

Potensi vaksinasi *P. Falciparum* circumsporozoite protein adjuvan CAF09 (PF CSP-CAF09) untuk pencegahan malaria dengan induksi sel t CD8+

¹*Fandy Ong Jaya, ¹Sugiono Namli, ¹Melly Leman, ²Restuti Hidayani Saragih

¹) Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara - Medan; ²) Divisi Penyakit Tropis dan Infeksi
Departemen Ilmu Penyakit Dalam, RSUP Haji Adam Malik - Medan

*Email: fandyongjaya@gmail.com

Abstrak. Malaria masih merupakan ancaman yang serius karena dapat menyerang siapa saja tanpa sistem imunitas yang adekuat dan dapat menyebar dengan cepat melalui vektornya. *Plasmodium falciparum*, salah satu penyebab malaria, merupakan spesies yang paling sering berhubungan dengan prognosis yang buruk dikarenakan banyaknya komplikasi yang dapat muncul akibat tingkat parasitemia yang tinggi. Salah satu antigen pada permukaan sporozoit *Plasmodium falciparum*, Pf CSP merupakan antigen spesifik yang dapat menginduksi antibodi dalam tubuh. Vaksin Pf CSP-CAF09 menunjukkan efek yang signifikan terhadap penghambatan perkembangan *Plasmodium falciparum* sebelum fase eritrosit dengan induksi antibodi spesifik dan sel T CD8+. *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein (Pf CSP) dengan adjuvan liposom CAF09 dapat menginduksi reaksi antibodi spesifik dan sel T CD8+ sehingga dapat menjadi vaksin dalam pencegahan fase eritrosit pada infeksi malaria.

Kata kunci: CD8+, Malaria, *Plasmodium falciparum*, Pf CSP-CAF09, Vaksin

Abstract. Malaria is still a serious threat because it can attack anyone without adequate immune system protection and can spread quickly through its vector. *Plasmodium falciparum*, one of the causes of malaria, is the species most often associated with a poor prognosis due to the many complications that can arise from high levels of parasitemia. One of the antigens on the surface of *Plasmodium falciparum* sporozoites, Pf CSP is a specific antigen that can induce antibodies in the body. The Pf CSP-CAF09 vaccine showed a significant effect on inhibiting the development of *Plasmodium falciparum* before the erythrocyte phase by induction of specific antibodies and CD8+ T cells. *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein (Pf CSP) with liposome adjuvant CAF09 may induce specific antibody reactions and CD8+ T cells so that it can become a vaccine in the prevention of the erythrocyte phase of malaria infection.

Keywords: CD8+, Malaria, *Plasmodium falciparum*, Pf CSP-CAF09, Vaccine

Pendahuluan

Malaria memberikan pengaruh yang sangat besar pada kehidupan manusia dan tetap menjadi salah satu penyakit menular yang paling serius dan mengancam jiwa. Penyakit ini disebabkan oleh parasit *Plasmodium spp.* dengan manusia sebagai hospes mamalia eksklusif. Malaria ditularkan melalui gigitan nyamuk betina genus *Anopheles* yang terjangkit *Plasmodium spp.*^{1,2}

Berdasarkan *World Malaria Report* pada tahun 2020, terdapat sekitar 229 juta orang di dunia menderita malaria dengan angka mortalitas mencapai 409.000 jiwa. Di regio Asia Tenggara, terdapat 6,3 juta kasus malaria dan 9.000 kematian akibat malaria.³ Sedangkan di Indonesia, angka kejadian malaria menurun sejak tahun 2007 (2,9%) menjadi 1,9% pada tahun 2013 dan 0,37% pada 2018. Namun, prevalensi malaria di Papua Barat mengalami peningkatan dibandingkan dengan periode sebelumnya yaitu 9,8% pada 2013 menjadi 12,07% pada 2018.^{4,5}

Awal gejala klinis umumnya terjadi 7-10 hari setelah gigitan awal nyamuk *Anopheles* yang terinfeksi. Gejala malaria bervariasi dari asimtomatis sampai berat yang sering berakibat fatal, seperti anemia berat dan beragam manifestasi dari kerusakan organ-organ, termasuk masalah pada kehamilan dan malaria serebral. Masalah ini merupakan

komplikasi paling mematikan dari infeksi *Plasmodium falciparum* yang diakibatkan oleh obstruksi mikrovaskular di kapiler darah.^{1,6}

Berdasarkan penelitian, *Plasmodium falciparum* telah mempunyai resistensi terhadap semua obat anti-malaria yang digunakan: *chloroquine*, *sulphadoxine-pyrimethamine*, *quinine*, *piperaquine* dan *mefloquine*. Saat ini, terapi lini pertama yang digunakan untuk terapi kombinasi anti-malaria adalah artemisin (ART) dan derivatnya. Namun, beberapa negara Asia Tenggara telah melaporkan kemunculan parasit dengan penurunan respon terhadap ART dan ACT (*Artemisin-based Combination Therapy*) yang menyebabkan peningkatan angka kegagalan pengobatan. Resistensi ini dilaporkan hampir satu dekade yang lalu di Kamboja, dimana orang-orang yang terinfeksi *P.falciparum* yang menggunakan ART atau ACT menunjukkan tingkat pembersihan parasit yang lebih lama.⁷ Sehingga upaya preventif lebih diutamakan untuk menekan angka penularan malaria terutama pada kasus malaria oleh *Plasmodium falciparum*.

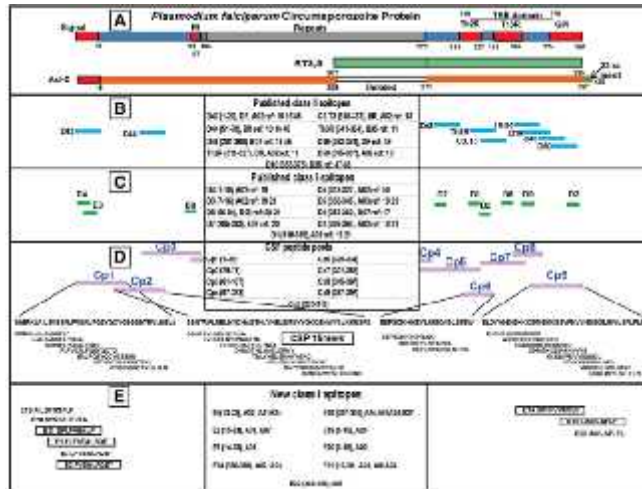
Pada saat ini, belum ada vaksin yang dikeluarkan untuk mencegah malaria. Vaksin yang ideal sebaiknya melindungi dari *P. falciparum* dan *P. vivax*, dengan minimum 75% efikasi yang bertahan lama. Kandidat yang paling berkembang adalah RTS,S, yang mengandung protein rekombinan dengan bagian dari *P.falciparum circumsporozoite protein* (Pf CSP) dikombinasikan dengan antigen permukaan virus hepatitis B dan sebuah adjuvan. Vaksin ini menginduksi antibodi protektif dan respon sel T CD4+, Namun tidak menginduksi sel T CD8+ secara signifikan sehingga efikasi yang dicapai belum memenuhi kriteria ideal yang diinginkan. Efikasi dari RTS,S berkurang menjadi 26% ketika vaksin yang diberikan hanya tiga dosis dan efikasi pada tahun pertama pada bayi berumur 6-12 minggu hanya mencapai 33% sehingga vaksin RTS,S hanya memberikan efek proteksi parsial dan gagal dalam menyediakan proteksi jangka panjang.^{1,8}

Sel T CD8+ adalah mekanisme imun protektif yang efektif terhadap infeksi intraselular yang diakibatkan oleh virus, bakteri, dan parasit. Sel T CD8+ akan melengkapi aktivitas perlindungan humoral dengan mengeluarkan efek anti-mikroba terhadap infeksi pada fase intraselular, yang biasanya tidak dipengaruhi oleh antibodi yang beredar dalam tubuh. Maka, diperlukan perbaikan dalam efikasi vaksin yang mungkin dapat dicapai dengan mengembangkan vaksin yang mampu menginduksi respon antibodi yang luas dan sel T CD8+.⁸

Tujuan penulisan telaah pustaka ini adalah untuk mengkaji potensi Pf CSP-CAF09 yang menginduksi respon antibodi dan sel T CD8+ spesifik sebagai vaksin malaria sehingga dapat mengurangi angka morbiditas dan mortalitas malaria.

Plasmodium Falciparum

Plasmodium falciparum merupakan penyebab kematian terbanyak akibat malaria dengan siklus hidup yang kompleks yang melibatkan tubuh manusia sebagai *host* dan nyamuk *Anopheles spp.* betina sebagai vektor.⁹ Siklus hidupnya dibagi menjadi 2 bagian besar yaitu siklus hidup aseksual dalam sel darah manusia dan siklus hidup seksual dalam tubuh nyamuk.¹⁰ Beberapa komponen molekular yang berperan penting dalam siklus hidup *Plasmodium falciparum* merupakan target dari sistem imun manusia dan oleh karena itu, *P. falciparum* mengembangkan kemampuannya dalam menghasilkan ratusan variasi dari antigen-antigen tersebut. Varian-varian ini tergabung dalam 3 kelompok *multigene* yaitu *the repetitive interspersed family (rif)*, *subtelometric variant open reading frame (stevor)* dan kelompok *var*, yang masing-masing mengkode *P. falciparum-encoded repetitive interspersed families of polypeptides (RIFINS)*, *STREVAR*, dan *P. falciparum erythrocyte membrane protein-1 (PfEMP1)*.¹¹



Gambar 1. *Plasmodium falciparum* CSP : struktur, vaksin dan distribusi epitop klas 1 dan klas 1²
 (A) Struktur *P. falciparum* tersusun atas *N-terminal region* dan *C-terminal region* yang mengapit *central repeat region*. (B) *Published Class II epitopes* pada *N-terminal* dan *C-terminal*. (C) *Published Class I epitopes* pada *N-terminal* dan *C-terminal*. (D) Sekuens untuk *CSP peptide pools* dan *CSP 15mers*. (E) *Class-I restricted epitopes* baru yang berasal dari Cp1, Cp2, Cp6, Cp9 15mers.

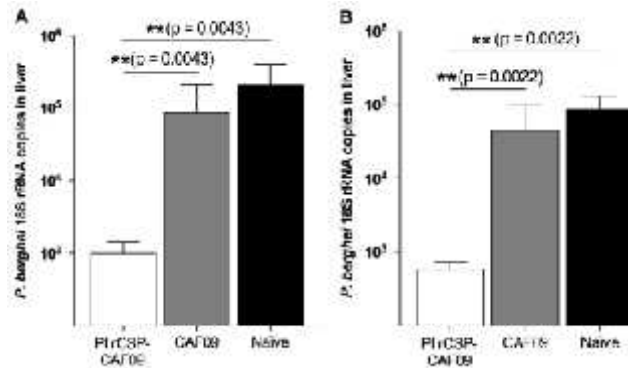
Siklus hidup fase aseksual di hati

Secara umum, fase hepatic dari *Plasmodium* berlangsung selama 5-10 hari. Bentuk sporozoit dari *Plasmodium* akan masuk ke lapisan dermis dari kulit manusia menuju ke aliran darah. Dalam hal ini, sporozoit tersebut bergantung pada kemampuan *gliding*, sebuah proses untuk mencapai pembuluh darah dan memasuki aliran darah. Sporozoit yang memasuki aliran darah akan menginvasi hati melalui proses yang disebut *traversal*, dimana sporozoit akan melewati lapisan sinusoid yang tersusun dari sel endotel berpori dan sel makrofag di hati (*Kupffer cells*). Jenis protein yang diperlukan dalam proses *traversal* ini adalah SPECT (*sporozoite microneme protein essential for traversal*), SPECT2 (dikenal juga sebagai *perforin-like protein*, PLP-1), CeITOS (*Cell traversal protein for ookinets and sporozoite*), *phospholipase* (PL), dan GEST (*gamet egress and traversal sporozoite protein*). Sporozoit melewati sel-sel hati yang ada dengan membentuk vakuola-vakuola sementara dengan bantuan protein-protein di atas Sporozoit yang masuk ke dalam lapisan dermis merupakan bentuk *migratory* yang nantinya akan berubah menjadi bentuk invasif ketika berinteraksi dengan hepatosit. Sebuah sinyal yang menandai sel-sel hati adalah gugus sulfat dari *heparin sulphate proteoglycans* (HSPGs) yang mengaktifkan *calcium-dependent protein kinase 6* (CDPK6).¹⁰ *Circumsporozoite protein* (CSP) adalah protein yang melapisi bagian membran dari sporozoit dan berperan penting dalam berikatan dengan gugus sulfat HSPGs.^{10,12,13}

Ketika Pf CSP masuk ke dalam hepatosit, sistem imun MHC Kelas I akan mengekspresikannya sebagai bagian dari peptida permukaan hepatosit, sehingga memiliki potensi untuk dikenali oleh *CSP-specific CD8+ T cells*. Pf CSP tersusun atas 397 asam amino (aa), yang terbagi menjadi bagian *N-terminal* (aa 1-104), bagian *central repeat* (aa 105-272) dan *C-terminal* (aa 273-397). Bagian dari *C-terminal* tersusun atas *trombospondin-like type 1 repeat domain* (TSR) yang bertumpang tindih dengan bagian epitop Th2R dan Th3R. Bagian dari *central repeat region* tersusun dari epitop sel B yang imunodominan. epitop ini diidentifikasi menggunakan sukarelawan daerah endemis malaria atau sukarelawan yang diimunisasi *radiation-attenuated sporozoite* (RAS).^{12,13}

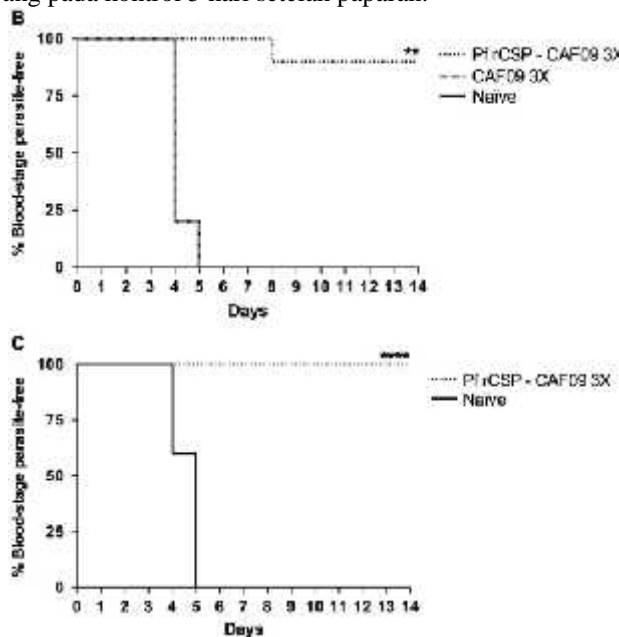
***P.falciparum* circumsporozoite protein adjuvan liposomal CAF09**

Adjuvan liposomal CAF09 tersusun berdasarkan surfaktan kation *dimethyldioctadecylammonium* (DDA) mencakup imunostimulan *monomycetyl glycerol* (MMG) yang merupakan ligan pada reseptor *mincle* dan *polyinosinic:polycytidylic acid* (*poly I:C*) pada reseptor TLR-3.⁸ CAF09 menginduksi sel T CD8+ yang spesifik terhadap antigen yang bersifat sitotoksik dengan hasil lisis yang hampir sempurna pada target sel yang diisi antigen secara *in vivo*.¹⁴



Gambar 2. Parasit pada tikus yang diimmunisasi (a) dua kali, (b) tiga kali dengan Pf rCSP-CAF09 menghambat Perkembangan parasit menjadi fase eritrosit secara signifikan⁸
Pf CSP yang teradsorpsi pada CAF09 akan menginduksi presentasi silang oleh sel dendritik secara efisien dan induksi antigen spesifik sel T CD8+.⁸

Pada penelitian DA Espinosa et al,⁸ tikus diimmunisasi secara intraperitoneum tiga kali dengan *Plasmodium falciparum recombinant Circumsporozoite Protein-CAF09* (Pf rCSP-CAF09) dan dihadapkan pada lima nyamuk infeksius selama 10 menit. Empat hari kemudian, apusan darah harian diambil untuk menentukan parasit fase eritrosit hingga hari ke-14. Didapatkan hasil bahwa 90% parasit pada tikus (9 dari 10) yang diimmunisasi dengan Pf rCSP-CAF09 tidak berkembang menjadi parasit fase eritrosit pada pemantauan selama 14 hari. Semua tikus yang hanya menerima adjuvan, dan juga kontrol, menjadi positif terinfeksi fase eritrosit setelah 5 hari setelah paparan. Untuk menentukan jika perlindungan steril dapat bertahan dari waktu ke waktu, 9 tikus yang tidak berkembang menjadi parasit fase eritrosit dihadapkan kembali pada nyamuk setelah 5 minggu (7 minggu setelah imunisasi terakhir). Hasil menunjukkan, parasit pada tikus yang diimmunisasi Pf rCSP-CAF09 tidak berkembang menjadi infeksi fase eritrosit, dimana parasitemia berkembang pada kontrol 5 hari setelah paparan.^{8,15}



Gambar 3. Parasit pada tikus yang diimmunisasi Pf rCSP-CAF09 tidak berkembang menjadi fase eritrosit (**P < 0.01; ***P < 0.0001)⁸

Kesimpulan

Plasmodium falciparum circumsporozoite protein (Pf CSP) dengan adjuvan liposom CAF09 dapat menginduksi reaksi antibodi spesifik dan sel T CD8+ sehingga dapat menjadi vaksin dalam pencegahan fase eritrosit pada infeksi malaria.

Saran

Vaksin Pf CSP-CAF09 memiliki potensi yang besar untuk menjadi vaksin malaria. Efikasi yang baik sudah didapatkan pada penelitian hewan coba. Namun, kurangnya data penelitian pada manusia menjadi hambatan untuk penggunaan vaksin ini. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai efikasi dan keamanan vaksin ini pada manusia untuk diaplikasikan pada manusia di kemudian hari.

Daftar Pustaka

1. Phillips MA, Burrows JN, Manyando C, Van Huijsduijnen RH, Van Voorhis WC, Wells TNC. Malaria. *Nat Rev Dis Prim.* 2017;3.
2. Ashley EA, Pyae Phyo A, Woodrow CJ. Malaria. *Lancet.* 2018;391(10130):1608-1621. doi:10.1016/S0140-6736(18)30324-6
3. World Health Organization. *World Malaria Report: 20 Years of Global Progress and Challenges.* Vol WHO/HTM/GM.; 2020.
4. Kementerian Kesehatan RI. (2013) Riset Kesehatan Dasar RISKESDAS 2013.
5. Kementerian Kesehatan RI. (2018) Laporan Nasional RISKESDAS 2018.
6. Wassmer SC, Emile G, Grau R. Severe malaria: what's new on the pathogenesis front? Graphical abstract HHS Public Access. *Int J Parasitol.* 2017;47(3):145-152.
7. Blasco B, Leroy D, Fidock DA. Parasite Biology To the Clinic. *Nat Med.* 2017;23(8):917-928. doi:10.1038/nm.4381. Antimalarial
8. Espinosa DA, Christensen D, Muñoz C, et al. Robust antibody and CD8+ T-cell responses induced by P. falciparum CSP adsorbed to cationic liposomal adjuvant CAF09 confer sterilizing immunity against experimental rodent malaria infection. *npj Vaccines.* 2017;2(1):1-8.
9. Antinori S, Galimberti L, Milazzo L, Corbellino M. Biology of human malaria plasmodia including Plasmodium knowlesi. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2012;4(1). Cowman AF, Healer J, Marapana D, Marsh K. Malaria: Biology and Disease. *Cell.* 2016;167(3):610-624.
10. Wahlgren M, Goel S, Akhouri RR. Variant surface antigens of Plasmodium falciparum and their roles in severe malaria. *Nat Rev Microbiol.* 2017;15(8):479-491.
11. Sedegah M, Kim Y, Ganeshan H, et al. Identification of minimal human MHC-restricted CD8+ T-cell epitopes within the Plasmodium falciparum circumsporozoite protein (CSP). *Malar J.* 2013;12(1):1.
12. Plassmeyer ML, Reiter K, Shimp RL, et al. Structure of the Plasmodium falciparum circumsporozoite protein, a leading malaria vaccine candidate. *J Biol Chem.* 2009;284(39):26951-26963. Korsholm KS, Hansen J, Karlson K, et al. Induction of CD8+ T-cell responses against subunit antigens by the novel cationic liposomal CAF09 adjuvant. *Vaccine.* 2014;32(31):3927-3935
13. Schmidt ST, Khadke S, Korsholm KS, et al. The administration route is decisive for the ability of the vaccine adjuvant CAF09 to induce antigen-specific CD8(+) T-cell responses: The immunological consequences of the biodistribution profile. *J Control Release.* 2016;239:107-117.