

FENOMENA FORMASI ROSET PADA PATOFISIOLOGI MALARIA FALCIPARUM

Rawina Winita Sutjahjono, Praba Ginanjar

Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta 10430

Abstrak

Infeksi *Plasmodium falciparum* stadium aseksual mengakibatkan terjadinya perubahan morfologi, fungsional dan antigenik pada membran eritrosit hospes. Konsekuensi dari perubahan-perubahan tersebut antara lain berupa peningkatan kemampuan untuk melekat (sitoaderen) pada sel endotel di kapiler dan venula serta melekatnya eritrosit tidak terinfeksi (normal) di sekeliling eritrosit terinfeksi yang disebut dengan pembentukan formasi roset. Pembentukan formasi roset tersebut merupakan suatu fenomena yang akhir-akhir ini banyak menarik perhatian karena diduga memiliki kepentingan dalam patogenesis malaria berat terutama malaria serebral yaitu melalui terjadinya sekuestersi parasit di mikrovaskular. Pembentukan formasi roset merupakan mekanisme penempelan (sitoaderen) antara eritrosit terinfeksi *P. falciparum* dengan eritrosit normal disekelilingnya yang melibatkan peran ligan protein parasit yaitu antara lain PfEMP1 yang diekspresikan pada eritrosit terinfeksi sebagai antigen permukaan melalui domain DBL1 alfa (*Duffy Binding-Like*) yang berikatan dengan reseptor CR1 dan/atau antigen A pada eritrosit normal sebagai sel target. Dengan mempertimbangkan bahwa semua strain *P. falciparum* mampu menyebabkan terbentuknya formasi roset eritrosit, maka masih diperlukan informasi mengenai formasi roset ini baik mengenai situs sekuestersi, identitas pasti reseptor, lingkungan hemodinamik vaskuler in vivo yang mendukung dan juga pemetaan domain yang terlibat dalam pembentukan formasi roset untuk memastikan apakah roset berperan dalam patogenesis malaria berat.

Abstract

Rosette formation phenomena on patophysiology of malaria falciparum. Infection of asexual stage of the malaria parasite *Plasmodium falciparum* induce morphologic, functional and antigenic changes in their host erythrocyte membranes. The consequence of these changes is that infected erythrocyte develop the ability to sequester by binding to capillary endothelial cells, venula and to uninfected erythrocyte is termed rosette formation. Recently, rosette formation be interesting phenomenon because it was presumed important to pathogenesis of severe malaria such as cerebral malaria through sequestration of parasite in microvasculature. Rossete formation is a binding mechanism between *Plasmodium falciparum* infected erythrocyte to the normal ones, which involve the role of parasite protein ligands such as PfEMP1 expressed on infected erythrocyte as surface antigen through DBL1-alfa domain that bind to CR-1 receptor and/or A-antigen on the uninfected erythrocyte as target cell. Taking into accounts that all strains of *P. falciparum* parasite could cause rosette formation, therefore information of rosette formation still needed such as site of sequestration, identity receptors, haemodynamic environment of microvascular and domain mapping on rosette formation to elucidate the role of rosette formation in pathogenesis of severe malaria.

Keywords : rosette formation, sequestration, severe malaria

Pendahuluan

Formasi roset merupakan suatu peristiwa penempelan secara spontan sel-sel darah merah yang tidak terinfeksi parasit *Plasmodium* pada sel darah merah yang terinfeksi *Plasmodium* stadium aseksual akhir¹. Pembentukan formasi roset tersebut merupakan suatu fenomena yang akhir-akhir ini banyak menarik perhatian karena diduga berhubungan dengan patogenesis malaria².

Dari ke empat spesies *Plasmodium* yang dapat menginfeksi manusia hanya *Plasmodium falciparum* yang paling berbahaya, karena spesies ini dapat menyebabkan terjadinya malaria berat bahkan kematian. Patofisiologi terjadinya keadaan tersebut dihubungkan dengan adanya sekuesterasi sel-sel darah merah terinfeksi pada pembuluh darah jaringan sehingga aliran darah menjadi lambat yang mengakibatkan terjadinya disfungsi organ-organ vital. Secara in-vitro salah satu fenomena yang berhubungan

dengan terjadinya mekanisme diatas adalah adanya pembentukan formasi roset.

Menurut Wahlgren³, formasi roset mempunyai peran, baik dalam invasi merozoit ke eritrosit maupun sekuesterasi parasit di mikrovaskuler serta terlibat dalam patogenesis malaria berat, terutama malaria serebral. Demikian juga menurut Handunneti¹⁶, dan Wahlgren¹ yang menyebutkan bahwa formasi roset merupakan suatu fenomena yang khas untuk *Plasmodium falciparum* yang dapat menyebabkan terjadinya sekuesterasi.

Distribusi geografi *Plasmodium falciparum* yang dapat menyebabkan pembentukan formasi roset sangat luas⁴, dibuktikan dengan berbagai penelitian mengenai kejadian pembentukan formasi roset oleh berbagai strain *P. falciparum* dari Afrika, Amerika Selatan dan Asia³. Dengan makin luasnya distribusi tersebut menjadi salah satu hal yang mendorong dilakukannya penelitian mengenai fenomena pembentukan formasi roset dan hubungannya dengan patofisiologi malaria falciparum.

Pada tulisan ini akan didiskusikan mengenai pembentukan formasi roset pada eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium falciparum* dan kemungkinan peran formasi roset dalam patofisiologi malaria.

Perubahan Eritrosit Yang Terinfeksi Dan Pembentukan Formasi Roset

Infeksi *P. falciparum* stadium aseksual mengakibatkan terjadinya perubahan morfologi, fungsional dan antigenik pada membran eritrosit hospes^{5,6}. Hal ini terjadi karena trofozoit dan skizon matang *P. falciparum* mengekspresikan beberapa protein parasit yang dikeluarkan ke membran eritrosit terinfeksi⁷, antara lain protein 18 kDa (rosetins)⁸. Konsekuensi dari perubahan-perubahan tersebut antara lain berupa aglutinasi oleh antibodi spesifik, peningkatan kemampuan untuk melekat pada sel endotel yang dikenal sebagai sitoaderen dan melekatnya eritrosit tidak terinfeksi disekeliling eritrosit terinfeksi yang disebut sebagai pembentukan roset².

Pembentukan roset berhubungan dengan perkembangan stadium aseksual parasit. Secara in vivo, pembentukan formasi roset terjadi secara spontan yaitu pada saat stadium parasit berbentuk cincin berkembang menjadi stadium trofozoit. Formasi roset tersebut terdiri dari satu eritrosit yang terinfeksi stadium trofozoit atau skizon ditengah dengan dikelilingi sampai lebih dari sepuluh eritrosit normal. Hal serupa juga tampak pada percobaan in vitro, bahkan pada saat parasitemia mencapai kadar yang tinggi dapat terlihat adanya dua atau lebih eritrosit terinfeksi di tengah dengan beberapa

lapis eritrosit normal disekelilingnya⁹⁻¹⁰. Menurut Al-Yaman⁴, kepadatan parasit berhubungan dengan pembentukan formasi roset.

Mekanisme Pembentukan Formasi Roset

Pembentukan formasi roset merupakan mekanisme penempelan antara eritrosit terinfeksi *P. falciparum* dengan eritrosit normal disekelilingnya yang melibatkan peran ligan protein parasit yang diekspresikan pada membran eritrosit terinfeksi sebagai antigen permukaan dan sejumlah reseptor pada eritrosit normal sebagai sel target¹¹.

Parasit malaria mengekspresikan berbagai varian antigen permukaan, pada *P. falciparum*, salah satu antigen permukaannya disebut *Plasmodium falciparum Erythrocyte Membrane Protein 1* (PfEMP1)¹². PfEMP1 adalah molokul dengan massa 200-350kDa, merupakan protein parasit dengan sifat antigenik bervariasi dan diekspresikan ke permukaan eritrosit yang terinfeksi stadium matang parasit. PfEMP1 dipercaya merupakan ligan parasit yang berfungsi sebagai mediator pembentukan formasi roset melalui interaksinya dengan reseptor-reseptor yang diekspresikan pada permukaan eritrosit normal⁸.

PfEMP1 memiliki struktur kepala molokul ekstraseluler yang sangat kompleks dan bervariasi⁸. Varian PfEMP1 tersebut disandi oleh lebih kurang 50 var gen per haploid genom *P. falciparum*. Sebagian besar var gen tersebut bersifat subtelometrik dan selama mitosis mungkin terjadi rekombinasi antar var gen pada kromosom heterolog. Namun disamping variasi sekuen tersebut, bagian ekstra seluler PfEMP1 juga mempunyai struktur *conserved* yang terdiri dari domain-domain yang berbeda, meliputi *N-terminal sequence* (NTS), *Cys-rich inter-domain* (CIDR), domain C2 dan domain *Duffy Binding Like* (DBL)¹².

Domain spesifik PfEMP1 yang berbeda satu sama lain itu telah teridentifikasi merupakan mediator sitoaderen terhadap sejumlah reseptor hospes, baik pada sel endotel maupun eritrosit normal. Pembentukan formasi roset diperantarai oleh DBL1, namun tampaknya hanya sebagian domain DBL1 saja yang terlibat dalam pembentukan formasi roset tersebut⁸.

Analisis filogenetik berhasil membedakan domain DBL menjadi beberapa tipe yang memiliki kemampuan sitoaderen berbeda yaitu antara lain DBL tipe alfa, beta dan gama. Pada berbagai penelitian menunjukkan bahwa keberadaan domain DBL alfa yang muncul pada struktur ekstra seluler semi *conserved* pada molokul PfEMP1 telah terbukti merupakan domain antigen permukaan parasit yang terlibat dalam mekanisme pembentukan formasi roset¹².

Sedangkan pada eritrosit normal, beberapa reseptor yang diduga berperan dalam pembentukan formasi roset juga telah berhasil diidentifikasi. Reseptor-reseptor tersebut bersifat spesifik terhadap strain tertentu dan memiliki sifat antigenik yang berbeda-beda². Reseptor pembentukan formasi roset yang telah diketahui antara lain¹. Antigen A pada golongan darah². Complement receptor (CR-1), suatu glikoprotein rantai tunggal transmembran polimorfi yang mengikat komponen komplemen C3B dan C4b yang diekspresikan pada permukaan eritrosit dan leukosit. Hasil-hasil penelitian menunjukkan bahwa eritrosit dengan defisiensi CR-1 secara jelas menunjukkan penurunan kemampuan membentuk formasi roset in vitro, meskipun secara in vivo kepadatan CR-1 yang rendah masih cukup untuk menjadi perantara pembentukan formasi roset¹³.

Jadi dengan demikian dapat dikatakan bahwa reseptor CR-1 dan antigen A pada eritrosit normal memperantarai pembentukan formasi roset dengan cara berikatan melalui domain DBL1 alfa PfEMP1 parasit yang diekspresikan sebagai antigen permukaan pada eritrosit terinfeksi *P. falciparum*. Namun demikian, mekanisme pembentukan formasi roset tersebut tampaknya sangat kompleks dan melibatkan gen yang berbeda sehingga formasi roset tidak memberikan gambaran yang bersifat universal⁸.

Sifat-Sifat Formasi Roset

Pembentukan formasi roset berhubungan dengan perkembangan parasit stadium aseksual. Menurut David dkk⁴, prosentase eritrosit terinfeksi *P. falciparum* yang membentuk formasi roset dan jumlah eritrosit normal yang mengelilinginya tampak semakin banyak seiring dengan kematangan stadium parasit. Menurut Wahlgren dkk³, eritrosit yang membentuk formasi roset seluruhnya mengandung parasit pada stadium aseksual akhir. Kadang-kadang memang terlihat eritrosit yang terinfeksi stadium gametosit, namun tidak tampak adanya roset yang terbentuk disekelilingnya.

Fenotip pembentuk formasi roset (R+) bersifat stabil secara genetik, hal ini terbukti dari berbagai hasil penelitian mengenai klon maupun kultur parasit yang disimpan secara in vitro tidak menyebabkan parasit kehilangan kapasitas pembentukan formasi roset¹⁰. Parasit dengan fenotip pembentuk roset ini ditemukan dalam jumlah bervariasi di dalam eritrosit yang terinfeksi *P. falciparum*^{1,4}, sehingga pembentukan formasi roset juga sangat bervariasi. Namun secara konsisten formasi roset selalu muncul pada infeksi oleh semua strain *P. falciparum* baik in vivo maupun in vitro⁹.

Menurut David¹⁴, molekul perantara roset merupakan bagian dari protein alamiah. Dari penelitian yang

dlakukan terbukti dengan penambahan tripsin yang merupakan suatu enzim/protein akan terjadi hambatan pembentukan formasi roset akibat pengikatan oleh tripsin tersebut dan selanjutnya bila tripsin dihilangkan, maka formasi roset akan muncul kembali.

Selain itu pada penelitian Carlson¹⁰, diketahui adanya serum dari penderita yang terinfeksi *P. falciparum* juga dapat menghambat pembentukan formasi roset. Diduga bahwa efek tersebut berhubungan dengan keberadaan antibodi eritrosit. Adanya antibodi spesifik terhadap PfHRP-1 (merupakan suatu protein kaya histidin yang dipresentasikan ke permukaan eritrosit terinfeksi *P. falciparum*) dapat menghilangkan formasi roset yang terbentuk. Menurut David⁴, adanya pengaruh antibodi spesifik tersebut mengindikasikan bahwa kemungkinan formasi roset bersifat antigenik. Hal ini didukung dari hasil penelitian Wahlgren³, yang secara in vitro mengetahui bahwa antibodi spesifik tersebut tidak ditemukan pada serum individu yang terinfeksi parasit atau virus patogen lain. Dengan demikian diduga bahwa antigen yang terlibat dalam pembentukan formasi roset tersebut berasal dari parasit dan berperan sebagai zat imunogenik pada individu yang terinfeksi *P. falciparum*.

Peran Formasi Roset

A. Formasi Roset Dan Invasi Merozoit

Analisis formasi roset menggunakan *Transmission Electron Microscopy* (TEM) menunjukkan bahwa membran eritrosit terinfeksi *P. falciparum* dan membran eritrosit normal disekelilingnya tampak melekat sangat erat¹⁰ bahkan menurut Udomsangpetch⁹, kadang-kadang tampak adanya merozoit yang kelihatan sebagai fragmen membran antara eritrosit dan ini mengindikasikan kemungkinan formasi roset terlibat dalam invasi merozoit ke dalam eritrosit normal¹⁴.

Menurut Holt dkk,¹⁵ invasi merozoit ke dalam eritrosit dilakukan melalui suatu mediator yaitu berupa reseptor pada eritrosit. Hal ini didukung juga dengan penelitian Wahlgren dkk.¹ yang berpendapat bahwa ada hubungan antara pembentukan formasi roset dengan invasi merozoit dimana pada hubungan tersebut ditemukan adanya keterlibatan suatu antigen yang spesifik stalin. Lebih jauh Handunnetti dkk.¹⁶ mengatakan bahwa formasi roset membarikan lingkungan yang cocok bagi parasit dengan cara menyediakan eritrosit normal disekitar eritrosit berparasit yang sekaligus meningkatkan efisiensi invasi merozoit setelah skizon pecah.

B. Formasi Roset Dan Malaria Berat

Infeksi *P. falciparum* dapat dibedakan dari infeksi parasit malaria yang lain karena adanya kecenderungan

untuk mengakibatkan malaria berat dengan morbiditas tinggi. Hal ini terjadi karena akumulasi eritrosit berparasit yang menyebabkan obstruksi aliran darah di dalam mikrovaskuler (Al-Yaman dkk, 1995; Cooke dkk, 2000)⁴⁻⁸ dan kerusakan jaringan setempat (Udomsangpetch dkk, 1992)¹⁷. Obstruksi tersebut melibatkan peran dua karakteristik sitoaderen dari eritrosit berparasit, yaitu : (1). interaksi eritrosit berparasit dengan sel endotel, dan (2). interaksi eritrosit berparasit dengan eritrosit normal (Cooke, dkk, 2000; Udomsangpetch dkk, 1992)^{8,17} yang mekanisme pengikatannya melibatkan sejumlah reseptor pada sel target dengan ligan protein parasit pada permukaan eritrosit yang terinfeksi *P. falciparum* (Udomsangpetch dkk, 1992)¹⁷. Selain itu eritrosit berparasit mengalami sekuesterisasi pada vaskuler alat-alat dalam yang memungkinkan parasit untuk terhindar dari penghancuran oleh limpa (Al-Yaman dkk, 1995; Chulay dkk, 1990)⁴⁻⁵ dan sekaligus menimbulkan konsekuensi patologis pada hospes⁸.

Berbagai eksperimen maupun otopsi pasien dengan malaria falciparum berat menunjukkan bahwa gumpalan eritrosit berparasit dan eritrosit tidak berparasit telah ditemukan menyumbat kapiler dan kapiler venosa (Wahlgren dkk, 1990)³. Formasi roset dapat berperan dalam obstruksi dan patofisiologi malaria berat, jika pengikatan sel ke selnya cukup kuat untuk menahan aliran di mikrovaskuler dan hal ini melibatkan interaksi antara eritrosit normal yang terikat dengan eritrosit berparasit yang terdahulu menempel ke endotel (Kaul dkk, 1991)¹⁸. Selain itu diperkirakan formasi roset dapat meningkatkan kemampuan untuk melakukan sitoaderen ke sel endotel (Wahlgren dkk, 1989; Al-Yaman dkk, 1995)¹⁻⁴ dan meningkatkan sekuesterisasi di mikrovaskuler (Wahlgren dkk, 1990)³.

Suatu hasil penelitian membuktikan bahwa keberadaan eritrosit berparasit yang menempel ke sel endotel dan membentuk formasi roset (K+R+) menyebabkan tahanan perifer dan obstruksi aliran darah secara nyata lebih tinggi dibandingkan eritrosit berparasit yang hanya menempel di sel endotel saja namun tidak membentuk formasi roset (K+R-) (Kaul dkk, 1991; Helmbly dkk, 1993)¹⁸⁻¹⁹. Hal ini terjadi karena formasi roset tersebut bersama sitoaderen ke sel endotel menimbulkan pembentukan agregat besar di kapiler venosa, terutama di daerah persimpangan (Kaul dkk, 1991)¹⁸.

Kesimpulan

Dengan mempertimbangkan bahwa semua strain *Plasmodium falciparum* mampu menyebabkan terbentuknya formasi roset eritrosit, maka masih diperlukan banyak informasi mengenai formasi roset ini baik mengenai situs sekuesterisasi, identitas reseptor, lingkungan hemodinamik vaskuler in vivo yang mendukung pemetaan domain molekul yang terlibat

dalam pembentukan formasi roset untuk memastikan peranan formasi roset dalam patogenesis malaria berat.

Daftar Acuan

1. Wahlgren M, Carlson J, Udomsangpetch J, Perlmann P. Why do Plasmodium falciparum-infected erythrocytes form spontaneous erythrocyte rosettes? *Parasitol Today* 1989; 5: 183-185.
2. Reeder JC, Roerson SJ, Al – Yaman F, Andres RF, Coppel RL, Novakovic S, et al. Diversity of agglutinating phenotype, cytoadherence and rosette-forming characteristics of Plasmodium falciparum isolates from Papua New Guinean children. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 51: 45-55.
3. Wahlgren M, Carlson J, Ruangjirachuporn W, Conway D, Helmbly H, Martinez A, et al. Geographical distribution of Plasmodium falciparum erythrocyte rosetting and frequency of rosetting antibodies in human sera. *Am J Trop Med Hyg* 1990; 43: 333-338.
4. Al-Yaman F, Gento B, Mokela D, Raiko A, Kati S, Rogerson S, et al. Human cerebral malaria : Lack of significant association between erythrocyte rosetting and disease severity. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1995; 89: 55-58.
5. Chulay JD, Ockenhouse CF. Host receptors for malaria infected erythrocyte. *Am J Trop Med Hyg*, 1990; 43 suppl: 6-14.
6. Howard RJ, Handunetti SM, Hasler T, Gilladoga A, deAguiar JC, Pasloske BL, et al. Surface molecule on Plasmodium falciparum-infected erythrocytes involved in adherence. *Am J Trop Med Hyg* 1990; 43 suppl: 15-29.
7. Chaiyaroj CJ, Angkasekwinai P, Buranakiti A, Looareesuwan S, Rogerson SJ, Brown GV. Cytoadherence characteristics of Plasmodium falciparum isolates from Thailand : Evidence for chondroitin sulfate A as a cytoadherence receptor. *Am J Trop Med Hyg* 1996; 55: 76-80.
8. Cooke BM, Wahlgren M, Coppel RL. Falciparum malaria : Sticking up, standing out and out standing. *Parasitol Today* 2000; 16: 416-420.
9. Udomsangpetch R, Wahlin B, Carlson J, Berzins K, Torii M, Aikawa M, et al. Plasmodium falciparum-infected erythrocytes from spontaneous erythrocyte rosettes. *J Exp Med* 1989; 169: 1835-1840.
10. Carlson J, Holmquist G, Taylor DW, Perlmann P, Wahlgren M. Antibodies to a histidine-rich protein (PfHRP1) disrupt spontaneously formed Plasmodium falciparum erythrocyte rosettes. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87: 2511-2515.
11. Kawai S, Kano S, Suzuki M. Rosette formation by Plasmodium coatneyi-infected erythrocytes of the Japanese macaque (Macaca fuscata). *Am J Trop Med Hyg* 1995; 53: 295-299.

12. Duffy PE, Craig AG, Baruch DI. Variant proteins on the surface of malaria infected erythrocytes - developing vaccines. *Trends in Parasitol* 2001; 17: 354-356.
13. Bellamy R, Kwiatkowski D, Hill AVS. Absence of association between intercellular adhesion molecule 1, complement receptor 1 and interleukin receptor antagonist gene polymorphism and severe malaria in West African population. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1998; 92: 321-316.
14. David PH, Handunnetti SM, Leech JM, Gamage P, Mendis KM. Rosetting : A new cytoadherence property of malaria- infected erythrocytes. *A. J Trop Med Hyg* 1988; 32: 289-297.
15. Holt EH, Nicholes ME, Etzion Z, Perkins ME. Erythrocyte invasion by two Plasmodium falciparum isolates differing in sialic acid dependency in the presence of glycophorin a antibodies. *Am J Trop Med Hyg* 1989; 40: 246-251.
16. Handunnetti SM, David PH, Perera KLRL, Mendis KN. Uninfected erythrocytes from "rosettes" around Plasmodium falciparum infected erythrocyte. *Am J Trop Med Hyg* 1989; 40: 115-118.
17. Udomsangpetch R, Webster HK, Pattanapanyasat K, Pitchayangkul S, Thaitong S. Cytoadherence characteristics of rosette-forming Plasmodium falciparum. *Infect Immun* 1992; 60: 4483-4490.
18. Kaul DK, Roth Jr EF, Nagel RL, Howard RJ, Handunnetti SM. Rosetting of Plasmodium falciparum-infected erythrocyte red blood cells with uninfected red blood cells enhances microvascular obstruction under flow condition. *Blood* 1991; 78: 812-819.
19. Helmbj H, Cavelier L, Petersson U, Wahlgren M. Rosetting Plasmodium falciparum infected erythrocyte express unique strain-specific antigen on their surface. *Infect Immun* 1993; 61: 284-288.