

La odisea del parásito de la malaria, *Plasmodium falciparum*, adaptándose a mosquitos del Nuevo Mundo

Alvaro Molina Cruz

Egresado de la Licenciatura en Bioquímica (Cum Laude) y Baccalaureatus en Ciencias (B.S.) de la UVG en el año 1987. Obtuvo su PhD en *Biomolecular Chemistry* de la Universidad de Wisconsin-Madison en el año 1992.

En la actualidad es Investigador Asociado del *Laboratory of Malaria and Vector Research, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, EEUU*

amolina-cruz@niaid.nih.gov

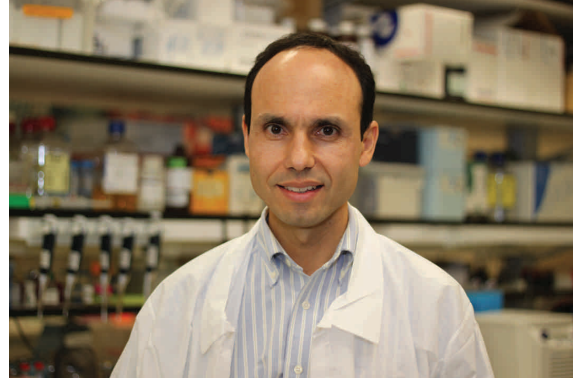


Foto del autor tomada por Jose Luis Ramírez (fotógrafo del laboratorio de malaria)

RESUMEN: La malaria continúa siendo una de las enfermedades infecciosas más devastadoras para la humanidad, especialmente la que es causada por *Plasmodium falciparum*. Este parásito, transmitido por mosquitos del género *Anopheles*, es de origen africano y fue llevado a otras regiones del mundo por humanos infectados. Fuera de África, el *P. falciparum* tuvo que adaptarse a ser transmitido por distintas especies de anofelinos. Los principales vectores de malaria en Latinoamérica, incluyendo al principal vector en Centroamérica (*Anopheles albimanus*), son evolutivamente distantes de los Africanos con los que el parásito co-evolucionó. Esto sugiere que el parásito pudo haber pasado por una selección natural severa para su adaptación en Latinoamérica. Este artículo revisa evidencia que sugiere que el plasmodio ha tenido selección natural por distintos anofelinos y propone que el sistema inmune del mosquito ha sido una barrera importante que ha seleccionado al parásito. Además, se propone que esta selección ha afectado al gen Pfs47 del plasmodio, el cual le permite al parásito evadir el sistema inmune del mosquito. El rechazo del parásito de malaria por el sistema inmune del anofelino puede haber determinado en gran medida la diversidad genética y la transmisión del *Plasmodium falciparum* en Latinoamérica.

PALABRAS CLAVE: Malaria, *Plasmodium falciparum*, *Anopheles*, Nuevo Mundo.

The odyssey of the *Plasmodium falciparum* malaria parasite adapting to New World mosquitoes

ABSTRACT: Malaria continues to be one of the most devastating diseases for humanity, especially the one caused by *Plasmodium falciparum*. This parasite, which is transmitted by *Anopheles* mosquitoes, is of African origin and was brought to other regions by infected humans. Out of Africa, *P. falciparum* was forced to adapt to different anopheline species in order to be transmitted. The most important malaria vectors in Latin American, including the main vector in Central America (*Anopheles albimanus*), are evolutionary distant from the African anophelines with which the parasite coevolved. This suggests that the parasite may have gone through a stringent natural selection in its adaptation in Latin America. This article reviews evidence that suggests that plasmodium has gone under natural selection by different anophelines, and proposes that the immune system of the mosquito has been an important barrier selecting the parasite. Furthermore, it is proposed here that the selection has affected the parasite Pfs47 gene, which allows the parasite to evade the mosquito immune system. The immune response of the anopheline mosquito may have determined in large part the genetic diversity and transmission of *Plasmodium falciparum* in Latin America.

KEYWORDS: Malaria, *Plasmodium falciparum*, *Anopheles*, New World.

Introducción

Las enfermedades transmitidas por vectores artrópodos, como mosquitos y garrapatas, infectan a más de mil millones de personas y causan más de un millón de muertes cada año en el mundo (WHO 2014a). Estas incluyen a la malaria, el dengue, la esquistosomiasis, la leishmaniasis, la enfermedad de Chagas, la fiebre amarilla, la filaríasis linfática y la oncocercosis. La malaria humana, en especial, continúa siendo una de las enfermedades más devastadoras para la humanidad. A pesar de los grandes avances en el control de malaria que han disminuido su incidencia en un 25% en la última década, se estima que aún causa 195 millones de infecciones y 584,000 muertes anualmente (WHO 2014b). La mayor parte de mortalidad por la malaria ocurre en África Subsahara, sin embargo, en las Américas y el Caribe viven 119 millones de personas en riesgo de la malaria y hay más de un millón de infecciones y más de mil muertes al año por esta enfermedad (WHO 2014b). En las Américas, 76.7% de los casos de la malaria son causados por los parásitos *Plasmodium vivax* y 23.3% por *Plasmodium falciparum*. En el caso de Guatemala, hubo 6,214 casos reportados de la malaria en el 2013 (WHO 2014b).

Se sabe que una de las causas por las cuales ha habido históricamente menos malaria en Latinoamérica comparada con África, es porque los anofelinos neotropicales tienden a ser menos eficientes en transmitir malaria comparado con los anofelinos Africanos. Esta diferencia se debe en parte a que los anofelinos neotropicales tienden a alimentarse preferentemente de otros animales en comparación de humanos (Bruce-Chwatt et al. 1966). Sin embargo, existen otros factores del mosquito y del parásito que pueden ser importantes en determinar transmisión de la malaria. En este artículo se revisa el origen y distribución global del parásito de la malaria humana *P. falciparum* en relación a las distintas especies de anofelinos vectores que existen alrededor del mundo (Figura 1). Se revisa también la evidencia de que el *P. falciparum* puede haber sufrido selección natural en su adaptación a diferentes anofelinos. Además, se propone que el sistema inmune del mosquito puede ser una barrera importante para la transmisión del *P. falciparum* en las Américas, por medio de la selección del gen Pfs47 del parásito.

El ciclo de vida del plasmodio en el mosquito vector: una travesía compleja

La malaria humana es causada por parásitos protozoarios del género plasmodium y es transmitida por mosquitos del género anopheles. El ciclo de vida del plasmodio es una proeza compleja que involucra por lo menos seis distintos estadios en el humano y nueve en el mosquito incluyendo reproducción sexual. En este artículo nos centramos en la parte del ciclo de vida que ocurre en el mosquito vector (Figura 2). Esta se inicia cuando un anófeles toma sangre de un humano infectado que contiene estadios sexuales del plasmodio, llamados gametocitos.

Los gametocitos masculinos y femeninos se transforman en gametos dentro del estómago del mosquito en unos minutos para luego fusionarse y formar un cigoto fecundado. El cigoto se transforma en un oocineto que invade el epitelio del estómago del mosquito unas 16-26 h después de haberse alimentado el mosquito. Si el oocineto tiene éxito invadiendo, éste se transforma en un ooquiste dentro del cual se desarrollan miles de esporozoitos que serán liberados dentro del mosquito unos 10-16 días después. Algunos esporozoitos logran invadir la glándula salival del mosquito y maduran para volverse infecciosos a humanos, estos pueden ser transmitidos cuando el mosquito libera un poco de saliva al tomar sangre de otra persona. El parásito encuentra barreras en cada etapa de la infección del mosquito y sufre pérdidas significativas. Por ejemplo, los gametocitos pueden ser eliminados por la microbiota del mosquito, o por radicales libres producto de la digestión. Al final, de miles de gametocitos que son ingeridos por el mosquito, apenas unos pocos (1 a 5) oocinetos logran invadir el estómago del mosquito. Además, la vida media de los mosquitos en el campo (unos 14 días) es apenas suficiente para que el parásito logre transmitirse. Estas son algunas de las razones por las cuales se piensa que el frágil ciclo de vida del plasmodio en el mosquito es un buen blanco para detener la transmisión de la malaria. Mientras que en el humano se batalla contra 10^9 - 10^{11} parásitos, en el mosquito solo se tendría que detener a menos de 5 oocinetos o acortar la vida del mosquito para parar la transmisión. La ineficacia del control total de la malaria en humanos por apareamiento de resistencia a fármacos en el parásito y a insecticidas en el mosquito, y la falta de una vacuna práctica y efectiva hacen necesaria la búsqueda de otras estrategias para bloquear la transmisión, y esto podría hacerse en el mosquito.

Origen y dispersión del *P. falciparum*

La evidencia actual sugiere que el *P. falciparum* se originó en el África, muy probablemente en gorilas del África del oeste (Gorilla gorilla). Recientemente se encontró que muchos de estos animales presentan infecciones con un plasmodio (*P. praefalciparum*) que es genéticamente muy cercano a *P. falciparum* pero con más diversidad genética que en humanos (Liu et al. 2010). Varios estudios también han encontrado que la diversidad genética del *P. falciparum* es mayor en África comparada con otros continentes (Hartl 2004), lo cual se espera en la región de origen de un organismo. El *P. falciparum* parece entonces haber sido llevado a otros continentes por humanos infectados que emigraron fuera de África. Interesantemente, el *P. falciparum* presenta la menor diversidad genética en las Américas (Anderson et al. 2000, Conway et al. 2000, Conway 2003, Joy et al. 2003, Neafsey et al. 2008, Yalcindag et al. 2012), un hecho que merece más análisis (Molina-Cruz and Barillas-Mury 2014). La evidencia genética indica que el *P. falciparum* que se encuentra hoy en día en las Américas es más cercano a parásitos africanos comparado a los asiáticos, sugiriendo una introducción directa del África (Anderson et al. 2000, Joy et al. 2003, Yalcindag et al. 2012). La evidencia histórica y arqueológica sugiere que la malaria fue introducida

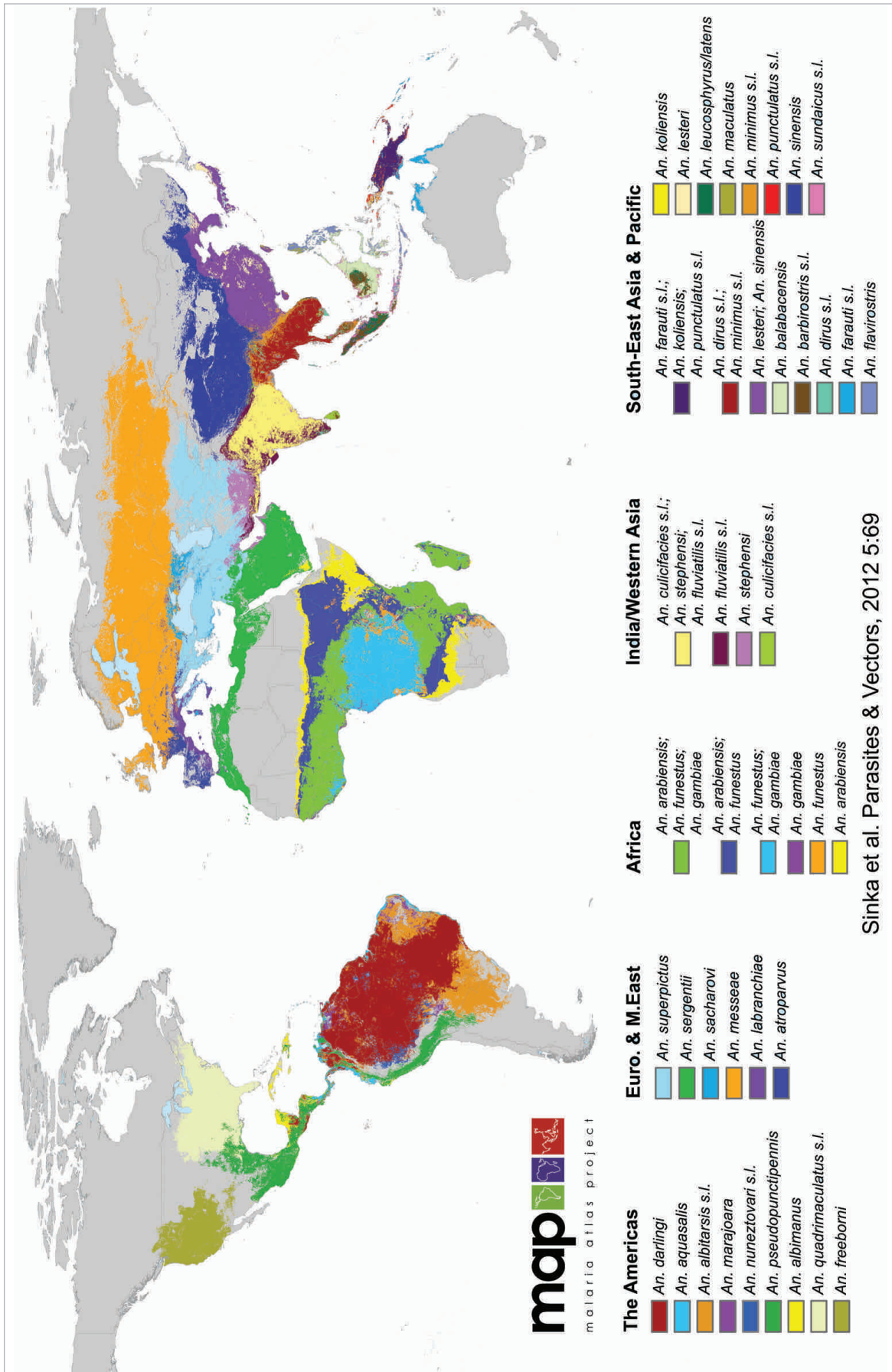


Figura 1. Localización geográfica de los principales vectores de malaria en el mundo. Distintas especies de mosquitos transmiten malaria en distintas regiones del mundo.

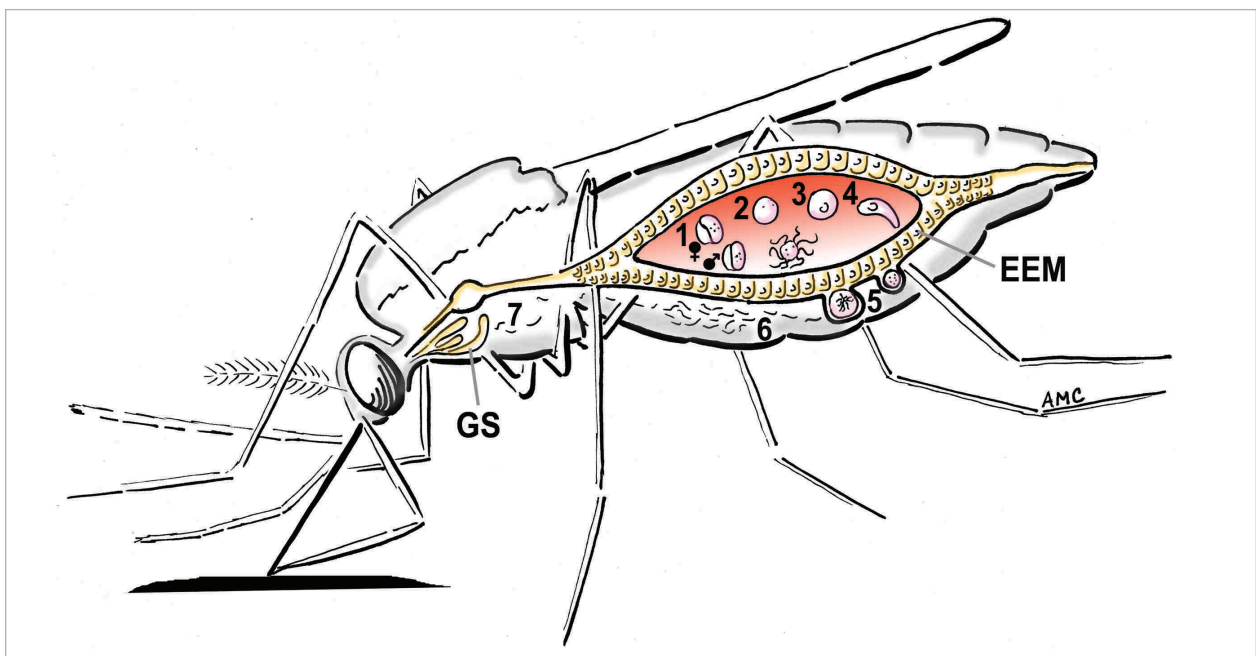


Figura 2. El complejo ciclo de vida del plasmidio en el mosquito vector. El mosquito anofelino se infecta si toma sangre que contiene estadios sexuales (gametocitos femeninos y masculinos) del plasmidio (1). Ya en el mosquito, los gametocitos se transforman en gametos (2) que al fusionarse forman un cigoto fecundado (3), este se transforma en un oocineto (4), el cual atraviesa el epitelio del estómago medio (EEM) 16-24 h después de ingerir sangre el mosquito. El oocineto se transforma en un ooquiste (5) donde crecerán miles de esporozoitos, estos serán liberados (6) unos 12-16 días más tarde para invadir las glándulas salivares (SG). El mosquito puede entonces transmitir malaria inyectando unos 20-100 esporozoitos cuando vuelve a tomar sangre de una persona.

después de la llegada de Cristóbal Colón al Nuevo Mundo (de Castro and Singer 2005, Webb 2009, Yalcindag et al. 2012). Los primeros amerindios de origen asiático que poblaron las Américas no parecen haber tenido malaria o la perdieron, probablemente por las condiciones ambientales que dominaban en Norteamérica, donde el clima frío durante la última era glacial hacía difícil la presencia de mosquitos. Parece entonces que los parásitos de malaria llegaron recientemente a las Américas con los europeos y más probablemente con los más de 7 millones de esclavos africanos que estos trajeron entre 1,514 y 1,866 (Voyages-Database 2009). Es muy probable que muchos de estos esclavos estaban infectados con *P. falciparum* ya que la mayor parte provenían de regiones en África del oeste que incluso hoy en día presentan niveles altos de malaria y gran diversidad genética del parásito. Es relevante mencionar que el *P. falciparum* ha continuado su dispersión alrededor del mundo. Por ejemplo, recientemente se detectó la introducción en Guatemala de *P. falciparum* de África en personas que viajaron a ese continente (Patel et al. 2014). La poca diversidad genética de *P. falciparum* en las Américas es un enigma, ya que las poblaciones que trajeron *P. falciparum* a las Américas deben haber traído consigo gran diversidad genética del parásito, la cual se perdió por alguna razón. Entre las posibles causas está un evento fortuito en el cual por azar solo unos pocos parásitos se lograron establecer por existir baja transmisión (deriva genética). Otra posible causa es la selección natural de unos pocos parásitos en un proceso de adaptación.

Con respecto a la posible falta de transmisión de la malaria en las Américas, existe evidencia histórica que indica que ocurrieron

epidemias mayores de la malaria en las Américas. Es difícil estimar el impacto que tuvo la malaria en las poblaciones amerindias pero es muy probable que fuera parte de las enfermedades infecciosas traídas después de 1,492 que colapsaron la población indígena de Centroamérica en casi 90% en apenas unos 150 años (Hall 2003). Por ejemplo, hubo epidemias en Jamaica (1655-1656), Española (1794-1795 y 1802) y en Illinois (1850) (Webb 2009), sugiriendo la presencia de vectores de la malaria en varias regiones. Pareciera entonces poco probable que la diversidad genética del *P. falciparum* haya disminuido considerablemente por baja transmisión. Alternativamente, el parásito también pudo haber sufrido selección natural en el humano o en el mosquito. En el caso de los humanos, pareciera que la gran cantidad de esclavos africanos traídos a las Américas hubiera permitido mantener la diversidad genética de *P. falciparum* en áreas con suficiente transmisión, en caso de que los amerindios fueran menos susceptibles al *P. falciparum*, de lo cual no hay evidencia. Es importante mencionar sin embargo, que el uso del antimalárico cloroquina puede haber disminuido en gran medida la diversidad genética de *P. falciparum* (Wootton et al. 2002).

Considerando selección del parásito por los mosquito, es importante hacer notar que cuando los humanos llevaron *P. falciparum* fuera de África estos no llevaron las especies de anofelinos Africanos, el parásito fue llevado a otros continentes donde habitan distintas especies de anofelinos. Esto inició una odisea para el *P. falciparum* en la cual este logró adaptarse a más de 60 distintas especies de anofelinos alrededor del mundo (Fig. 2) (Sinka et al. 2012). Interesantemente, algunas de estas

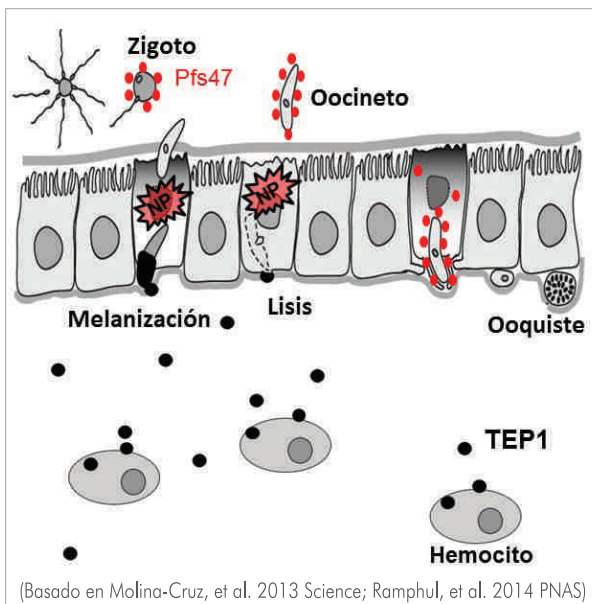


Figura 3. Infección del mosquito por el plasmodio y el papel del gen Pfs47. Si el oocineto tiene éxito invadiendo células del epitelio del estómago medio del anopheles, este formará un ooquiste. Sin embargo, en algunos casos el sistema de complemento inmune del mosquito puede eliminar al parásito. Esto requiere la unión de la Proteína con Tioester 1 (TEP1, secretada por células llamadas hemocitos), que marca el parásito para su destrucción por lisis o por melanización. La unión de TEP1 al oocineto requiere que haya habido nitración de proteínas (NP) en la célula invadida por el parásito. El gen Pfs47 del plasmodio parece ayudar a evadir el sistema inmune del mosquito inhibiendo la nitración de proteínas en el epitelio del estómago medio del mosquito.

especies son evolutivamente distantes de los vectores africanos. Tal es el caso de vectores importantes de malaria en Latinoamérica, especialmente del subgénero Nyssorhynchus que incluyen *Anopheles darlingi*, *An. albimanus*, *An. albitarsis*, y *An. aquasalis*, los cuales divergieron de los anofelinos africanos hace unos 100 millones de años (Neafsey et al. 2015) al separarse los dos continentes. Los anofelinos neotropicales divergieron de los africanos durante el periodo Cretáceo, el cual es distante en la escala evolutiva. Durante el Cretáceo dominaron los dinosaurios, antes de la diversificación de los mamíferos. Habiendo divergido hace tanto tiempo, no es sorprendente que los anofelinos neotropicales difieran de los africanos en su genética, ecología y comportamiento (Sinka et al. 2010a, Sinka et al. 2010b). Es razonable entonces pensar que el *P. falciparum* sufrió una selección natural severa durante su proceso de adaptación a anofelinos neotropicales.

Evidencia de selección natural de Plasmodio por los mosquitos vectores

Se ha encontrado evidencia que sugiere que el plasmodio ha sufrido selección natural por distintos mosquitos vectores. Por ejemplo, se ha encontrado que en el sur de México el vector de *P. vivax* de tierras bajas, *An. Albimanus*, transmite una población genéticamente distinta de parásitos de la que transmite *An. pseudopunctipennis* en las tierras altas (Joy et al. 2008). A la

vez, en infecciones de laboratorio se encontró que el *An. albimanus* es más susceptible a la población de *P. vivax* de tierras bajas mientras que el *An. pseudopunctipennis* es más susceptible a la población de *P. vivax* de tierras altas (Joy et al. 2008). Esto sugiere que *P. vivax* fue seleccionado en estas dos regiones por el anofeles predominante en cada una de ellas.

En el caso de *P. falciparum*, se ha encontrado que algunas líneas de África son poco infecciosas al anofelino de las Américas *An. Albimanus* (Grieco et al. 2005, Garver 2006, Baton and Ranford-Cartwright 2012). Además, se ha encontrado que algunas líneas de *P. falciparum* africanas infectan más eficazmente al vector africano *An. Gambiae*, comparadas con líneas de Asia (Hume et al. 2007). Esto sugiere que el *P. falciparum* también ha sido seleccionado por vectores durante su adaptación a anofelinos de distintas regiones del mundo.

El sistema inmune del mosquito como barrera para la adaptación de *P. falciparum* a nuevos vectores

Un descubrimiento importante de la última década ha sido encontrar que el sistema inmune del mosquito puede eliminar al plasmodio en su intento por infectarlo (Osta et al. 2004). Los insectos poseen un sistema inmune innato, aunque no uno adaptativo como el de los vertebrados. Los insectos carecen de anticuerpos pero poseen un sistema análogo al complemento inmune de vertebrado, el cual puede eliminar al plasmodio. En este sistema la proteína llamada Proteína con Tioester 1 (TEP1, con homología a factor de complemento C3 de vertebrados) se une a un patógeno como bacteria o parásito y lo marca para que sea destruido (Blandin et al 2004, Fraiture et al 2009, Povelones et al 2009). Recientemente se ha encontrado que el oocineto puede ser marcado por TEP1 para ser lisado o melanizado, siempre y cuando el oocineto haya estado expuesto a nitración de proteínas en la célula invadida del epitelio del estómago del mosquito (Oliveira et al. 2012) (Fig 3). El sistema de complemento del *An. gambiae* parece efectivo para eliminar *P. berghei* y *P. yoelii*, parásitos de la malaria en ratones (Blandin et al. 2004, Jaramillo-Gutierrez et al. 2009) pero es menos efectivo en contra de líneas africanas de *P. falciparum* (Cohuet et al. 2006, Nsango et al. 2012). De hecho se ha encontrado que líneas africanas de *P. falciparum* pueden evadir el sistema de complemento incluso en una línea de *A. gambiae* seleccionada para eliminar varias especies de plasmodio (Molina-Cruz et al. 2012). Por otro lado, una línea de *P. falciparum* obtenida en Brasil es eliminada eficientemente por esta línea de *A. gambiae*, sugiriendo que el *P. falciparum* africano está adaptado para evadir el sistema inmune del *A. gambiae* (Molina-Cruz et al. 2012).

Utilizando mapeo de ligamiento y genética funcional recientemente se identificó que el gen Pfs47 del *P. falciparum* es responsable de permitir la evasión del sistema inmune del *A. gambiae* por el parásito (Molina-Cruz et al. 2013). El gen Pfs47 parece inhibir el proceso de nitración de proteínas (Molina-Cruz et al.

El hecho que el *P. falciparum* haya desarrollado la capacidad de evadir el sistema inmune del mosquito sugiere que esta defensa es importante para determinar transmisión de malaria. Evidencia de ello proviene del *An. quadriannulatus*, anofelino africano que no es vector de la malaria. En este mosquito, el bloqueo de su sistema de complemento por silenciamiento de TEPI aumenta la susceptibilidad del mosquito a infección por *P. falciparum* (Habtewold et al. 2008).

Es muy probable que el gen Pfs47 esté involucrado en la adaptación de *P. falciparum* a nuevos vectores ya que este gen ayuda al parásito a evadir el sistema inmune de los anofelinos. Interesantemente, análisis genético de poblaciones de *P. falciparum* ha mostrado que el gen Pfs47 es polimórfico y diferentes alelos predominan en distintos continentes. Se ha encontrado que Pfs47 tiene más diversidad en muestras africanas de *P. falciparum* comparadas con las de otros continentes (Anthony et al. 2007, Manske et al. 2012). En base a esto hemos propuesto que la estructura genética del gen Pfs47 puede estar determinada por selección natural causada por el sistema inmune de diferentes especies de anofelinos en distintas regiones del mundo. Distintos alelos del Pfs47 pueden ser más compatibles para infectar distintos anofelinos. Además, la selección del parásito por el vector puede haber determinado la estructura de poblaciones de muchos otros genes, por ejemplo disminuyendo la diversidad genética del *P. falciparum* en las Américas (Molina-Cruz and Barillas-Mury 2014). Basados en nuestra hipótesis también podemos predecir que el gen Pfs47 podría ser el blanco de una vacuna en humanos para bloquear la transmisión de malaria, lo cual estamos estudiando.

En conclusión, la dispersión global del *P. falciparum* por los humanos forzó al parásito a adaptarse a distintas especies de anofelinos alrededor del mundo. En el caso de las Américas, el *P. falciparum* encontró anofelinos que son evolutivamente distantes a los africanos. Nosotros proponemos que el sistema inmune de los anofelinos puede haber sido una barrera importante para la adaptación del parásito a especies de anofelinos en las Américas, y posiblemente en otras partes del mundo. Además, que la selección de alelos compatibles del gen Pfs47 que permitieran evadir el sistema inmune de distintos anofelinos puede haber sido importante para la adaptación del *P. falciparum* a distintos vectores y para la determinación de la estructura genética de las poblaciones del parásito. En las Américas, el sistema inmune de los anofelinos puede tener un papel importante en evitar que se establezca el *P. falciparum* en mayor medida y así se mantenga poca diversidad genética del parásito.

Reconocimiento

Este trabajo fue en parte financiado por el "Intramural Research Program" del NIH, NIAID, USA.

Bibliografía

- Anderson TJ, B Haubold, JT Williams JT, JG Estrada-Franco, L Richardson, R Mollinedo, M Bockarie, J Mokili, S Mharakurwa, N French, J Whitworth, ID Velez, AH Brockman, F Nosten, MU Ferreira, KP Day (2000) Microsatellite markers reveal a spectrum of population structures in the malaria parasite *Plasmodium falciparum* *Mol Biol Evol* **17** (10): 1467-1482
- Anthony TG, SD Polley, AP Vogler, DJ Conway (2007) Evidence of non-neutral polymorphism in *Plasmodium falciparum* gamete surface protein genes Pfs47 and Pfs48/45 *Mol Biochem Parasitol* **156** (2): 117-123
- Baton LA, LC Ranford-Cartwright (2012) Ookinete destruction within the mosquito midgut lumen explains *Anopheles albimanus* refractoriness to *Plasmodium falciparum* (3D7A) oocyst infection *Int J Parasitol* **42** (3): 249-258
- Blandin S, SH Shiao, LF Moita, CJ Janse, AP Waters, FC Kafatos, EA Leвшina (2004) Complement-like protein TEPI is a determinant of vectorial capacity in the malaria vector *Anopheles gambiae* *Cell* **116** (5): 661-670
- Bruce-Chwatt, LJ, C Garrett-Jones, B Weitz (1966) Ten years' study (1955-64) of host selection by anopheline mosquitos *Bull World Health Organ* **35** (3): 405-439
- Cohuet A, MA Osta, I Morlais, PH Awono-Ambene, K Michel, F Simard, GK Christophides, D Fontenille, FC Kafatos (2006) *Anopheles* and *Plasmodium*: from laboratory models to natural systems in the field *EMBO Rep* **7** (12): 1285-1289
- Conway DJ (2003) Tracing the dawn of *Plasmodium falciparum* with mitochondrial genome sequences *Trends Genet* **19** (12): 671-674
- Conway DJ, C Fanello C, JM Lloyd, BMA-S Al Joubori, AH Baloch, SD Somanath, C Roper, AMJ Oduola, B Mulder, MM Povo, B Singh, AW Thomas (2000) Origin of *Plasmodium falciparum* malaria is traced by mitochondrial DNA *Mol Biochem Parasitol* **111** (1): 163-171
- de Castro MC, BH Singer (2005) Was malaria present in the Amazon before the European conquest? Available evidence and future research agenda *Journal of Archaeological Science* **32** (3): 337-340
- Garver LS (2006) The peptidoglycan recognition protein PGRP-SC1a is essential for toll signaling and phagocytosis of *Staphylococcus aureus* in *Drosophila* *Proc Natl Acad Sci U S A* **103** (3): 660-665
- Grieco JP, NL Achee, DR Roberts, RG Andre (2005) Comparative susceptibility of three species of *Anopheles* from Belize, Central America, to *Plasmodium falciparum* (NF-54) *J Am Mosq Control Assoc* **21** (3): 279-290
- Habtewold T, M Povelones, AM Blagborough, GK Christophides (2008) Transmission Blocking Immunity in the Malaria Non-Vector Mosquito *Anopheles quadriannulatus* Species A *PLoS Pathog* **4** (5): e1000070
- Hall C, H Brignoli (2003) *Historical Atlas of Central America*, University of Oklahoma Press
- Hartl DL (2004) The origin of malaria: mixed messages from genetic diversity *Nat Rev Microbiol* **2** (1): 15-22
- Hume JC, M Tunnicliff, LC Ranford-Cartwright, KP Day (2007) Susceptibility of *Anopheles gambiae* and *Anopheles stephensi* to tropical isolates of *Plasmodium falciparum* *Malar J* **6**: 139
- Jaramillo-Gutierrez G, J Rodrigues, G Ndikuyeze, M Povelones, A Molina-Cruz, C Barillas-Mury (2009) Mosquito immune responses and compatibility between *Plasmodium* parasites and anopheline mosquitoes *BMC Microbiol* **9**: 154
- Joy DA, X Feng, J Mu, T Furuya, K Chotivanich, AU Krettli, M Ho, A Wang, NJ White, E Suh, P Beerli, X-z Su (2003) Early origin and recent expansion of *Plasmodium falciparum* *Science* **300** (5617): 318-321
- Joy DA, L Gonzalez-Ceron, JM Carlton, A Gueye, M Fay, TF McCutchan, X-z Su (2008) Local Adaptation and Vector-Mediated Population Structure in *Plasmodium vivax* Malaria *Mol Biol Evol* **25** (6): 1245-1252
- Liu W, Y Li, GH Learn, RS Rudicell, JD Robertson, BF Keele, JBN Ndjango, CM Sanz, DB Morgan, S Locatelli, MK Gonder, PJ Kranzusch, PD Walsh, E Delaporte, E Mpoudi-Ngole, AV Georgiev, MN Muller, GM Shaw, M Peeters, PM Sharp, JC Rayner, BH Hahn (2010) Origin of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* in gorillas *Nature* **467** (7314): 420-425

- Manske M, O Miotto, S Campino, S Auburn, J Almagro-García, G Maslen, J O'Brien, A Djimbe, O Doumbo, I Zongo, JB Quedraogo, P Michon, I Mueller, P Siba, A Nzila, S Borrmann, SM Kiara, K Marsh, H Jiang, X-Z Su, C Amaratunga, R Fairhurst, D Socheat, F Nosten, M Imwong, NJ White, M Sanders, E Anastasi, D Alcock, E Drury, S Oyola, MA Quail, DJ Turner, V Ruano-Rubio, D Jyothi, L Amenag-Etego, C Hubbard, A Jeffries, K Rowlands, C Sutherland, C Roper, V Mangano, D Modiano, JC Tan, MT Ferdig, A Amambua-Ngwa, DJ Conway, S Takala-Harrison, CV Plowe, JC Rayner, KA Rockett, TG Clark, CI Newbold, M Berriman, B MacLinnis, DP Kwiatkowski (2012) Analysis of *Plasmodium falciparum* diversity in natural infections by deep sequencing *Nature* **487** (7407): 375-379
- Molina-Cruz A, C Barillas-Mury (2014) The remarkable journey of adaptation of the *Plasmodium falciparum* malaria parasite to New World anopheline mosquitoes *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **109** (5): 662-667
- Molina-Cruz A, RJ Dejong, C Ortega, A Haile, E Abban, J Rodrigues, G Jaramillo-Gutiérrez, C Barillas-Mury (2012) Some strains of *Plasmodium falciparum*, a human malaria parasite, evade the complement-like system of *Anopheles gambiae* mosquitoes *Proc Natl Acad Sci U S A* **109** (28): E1957-1962
- Molina-Cruz A, LS Garver, A Alabaster, L Bangiolo, A Haile, J Winikor, C Ortega, BCL van Schaijk, RW Sauerwein, E Taylor-Salmon, C Barillas-Mury (2013) The Human Malaria Parasite Pfs47 Gene Mediates Evasion of the Mosquito Immune System *Science* **340** (6135): 984-987
- Neafsey DE, SF Schaffner, SK Volkman, D Park, P Montgomery, DA Milner, A Lukens, D Rosen, R Daniels, N Houde, JF Cortese, E Tyndall, C Gates, N Stange-Thomann, O Sarr, D Ndiaye, O Ndir, S Mboup, MU Ferreira, S de Lago Moraes, AP Dash, CE Chitnis, RC Wiegand, DL Hart, BW Birren, ES Lander, PC Sabeti, DF Wirth (2008) Genome-wide SNP genotyping highlights the role of natural selection in *Plasmodium falciparum* population divergence *Genome Biol* **9** (12): R171
- Neafsey DE, RM Waterhouse, MR Abai, SS Aganesov, MA Alekseyev, JE Allen, J Amon, B Arca, P Arensburg, G Artemov, LA Assour, H Basseri, A Berlin, BW Birren, SA Blandin, AI Brockman, TR Burkot, A Burt, CS Chan, C Chauve, JC Chiu, M Christensen, C Constantini, VLM Davidson, E Deligianni, T Dottorini, V Dritsou, SB Gabriel, WM Guelbeogo, AB Hall, MV Han, T Hiang, DST Hughes, AM Jenkins, X Jiang, I Jungreis, EG Kakani, M Kamali, P Kempainen, RC Kennedy, IK Kirmitsoglou, LL Koekemoer, N Laban, N Langridge, MKN Lawniczak, M Lirakis, NF Lobo, E Lowy, RM MacCallum, C Mao, G Masien, C Mbogo, J McCarthy, K Michel, SN Mitchell, W Moore, KA Murphy, AN Naumenko, T Nolan, EM Novoa, S O'Loughlin, C Oranganja, MA Oshaghi, N Pakpour, PA Papathanos, AN Peery, M Povelones, A Prakash, DP Price, A Rajaraman, LJ Reimer, DC Rinker, A Rokas, TL Russell, N Sagnon, MV Sharakhova, T Shea, FA Simao, F Simard, MA Slotman, P Somboon, V Stegny, CJ Struchiner, GWC Thomas, M Tojo, P Topalis, JMC Tubio, MF Unger, J Vontas, C Walton, CS Wilding, JH Willis, Y-C Wu, G Yan, EM Zdobnov, X Zhou, F Catteruccia, GK Christophides, FH Collins, RS Comman, A Crisanti, MJ Donnelly, SJ Emrich, MC Fontaine, W Gelbart, MW Hahn, IA Hansen, PI Howell FC Kafatos, M Kellis, D Lawson, C Louis, S Luckhart, MAT Muskavitch, JM Ribeiro, MA Riehle, IV Sharakov, Z Tu, LJ Zwiebel, NJ Besansky (2015) Highly evolvable malaria vectors: the genomes of 16 *Anopheles* mosquitoes *Science* **347** (6217): 1258522
- Nsango SE, L Abate, M Thoma, J Pompon, M Fraiture, A Rademacher, A Berry, PH Awono-Ambene, EA Levashina, I Morlais (2012) Genetic clonality of *Plasmodium falciparum* affects the outcome of infection in *Anopheles gambiae* *Int J Parasitol* **42** (6): 589-595
- Oliveira GdA, J Lieberman, C Barillas-Mury (2012) Epithelial Nitration by a Peroxidase/NOX5 System Mediates Mosquito Antiplasmodial Immunity *Science* **335** (6070): 856-859
- Osta, MA, GK Christophides, D Vlachou, FC Kafatos (2004) Innate immunity in the malaria vector *Anopheles gambiae*: comparative and functional genomics *J Exp Biol* **207** (Pt 15): 2551-2563
- Patel, JC, SM Taylor, PC Juliao, CM Parobek, M Janko, LD Gonzalez, L Ortiz, N Padilla, AV Tshetu, M Emch, V Udhayakumar, K Lindblade, SR Meshnick (2014) Genetic Evidence of Importation of Drug-Resistant *Plasmodium falciparum* to Guatemala from the Democratic Republic of the Congo *Emerg Infect Dis* **20** (6): 932-940
- Sinka M, M Bangs, S Manguin, M Coetzee, CM Mbogo, J Hemingway, AP Patil, WH Temperley, PW Gething, CW Kabaria, RM Okara, T Van Boeckel, HCJ Godfray, RE Harbach, SI Hay (2010a) The dominant *Anopheles* vectors of human malaria in Africa, Europe and the Middle East: occurrence data, distribution maps and bionomic precis *Parasit Vectors* **3**: 117
- Sinka ME, MJ Bangs, S Manguin, Y Rubio-Palis, T Chareonviriyaphap, M Coetzee, CM Mbogo, J Hemingway, AP Patil, WH Temperley, PW Gething, CW Kabaria, TR Burkot, RE Harbach, SI Hay (2012) A global map of dominant malaria vectors *Parasit Vectors* **5**: 69
- Sinka ME, Y Rubio-Palis, S Manguin, AP Patil, WH Temperley, PW Gething, T Van Boeckel, CW Kabaria, RE Harbach, SI Hay (2010b) The dominant *Anopheles* vectors of human malaria in the Americas: occurrence data, distribution maps and bionomic precis *Parasit Vectors* **3**: 72
- Voyages-Database (2009). Available at <http://www.slavevoyages.org/tast/index.faces> Retrieved November, 2013
- Webb JLA (2009) *Humanity's burden a global history of malaria*. New York, Cambridge University Press.
- WHO (2014a) *A global brief on vector-borne diseases* Geneva, WHO Press
- WHO (2014b) *World Malaria Report* Geneva, World Health Organization
- Wootton JC, X Feng, MT Ferdig, RA Cooper, J Mu, DI Baruch, AJ. Magill, Xin-zu Su (2002) Genetic diversity and chloroquine selective sweeps in *Plasmodium falciparum* *Nature* **418** (6895): 320-323
- Yalcindag E, E Elguero, C Arnathau, P Durand, J Akiana, TJ Anderson, A Abuoy, F Balloux, P Besnard, H Bogreau, P Carnevale, U D'Alessandro, D Fontenille, D Gamboa, T Jombart, J Le Mire, E Leroy, A Maestre, M Μαγκαρ, D Menard, L Musset, PN Newton, D Nkhogé, O Noya, B Ollomo, C Rogier, V Veron, A Wide, S Zaken, B Carne, E Legrand, C Chevillon, FJ Ayala, F Renaud, F Prugnolle (2012) Multiple independent introductions of *Plasmodium falciparum* in South America *Proc Natl Acad Sci USA* **109** (2): 511-516