infectados en comparación con los eritrocitos sanos (Dharmadhikari et al., 2004; Bambardekar et al., 2008).

Un estudio realizado por Crick et al (2014) demostró por primera vez que las pinzas ópticas pueden ser utilizadas para cuantificar la fuerza y el tiempo de las interacciones entre el parásito y los eritrocitos, como también la efectividad de tratamientos inhibidores al medir la elongación de los eritrocitos infectados luego de la exposición.

Con las pinzas ópticas se ha podido determinar el efecto espectador en sangre de pacientes infectados por *P. vivax* y *P. falciparum*, fenómeno en que los eritrocitos sanos también sufren cambios en su membrana volviéndose más rígidos y esféricos, esto demuestra que las alteraciones en la membrana eritrocitaria son similares tanto *in vitro* como *in vivo*, cumpliéndose en ambos casos el efecto espectador (Paul et al., 2017). Este fenómeno es dado por el aumento en los niveles intracelulares de monofosfato de adenosina cíclico (Ramdani y Langsley, 2014; Paul et al., 2017).

Esto sugiere que las pinzas ópticas se pueden utilizar como herramienta de detección de malaria en pacientes con fiebre, ya que los eritrocitos que no portan el parásito también mostrarán cambios en su membrana debido al efecto espectador, independientemente de la especie del parásito.

Conclusiones

Es necesario buscar alternativas para controlar y disminuir los casos de malaria a nivel mundial. Con el estudio de las propiedades biomecánicas de eritrocitos sanos e infectados se puede establecer una relación entre la rigidez de la membrana eritrocitaria y la capacidad del parásito para invadirla. De cumplirse esta relación, la tecnología de pinzas ópticas se puede utilizar para la detección de compuestos antimaláricos que puedan bloquear la invasión del parásito. Además, ayudaría a saber si los pacientes que reciben tratamientos antimaláricos corren el riesgo de sufrir anemia u otras afecciones dadas por la deformabilidad de los eritrocitos.

Referencias Bibliográficas

- Adams, J. H., & Mueller, I. (2017). The Biology of *Plasmodium vivax*. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 7(9), a025585. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025585>
- Ashkin, A. (1970). Acceleration and trapping of particles by radiation pressure. *Physical review letters*, 24(4), 156.
- Bambardekar, K., Dharmadhikari, A. K., Dharmadhikari, J. A., Mathur, D., & Sharma, S. (2008). Measuring erythrocyte deformability with fluorescence, fluid forces, and optical trapping. *Journal of biomedical optics*, 13(6), 064021. <https://doi.org/10.1117/1.3037342>
- Banerjee, A. G., Chowdhury, S., Losert, W., & Gupta, S. K. (2011). Survey on indirect optical manipulation of cells, nucleic acids, and motor proteins. *Journal of biomedical optics*, 16(5), 051302. <https://doi.org/10.1117/1.3579200>
- Banerjee, A. G., Losert, W., & Gupta, S. K. (2009, January). A decoupled and prioritized stochastic dynamic programming approach for automated transport of multiple particles using optical tweezers. In International Design Engineering Technical Conferences and Computers and Information in Engineering Conference (Vol. 49033, pp. 785-796).
- Carvalho, M., Medeiros, M. M., Morais, I., Lopes, C. S., Balau, A., Santos, N. C., Carvalho, F. A., & Arez, A. P. (2023). 2,3-Diphosphoglycerate and the Protective Effect of Pyruvate Kinase Deficiency against Malaria Infection-Exploring the Role of the Red Blood Cell Membrane. *International journal of molecular sciences*, 24(2), 1336. <https://doi.org/10.3390/ijms24021336>
- Crick, A. J., Theron, M., Tiffert, T., Lew, V. L., Cicuta, P., & Rayner, J. C. (2014). Quantitation of malaria parasite-erythrocyte cell-cell interactions using optical tweezers. *Biophysical journal*, 107(4), 846–853. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2014.07.010>

- Dayananda, K. K., Achur, R. N., & Gowda, D. C. (2018). Epidemiology, drug resistance, and pathophysiology of *Plasmodium vivax* malaria. *Journal of vector borne diseases*, 55(1), 1–8. <https://doi.org/10.4103/0972-9062.234620>
- Deng, X., Duffy, S. P., Myrand-Lapierre, M. E., Matthews, K., Santoso, A. T., Du, Y. L., Ryan, K. S., & Ma, H. (2015). Reduced deformability of parasitized red blood cells as a biomarker for anti-malarial drug efficacy. *Malaria journal*, 14, 428. <https://doi.org/10.1186/s12936-015-0957-z>
- Depond, M., Henry, B., Buffet, P., & Ndour, P. A. (2020). Methods to Investigate the Deformability of RBC During Malaria. *Frontiers in physiology*, 10, 1613. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01613>
- Dharmadhikari, J., Roy, S., Dharmadhikari, A., Sharma, S., & Mathur, D. (2004). Torque-generating malaria-infected red blood cells in an optical trap. *Optics express*, 12(6), 1179–1184. <https://doi.org/10.1364/opex.12.001179>
- Diez-Silva, M., Park, Y., Huang, S., Bow, H., Mercereau-Puijalon, O., Deplaine, G., Lavazec, C., Perrot, S., Bonnefoy, S., Feld, M. S., Han, J., Dao, M., & Suresh, S. (2012). Pf155/RESA protein influences the dynamic microcirculatory behavior of ring-stage *Plasmodium falciparum* infected red blood cells. *Scientific reports*, 2, 614. <https://doi.org/10.1038/srep00614>
- Ebel, E. R., Kuypers, F. A., Lin, C., Petrov, D. A., & Egan, E. S. (2021). Common host variation drives malaria parasite fitness in healthy human red cells. *eLife*, 10, e69808. <https://doi.org/10.7554/eLife.6980>
- Fedosov, D. A., Lei, H., Caswell, B., Suresh, S., & Karniadakis, G. E. (2011). Multiscale modeling of red blood cell mechanics and blood flow in malaria. *PLoS computational biology*, 7(12), e1002270. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002270>
- Fröhlich, B., Jäger, J., Lansche, C., Sanchez, C. P., Cyrklaff, M., Buchholz, B., Soubeiga, S. T., Simporé, J., Ito, H., Schwarz, U. S., Lanzer, M., & Tanaka, M. (2019). Hemoglobin S and C affect biomechanical membrane properties of *P. falciparum*-infected erythrocytes. *Communications biology*, 2, 311. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0556-6>

- Groomes, P. V., Kanjee, U., & Duraisingh, M. T. (2022). RBC membrane biomechanics and Plasmodium falciparum invasion: probing beyond ligand-receptor interactions. *Trends in parasitology*, 38(4), 302–315. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2021.12.005>.
- Hosseini, S. M., & Feng, J. J. (2012). How malaria parasites reduce the deformability of infected red blood cells. *Biophysical journal*, 103(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2012.05.026>
- Huang, S., Amaladoss, A., Liu, M., Chen, H., Zhang, R., Preiser, P. R., Dao, M., & Han, J. (2014). In vivo splenic clearance correlates with in vitro deformability of red blood cells from Plasmodium yoelii-infected mice. *Infection and immunity*, 82(6), 2532–2541. <https://doi.org/10.1128/IAI.01525-13>
- Huang, S., Undisz, A., Diez-Silva, M., Bow, H., Dao, M., & Han, J. (2013). Dynamic deformability of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes exposed to artesunate in vitro. *Integrative biology: quantitative biosciences from nano to macro*, 5(2), 414–422. <https://doi.org/10.1039/c2ib20161e>
- Jauréguiberry, S., Ndour, P. A., Roussel, C., Ader, F., Safeukui, I., Nguyen, M., Biligui, S., Ciceron, L., Mouri, O., Kendjo, E., Bricaire, F., Vray, M., Angoulvant, A., Mayaux, J., Haldar, K., Mazier, D., Danis, M., Caumes, E., Thellier, M., Buffet, P., ... French Artesunate Working Group (2014). Postartesunate delayed hemolysis is a predictable event related to the lifesaving effect of artemisinins. *Blood*, 124(2), 167–175. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-02-555953>
- Lavazec C. (2017). Molecular mechanisms of deformability of Plasmodium-infected erythrocytes. *Current opinion in microbiology*, 40, 138–144. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.11.011>
- Lover, A. A., Baird, J. K., Gosling, R., & Price, R. N. (2018). Malaria Elimination: Time to Target All Species. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 99(1), 17–23. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0869>
- Mbanefo, E. C., Ahmed, A. M., Titouna, A., Elmaraezy, A., Trang, N. T., Phuoc Long, N., Hoang Anh, N., Diem Nghi, T., The Hung, B., Van Hieu, M., Ky Anh, N., Huy, N. T., & Hirayama, K. (2017). Association of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and malaria: a systematic review and meta-analysis. *Scientific reports*, 7, 45963. <https://doi.org/10.1038/srep45963>.

- Menard, D., & Dondorp, A. (2017). Antimalarial Drug Resistance: A Threat to Malaria Elimination. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 7(7), a025619. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025619>
- Miller, L. H., Baruch, D. I., Marsh, K., & Doumbo, O. K. (2002). The pathogenic basis of malaria. *Nature*, 415(6872), 673–679. <https://doi.org/10.1038/415673a>
- Mills, J. P., Diez-Silva, M., Quinn, D. J., Dao, M., Lang, M. J., Tan, K. S., Lim, C. T., Milon, G., David, P. H., Mercereau-Puijalon, O., Bonnefoy, S., & Suresh, S. (2007). Effect of plasmodial RESA protein on deformability of human red blood cells harboring *Plasmodium falciparum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(22), 9213–9217. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703433104>
- Milner D. A., Jr (2018). Malaria Pathogenesis. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 8(1), a025569. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025569>.
Organización Mundial de la Salud. (2020). Reporte de Malaria 2020.
- Paul, A., Padmapriya, P., & Natarajan, V. (2017). Diagnosis of malarial infection using change in properties of optically trapped red blood cells. *Biomedical journal*, 40(2), 101–105. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2016.10.001>
- Paul, A., Ramdani, G., Tatu, U., Langsley, G., & Natarajan, V. (2019). Studying the rigidity of red blood cells induced by *Plasmodium falciparum* infection. *Scientific reports*, 9(1), 6336. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42721-w>
- Pei, X., An, X., Guo, X., Tarnawski, M., Coppel, R., & Mohandas, N. (2005). Structural and functional studies of interaction between *Plasmodium falciparum* knob-associated histidine-rich protein (KAHRP) and erythrocyte spectrin. *The Journal of biological chemistry*, 280(35), 31166–31171. <https://doi.org/10.1074/jbc.M505298200>
- Phillips, M. A., Burrows, J. N., Manyando, C., van Huijsduijnen, R. H., Van Voorhis, W. C., & Wells, T. (2017). Malaria. *Nature reviews. Disease primers*, 3, 17050. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.50>

- Pimenta, P. F., Orfano, A. S., Bahia, A. C., Duarte, A. P., Ríos-Velásquez, C. M., Melo, F. F., Pessoa, F. A., Oliveira, G. A., Campos, K. M., Villegas, L. M., Rodrigues, N. B., Nacif-Pimenta, R., Simões, R. C., Monteiro, W. M., Amino, R., Traub-Cseko, Y. M., Lima, J. B., Barbosa, M. G., & Lacerda, M. V. (2015). An overview of malaria transmission from the perspective of Amazon *Anopheles* vectors. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110(1), 23–47. <https://doi.org/10.1590/0074-02760140266>
- Pivkin, I. V., Peng, Z., Karniadakis, G. E., Buffet, P. A., Dao, M., & Suresh, S. (2016). Biomechanics of red blood cells in human spleen and consequences for physiology and disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(28), 7804–7809. <https://doi.org/10.1073/pnas.1606751113>
- Price, R. N., Commons, R. J., Battle, K. E., Thriemer, K., & Mendis, K. (2020). Plasmodium vivax in the Era of the Shrinking P. falciparum Map. *Trends in parasitology*, 36(6), 560–570. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.03.009>
- Ramdani, G., & Langsley, G. (2014). ATP, an extracellular signaling molecule in red blood cells: a messenger for malaria? *Biomedical journal*, 37(5), 284–292. <https://doi.org/10.4103/2319-4170.132910>
- Safeukui, I., Buffet, P. A., Perrot, S., Sauvanet, A., Aussilhou, B., Dokmak, S., Couvelard, A., Hatem, D. C., Mohandas, N., David, P. H., Mercereau-Puijalon, O., & Milon, G. (2013). Surface area loss and increased sphericity account for the splenic entrapment of subpopulations of Plasmodium falciparum ring-infected erythrocytes. *PloS one*, 8(3), e60150. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060150>
- Sarshar, M., Wong, W. T., & Anvari, B. (2014). Comparative study of methods to calibrate the stiffness of a single-beam gradient-force optical tweezers over various laser trapping powers. *Journal of biomedical optics*, 19(11), 115001. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.19.11.115001>
- Shanks, G. D., & White, N. J. (2013). The activation of vivax malaria hypnozoites by infectious diseases. *The Lancet. Infectious diseases*, 13(10), 900–906. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70095-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70095-1)

- Sinnis, P., & Zavala, F. (2012). The skin: where malaria infection and the host immune response begin. *Seminars in immunopathology*, 34(6), 787–792. <https://doi.org/10.1007/s00281-012-0345-5>
- Smith, R. C., Vega-Rodríguez, J., & Jacobs-Lorena, M. (2014). The Plasmodium bottleneck: malaria parasite losses in the mosquito vector. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 109(5), 644–661. <https://doi.org/10.1590/0074-0276130597>
- Su, X. Z., Lane, K. D., Xia, L., Sá, J. M., & Wellems, T. E. (2019). *Plasmodium* Genomics and Genetics: New Insights into Malaria Pathogenesis, Drug Resistance, Epidemiology, and Evolution. *Clinical microbiology reviews*, 32(4), e00019-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00019-19>
- Suresh, S., Spatz, J., Mills, J. P., Micoulet, A., Dao, M., Lim, C. T., Beil, M., & Seufferlein, T. (2005). Connections between single-cell biomechanics and human disease states: gastrointestinal cancer and malaria. *Acta biomaterialia*, 1(1), 15–30. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2004.09.001>
- Tibúrcio, M., Niang, M., Deplaine, G., Perrot, S., Bischoff, E., Ndour, P. A., Silvestrini, F., Khattab, A., Milon, G., David, P. H., Hardeman, M., Vernick, K. D., Sauerwein, R. W., Preiser, P. R., Mercereau-Puijalon, O., Buffet, P., Alano, P., & Lavazec, C. (2012). A switch in infected erythrocyte deformability at the maturation and blood circulation of *Plasmodium falciparum* transmission stages. *Blood*, 119(24), e172–e180. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-03-414557>
- Vahokoski, J., Calder, L. J., Lopez, A. J., Molloy, J. E., Kursula, I., & Rosenthal, P. B. (2022). High-resolution structures of malaria parasite actomyosin and actin filaments. *PLoS pathogens*, 18(4), e1010408. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010408>
- Weißbach, T., Golzmann, A., Bennink, S., Pradel, G., & Julius Ngwa, C. (2017). Transcript and protein expression analysis of proteases in the blood stages of *Plasmodium falciparum*. *Experimental parasitology*, 180, 33–44. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2017.03.006>

White, N. J., & Imwong, M. (2012). Relapse. *Advances in parasitology*, 80, 113–150.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397900-1.00002-5>

Ye, T., Phan-Thien, N., Khoo, B. C., & Lim, C. T. (2013). Stretching and relaxation of malaria-infected red blood cells. *Biophysical journal*, 105(5), 1103–1109.
<https://doi.org/10.1016/j.bpj.2013.07.008>