

MEKANISME ENDOSITOSIS, DEGRADASI HEMOGLOBIN DAN DETOKSIFIKASI *HEME* PARASIT MALARIA

¹Safarianti, ²Muhsin, ³Maryatun, ⁴Soraya Rezeki

Abstrak. Parasit malaria (*Plasmodium Sp*) adalah parasit golongan Protozoa yang hidup obligat intrasel. Parasit ini menimbulkan penyakit malaria pada manusia melalui perantara nyamuk betina *Anopheles Sp*. Pada siklus hidupnya, sejumlah besar merozoit yang bebas akan menginvasi sel eritrosit host. Proses invasi ini berlangsung melalui 4 tahap yaitu *attachment* atau perlekatan merozoit pada permukaan eritrosit, reorientasi dengan cara berputar untuk mencari tempat yang tepat dalam memasuki sel eritrosit, lalu mengarahkan *rhoptry* ke permukaan eritrosit, *junction* dan kemudian melakukan invaginasi untuk masuk ke dalam eritrosit, diakhiri dengan *sealing* atau menutup kembali eritrosit. Merozoit di dalam eritrosit hidup di lingkungan yang terpisah dari suplai nutrisi sirkulasi darah, sementara parasit memerlukan nutrisi untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Akhirnya parasit mengembangkan suatu mekanisme baru yaitu endositosis untuk mendapatkan nutrisi dari sitosol sel eritrosit host yang sebahagian besar adalah hemoglobin. Hemoglobin tersebut harus didegradasi terlebih dahulu menjadi *heme* dan globin agar dapat digunakan sebagai sumber asam amino bagi pertumbuhan dan perkembangan parasit. Proses degradasi hemoglobin ini menimbulkan konsekuensi yang merugikan bagi parasit karena akan membebaskan *heme* yang bersifat toksik, namun parasit mampu mengatasinya dengan mengembangkan beberapa cara mendetoksifikasi *heme* toksik menjadi pigmen hemozoin yang bersifat non toksik bagi parasit.

Kata kunci : Hemoglobin, degradasi hemoglobin, detoksifikasi heme.

Abstract. Malaria parasite (*Plasmodium Sp*) is an obligate intracellular parasite. This parasite causes malaria in humans through vector *Anopheles Sp*. In its life cycle, large amounts of free merozoites will invade host erythrocytes. This invasion process takes place through 4 stages, attachment of merozoites on the surface of erythrocytes, reorientation by rotating to find the right place in entering erythrocyte cells, then directing *rhoptry* to surface of erythrocytes, *junction* and then invaginating to enter into erythrocytes, ending with sealing or closing back the erythrocytes. Merozoites in erythrocytes live in an environment separate from the supply of blood circulating nutrients, while parasites require nutrients for their growth and development. Finally the parasite develops a new mechanism called endocytosis to obtain nutrients from host erythrocytes cytosol which is largely are hemoglobin. The hemoglobin must first be degraded into heme and globin to be used as a source of amino acids for growth and development of parasites. This hemoglobin degradation process has an adverse consequence for the parasite because it will liberate the toxic heme, but the parasite is able to overcome it by developing some way to detoxify the toxic heme into a non-toxic crystal hemozoin.

Keywords : Hemoglobin, hemoglobin degradation, heme detoxification

Pendahuluan

Parasit malaria adalah parasit protozoa intrasel obligat dari *family Plasmodidae*. Parasit ini dapat menginfeksi manusia maupun hewan. Infeksi *family plasmodidae* pada manusia disebabkan oleh *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, dan *Plasmodium malariae*, sedangkan *family plasmodidae* yang menyerang hewan golongan burung adalah *P. gallinaceum*, *P. lophurae*, golongan rodent /murine: *P. berghei*, *P. vinckei*, *P. yoelii*, *P. chabaudi*, dan golongan primata adalah *P. knowlesi*, *P. cynomologi*, dan *P. simioovale*.¹

Daur hidup parasit malaria dalam tubuh manusia dimulai ketika nyamuk betina *Anopheles Sp* mengigit manusia dan melepaskan sporozoit stadium infeksi plasmodium ke dalam darah melalui pembuluh darah kapiler subkutan. Sebagian besar sporozoit kemudian mencapai parenkhim hati dan bermultiplikasi menjadi ribuan merozoit didalam sel hepatosit. Setelah 6-16 hari, sel-sel hepar yang terinfeksi akan pecah dan ribuan merozoit bebas memasuki sirkulasi dan segera menginvasi sel darah merah.²

Invasi sel merozoit pada permukaan sel eritrosit merupakan proses interaksi antara reseptor-

reseptor spesifik pada permukaan sel eritrosit dan ligand-ligand pada merozoit. *Merozoit surface protein* (MSP) adalah protein yang berperan penting dalam invasi parasit ke dalam eritrosit. MSP-10 disebut sebagai protein pada permukaan merozoit yang berikatan dengan reseptor pada permukaan sel eritrosit dan mempunyai peran penting dalam proses invasi parasit ke dalam sel eritrosit.^{3,4} Proses invasi berlangsung melalui empat tahap yaitu perlekatan merozoit dengan eritrosit (*attachment*), reorientasi untuk mencari tempat yang tepat untuk memasuki eritrosit dengan cara berputar dan mengarahkan *rhoptryke* permukaan eritrosit, lalu membentuk *junction*, dan kemudian melakukan invaginasi untuk masuk ke

dalam eritrosit, lalu diakhiri dengan *sealing* atau menutup kembali eritrosit.⁵

Gambar 1

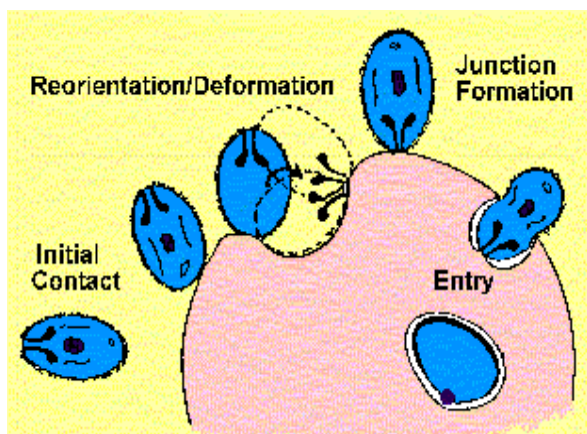
Tahapan invasi parasit malaria ke dalam eritrosit (Sumber: Wisner, 2017)

Merozoit di dalam eritrosit bentuknya membulat dan semua organelnya hilang, dan parasit berada dalam *parasitophorous vacuole* yang tampak berbentuk cincin. Parasit kemudian terus tumbuh dari stadium cincin menjadi trophozoit dan skizon. Pertumbuhan parasit ini membutuhkan bahan glukosa/fruktosa dan asam amino, namun parasit *Plasmodium* yang berada dalam eritrosit hidup di lingkungan yang terpisah dari suplai nutrisi sirkulasi darah, oleh karena itu parasit mengembangkan mekanisme baru untuk memperoleh nutrisi dari sitosol eritrosit sel *host* yaitu endositosis.⁶

endositosis sitoplasma *host* (60%-80% hemoglobin) kemudian akan diangkut oleh transport vesikel ke dalam vakuola makanan dan dicerna pada pH antara 5-5,5.^{6,7}

Mekanisme Degradasi hemoglobin

Hemoglobin yang dibawa oleh transport vesikel dari sitosol parasit akan didegradasi secara proteolitik di dalam vakuola makanan yaitu suatu "organel seperti lisosom" (*lysosome-like organelle*) yang kaya oksigen.⁷ Degradasi hemoglobin merupakan suatu proses metabolisme sentral untuk pertumbuhan dan maturasi parasit malaria.⁸ Sejak fase tropik, kandungan RNA parasit meningkat dan sejak proses tersebut replikasi DNA menjadi 8 - 32 kali lipat. Pertumbuhan parasit secara cepat ini juga akan meningkatkan kebutuhan asam amino yang akan digunakan dalam proses sintesis protein.⁹ Sumber-sumber asam amino untuk kebutuhan parasit diperoleh dengan tiga cara yaitu mencernakan hemoglobin *host*, *up take* asam amino bebas dan *de novo* sintesis.¹⁰ Hemoglobin di dalam vakuola makanan yang bersifat asam (*acidic food vacuole*) akan dipecah menjadi globin dan heme dimana globin akan dihidrolisis menjadi asam-asam amino bebas (*free amino acid*) untuk sintesis protein parasit. Hemoglobin menyediakan

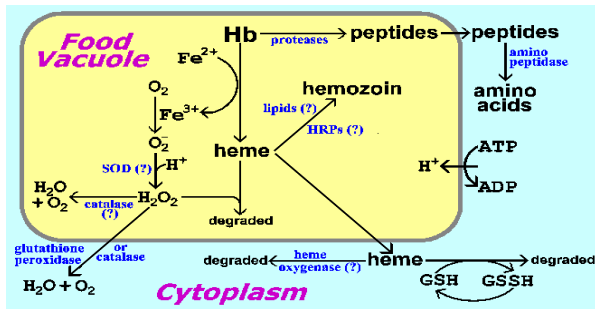


Proses Endositosis

Endositosis adalah suatu proses untuk memperoleh substrat dalam hal ini adalah hemoglobin yang berasal dari sitoplasma eritrosit untuk masuk ke dalam sel tanpa melalui membran sel. Parasit ketika berada dalam eritrosit mengendositosis sejumlah bahan nutrisi yang sebahagian besar adalah hemoglobin dari sitosol eritrosit. Endositosis terjadi melalui proses invaginasi dari membran plasma parasit yang dikenal dengan sitostoma. Setelah proses endositosis selesai, leher dari sitostoma dicopot untuk melepaskan membran ganda vesikel endositik yang berisi sitoplasma sel darah merah. Proses pencernaan sitoplasma eritrosit diduga sudah dimulai oleh enzim pencernaan proteolitik dalam membran ganda transport vesikel. Membran ganda transport vesikel diduga berasal dari invaginasi membran plasma parasit sebagai lapisan terluar dan membran *parasitophorous vacuole* sebagai lapisan dalam. Hasil dari

sebagian besar dari asam amino yang dibutuhkan parasit untuk melangsungkan proses sintesis protein dan juga menyediakan kebutuhan besi (Fe) untuk parasit.^{8,10}

Adapun bagan proses degradasi hemoglobin dalam vakuola makanan parasit malaria sebagai berikut:



Gambar 2 Aktivitas biokimiawi dalam vakuola makanan parasit malaria (Sumber: Wisner, 2017)

Beberapa enzim protease berperan pada hidrolisis hemoglobin menjadi fragmen peptida kecil di dalam vakuola makanan, dan merupakan target obat-obat antimalaria.¹¹ Kurang lebih terdapat tiga jenis enzim protease di dalam vakuola makanan yaitu aspartik protease (plasmepsin), sistein protease (falcipain) dan metallo protease (falsilysin). Ketiga enzim ini terlibat dalam proses hidrolisis hemoglobin menjadi globin yang kemudian menjadi peptida (oligopeptida) dan heme. Proses inisiasi pemecahan hemoglobin oleh plasmepsin I dan diduga juga oleh peran falcipain 2 menjadi hemoglobin tetramer, kemudian falcipain akan melanjutkan pemecahan pada bagian lain dari protein dan falsilysin mengubah oligopeptida menjadi peptida-peptida kecil yang kemudian akan diubah menjadi 20 asam amino oleh aminopeptidase. Proses proteolitik ini maksimal terjadi pada fase trophozoit diikuti dengan skizon dan cincin.^{7,8,9}

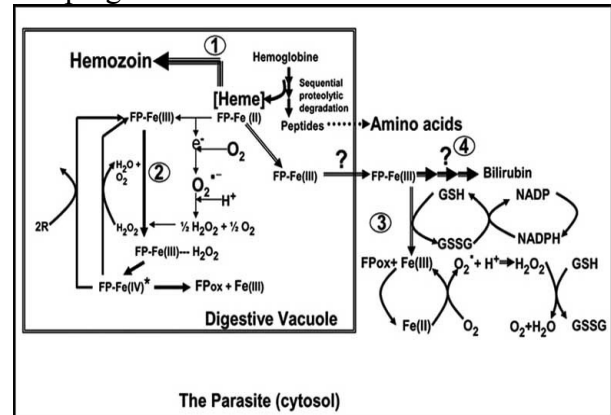
Mekanisme Detoksifikasi Heme

Proses pengambilan dan penguraian hemoglobin dari eritrosit yang terinfeksi parasit menimbulkan konsekuensi yang merugikan bagi parasit. Hemoglobin yang mengalami proteolisis selain menghasilkan asam amino untuk sintesis protein, juga menghasilkan heme bebas yang

bersifat toksik bagi parasit dan mempunyai kemampuan untuk melisis membran parasit malaria, oleh karena itu parasit malaria mengembangkan suatu mekanisme untuk mendetoksifikasi heme tersebut.

Mekanisme detoksifikasi heme yang telah teridentifikasi yaitu: 1) Mengubah heme bebas menjadi kristal polimer yang tidak larut (hemozoin atau pigmen malaria), 2) Degradasi yang difasilitasi oleh hidrogen peroksida di dalam vakuola makanan, 3) Degradasi glutathione-dependent yang terjadi dalam sitoplasma parasit, 4) Kemungkinan terjadi oksigenasi heme ditemukan pada *P.berghei* (parasit rodent) dan *P.knowlesi* tetapi tidak terjadi pada *P.falciparum*. Detoksifikasi heme melalui proses polimerisasi atau pembentukan kristal polimer hemozoin merupakan mekanisme utama yang terjadi pada parasit malaria dan proses ini merupakan target penting pengembangan obat antimalarial.¹²

Gambaran proses detoksifikasi heme secara umum dapat dilihat pada gambar di samping.



Gambar 3 Proses detoksifikasi heme pada parasit malaria. (1) Biokristalisasi heme menjadi kristal polimer hemozoin, (2) Degradasi yang difasilitasi hidrogen peroksida di dalam vakuola makanan, (3) Degradasi heme dengan peran GSH di dalam sitoplasma parasit, dan (4) degradasi enzimatik heme.¹²

Histidine rich protein 2 (PfHRP2) dan lipid – lipid diduga terlibat sebagai inisiator pada proses polimerisasi heme tersebut menjadi kristal hemozoin.¹² Pada proses detoksifikasi heme, heme bebas (Fe²⁺-PPIX) mengalami dimerisasi menjadi hematin (*Ferriprotoporphyrin IX hydroxide*) yang toksik bagi parasit, selanjutnya parasit mengubah

hematin menjadi kristal polimer hemozoin yang tidak toksik.^{12,13}

Hemozoin tidak identik dengan hematin (*Ferriprotoporphyrin IX hydroxide*), namun analisis dengan spektroskopik dan kristalografi *X-ray* menunjukkan bahwa struktur dan spektrum hemozoin identik dengan β -hematin (suatu pigmen sintetik). β -hematin merupakan bentuk dimer dari *heme* dengan ikatan kovalen reciprocal antara kelompok asam karboksilik pada cincin protoporphyrin-IX dan atom – atom Fe.⁷ Bentuk dimer tersebut berinteraksi secara langsung dengan ikatan hidrogen membentuk kristal hemozoin sehingga formasi pigmen dideskripsikan sebagai suatu proses biokristalisasi.¹¹

Proses detoksifikasi *heme* juga dapat terjadi di sitosol parasit melalui peran hidrogen peroksida dan degradasi yang dimediasi oleh glutathion, berhubungan dengan *glutathione-dependent*, diketahui bahwa di dalam eritrosit lintasan pentosan fosfat berperan menyediakan NADPH untuk mereduksi *glutathione reduktase*. Glutathione tereduksi (GSH) inilah yang berperan mengoksidasi hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi H_2O yang dikatalis oleh enzim glutathione peroksidase suatu enzim yang mengandung selenium.^{14,15}

Hemozoin diduga berkontribusi terhadap immunopatologi yang berhubungan dengan penyakit malaria, dan terutama akumulasinya di dalam hati dan limpa *host* yang meningkat sesuai dengan peningkatan jumlah parasitemia.^{12,16}

Hemozoin atau pigmen malaria pada sediaan darah yang diwarnai dengan giemsa dapat terlihat dibawah mikroskop cahaya sebagai pigmen berwarna kuning kecoklatan, coklat tua sampai hitam pada stadium trofozoit, skizon dan gametosit, namun tidak dapat dilihat pada stadium *ring form* (cincin).³

Penutup

Parasit *Plasmodium* dalam sel darah merah *host* hidup dalam keadaan terpisah dari sirkulasi. Dalam rangka mempertahankan kehidupannya, parasit *Plasmodium* mengembangkan proses endositosis untuk memperoleh nutrisi dari sitoplasma sel *host* yang sebagian besar adalah

komponen hemoglobin. Hemoglobin menyediakan banyak asam amino yang sangat diperlukan untuk perkembangan parasit, sehingga hemoglobin harus didegradasi terlebih dahulu di dalam vakuola makanan menjadi *heme* dan globin. Heme yang dibebaskan bersifat toksik bagi tubuh parasit namun parasit mampu mendetoksifikasi heme tersebut dengan membentuk kristal hemozoin yang tidak toksik. Serangkaian proses ini adalah serangkaian upaya yang dilakukan parasit agar dapat mempertahankan keberlangsungan hidupnya di dalam sel darah merah sel *host*. Berbagai penelitian terus dilakukan untuk menemukan obat antimalaria yang dapat menghambat serangkaian proses tersebut, baik itu menghambat proses endositosis maupun proses detoksifikasi *heme*, namun terkendala faktor resistensi *Plasmodium*. Faktor resistensi *Plasmodium* merupakan faktor tersulit diatasi karena mutasi pada genom sulit dikendalikan.

Daftar Pustaka

1. Dachlan YP. Malaria, epidemiologi, klinik, diagnostik, dan terapi dalam imunologi malaria. Dalam: Imunologi Malaria. Rumah Sakit Penyakit Tropik Infeksi Universitas Airlangga. 2013: hlm. 1-27.
2. Harijanto PN, 2012. Malaria dari molekuler ke klinis. Penerbit Buku Kedokteran EGC, hlm. 118-155.
3. Arwati H. Biologi parasit malaria. Dalam: Imunologi Malaria. Rumah Sakit Penyakit Tropik Infeksi Universitas Airlangga, hlm. 37-47.
4. Puentes A, Ocampo M, Rodriquez LE, Vera R, Valbuena J, Curtidor H, Garcia J, Lopez R, Tovar D, Cortes J, Rivera Z, Patarroyo ME. Identifying *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein-10 human erythrocyte specific binding regions. *Biochimie*. 2005; 87(5): 461-72
5. Wiser. Cellular and molecular biology of *Plasmodium*. Review, Tulane University. 2017. Diakses dari www.tulane.edu/~wiser/malaria/cmb.html pada tanggal 15 November 2017.
6. Hoppe HC, Schalkwyk DA, Wiehart UIM, Meredith SA, Egan J, Weber BW.

- Antimalarial quinolines and artemisinin inhibit endocytosis in *P. falciparum*. J. antimicrob. Agents Chemother.2004; 48(7): 2370 - 8.
7. Egan TJ. Hemozoin formation. Journal molecular & biochemical parasitology. 2008; 157: 127 - 36.
 8. Banerjee R, Liu J, Beatty W, Pelosof L, Klemba M, and Goldberg DE. Four plasmepsins are active in the *Plasmodium falciparum* food vacuole, including a protease with an active-site histidine. Proc Natl Acad Sci USA.2002; 99: 990 - 5.
 9. Wiser. *Biochemistry of Plasmodium*. Review. 2005. Tulane University. Diakses dari www.tulane.edu/~wiser/malaria/cmb.html pada tanggal 15 November 2017
 10. M. Krugliak, J. Zhang and H. Ginsburg. Intraerythrocytic *Plasmodium falciparum* utilizes only a fraction of the amino acids derived from the digestion of host cell cytosol for the biosynthesis of its proteins. Mol. Biochem. Parasitol. 2002; 119: 249 - 56.
 11. Hempelmann E. Hemozoin biocrystallization in *Plasmodium falciparum* and the antimalarial activity of crystallization inhibitors. Parasitol Res. 2007; 100: 671 - 76.
 12. Tekwani BL and Walker LA. Targetting the hemozoin synthesized pathway for new antimalarial drug discovery: technologies for in vitro β -hematin formation assay. Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening.2005; 8:63-79
 13. Paul MO, Victoria EB, and Stephen AW. The molecular mechanism of action artemisinin – the debate continues. Review Molecule.2010; 15: 1705 - 21.
 14. Platel DFN, Mangou F, Tribouley-Duret J. Role of glutathione in the detoxification of ferriprotoporphyrin IX in chloroquine resistant *Plasmodium berghei*. Mol Biochem Parasitol. 1999; 98: 215-223
 15. Auparakkitanon S, Noonpakdee W, Ralp RK, Denny WA, Walairat P. Antimalarial 9-Anilinoacridine compound directed at hematin. Antimicrob agent chemother. 2003; 47(12): 3708 - 12.
 16. Pandey AV, Bisht H, Babbarwal VK, Srivastava J, Pandey KC, Chauhan VS. Mechanism of malarial haem detoxification inhibition by chloroquine. Biochemical Journal. 2001; 355(pt 2): 333-8