

ASPEK MOLEKULER MALARIA BERAT

Putu Indah Budi Apsari

Bagian Mikrobiologi dan Parasitologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Warmadewa, Bali, Indonesia

Abstrak

Malaria adalah salah satu dari penyakit yang mengancam jiwa di dunia, lebih dari jutaan manusia setiap tahun. *Plasmodium falciparum* adalah parasit malaria yang paling sering menyebabkan penyakit yang berat. Beberapa menit setelah parasit ditransmisikan ke dalam tubuh manusia lewat gigitan nyamuk (dalam bentuk sporozoit) parasit menginvasi sel hepatosit tempat parasit dapat memperbanyak diri dengan cepat. Ribuan merozoit keluar dari hepar kemudian menginvasi sel darah merah. Pada malaria berat terjadi proliferasi parasit di dalam sel darah merah kemudian seldarah merah terinfeksi melekat pada lapisan endotel (cytoadherence) dan melekat pada sel darah merah yang tidak terinfeksi (rosetting). Pengetahuan tentang aspek molekuler malaria berat dapat membantu para peneliti dan klinisi dalam rangka mengurangi morbiditas dan mortalitas yang disebabkan oleh malaria berat.

Keyword: malaria berat, molekuler, Plasmodium

Pendahuluan

Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium sp.* pada tahun 2017 World Health Organization (WHO) mencatat 219 juta kasus seluruh dunia, dan 435.000 kematian seluruh dunia (WHO, 2017). Pada malaria berat terjadi proliferasi parasit di dalam sel darah merah kemudian seldarah merah terinfeksi melekat pada lapisan endotel (cytoadherence) dan melekat pada sel darah merah yang tidak terinfeksi (rosetting). Ikatan ini menimbulkan penggerombolan eritrosit terinfeksi pada venula post kapiler pada mikrovaskuler dan memblok aliran darah sehingga suplai oksigen berkurang (Cowman and Crabb, 2006). Gejala malaria berat yang paling sering adalah demam tinggi, anemia progresif, kegagalan multi organ, penurunan kesadaran, koma (gejala malaria serebralis) hingga kematian. Malaria berat merupakan sindrom komplikasi yang ditentukan oleh faktor parasit dan inang. Untuk dapat bertahan dalam tubuh manusia *P. falciparum* melakukan beberapa mekanisme untuk lolos dari sistem imun inang dan atau obat anti malaria. Strategi ini membuat parasit dapat bertahan dalam tubuh inang untuk melakukan berbagai proses parasitisasi hingga menyebabkan kematian pada inang. Parasit juga mampu melakukan variasi antigen yang tidak terbatas dengan melakukan perubahan ekspresi antigen pada permukaan eritrosit terinfeksi. Beberapa

antigen ini berperan sebagai ligan untuk menempel pada reseptor endotel pada venula pos kapiler. Melalui proses sekuestrasi parasit menghindari pembersihan di lien, proses ini juga membuat parasit mampu melakukan reinvasi dan proliferasi kembali. (Francis, Sullivan and Goldberg, 1997)

Beberapa kemajuan yang telah didapatkan untuk memahami latar belakang molekuler dari malaria berat yaitu gen *var* telah diidentifikasi sebagai gen yang mengkode *P. falciparum erythrocyte membrane protein 1* (PfEMP1), dan mengkode rosettin and rifin pada membran eritrosit terinfeksi. Penemuan molekuler diharapkan dapat menciptakan terapi baru dan pendekatan pencegahan imunologi pada malaria berat. Proyek genomisasi malaria dilakukan oleh berbagai sentra penelitian di seluruh dunia untuk menyediakan data genetic untuk para peneliti malaria. Beberapa aspek molekuler malaria akan diuraikan dalam makalah ini. (Buffet *et al.*, 2011)

Modifikasi Membran eritrosit

Perbedaan morfologi eritrosit terinfeksi dan eritrosit tidak terinfeksi parasit sangat besar. Properti mekanik eritrosit terinfeksi berubah dratis, membrannya menjadi kurang fleksibel sehingga sulit melewati mikrovaskuler. Nutrisi parasit berupa karbohidrat, asam amino, basa purin, ditransporasi menuju sel dengan melalui kanal

husus atau pori yang dibuat oleh parasit pada membran eritrosit. Komponen proteoglikan dan protein membran eritrosit selanjutnya akan dicerna oleh parasit dan dimodifikasi. Beberapa polipeptida yang dikeluarkan oleh parasit diantaranya *PfEMP1* dan rosettin/rifin dimasukkan kemudian ditonjolkan ke dalam permukaan membran eritrosit (Claessens *et al.*, 2014). Perubahan ultrastruktural berupa protusi dengan diameter 100um yang disebut *knobs*. *Knobs* hanya ditemukan pada membran eritrosit terinfeksi dengan komposisi polipeptidanya tersusun salah satunya oleh *PfEMP1*. Transmisi *PfEMP1* ke dalam membran eritrosit terinfeksi diamati menggunakan TEM dan SEM untuk membuktikan bahwa knob melekat pada permukaan membran eritrosit lain termasuk eritrosit normal (rosette) (Hviid and Jensen, 2015). Knob juga dipercayai merupakan tempat perlekatan dengan endotel di otak pada pasien yang meninggal akibat malaria berat. Knob bukanlah satu-satunya alat perlekatan untuk eritrosit, eritrosit terinfeksi tanpa knob masih sangat adesif karena ada berbagai molekul adesi yang berperan pada perlekatan eritrosit terinfeksi misalnya rifin, rosettin dan protein-protein lain yang diekspresikan oleh permukaan membran eritrosit terinfeksi yang dapat memediasi proses perlekatan (Petter and Duffy, 2015).

Fleksibilitas eritrosit tidak terinfeksi berkurang secara drastis dan hal ini merupakan salah satu parameter derajat keparahan malaria. Eritrosit normal pada malaria berat cenderung berkurang deformabilitasnya dibandingkan eritrosit normal pada malaria sedang. Eritrosit rigid pada malaria berat juga berpengaruh terhadap sekuestrasi pada kapiler dan mengganggu aliran darah sehingga berakibat fatal (Wahlgren, Goel and Akhouri, 2017). Dua faktor yang berpengaruh terhadap deformabilitas eritrosit normal pada malaria berat antara lain: asidosis berat sebagai akibat glikolisis anaerobik oleh parasit dan antigen yang dikeluarkan oleh parasit diserap oleh membran eritrosit normal. Hal ini membuktikan bahwa antigen lipid yang dikeluarkan oleh parasit dimasukkan ke dalam eritrosit normal yang menyebabkan membrannya menjadi kaku. Berkurangnya deformabilitas eritrosit normal merupakan

salah satu faktor penyebab keparahan penyakit (Bousema and Drakeley, 2011).

Sitokin dan Toksin

Sitokin yang penting pada malaria berat adalah TNF- α dan IFN- γ . Elemen parasit malaria membuat inang memproduksi berbagai sitokin yang membuat gejala penyakit bertambah parah. TNF- α dan IFN- γ ditemukan dalam kadar tinggi pada pasien dengan malaria berat dibandingkan pada malaria tanpa komplikasi. Deposit TNF- α , IL-1 dan IFN- γ pada organ dengan sekuestrasi massif misalnya otak paling banyak ditemukan pada pasien yang meninggal akibat malaria serebralis. Peran sitokin pada malaria berat antara lain: meningkatkan ekspresi dan redistribusi reseptor pada permukaan endotel, menyebabkan gangguan fisiologis pada inang terutama panas tinggi, meningkatkan produksi nitrit oxide yang menyebabkan kerusakan parah pada lokasi sekuestrasi dan menekan produksi eritrosit pada sumsum tulang. Pengobatan dengan anti sitokin mungkin dapat mengatasi gejala klinis malaria berat. Infus antibodi monoklonal anti TNF- α pada anak yang menderita malaria berat mengurangi panas, namun tidak memperbaiki gejala. Membedah antigen parasit yang mestimulasi pembentukan sitokin menjadi penting untuk memahami penyakit dan membuat strategi pencegahan yang baru (Cowman and Crabb, 2006).

Malaria toksin adalah molekul yang dikeluarkan oleh parasit yang menginduksi inang memproduksi faktor yang terikat pada serum. Supernatant dari kultur *P. falciparum* mengandung elemen-elemen yang menstimulasi sekresi TNF- α , IL-1 dan sitokin lain oleh berbagai macam sel inang. Respon imun terhadap elemen ini berperan terhadap resistensi penyakit, meningkatkan ekspresi reseptor pada endotel dan menyebabkan demam (Francis, Sullivan and Goldberg, 1997).

Glycosyl phosphatidyl inositol (GPI) berfungsi sebagai jangkar transmembran pada protozoa misalnya *Trypanosoma brucei* pada sel mamalia. Mereka berikatan dengan ujung terminal karboksil pada protein yang berfungsi sebagai transport protein intraseluler, maturasi, dan proses transduksi sinyal pada sel. Molekul ini dipercayai sebagai malaria toksin. Sebagian besar toksin malaria tahan terhadap terapi

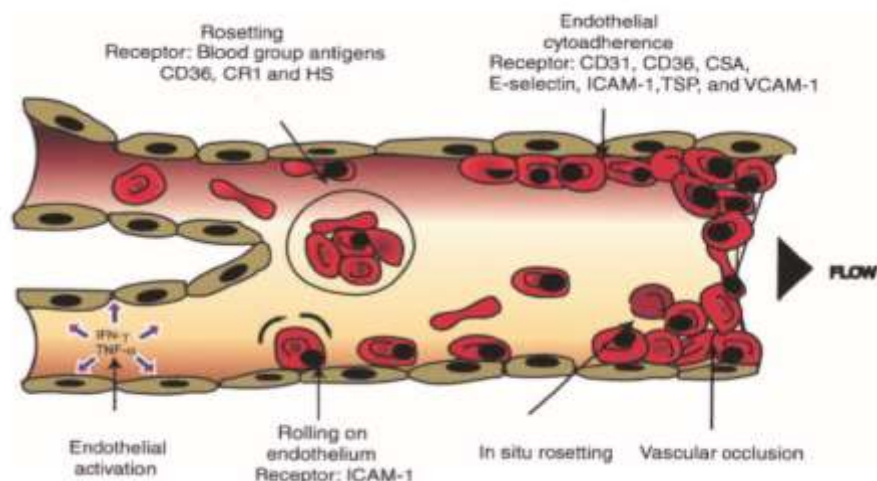
protease dan tergantung pada struktur fosfolipid. *Phosphatidyl inositol* dipercayai sebagai komponen utama molekul toksin karena Antibodi yang spesifik dapat menetralkan efek toksik namun ekstrak asli toksin tersebut belum diketahui. Antigen dengan komponen GPI misalnya MSP-1 dan MSP-2 ditemukan dapat menginduksi TNF- α dan IL-1. Pf155 (*ring-stage erythrocyte surface antigen*) (RESA) juga dapat menginduksi TNF- α . Selama proses invasi merozoit *P. palcifarum*, precursor MSP dipecah oleh enzim yang dikeluarkan oleh roptri ke dalam beberapa bagian. Penelitian terbaru menyatakan antigen yang mengandung GPI terdapat pada parasit tua dan sering melakukan glikosilasi. GPI sangat berperan penting terhadap kelangsungan hidup parasit, menginduksi pengeluaran sitokin inflamasi dan sintesis nitrit oxide. Mekanisme ini memperberat sekuestrasi pada vena post kapiler dan menyebabkan berbagai pathogenesis pada inang (Buffet *et al.*, 2011).

Antigen schizont mempunyai efek toksik karena menstimulasi pengeluaran sitokin TNF- α dalam jumlah besar dan menyebabkan demam tinggi. Schizont associated antigen (SAA) mampu menstimulasi sel T mensekresi IFN- γ , efeknya ditingkatkan oleh IL-1, IL-10, dan IL-12. SAA ini dikatakan resisten terhadap protease, pemanasan dan perubahan pH dan mengandung kumpulan fosfat yang dipercayai penting sebagai efek toksik (Claessens *et al.*, 2014).

Hasil metabolit *P. palcifarum* juga toksik terhadap dirinya sendiri, misalnya heme yang mengandung zat besi. Selama fase aseksual *P. palcifarum* mengkonsumsi hemoglobin sebagai sumber energi sehingga menghasilkan hemozoin sebagai produk hasil pemecahan yang kemudian didepositkan pada kompartemen sel sebagai pigmen. Pigmen ini keluar bersamaan dengan pecahnya schizont, dan dapat menginduksi IL-1. Malaria toksin harus ditangani saat pasien masuk rumah sakit oleh karena sifatnya yang berbahaya, pengetahuan tentang malaria toksin harus ditingkatkan untuk ke depan menjadi lebih baik (Hviid and Jensen, 2015).

Sekuestrasi dan Malaria Berat

Sekuestrasi adalah proses pembuangan eritrosit terinfeksi dari sirkulasi perifer dengan mengikatnya pada endotel terutama pada vena post kapiler pada jaringan terdalam, terkadang diikuti oleh eritrosit normal. Disfungsi organ yang terkena dapat terjadi apabila terjadi pengikatan secara massif sehingga terjadi oklusi pada pembuluh darah yang mengakibatkan terhambatnya aliran oksigen. Sekuestrasi massif pada otak dipercayai sebagai penyebab koma pada malaria serebralis. Sekuestrasi juga dipercayai sebagai cara parasit untuk menghindari destruksi oleh limpa selain itu parasit lebih baik tumbuh pada kondisi depleksi oksigen daripada kondisi kaya oksigen (Buffet *et al.*, 2011).



Gambar 1. Proses sequestrasi pada malaria berat (Buffet *et al.*, 2011)

Reseptor Endotel untuk Adesi

CD36 dan trombospodin pertama kali digambarkan sebagai reseptor yang terikat eritrosit terinfeksi, reseptor lain seperti VACAM-1, ICAM-1 dan E-selectin diidentifikasi berikutnya. ICAM-1 mempunyai afinitas yang rendah terhadap eritrosit terinfeksi, peranannya adalah menstabilkan posisi eritrosit terinfeksi sepanjang garis endotel dan mempertahankan posisi ikatannya dengan CD36. TSP dan CD36 jumlahnya sedikit pada endotel otak, stimulasinya terhadap produksi sitokin juga rendah. PECAM-1 disebut juga CD31 adalah polipeptida dengan massa 130kDa yang teriglikosilasi terutama berada pada lingkaran endotel dan selanjutnya diidentifikasi sebagai reseptor *P. palcifarum*. (Claessens *et al.*, 2014)

Glycosamino glycans (GAGs) bermuatan negatif misalnya heparin sulfat (HS) dan chondroitin sulfat A (CSA) terdistribusi merata pada permukaan endotel. Peran potensial dari GAGs ini adalah selama invasi merozoit membentung rosett. CSA penting pada sekuestrasi pada placenta ibu hamil, sehingga perannya dipercayai pada malaria yang ditularkan dari maternal (Petter and Duffy, 2015).

Rosetting

Perlekatan spontan eritrosit normal pada eritrosit terinfeksi disebut rosetting, paling sering didapatkan pada kultur *P. palcifarum* (Wahlgren, Goel and Akhouri, 2017).

Rosetting berhubungan dengan Malaria Berat

Rosetting pertama kali ditemukan pada kultur *P. palcifarum* yang masih hidup, kemudian didapatkan eritrosit normal terikat pada eritrosit terinfeksi pada pengecatan dengan etidium bromide dan diamati menggunakan mikroskop fluorescen. Kemampuan parasit melakukan rosetting dipercayai menjadi penyebab malaria serebralis (Bousema and Drakeley, 2011).

Reseptor rosetting multipel pada permukaan eritrosit

Lima reseptor rosetting pada permukaan eritrosit diidentifikasi antara lain: antigen A and

B pada golongan darah, CD36, *complement receptor 1* (CR1), dan HS-like GAGs.

PfEMP1 adalah ligan adesif

PfEMP1 adalah polipeptida dengan massa molekul 200-400 kDa yang sensitive dengan tripsin, tidak larut pada detergen nonion. PfEMP1 terdiri dari beberapa macam *Duffy binding-like domains* (DBL 1 to 5) ekstraseluler, dengan satu atau dua *cysteine-rich interdomain regions* (CIDRs) terdistribusi diantara regio membran DBLs dan transmembran, dan *intracellular acidic segment* (ATS). PfEMP1 dikode oleh gen *var*, dia mampu melakukan multiplikasi dan polimorfisasi secara alami yang bertujuan untuk menginvasi sistem imun inang (Hviid and Jensen, 2015).

Variasi antigenik

Pada infeksi malaria jumlah parasitemia dapat berubah setiap saat, infeksi ulangan dengan kemunculan antigen yang berbeda merupakan strategi parasit untuk lolos dari sistem imun. Baik merozoit, trofozoit tua dan schizont melakukan variasi antigen tersebut menyebabkan respon imun inang tidak efektif sehingga infeksi berlangsung lama. Parasit malaria mengelabui sistem imun inang dengan dua cara yaitu: melakukan rekombinasi genetik di tubuh nyamuk yang membuat terjadinya perubahan genomic yang tidak terbatas dan melakukan variasi antigenik pada family gen seperti gen *var*, *rosettin/rif*, dan *Pf60* pada genom parasit. Variasi antigenik membuat parasit terhindar dari pembersihan oleh sistem imun inang (Petter and Duffy, 2015).

Antigen permukaan Merozoit

Hidup pada peredaran darah manusia membuat parasit berada di bawah tekanan imunitas inang. Merozoit selalu mudah dikenali oleh Antibodi spesifik, namun merozoit selalu membuat variasi pada permukaannya. Protein permukaan merozoit disebut MSP, dengan massa 19kDa, MSP-1 adalah protein yang paling sering ditemukan dengan cara sequencing. Pada *P. palcifarum* ditemukan 4 varian MSP yang lain yaitu MSP-2,3,4 dan 5. Menghambat salah satu protein permukaan ini tidak serta merta dapat menghentikan invasi parasit. Kelompok antigen merozoit pada *P. palcifarum* diidentifikasi antara lain *Pf60*,

lokasinya berada pada roptri dan apeks merozoit. Protein ini juga terdeposit pada eritrosit menunjukkan bahwa perannya pada invasi parasit sangat penting (Claessens *et al.*, 2014).

PfEMP1

PfEMP1 adalah salah satu dari antigen *P. falciparum* yang mengalami variasi antigen, satunya lagi adalah rosettin/rifin. Gen var pada genom haploid dengan estimasi jumlah gen 40 sampai 50 dan terdistribusi hamper ke seluruh kromosom. Penelitian yang dilakukan oleh Rubio *et al* menyatakan bahwa lokasi gen var adalah di region subtelomerik. Gen var menunjukkan polimorfisme yang tinggi pada genom nya. Satu PfEMP1 dapat berubah dengan yang lain, kemampuan merubah diri ini dipercaya dapat menyelamatkan parasit dari serangan imun inang (Hviid and Jensen, 2015).

Multigen rif

Rosettin atau rifin adalah polipeptida dengan berat molekul rendah, terutama ditemukan pada permukaan membran eritrosit terinfeksi. Antibodi inang bereaksi terhadap rifin /rosettin ini mengindikasikan bahwa mereka dapat menginduksi sistem imun inang secara spesifik sama halnya dengan PfEMP1. Rifin berlokasi pada kromosom nomor 2 dan 3. Dari total gen yang terdistribusi pada kromosom 2 dan 3 maka keseluruhan jumlah gen rifin pada parasit malaria sekitar 200 gen, menunjukkan dia adalah family gen terbesar pada parasit malaria. Sama halnya dengan PfEMP1, rifin berlokasi pada region subtelomerik. Perbedaan sekuennya dengan PfEMP1 menunjukkan bahwa ia merupakan protein yang berbeda dengan PfEMP1 (Cowman and Crabb, 2006).

Daftar Pustaka

- Bousema, T. and Drakeley, C. (2011) 'Epidemiology and infectivity of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* gametocytes in relation to malaria control and elimination', *Clinical Microbiology Reviews*, 24(2), pp. 377–410. doi: 10.1128/CMR.00051-10.
- Buffet, P. A. *et al.* (2011) 'The pathogenesis of *Plasmodium falciparum* malaria in humans: Insights from splenic

physiology', *Blood*, 117(2), pp. 381–392. doi: 10.1182/blood-2010-04-202911.

- Claessens, A. *et al.* (2014) 'Generation of Antigenic Diversity in *Plasmodium falciparum* by Structured Rearrangement of Var Genes During Mitosis', *PLoS Genetics*, 10(12). doi: 10.1371/journal.pgen.1004812.
- Cowman, A. F. and Crabb, B. S. (2006) 'Invasion of red blood cells by malaria parasites', *Cell*, 124(4), pp. 755–766. doi: 10.1016/j.cell.2006.02.006.
- Francis, S. E., Sullivan, D. J. and Goldberg, D. E. (1997) 'HEMOGLOBIN METABOLISM IN THE MALARIA PARASITE *PLASMODIUM FALCIPARUM*', *Annual Review of Microbiology*, 51(1), pp. 97–123. doi: 10.1146/annurev.micro.51.1.97.
- Hviid, L. and Jensen, A. T. R. (2015) *PfEMP1 - a parasite protein family of key importance in plasmodium falciparum malaria immunity and pathogenesis*, *Advances in Parasitology*. Elsevier Ltd. doi: 10.1016/bs.apar.2015.02.004.
- Petter, M. and Duffy, M. F. (2015) 'Antigenic variation in *plasmodium falciparum*', *Results and Problems in Cell Differentiation*, 57, pp. 47–90. doi: 10.1007/978-3-319-20819-0_3.
- Wahlgren, M., Goel, S. and Akhouri, R. R. (2017) 'Variant surface antigens of *Plasmodium falciparum* and their roles in severe malaria', *Nature Reviews Microbiology*, 15(8), pp. 479–491. doi: 10.1038/nrmicro.2017.47.
- World Health Organization. 2017 [https://www.who.int/malaria/en/\(diakses 28 Januari 2019\)](https://www.who.int/malaria/en/(diakses 28 Januari 2019)).