

Merozoite Surface Protein-1 (MSP-1) dan Merozoite Surface Protein-2 (MSP-2) Plasmodium falciparum sebagai Kandidat Vaksin Malaria

Rini Nindela

Bagian Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang, 30126, Indonesia

E-mail: nindelani@gmail.com

Abstrak

Plasmodium falciparum—parasit malaria—menginfeksi miliaran dan membunuh jutaan orang setiap tahun. Rangkaian usaha pengendalian malaria; kelambu berinsektisida, *indoor residual spraying*, dan kemoterapi dibayangi oleh ancaman resistensi. Karenanya, vaksin malaria yang efektif sangat dibutuhkan. Pengembangan vaksin dihambat oleh kompleksitas parasit dengan ribuan antigen berbeda yang diekspresikan di masing-masing tahap dalam siklus hidupnya. Bagaimanapun, penelitian selama beberapa dekade tidaklah sia-sia. RTS,S, vaksin stadium pre-eritrositik, mungkin akan menjadi vaksin pertama yang mendapat lisensi, terlepas dari efikasinya yang hanya sekitar 30-50%. Antigen-antigen pada stadium lainnya juga diteliti sebagai kandidat vaksin, termasuk *Merozoite Surface Protein/MSP-1* dan *MSP-2*, yang terbukti menginduksi respon imun yang protektif terhadap malaria, baik secara alamiah maupun eksperimental. Namun, keragaman genetik menjadi penghalang dalam pengembangan vaksin berbasis kedua antigen ini. Pemahaman yang menyeluruh tentang struktur *MSP-1* dan *MSP-2 P. falciparum* serta mekanisme imun hospes terhadap keduanya akan memandu kepada tersedianya vaksin *MSP-1* dan *MSP-2* dengan efikasi yang optimal.

Kata kunci: *MSP-1*; *MSP-2*; vaksin malaria

Abstract

Plasmodium falciparum—malaria parasite—infests billion and kills million people yearly. Malaria control interventions, such as insecticide-treated bed nets, *indoor residual spraying* and chemotherapy, are haunted by threat of resistance. Therefore, effective malaria vaccine is critically needed. Vaccine development is hampered by complexity of the parasite with thousands of antigens expressed at different stages of its life-cycle. Nevertheless, decades of research is not useless. RTS,S, a pre-erythrocytic vaccine, may become the first licensed malaria vaccine, despite only having about 30-50% efficacy. Antigens of other stages are also studied as vaccine candidates, include *Merozoite Surface Protein/MSP-1* and *MSP-2*, which are proven to induce protective immune response to malaria, naturally and experimentally. However, genetic diversity presents a major hurdle for the development of *MSP-1* and *MSP-2* vaccine. A comprehensive understanding of the structure of *MSP-1* and *MSP-2 P. falciparum* and mechanisms of host immunity towards both antigens may lead to availability of *MSP-1* and *MSP-2* vaccine with optimal efficacy.

Keywords: *MSP-1*, *MSP-2*, malaria vaccine

1. Pendahuluan

Malaria yang disebabkan oleh *Plasmodium falciparum* hingga kini tetap menjadi ancaman kesehatan yang utama, khususnya bagi anak-anak dan ibu hamil di daerah endemis.¹ *World Health Organization* (WHO) melaporkan sebanyak 149-274 juta kasus malaria dan 537.000-907.000 kematian akibat malaria terjadi pada tahun 2010.² Sebagian besar dari kasus kematian akibat malaria menimpa anak-anak berusia kurang dari 5 tahun

yang hidup di daerah sub-Sahara Afrika; setiap 30 detik, satu anak Afrika meninggal dunia.³ Malaria merupakan penyakit endemis di 105 negara di dunia dan Indonesia termasuk di dalamnya dengan 60% penduduk yang tinggal di daerah endemis.⁴

Serangkaian upaya pengendalian malaria sesuai rekomendasi WHO telah dilakukan secara luas, meliputi pencegahan dengan *Long-Lasting Insecticidal Nets* (LLIN), kontrol vektor dengan *Indoor Residual*

Spraying (IRS), dan pengobatan dengan *Artemisinin-based Combination Therapy* (ACT).^{1,5} Namun, berbagai program ini menghadapi rintangan-rintangan, antara lain penyebaran dan peningkatan jumlah parasit yang resisten terhadap obat antimalaria serta vektor yang resisten terhadap insektisida.¹ Oleh karena itu, keberadaan vaksin malaria yang efektif mutlak diperlukan dalam rangkaian strategi pengendalian malaria, di samping upaya yang sudah ada.^{1,6}

Pengembangan vaksin malaria telah berlangsung selama lebih dari enam dekade, tetapi sampai sekarang belum ada vaksin yang mendapat lisensi.⁷ Hambatan-hambatan dalam proses pengembangan ini di antaranya: (i) siklus hidup yang kompleks dengan ribuan antigen yang diekspresikan di masing-masing stadium (ii) kompleksitas parasit yang membuatnya mampu menghindari dari sistem imun (iii) pemahaman akan interaksi antara parasit dan mekanisme imunitas manusia yang minimal.^{1,8} Saat ini sejumlah kandidat vaksin sedang berada dalam berbagai fase uji klinik, salah satunya adalah RTS,S yang sedang diujicobakan dalam uji klinik fase III di tujuh negara Afrika. RTS,S merupakan kandidat vaksin malaria pertama yang berhasil mencapai kemajuan sejauh ini.^{7,9}

Meskipun RTS,S nampaknya dapat memenuhi harapan menurunnya angka kesakitan dan kematian akibat malaria melebihi kandidat vaksin lainnya, vaksin inipun belum dapat memberikan proteksi sempurna. Pada uji klinik fase sebelumnya RTS,S menunjukkan efikasi sebesar 30-50%.^{1,7} Oleh sebab itu, penelitian terhadap kandidat vaksin lainnya tetap tidak dapat dikesampingkan. *Merozoite Surface Protein-1* (MSP-1) dan *Merozoite Surface Protein-2* (MSP-2) merupakan dua di antara kandidat vaksin malaria yang sedang dikembangkan.^{1,6,7} Berbeda dengan RTS,S yang berbasis protein pada fase pre-eritrositik yaitu *Circumsporozoite Protein* (CSP), MSP-1 dan MSP-2 merupakan antigen pada fase eritrositik.^{1,6,7} Tinjauan berikut akan membahas siklus hidup parasit malaria dan mekanisme imun terhadap infeksi malaria, serta perkembangan vaksin malaria dengan penekanan utama pada kandidat vaksin MSP-1 dan MSP-2.

2. Pembahasan

Siklus hidup *P. falciparum*. Siklus hidup parasit malaria terdiri dari tahap-tahap yang berbeda secara morfologik dan antigenik.¹⁰ Nyamuk *Anopheles* betina membutuhkan darah untuk memproduksi telur dan selagi menghisap darah, nyamuk yang mengandung *P. falciparum* akan menginjektikan lima hingga 20 sporozoit ke kulit atau langsung ke dalam aliran darah.^{1,8} Sporozoit kemudian bermigrasi ke hati dan memasuki hepatosit, lalu memulai aktifitas mitosis dan pembelahan nuklear untuk membentuk skizon. Sporozoit dan stadium hati inilah yang termasuk dalam

fase pre-eritrositik. Pada fase ini belum timbul gejala klinis. Skizon akan pecah 9-16 hari kemudian, melepaskan 20.000-30.000 merozoit untuk setiap sporozoit ke dalam sirkulasi hepatic yang kemudian akan menyebar secara sistemik. Setiap merozoit yang lolos dari sel fagositik sistem imun akan memasuki eritrosit.^{1,6,10}

Di dalam eritrosit, parasit tersebut berkembang dari stadium trophozoit hingga skizon. Skizon yang sudah matang terdiri dari 8-24 merozoit sebagai hasil dari pembelahan mitotik dan akan mengisi 2/3 eritrosit. Di dalam skizon, merozoit melakukan metabolisme aktif termasuk menelan sitoplasma eritrosit hospes dan menghancurkan hemoglobin menjadi asam amino. Selanjutnya eritrosit yang terinfeksi pecah dan merozoit yang keluar akan menginfeksi eritrosit lainnya. Tahap ini disebut siklus eritrositik, yang berlangsung selama kurang dari 48 jam pada *P. falciparum*. Satu merozoit hati yang berhasil menginvasi eritrosit dapat bermultiplikasi menjadi 20 kali lipat pada akhir setiap siklus sehingga dalam seminggu dapat terbentuk 10⁸ parasit per mililiter darah pada orang yang nonimun. Demam paroksismal yang menjadi gejala khas malaria terjadi ketika eritrosit yang terinfeksi pecah dan mengeluarkan merozoit beserta molekul yang terikat padanya seperti *glycosylphosphatidylinositol* (GPI) yang dapat menstimulasi produksi sitokin proinflamasi oleh hospes.^{1,6,10,11}

Setelah 2 sampai 3 siklus eritrositik (3-15 hari), sebagian kecil merozoit akan membentuk stadium seksual yaitu gametosit jantan dan betina. Apabila nyamuk *Anopheles* betina menghisap darah manusia yang mengandung parasit malaria, merozoit akan dicerna bersama dengan eritrosit tapi gametosit tidak. Di dalam lambung (*midgut*) nyamuk, gamet jantan dan betina melakukan pembuahan membentuk zigot, satu-satunya fase dimana parasit berbentuk diploid selama hidupnya. Kurang lebih 24 jam kemudian zigot berkembang menjadi ookinet, lalu menembus epitel lambung nyamuk menuju hemolimfa. Di sana ookinet akan berkembang menjadi ookista, satu-satunya fase dimana parasit bereplikasi secara ekstraseluler, dan membentuk ribuan sporozoit. Setelah ookista ruptur, sporozoit akan bermigrasi menuju saluran kelenjar ludah dan siap ditularkan ke manusia.^{1,6,10,11}

Imunitas terhadap infeksi *P. falciparum*. Imunitas adaptif alamiah terhadap malaria membutuhkan paparan selama 10-15 tahun untuk berkembang.¹² Di daerah endemis seperti Afrika, anak-anak terserang malaria berat—seringkali mengancam nyawa—pertama kali pada tahun-tahun pertama kehidupan. Anak-anak yang lebih besar dan remaja telah membentuk imunitas terhadap malaria berat, tetapi masih mengalami malaria ringan. Sebaliknya, orang dewasa umumnya tidak lagi menunjukkan gejala klinis, demam hanya muncul

sesekali, tetapi dalam darahnya tetap terdeteksi parasit bila menggunakan metode dengan sensitifitas tinggi seperti *Polymerase Chain Reaction* (PCR).^{1,5,6,10} Dengan kata lain, meskipun mendapat paparan parasit malaria yang berulang-ulang seumur hidup, imunitas yang terbentuk bersifat nonsteril, serta spesifik-spesies, -stadium, -strain, dan -varian.^{5,6,12} Imunitas yang spesifik-stadium dapat terbentuk karena pada setiap tahap dalam siklus hidupnya *Plasmodium* mengekspresikan antigen-antigen dengan struktur yang berbeda-beda.¹⁰ Di antara 5300 antigen yang dikode oleh *P. falciparum* belum diketahui antigen manakah tepatnya yang menjadi target utama respon imun, meskipun beberapa bukti mengarah pada sekitar 20 antigen.^{1,6,10}

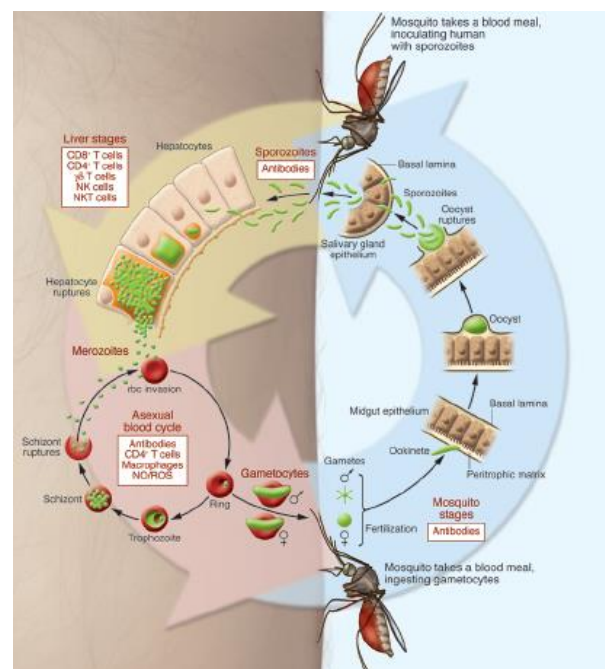
Respon imun hospes terhadap *Plasmodium* sangat kompleks, melibatkan imunitas *innate* dan adaptif. Pada imunitas *innate* yang memegang peranan antara lain *Dendritic Cell* (DC), *Natural Killer* (NK) cells, *Natural Killer T* (NKT) cells, dan makrofag. Makrofag dan DC berperan sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC) dengan menelan hepatosit terinfeksi yang telah mengalami apoptosis atau melalui presentasi-silang antigen sporozoit. Sisa-sisa parasit akan dipresentasikan di permukaan APC sebagai molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC), yang kemudian akan dikenali dan diikat oleh sel T CD8⁺ dan CD4⁺ hingga keduanya menjadi aktif.^{8,12}

Pembentukan imunitas adaptif alamiah terhadap malaria membutuhkan baik sel T maupun antibodi. Respon sel T khususnya efektif terhadap parasit pada stadium hepatis, tetapi sel T juga berperan penting dalam respon antibodi yang optimal.^{6,8,10} Selama pengaktifan sel T berlangsung, kaskade sitokin yang melibatkan *Interleukin-12* (IL-12), *Interferon-γ* (IFN-γ) dan *Tumor Necrosis Factor-α* (TNF-α) terpicu, lalu menginduksi pembunuhan parasit intraseluler melalui produksi *nitric oxide* atau melalui mekanisme *Cell-mediated Immunity* (CMI). Meskipun demikian, respon ini memerlukan kontrol yang ketat untuk mencegah inflamasi berlebihan yang akan berpengaruh pada beratnya penyakit. Sitokin anti-inflamasi seperti IL-10 diproduksi untuk menghambat sintesis sitokin pro-inflamasi.^{8,12}

Di sisi lain, antibodi merupakan mekanisme imunitas utama terhadap parasit stadium darah.^{1,8} Antibodi berperan menghambat invasi sporozoit ke dalam hepatosit dan merozoit ke dalam eritrosit.^{8,10} Selain itu, antibodi yang spesifik terhadap antigen pada permukaan merozoit atau *parasitized RBC* (pRBC) akan memfasilitasi pembasmian parasit melalui opsonisasi, yang kemudian akan menginduksi aktifitas fagositosis oleh monosit atau makrofag (*Antibody-dependent Cellular Inhibition/ADCI*)^{8,12} atau memulai penghancuran yang diperantarai oleh komplemen.¹² Antibodi juga dapat mencegah atau melepaskan adhesi

pRBC pada reseptor endotelial^{1,10} serta menetralkan molekul proinflamasi yang berasal dari parasit, misalnya GPI.¹ Antibodi manusia yang terpenting dalam pertahanan terhadap *P. falciparum* adalah antibodi sitofilik dari subkelas IgG1 dan IgG3.^{1,12}

Seperti yang telah diketahui, mortalitas akibat malaria sebagian besar dialami oleh anak-anak di bawah umur 5 tahun. Penyebabnya adalah sistem imun belum berkembang sempurna; monosit dan makrofag yang kurang responsif, rasio sitokin Th1/Th2 yang rendah, dan sel T yang lebih rentan terhadap apoptosis.¹³ Meskipun demikian, anak-anak di daerah endemis umumnya resisten terhadap malaria berat hingga usia 4 bulan. Proteksi ini diduga berhubungan dengan antibodi maternal yang didapat *in utero*, serta faktor penghambat pertumbuhan parasit seperti laktoferin dan IgA sekretorik yang ditemukan dalam ASI dan serum bayi.¹⁴ Populasi yang juga berisiko tinggi mengalami malaria berat adalah wanita hamil. Kerentanan ini diduga berhubungan dengan gangguan imunitas seluler akibat immunosupresi hormonal dan akumulasi pRBC di dalam plasenta melalui mekanisme *cytoadherence*.¹⁴



Gambar 1. Siklus hidup *P. falciparum* dan mekanisme imun pada tiap-tiap stadium¹

Vaksin malaria. Pengembangan vaksin malaria telah menempuh perjalanan panjang. Studi pada tahun 1942 melaporkan keberhasilan menginduksi respon imun humoral dan seluler pada imunisasi hewan dengan sporozoit yang telah diinaktivasi.⁷ Pada tahun 1960an dilakukan transfer pasif IgG dari orang dewasa yang imun ke anak-anak dan hasilnya adalah penurunan parasitemia secara drastis. Imunisasi melawan dengan

Radiation-attenuated Sporozoites (RAS) melalui gigitan nyamuk pada tahun 1973 dapat menginduksi proteksi yang steril.^{5,6,13} Meskipun demikian, hingga saat ini vaksin yang berlisensi belum tersedia.⁷

Proyek pengembangan vaksin malaria diklasifikasikan berdasarkan stadium dalam siklus hidup parasit yang menjadi target vaksinasi. Vaksin pre-eritrositik—salah satunya adalah RTS,S—seperti penjelasan sebelumnya, telah mencapai tahap yang lebih maju dibandingkan dengan kelompok vaksin lainnya. Sesungguhnya, tidak ada konsensus atau bukti yang meyakinkan bahwa terbentuk imunitas adaptif alamiah terhadap stadium ini.^{1,5} Di daerah endemik, parasit stadium darah tetap terdeteksi pada individu dewasa yang imun secara klinis. Dengan demikian, vaksin pre-eritrositik justru menginduksi imunitas “nonalamiah” yang mungkin lebih efektif dari imunitas alamiah. Antigen yang menjadi kandidat vaksin ini merupakan target dari antibodi yang mencegah sporozoit menginvasi hepatosit, atau target dari respon imun seluler yang membunuh hepatosit yang terinfeksi.⁵

RTS,S merupakan protein rekombinan berbasis CSP yang diekspresikan oleh *P. falciparum* selama tahap sporozoit dan awal stadium hati. Protein ini terlibat dalam adhesi dan invasi sporozoit ke dalam hepatosit. Antibodi terhadap CSP terbukti menghambat invasi parasit dan berhubungan dengan penurunan risiko malaria klinis.^{5,7} RTS,S menginduksi proteksi terhadap malaria dengan menurunkan jumlah hepatosit yang terinfeksi sehingga jumlah merozoit yang keluar dari hati dan masuk ke aliran darah berkurang. Dengan demikian, imunitas pada stadium darah memiliki lebih banyak waktu untuk berkembang sebelum ambang demam tercapai. Analisis imunologik menunjukkan bahwa proteksi ini berhubungan terutama dengan titer IgG spesifik-CSP yang tinggi, ditambah dengan respon sel T CD⁴⁺ yang menengah,^{1,5} sedangkan respon sel T CD⁸⁺ rendah atau tidak ada sama sekali.⁵

Efikasi RTS,S/AS01 (AS01 merupakan komponen adjuvan dalam vaksin) pada bayi berusia 6-12 minggu dan durasi proteksinya sedang diteliti dan ditargetkan selesai pada tahun 2014.⁹ Pada uji klinik sebelumnya vaksin ini menunjukkan efikasi yang bervariasi; 51% pada fase II serta 55% (*follow up* setelah 12 bulan) dan 35% (*follow up* hingga 22 bulan) pada fase III.⁵ Sebagai respon atas terbatasnya efikasi RTS,S, pendekatan lain terhadap fase pre-eritrositik dilakukan dengan beberapa cara antara lain injeksi sporozoit *P. falciparum* utuh yang aktif secara metabolik namun bersifat *non-replicating*, serta inokulasi parasit yang telah dilemahkan secara genetik.^{5,7} Strategi lainnya adalah penggunaan beberapa antigen pre-eritrositik dalam satu vaksin atau sekuens DNA yang meliputi beberapa epitop dari antigen-antigen pre-eritrositik, dengan tujuan untuk memicu respon imun yang lebih luas.⁵

Antigen pada gamet, zigot atau ookinet, dan antibodi yang ikut tertelan oleh nyamuk sewaktu menghisap darah adalah target dari vaksin stadium seksual.^{1,5} Vaksin ini bertujuan menghambat siklus hidup pada nyamuk *Anopheles* sehingga efikasinya perlu diukur dengan penurunan level transmisi malaria di komunitas.⁵ Target jangka panjangnya adalah eliminasi dan eradikasi malaria. Vaksin berbasis antigen ookinet *P. falciparum* Pfs25 sedang menjalani uji klinik fase I,^{5,7} sedangkan protein gamet Pfs48/45 dan Pfs230 saat ini sedang diteliti pada hewan percobaan.¹

Saat ini beberapa antigen stadium darah sedang dikembangkan sebagai vaksin, antara lain *Apical Membrane Antigen-1* (AMA-1), *Erythrocyte-binding Antigen-175* (EBA-175), MSP1, MSP2, MSP3, *Glutamate-rich Protein* (Glurp), dan *Serine-repeat Antigen-5* (SERA-5).¹ Vaksin ini umumnya bekerja dengan menginduksi antibodi yang mengganggu pertumbuhan parasit.⁷

Merozoite Surface Protein-1 (MSP-1). MSP-1 merupakan protein permukaan merozoit yang paling banyak jumlahnya.¹⁵ Konformasi MSP-1 distabilkan oleh ikatan disulfida intramolekular yang penting untuk menginduksi respon antibodi.¹⁶

Peran penting MSP-1 dalam patogenesis malaria didukung oleh hasil penelitian yang menunjukkan bahwa orang yang secara alamiah terinfeksi *P. falciparum* akan membentuk antibodi untuk melawan MSP-1. Antibodi terhadap MSP-1 yang didapat secara alamiah terbukti berhubungan dengan menurunnya risiko terjadinya malaria klinis berat.¹⁷ Dalam beberapa penelitian, baik MSP-1 yang dipurifikasi maupun fragmen protein rekombinan juga telah terbukti menginduksi respon pertahanan terhadap parasit malaria.¹⁸ Antibodi monoklonal terhadap MSP-1 dapat menghambat invasi merozoit secara *in vitro*.^{17,19}

MSP-1 adalah protein yang berperan penting dalam proses invasi eritrosit dengan membentuk ikatan awal dari merozoit ke eritrosit berupa serabut fibril.²⁰ Protein ini merupakan kelompok dari protein-protein yang serupa secara struktur, dengan mobilitas relatif pada elektroforesis sebesar 195 kDa.^{19,21} Protein ini juga membentuk kompleks dengan protein membran perifer lainnya yaitu MSP-3, MSP-6 dan MSP-7.^{15,16} MSP-1 terbukti berikatan langsung dengan reseptor *Band 3* pada permukaan eritrosit.¹⁵

MSP-1 disintesis di dalam skizon. Pada akhir fase skizogoni protein ini dibelah oleh *P. falciparum subtilisin-1* (PfsUB1) menjadi 4 polipeptida dengan ukuran 83 kDa (terminal N), 28-30 dan 38 kDa (regio sentral) dan 42 kDa (terminal C). Meskipun terbelah melalui proteolisis, fragmen-fragmen ini tetap terhubung bersama-sama melalui ikatan nonkovalen dan

terikat ke plasma membran melalui GPI terminal C yang berlokasi di fragmen 42-kDa (MSP-1₄₂).^{19,20,22}

Pada tahap terakhir invasi eritrosit MSP-1₄₂ mengalami peristiwa pembelahan kedua yang diperantarai oleh *P. falciparum* *subtilisin-2* (PfSUB2) dan menghasilkan MSP-1₁₉ dan terminal-C MSP-1₃₃. Setelah pembelahan ini sebagian besar kompleks fragmen MSP-1 tercerai berai. Proses ini sering dikaitkan dengan lepasnya lapisan permukaan (*coat*) merozoit selama invasi eritrosit. Meskipun demikian, MSP-1₁₉ tetap terikat ke merozoit karena ikatan GPI dan dibawa masuk ke dalam eritrosit.^{19,20,22,23} Peran MSP-1₁₉ dalam perkembangan parasit intra-eritrosit masih belum jelas, meskipun MSP-1₁₉ adalah penanda untuk pembentukan vakuola makanan yang bertahan hingga akhir siklus eritrositer.²²

Imunisasi dengan MSP-1₃₃ terbukti menginduksi sel T CD8⁺ dan sel T *helper* CD4⁺. Sel T CD4⁺ yang spesifik terhadap MSP-1₃₃ memegang peranan dalam membantu pembentukan (*priming*) sel B yang spesifik MSP-1₁₉ pada proteksi terhadap malaria murin yang diinduksi vaksin. Deplesi sel T CD4⁺ terbukti menurunkan proteksi terhadap *P. yoelli*.^{23,24} Sejalan dengan penemuan bahwa MSP-1 juga diekspresikan pada fase eksoeritrositer lanjut, sel T CD8⁺ yang spesifik terhadap MSP-1₃₃ terbukti bersifat protektif terhadap *P. yoelli* pada fase pre-eritrosit.²⁴

MSP-1₁₉ tersusun dari dua *epidermal growth factor/EGF-like domains*^{19,25} yang tersusun rapat sebelah menyebelahan, masing-masing mengandung enam residu *cysteine*.²⁶ Domain EGF ini menunjukkan adanya interaksi protein dengan protein. Domain ini tampaknya memiliki fungsi penting pada invasi eritrosit dan memicu timbulnya respon imun.²¹ Respon imun terhadap MSP-1₁₉ sebagian besar tergantung pada antibodi, titer antibodi yang tinggi penting untuk proteksi.¹⁹ Antibodi alamiah terhadap MSP-1₁₉ dapat menghambat invasi merozoit ke eritrosit dengan mencegah terjadinya proses pembelahan kedua^{22,25} melalui mekanisme ADCI.²⁴ Selain itu, IgG yang spesifik MSP-1₁₉ dibawa masuk oleh merozoit ke dalam eritrosit dan antibodi ini menghambat perkembangan parasit intraseluler, mungkin dengan cara mengganggu pembentukan vakuola makanan.²² Beberapa studi melaporkan bahwa respon sel T terhadap MSP-1₁₉ pada individu yang terespos malaria kurang, mungkin karena strukturnya yang kompleks dan resistensinya terhadap protease. Struktur globuler MSP-1₁₉ yang distabilkan oleh enam ikatan disulfida¹⁶ menjadikannya sulit untuk diproses dan dipresentasikan oleh molekul MHC kelas II.²³

MSP-1 dilaporkan dapat memicu respon tiga tipe antibodi yang akan berikatan dengan MSP-1₄₂ yaitu a) *inhibitory antibodies*, yang menghambat pembelahan MSP-1₄₂ sehingga invasi ke eritrosit ikut terhambat; b)

blocking antibodies, yang memiliki spesifisitas yang tumpang tindih dengan *inhibitory antibodies* dalam berikatan dengan antigen, menyebabkan proteolisis dan invasi tetap terjadi meskipun ada *inhibitory antibodies*;^{16,23} dan c) *neutral antibodies* yang tidak menghambat maupun menghalangi. Dengan demikian, desain vaksin berbasis MSP-1 yang rasional haruslah memiliki preferensi untuk menginduksi *inhibitory antibodies*.²³

AdCh63/MVA MSP1 adalah salah satu produk vaksin berbasis MSP-1 yang sedang berada dalam uji klinik fase II.^{1,5} Fase I melaporkan vaksin ini menginduksi sel T CD4/CD8 dalam jumlah yang sangat banyak, ditambah dengan induksi IgG.⁵ Selain itu, vaksin berbasis MSP-1 lainnya yaitu FMP010/AS01B juga telah menyelesaikan uji klinik fase Ib di Kenya.¹ Vaksin MSP1-C1 dilaporkan aman dan imunogenik setelah menyelesaikan uji klinik fase I.¹

Salah satu hambatan utama dalam pengembangan MSP-1 sebagai vaksin malaria adalah variasi genetik yang menyebabkan parasit mampu menghindari dari respon imun yang diinduksi oleh infeksi sebelumnya.^{27,28} Modifikasi genetik dapat memicu terjadinya perubahan konformasional pada struktur polipeptida yang menghasilkan pengurangan situs reaktif pada protein permukaan dan perbedaan tampilan situs tersebut terhadap sistem imun.²⁸ Keragaman antigen permukaan malaria yang sangat tinggi adalah salah satu alasan utama mengapa imunitas klinik berkembang hanya setelah infeksi berulang-ulang oleh spesies yang sama selama bertahun-tahun.¹⁰ Antibodi anti-MSP-1 berhubungan dengan penurunan risiko malaria klinis dalam mekanisme yang spesifik-alel. Salah satu proyek vaksin, FMP001/AS02A yang berbasis alel 3D7, dihentikan karena tidak menunjukkan efikasi yang cukup pada uji klinik fase II. Vaksin yang mengandung banyak alel mungkin diperlukan untuk menghasilkan respon imun adekuat yang mencakup *strain* yang luas.⁵

Merozoite Surface Protein-2 (MSP-2). MSP-2 adalah antigen lainnya yang juga sedang dikembangkan sebagai komponen potensial vaksin malaria.¹⁶ Studi kohort yang dilakukan di Kenya menunjukkan bahwa tingginya kadar IgG alamiah terhadap MSP-2 berkorelasi kuat dengan proteksi terhadap malaria klinis.²⁹ Sebagian besar individu yang tinggal di daerah dengan transmisi *P. falciparum* yang intens memiliki titer antibodi anti-MSP2 yang tinggi sebagai respon terhadap infeksi berulang.³⁰

MSP-2 merupakan sebuah protein kecil (28-30 kDa) yang, seperti MSP-1, juga diikat ke membran plasma merozoit oleh GPI terminal C.^{30,31} Meskipun demikian, berbeda dari MSP-1, MSP-2 mengalami kekurangan lipatan globuler (*globular fold*) yang distabilkan oleh ikatan disulfida intramolekuler.¹⁶ Analisis fisikokimia

menunjukkan bahwa MSP-2 merupakan *intrinsically unstructured protein* (IUP) dan memiliki kecenderungan untuk membentuk serabut fibril yang mirip amiloid.^{16,31} Mekanisme yang mendasari proteksi belum banyak diketahui. Meskipun beberapa penelitian melaporkan bahwa antibodi terhadap MSP-2 memiliki aktivitas *growth inhibition assay* (GIA), terdapat penelitian lain yang melaporkan sebaliknya, bahwa antibodi poliklonal kelinci dan manusia terhadap MSP-2 tidak memiliki aktivitas inhibisi yang signifikan. Pada penelitian tersebut antibodi monoklonal juga tidak dapat menghambat invasi merozoit ke eritrosit atau menghambat pertumbuhan parasit intraseluler secara langsung.¹⁶ Diduga antibodi terhadap MSP-2 menghambat perkembangan parasit dengan diperantarai oleh monosit yang diaktivasi oleh interaksi antibodi-reseptor Fc dalam proses ADCI. Dugaan ini didukung oleh studi *in vitro* yang menunjukkan bahwa antibodi manusia terhadap MSP-2 memiliki aktivitas fungsional pada ADCI *assay*.^{16,30} Studi lainnya menunjukkan bahwa proteksi terhadap MSP-2 dimediasi oleh antibodi terutama dari subkelas IgG3.^{29,30}

Seperti pada MSP-1, variasi genetik MSP-2 menjadi tantangan besar dalam pengembangan vaksin berbasis antigen ini. Uji klinik fase I/IIb vaksin Combination B yang mengandung MSP-2 alel 3D7 menunjukkan penurunan densitas parasit sebesar 62%. Analisis molekuler juga menunjukkan penurunan prevalensi infeksi oleh parasit alel 3D7. Meskipun demikian, setelah fase *follow up* selama 12 bulan terjadi peningkatan insiden morbiditas yang berhubungan dengan *P. falciparum* alel FC27.³² Belajar dari pengalaman sebelumnya, peneliti kemudian menyusun vaksin baru yaitu MSP2-C1 yang mengandung MSP-2 jenis 3D7 dan FC27. Pada uji klinik fase Ia terbukti bahwa MSP2-C1 menginduksi respon humoral dan seluler yang signifikan^{5,30} dan peningkatan dosis antigen menyebabkan terjadinya peningkatan titer antibodi.³⁰ Namun, pada penelitian ini terjadi reaktogenisitas di lokasi injeksi vaksin dan masalah pada stabilitas vaksin sehingga uji klinisnya dihentikan.⁵ Modifikasi ajuvan perlu dilakukan sebelum uji klinik dilanjutkan ke fase berikutnya.³⁰

3. Kesimpulan

Terlepas dari segala upaya pengendalian yang telah dilakukan, angka kesakitan dan kematian akibat malaria *falciparum* tetap tinggi. Oleh karena itu, keberadaan vaksin malaria yang efektif sangat dibutuhkan. Pengembangan vaksin malaria sesungguhnya telah mengalami kemajuan pesat selama dekade terakhir, terbukti dari keberhasilan vaksin RTS,S mencapai uji klinik fase III, sehingga berpotensi untuk menjadi vaksin pertama yang mendapat lisensi. Meskipun demikian, efikasi RTS,S yang tidak lebih dari 50% membuat usaha pengembangan vaksin malaria tidak

berhenti sampai disini. Antigen-antigen lain yang diekspresikan *P. falciparum* di tiap stadium dalam siklus hidupnya juga menjadi kandidat vaksin, termasuk MSP-1 dan MSP-2 yang merupakan antigen stadium eritrositik. Antibodi alamiah terhadap kedua antigen ini berhubungan dengan proteksi terhadap malaria klinis. Keragaman genetik menjadi hambatan utama dalam pengembangan vaksin berbasis MSP-1 dan MSP-2. Pemahaman akan struktur kedua protein ini serta respon imun yang ditimbulkannya akan membuat peluang tersedianya vaksin MSP-1 dan MSP-2 dengan efikasi yang optimal semakin besar.

Daftar Acuan

1. Crompton PD, Pierce SK, Miller LH. Advances and Challenges in Malaria Vaccine Development. *J Clin Invest* 2012; 129(12): 4168-4178.
2. WHO. World Malaria Report. Geneva: *World Health Organization*, 2011.
3. WHO. Malaria-A Global Crisis. Geneva: *World Health Organization*, 2000.
4. WHO. Guidelines for the Treatment of Malaria. Geneva: *World Health Organization*, 2006.
5. Schwartz L, Brown GV, Genton B, Moorthy VS. A Review of Malaria Vaccine Clinical Projects Based on The WHO Rainbow Table. *Malar J* 2012; 11: 11.
6. Moorthy VS, Good MF, Hill AVS. Malaria Vaccine Development. *The Lancet* 2004; 363: 150-156.
7. Hill AVS. Vaccines against Malaria *Phil Trans R Soc Biol Sci* 2011; 366: 2806-2814.
8. Douradinha B, Doolan DL. Harnessing Immune Responses against *Plasmodium* for Rational Vaccine Design. *Trends in Parasitol* 2011; 27(6): 273-282.
9. CDC. *How to Reduce Malaria's Impact*. http://www.cdc.gov/malaria/maalria_worldwide/red_uction/vaccine.html. 2010.
10. Ferreira MU, Nunes MS, Wunderlich G. Antigenic Diversity and Immune Evasion by Malaria Parasites. *Clin Diag Lab Immunol* 2004; 11(6): 987-995.
11. Sutanto I, Pribadi W. *Buku Ajar Parasitologi Kedokteran: Parasit Malaria* (edisi ke-4). Jakarta: Balai Penerbit FK UI, 2008.
12. Wipasa J, Elliott, Xu H, Good MF. Immunity to Asexual Blood Stage Malaria and Vaccine Approaches. *Immun and Cell Biol* 2002; 80: 401-414.
13. Dobano C, Campo JJ. Understanding Protective Immune Mechanism Induced by Malaria Vaccines in the Context of Clinical Trials. *Human Vaccines* 2009; 5(8): 562-565.
14. Doolan DL, Dobano C, Baird JK. Acquired Immunity to Malaria. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22(1): 13-36.
15. Cowman AF, Berry D, Baum J. The Cellular and Molecular Basis for Malaria Parasite Invasion of the Human Red Blood Cell. *J Cell Biol* 2012; 198(6): 961-971.

16. Adda CG, MacRailld CA, Reiling L, Wycherley K, Boyle MJ, Kienzle V, et. al. Antigenic Characterization of an Intrinsically Unstructured Protein, *Plasmodium falciparum* Merozoite Surface Protein 2. *Infect Immun* 2012; 80(12): 4177-4185.
17. Polley SD, Tetteh KKA, Cavanagh DR, Pearce RJ, Lloyd JM, Bojang KA, et. al. Repeat Sequence in Block 2 of *Plasmodium falciparum* Merozoite Surface Protein-1 are Targets of Antibodies Associated with Protection from Malaria. *Infect Immun* 2003; 71(4): 1833-1842.
18. Irawati N. Genetic Polymorphism of Merozoite Surface Protein-1 (MSP-1) block 2 Allelic Types in *Plasmodium falciparum* Field Isolates from Mountain and Coastal Area in West Sumatera, Indonesia. *Med J Indones* 2011; 20: 11-14.
19. Mamillapalli A, Sunil S, Diwan SS, Sharma SK, Tyagi PK, Adak T, et. al. Polymorphism and Epitope Sharing between the Alleles of Merozoite Surface Protein-1 of *Plasmodium falciparum* among Indian Isolates. *Malar J* 2007; 6: 95.
20. Barnwell JW, Galinski MR. Invasion of Vertebrate Cells: Erythrocytes. In: Sherman IW, editor. *Malaria: Parasite Biology, Pathogenesis, and Protection*. Washington DC: ASM Press, 1998: 93-120.
21. Sutton PL, Clark EH, Silva C, Branch OH. The *Plasmodium falciparum* Merozoite Surface Protein 1 19 KD Antibody Response in the Peruvian Amazon Predominantly targets the Non-Allele Specific, Shared Sites of This Antigen. *Malar J* 2010; 9: 3.
22. Moss DK, Remarque EJ, Faber BW, Cavanagh DR, Arnot DE, Thomas AW, et. al. *Plasmodium falciparum* 19-Kilodalton Merozoite Surface Protein 1 (MSP1)-Specific Antibodies that Interfere with Parasite Growth *in Vitro* can Inhibit MSP1 Processing, Merozoite Invasion, and Intracellular Parasite Development. *Infect Immun* 2012; 80(3): 1280-1287.
23. Okafor CMF, Anumudu CI, Omosun YO, Uthaihibull C, Ayede I, Awobode HO, et. al. Cellular Responses to Modified *Plasmodium falciparum* MSP1₁₉ Antigens in Individuals Previously Exposed to Natural Malaria Infection. *Malar J* 2009; 8: 263.
24. Goodman AL, Epp C, Moss D, Holder AA, Wilson JM, Gao GP, et. al. New Candidate Vaccines against Blood-Stage *Plasmodium falciparum* Malaria: Prime-Boost Immunization Regimens Incorporating Human and Simian Adenoviral Vectors and Poxviral Vectors Expressing an Optimized Antigen Based on Merozoite Surface Protein 1. *Infect Immun* 2010; 78(11): 4601-4612.
25. Takala SL, Coulibaly D, Thera MA, Dicko A, Smith DL, Guindo AB, et. al. Dynamics of Polymorphism in a Malara Vaccine Antigen at a Vaccine-testing Site in Mali. *PloS Med* 2007; 4(3): 523-534.
26. Zakeri S, Mehrizi AA, Zoghi S, Djadid ND. Non-Variant Specific Antibody Responses to the C-Terminal Region of Merozoite Surface Protein-1 of *Plasmodium falciparum* (PfMSP-119) in Iranians Exposed to Unstable Malaria Transmission. *Malar J* 2010; 9: 257.
27. Kiwanuka GN. Genetic Diversity in *Plasmodium falciparum* Merozoite Surface Protein 1 and 2 Coding Genes and Its Implications in Malaria Epidemiology: A Review of Published Studies from 1997-2007. *J Vector Borne Dis* 2009; 46: 1-12.
28. Sallenave-Sales S, Faria CP, Zalis MG, Daniel-Ribeiro CT, Ferreira-da-Cruz MF. Merozoite Surface Protein 2 Allelic Variation Influences the Specific Antibody Response during Acute Malaria in Individuals from a Brazilian Endemic Area. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2007; 102(3): 421-424.
29. Osier FHA, Murungi LM, Fegan G, Tuju J, Tetteh KK, Bull PC, et. al. Allele-Specific Antibodies to *Plasmodium falciparum* Merozoite Surface Protein-2 and Protection against Clinical Malaria. *Parasite Immunol* 2010; 32: 193-201.
30. McCarthy JS, Marjason J, Elliott S, Fahey P, Bang G, Malkin E, et. al. A Phase 1 Trial of MSP2-C1, a Blood-Stage Malaria Vaccine Containing 2 Isoform of MSP2 Formulated with Montanide® ISA 720. *PLoS One* 2011; 6(9): 1-13.
31. Low A, Chandrashekar IR, Adda CG, Yao S, Sabo JK, Zhang X, et. al. Merozoite Surface Protein 2 of *Plasmodium falciparum*: Expression, Structure, Dynamics, and Fibril Formation of The Conserved N-Terminal Domain. *Biopolymers* 2007; 87: 12-22.
32. Genton B, Betuela I, Felger I, Al-Yaman F, Anders RF, Saul A. et. al. A Recombinant Blood-Stage Malaria Vaccine Reduces *Plasmodium falciparum* Density and Exerts Selective Pressures on Parasite Populations in a Phase 1-2b Trial in Papua New Guinea. *J Infect Dis* 2002; 185: 820-827.