

DASAR IMUNITAS PADA PROTEKSI TERHADAP MALARIA OLEH SIFAT SEL SABIT

Ronald T. H. Tambunan

Fakultas Kedokteran, Universitas Methodist Indonesia, Medan, Indonesia

Email: docrocixking@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.46880/methoda.Vol12No1.pp45-51>

ABSTRACT

Malaria resistance by the sickle cell trait (genotype HbAS) has served as the prime example of genetic selection for over half a century. Nevertheless, the mechanism of this resistance remains the subject of considerable debate. While it probably involves innate factors such as the reduced ability of Plasmodium falciparum parasites to grow and multiply in HbAS erythrocytes, recent observations suggest that it might also involve the accelerated acquisition of malaria-specific immunity. Williams et al. studied the age-specific protection afforded by HbAS against clinical malaria in children living on the coast of Kenya. They found that protection increased with age from only 20% in the first 2 y of life to a maximum of 56% by the age of 10 y, returning thereafter to 30% in participants greater than 10 y old. They suggested that malaria protection by HbAS involves the enhancement of not only innate but also acquired immunity to the parasite. A better understanding of the underlying mechanisms might yield important insights into both these processes.

Keyword: Sickle Cell Trait, HbAS, Malaria, Plasmodium Falciparum, Protection, Immunity.

ABSTRAK

Pertahanan terhadap malaria oleh sifat sel sabit (HbAS genotip) merupakan sebuah contoh sempurna dari seleksi genetik selama lebih dari setengah abad. Walaupun begitu, mekanisme dari pertahanan ini masih menjadi perdebatan. Selama ini, faktor kongenital seperti eritrosit HbAS diduga mempunyai peran dalam mereduksi kemampuan pertumbuhan dan perkembangan parasit Plasmodium falciparum, observasi terbaru menunjukkan bahwa fenomena tersebut juga berperan dalam terjadinya percepatan timbulnya imunitas spesifik malaria. Williams, dkk. meneliti proteksi yang diberikan oleh HbAS berdasarkan usia terhadap malaria pada anak-anak yang tinggal di pesisir Pantai Kenya. Mereka menemukan bahwa efek proteksi meningkat seiring dengan usia mulai dari hanya 20% pada 2 tahun pertama kehidupan sampai mencapai maksimum 56% pada usia 10 tahun, dan kemudian menetap di kadar 30% pada usia di atas 10 tahun. Proteksi terhadap parasit malaria yang diberikan oleh HbAS meliputi penguatan faktor kongenital dan faktor imunitas yang didapat. Pemahaman lebih lanjut dari mekanisme yang mendasarinya dapat memberikan pencerahan terhadap proses-proses ini.

Kata Kunci: Sifat Sel Sabit, HbAS, Malaria, Plasmodium Falciparum, Proteksi, Imunitas.

PENDAHULUAN

Sifat sel sabit/sickle cell trait (HbAS genotip) memberikan resistensi yang tinggi terhadap malaria yang berkomplikasi dan berat (Aidoo et al., 2002; Allison, 1964; Hill et al., 1991;

Willcox et al., 1983), akan tetapi mekanisme pastinya belum diketahui. Fenomena proteksi terhadap malaria diyakini berhubungan dengan perubahan biokimiawi dan fisik dari eritrosit yang mengalami mutasi HbAS mengakibatkan

tereduksinya kemampuan parasit *Plasmodium falciparum* dalam menginvasi, bertumbuh, dan berkembang pada kondisi fisiologis secara *in vitro* (Friedman, 1978; Pasvol, Weatherall, & Wilson, 1978), dan eritrosit HbAS yang terinfeksi juga mempunyai kecenderungan berbentuk seperti sabit (Friedman, 1978; Luzzatto, Nwachuku-Jarrett, & Reddy, 1970; Roth et al., 1978), sehingga mengakibatkan terjadinya destruksi prematur oleh organ limpa (Friedman, 1978; Shear et al., 1993). Walaupun faktor-faktor di atas penting, observasi terbaru memperlihatkan bahwa mekanisme proteksi tersebut juga melibatkan komponen imun.

Sebagai contoh, pada penelitian yang dilakukan di Gambia, ditemukan bahwa respon imun pada anak-anak penderita malaria *falciparum* yang eritrositnya mengalami mutasi HbAS lebih tinggi (K. Marsh, Otoo, Hayes, Carson, & Greenwood, 1989), dan juga mengalami up-regulation dari respon imun spesifik malaria yang diperantarai sel (Abu-Zeid et al., 1992; Bayoumi et al., 1990). Fakta ini mempunyai potensi yang penting, walaupun terlihat seperti sebuah fenomena sampingan, bukan sebagai efek sesungguhnya dari fenotip eritrosit mutasi HbAS. Untuk memastikan apakah proses imun terlibat dapat memberi manfaat mengenai proteksi terhadap malaria secara keseluruhan. Oleh karena itu, Williams dkk, melakukan penelitian yang mempelajari pola penyakit malaria pada usia tertentu pada anak-anak yang tinggal di pantai Kenya.

Hipotesis yang dirumuskan adalah proteksi terhadap malaria yang diberikan oleh HbAS biasanya diturunkan dari kedua orang tua, maka seharusnya faktor tersebut tidak tergantung pada pajanan malaria dan keberadaannya konstan seiring dengan usia. Sebaliknya, bila mekanisme imun terlibat, derajat proteksi seharusnya meningkat seiring usia sampai mencapai usia di mana anak-anak secara umum menjadi imun terhadap malaria secara fisiologis, yang mengakibatkan semua kemampuan imunologis tambahannya menghilang seiring dengan waktu (Williams et al., 2005).

METODOLOGI

Pasien dan Metodologi

Penelitian Williams, dkk dilakukan pada kelompok anak-anak dan dewasa yang tinggal di daerah Ngerenya dan Chonyi yang berada di Distrik Kilifi, pantai Kenya (Mwangi, 2004; Polley et al., 2004). Sampel penelitian diambil berdasarkan stratifikasi usia dengan kecenderungan pada kelompok anak-anak usia di bawah 10 tahun, antara bulan September 1998–Maret 2004. Para responden dimonitor dengan surveilans aktif terhadap kejadian klinis yang berfokus pada malaria. Anak-anak yang dilahirkan selama periode program penelitian, direkrut pada saat lahir, dan diperbolehkan keluar dari penelitian bila informed consent ditarik, bila mereka pindah ke luar area penelitian selama lebih dari 2 bulan, atau bila meninggal dunia. Tipe hemoglobin yang tersedia sejumlah 1054 dari 1075 anggota kelompok yang mengikuti survey cross-sectional yang dilakukan.

Definisi malaria yang digunakan adalah demam dengan suhu aksiler $>37,5$ °C yang dihubungkan dengan berbagai densitas parasitemia pada anak-anak di bawah usia 1 tahun atau densitas di atas 2500 parasit/ μ l pada anak-anak yang lebih tua (Mwangi, 2004). Tetapi, HbAS mempunyai efek signifikan terhadap densitas infeksi malaria, dan tidak terdapat data yang bisa mengkonfirmasi apakah definisi operasional tersebut tepat digunakan pada anak-anak tersebut. Maka, demi tujuan analisis tersebut, digunakan definisi konservatif malaria– demam yang diasosiasikan dengan hasil positif apusan darah ditemukannya bentuk aseksual parasit *P. falciparum* pada berbagai densitas. Williams dkk. memberikan terapi berupa sulphadoxine-pyrimethamine berdasarkan guideline saat itu (Williams et al., 2005).

Prosedur laboratorium dan analisis statistik

Apusan darah diwarnai dan diperiksa guna mencari parasit malaria dengan metode standar, dan tipe hemoglobin dikarakteristikan dengan elektroforesis. Setelah itu, Williams dkk. membandingkan insidensi malaria pada individu-individu dengan HbAS versus individu-individu tanpa alel sel sabit (HbAA

genotip) dengan uji regresi Poisson (dengan malaria sebagai variabel dependen) baik dengan atau tanpa penyesuaian terhadap variabel-variabel pengganggu (confounding variables) yang mengikuti: musim (didefinisikan sebagai blok-blok 90-d), area penelitian (Ngerenya atau Chonyi), kelompok etnis, dan usia (jarak interval 2 tahun sampai usia 10 tahun ke atas berada pada kelompok tertinggi seperti yang digambarkan pada tabel 1). Para responden dianggap tidak berisiko mengidap malaria dan dikeluarkan dari baik populasi numerator dan denominator selama 21 hari setelah menerima terapi obat anti-malaria selama 3 bulan pertama kehidupan (Snow et al., 1998), anak-anak usia kurang dari 3 bulan dieksklusikan dari analisis. Karena penelitian dilakukan dalam periode waktu yang panjang, di mana kebanyakan responden bisa menyumbangkan data sampai lebih dari satu strata usia.

Potensi terjadinya kejadian infeksi malaria yang bercampur pada satu individu, baik pada kelompok usia yang sama maupun berbeda, dengan menggunakan estimator “roti lapis” yang digambarkan oleh Armitage dkk (Armitage, Berry, & Matthews, 2008), yang menaikkan interval keyakinan dan nilai penyesuaian signifikan mencapai kelayakan. Kemudian, perbandingan ditampilkan sebagai incidence rate ratios (IRRs). Kemungkinan bahwa usia berperan sebagai perubah efek hubungan antara malaria dan tipe hemoglobin, diselidiki dengan membandingkan model-model baik yang

menginklusi maupun yang mengeksklusikan interaksi antara tipe hemoglobin dengan usia menggunakan uji Wald. Semua analisis dilakukan dengan STATA ver. 8.0 (StataCorp, Timberlake, London, United Kingdom) (Williams et al., 2005).

Izin etik penelitian diberikan oleh Kenya Medical Research Institute National Ethical Review Committee. Setiap responden wajib melampirkan informed consent tertulis baik secara langsung atau dari orang tua (Williams et al., 2005).

HASIL

Secara keseluruhan, mutasi HbAS mempunyai efek protektif terhadap malaria ringan hampir mencapai 40% (IRR = 0,62; interval keyakinan 95% 0,51–0,76; $p < 0,001$); tetapi, proteksi tersebut bervariasi tergantung dengan usia, mulai dari 20% sampai sekitar 60% pada 10 tahun pertama kehidupan dan turun ke sekitar 30% setelahnya (tabel 1; gambar 1). Pola serupa juga terlihat sewaktu data dari masing-masing area penelitian dianalisis secara terpisah. Walaupun Williams dkk tidak membuktikannya secara statistik, interaksi menyeluruh antara usia dan efek proteksi pada semua kelompok usia ($\chi^2_{(5)} = 6,46$; $p = 0,26$), di mana data tersebut mendukung kesan kuat mengenai proteksi yang didapat seiring dengan usia (Williams et al., 2005).

Tabel 1. Insiden Malaria berdasarkan usia dan tipe hemoglobin

Rentang usia	Genotip	Jumlah responden ^a	Follow-up anak berdasar kan tahun	Jumlah episode malaria ^b	Insiden malaria ^c	IRR ^d (Interval keyakinan 95%)	p-Value
Keseluruhan	AA	892	1958,2	3189	1,74	1,00	
	AS	162	354,4	362	1,07	0,62 (0,51–0,76)	<0,001
0,25–2	AA	302	290,9	439	1,99	1,00	
	AS	52	51,4	63	1,52	0,81 (0,53–1,24)	0,337
2–4	AA	417	331,4	704	2,12	1,00	
	AS	73	56,7	82	1,45	0,69 (0,50–0,95)	0,024
4–6	AA	423	318,4	694	2,18	1,00	
	AS	81	58,4	75	1,28	0,63 (0,46–0,85)	0,003
6–8	AA	361	273,8	515	1,88	1,00	

	AS	82	59,3	56	0,94	0,50 (0,36–0,69)	<0,001
8–10	AA	275	190,9	309	1,61	1,00	
	AS	62	42,4	28	0,66	0,45 (0,30–0,67)	<0,001
≥10 ^c	AA	283	552,8	528	0,96	1,00	
	AS	48	86,0	58	0,67	0,73 (0,51–1,05)	0,086

^a Penelitian Williams dkk merupakan penelitian kohort longitudinal, sehingga seluruh responden memberikan data lebih dari satu strata usia

^b Definisi terdapat di dalam artikel

^c Jumlah insiden secara kasar malaria per individu per tahun berdasarkan observasi

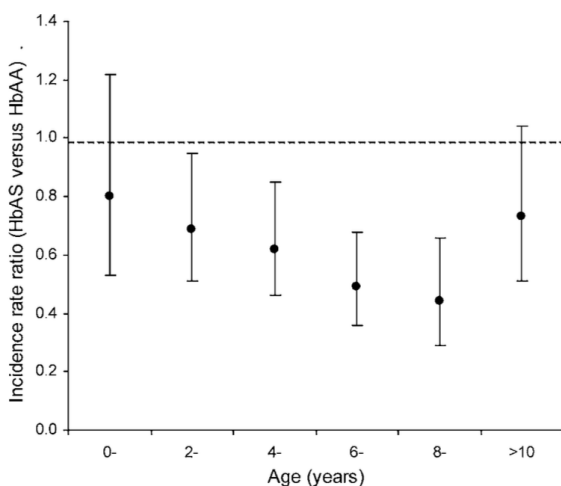
^d Penyesuaian IRR malaria pada individu dengan HbAS dibandingkan dengan HbAA dikalkulasi per individu pada setiap strata usia menggunakan uji regresi Poisson yang meliputi sebaran variabel perancu, area penelitian, kelompok usia, dan penggunaan kelambu. Interval keyakinan dan nilai signifikansi disesuaikan guna mencatat sebaran kejadian malaria menggunakan estimator “roti lapis” sebagaimana digambarkan oleh Armitage dkk¹⁶

^e Seluruh responden berusia di atas 10 tahun dianggap sudah imun secara fungsional dan dimasukkan ke dalam kategori tersendiri. Kelompok ini terdiri dari responden berusia 10–84 tahun

Sumber: (Williams et al., 2005)

DISKUSI

Mekanisme mutasi HbAS dalam memberikan proteksi terhadap malaria telah menjadi subyek spekulasi selama lebih dari 50 tahun. Diyakini hal tersebut kemungkinan berhubungan dengan karakteristik dari eritrosit HbAS, di mana sejumlah penelitian menyimpulkan bahwa HbAS memungkinkan peningkatan kemampuan mendapatkan imunitas natural (Cornille-Brøgger, Fleming, Kagan, Matsushima, & Molineaux, 1979; Edozien, Boyo, & Morley, 1960; Guggenmoos-Holzmann, Bienzle, & Luzzatto, 1981; K. Marsh et al., 1989); tetapi hal ini sulit untuk dipastikan karena imunitas pada malaria sukar untuk diukur (Williams et al., 2005).



Sumber: (Williams et al., 2005)

Gambar 1. IRR Malaria pada Kelompok Anak Hbas Dan Hbaa Berdasarkan Usia dan Kelompok Genotip

Saat ini, tidak ada respon imun yang telah dideskripsikan yang dapat memprediksi imunitas protektif. Sebagai hasilnya, imunitas terhadap malaria biasanya didefinisikan sebagai kemampuan untuk mengendalikan infeksi baru pada sebuah level di mana infeksi tersebut tidak akan mencapai ambang batas klinis. Williams, dkk menyimpulkan bahwa cara terbaik untuk menemukan apakah proteksi terhadap malaria yang diberikan mutasi HbAS meliputi komponen imun yang signifikan adalah dengan melihat apakah efek proteksi bervariasi seiring dengan usia.

Berdasarkan penelitian kohort yang pernah dilakukan, pengambilan sampelnya menggunakan pendekatan potong lintang (cross-sectional) ketimbang menggunakan pemantauan aktif untuk melihat fenomena klinis. Selain itu, penelitian-penelitian sebelumnya yang menyelidiki insiden malaria ringan spesifik genotip (Jakobsen et al., 1991; Le Hesran et al., 1999; Lell et al., 1999; K. Marsh et al., 1989; Stirnadel et al., 1999), pada umumnya menggunakan jumlah subyek yang terlalu sedikit, kelompok usia yang kurang bervariasi, atau dilakukan pada periode waktu yang terlalu singkat, sehingga pertanyaan-pertanyaan yang muncul menjadi sukar untuk diselesaikan. Penelitian Williams, dkk adalah penelitian pertama yang mengobservasi efek proteksi mutasi HbAS yang menggunakan subyek dari kelompok usia yang luas, di mana proteksi yang diberikan mutasi HbAS meningkat pada 10

tahun pertama kehidupan, dan menurun sampai ke dasar setelahnya. Walaupun kemungkinan hal tersebut bisa saja terjadi akibat dari berbagai faktor yang mempengaruhi risiko malaria dan variasi usia, kemampuan akuisisi imunitas yang cepat adalah sebuah penjelasan yang paling logis (Williams et al., 2005).

Jadi bagaimana mutasi HbAS dapat mengakselerasi akuisisi imunitas spesifik malaria? Sejumlah mekanisme diusulkan. Pada umumnya seperti banyak ditemukan pada defek genetik eritrosit jenis lain, tampak adanya peningkatan aktifitas fagositosis eritrosit yang mengalami HbAS yang terinfeksi *P. falciparum* tahap cincin secara *in vitro* (Ayi, Turrini, Piga, & Arese, 2004), sebuah proses yang terlihat dimediasi oleh sebuah mekanisme dasar yang sama dengan proses fagositosis eritrosit normal yang mengalami kerusakan atau eritrosit yang sudah tua. Data eksperimental menunjukkan bahwa proses tersebut diinisiasi oleh peningkatan kerusakan oksidan pada membran eritrosit yang mengakibatkan terjadinya agregasi band 3 protein dan ikatan IgG autolog dan komplemen (Ayi et al., 2004), mekanisme yang sama dengan yang ditemukan sebelumnya pada talasemia α (Williams, Weatherall, & Newbold, 2002). Maka dari itu, sangat masuk akal bahwa peningkatan imunitas mungkin saja terjadi oleh karena adanya mediasi yang mempercepat munculnya antibodi terhadap perubahan ekspresi antigen hospes pada permukaan eritrosit yang terinfeksi parasit, seperti band 3 protein (Hebbel, 2003). Sebaliknya, protein turunan parasit seperti variasi antigen permukaan *P. falciparum* erythrocyte membrane protein-1 (PfEMP1) mungkin saja berperan sebagai target alternatif, sebuah hipotesis yang didukung oleh peningkatan titer antibodi terhadap variasi antigen yang terlihat pada anak-anak yang mengalami mutasi HbAS yang tinggal di Gambia (K. Marsh et al., 1989).

Selain itu, terdapat penjelasan mengenai adanya kemungkinan bahwa adanya pengendalian densitas parasit saat infeksi malaria terjadi proses-proses yang bersifat alamiah yang mungkin saja secara paradoks meningkatkan kronisitas infeksi pada seseorang (Roberts & Williams, 2003). Hipotesis ini

didukung oleh banyaknya jumlah strain parasit *P. falciparum* yang ditemukan pada anak-anak yang HbAA maupun HbAS pada survei potong lintang (Ntoumi et al., 1997). Dengan meningkatnya durasi infeksi malaria pada mutasi HbAS, maka terjadi sebuah paradoks pada pajanan variasi antigen parasit terhadap hospes yang memungkinkan terangsangnya imunitas spesifik malaria. Untuk menentukan mekanisme mana yang terlibat dalam hal ini memerlukan pemahaman yang lebih lanjut mengenai imunitas pada malaria (Williams et al., 2005).

Titik berat penelitian Williams, dkk adalah pada klinis malaria ringan. Agar percepatan imunitas spesifik malaria relevan pada mutasi HbAS, maka penelitian harus dilakukan pada saat periode risiko maksimum terjadinya malaria yang berat dan fatal. Di Kilifi, risiko terbesar adalah pada kelompok anak-anak usia di bawah 5 tahun (Kevin Marsh et al., 1995). Sangat jelas dari penelitian sebelumnya di wilayah barat Kenya bahwa mutasi HbAS mempunyai efek proteksi yang kuat melawan malaria berat dan fatal pada kelompok anak-anak usia seperti disebutkan di atas (Aidoo et al., 2002); akan tetapi, proteksi tersebut hanya terlihat pada pada kelompok anak-anak usia 2–16 bulan. Williams dkk menduga bahwa hal ini terjadi oleh karena adanya proteksi yang didapatkan dari ibu melalui transfer imunoglobulin yang kemudian diikuti dengan munculnya imunitas setelah usia 16 bulan; tetapi, data mengenai pengaruh usia terhadap hal tersebut tidak tersedia, oleh karena penelitian tersebut tidak dirancang cukup kuat untuk menjawab pertanyaan tersebut. Relevansi hasil observasi Williams dkk pada kasus klinis malaria ringan dengan efek proteksi mutasi HbAS terhadap malaria berat dan fatal masih belum diketahui (Williams et al., 2005).

KESIMPULAN

Walaupun imunitas terhadap malaria berat muncul lebih cepat secara signifikan dibandingkan pada kasus ringan, determinan-determinan yang mempengaruhinya belum dapat dipahami sepenuhnya. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai peranan mutasi HbAS pada proses pembentukan imunitas pada malaria yang lebih lanjut (Williams et al., 2005).

DAFTAR PUSTAKA

- Abu-Zeid, Y. A., Abdulhadi, N. H., Theander, T. G., Hviid, L., Saeed, B. O., Jepsen, S., ... Bayoumi, R. A. (1992). Seasonal changes in cell mediated immune responses to soluble Plasmodium falciparum antigens in children with haemoglobin AA and haemoglobin AS. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 86(1), 20–22. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(92\)90422-9](https://doi.org/10.1016/0035-9203(92)90422-9)
- Aidoo, M., Terlouw, D. J., Kolczak, M. S., McElroy, P. D., ter Kuile, F. O., Kariuki, S., ... Udhayakumar, V. (2002). Protective effects of the sickle cell gene against malaria morbidity and mortality. *The Lancet*, 359(9314), 1311–1312. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)08273-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)08273-9)
- Allison, A. C. (1964). Polymorphism and Natural Selection in Human Populations. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 29, 137–149. <https://doi.org/10.1101/SQB.1964.029.01.018>
- Armitage, P., Berry, G., & Matthews, J. N. S. (2008). *Statistical methods in medical research*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Ayi, K., Turrini, F., Piga, A., & Arese, P. (2004). Enhanced phagocytosis of ring-parasitized mutant erythrocytes: a common mechanism that may explain protection against falciparum malaria in sickle trait and beta-thalassemia trait. *Blood*, 104(10), 3364–3371. <https://doi.org/10.1182/blood-2003-11-3820>
- Bayoumi, R. A., Abu-Zeid, Y. A., Abdulhadi, N. H., Saeed, B. O., Theander, T. G., Hviid, L., ... Jensen, J. B. (1990). Cell-mediated immune responses to Plasmodium falciparum purified soluble antigens in sickle-cell trait subjects. *Immunology Letters*, 25(1–3), 243–249. [https://doi.org/10.1016/0165-2478\(90\)90122-7](https://doi.org/10.1016/0165-2478(90)90122-7)
- Cornille-Brøgger, R., Fleming, A. F., Kagan, I., Matsushima, T., & Molineaux, L. (1979). Abnormal haemoglobins in the Sudan savanna of Nigeria. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 73(2), 173–183. <https://doi.org/10.1080/00034983.1979.11687244>
- Edozien, J. C., Boyo, A. E., & Morley, D. C. (1960). The Relationship Of Serum Gamma-Globulin Concentration To Malaria And Sickling. *Journal of Clinical Pathology*, 13(2), 118–123. <https://doi.org/10.1136/jcp.13.2.118>
- Friedman, M. J. (1978). Erythrocytic mechanism of sickle cell resistance to malaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 75(4), 1994–1997. <https://doi.org/10.1073/pnas.75.4.1994>
- Guggenmoos-Holzmänn, I., Bienzle, U., & Luzzatto, L. (1981). Plasmodium Falciparum Malaria and Human Red Cells. II. Red Cell Genetic Traits and Resistance Against Malaria. *International Journal of Epidemiology*, 10(1), 16–22. <https://doi.org/10.1093/ije/10.1.16>
- Hebbel, R. P. (2003). Sickle hemoglobin instability: a mechanism for malarial protection. *Redox Report*, 8(5), 238–240. <https://doi.org/10.1179/135100003225002826>
- Hill, A. V. S., Allsopp, C. E. M., Kwiatkowski, D., Anstey, N. M., Twumasi, P., Rowe, P. A., ... Greenwood, B. M. (1991). Common West African HLA antigens are associated with protection from severe malaria. *Nature*, 352(6336), 595–600. <https://doi.org/10.1038/352595a0>
- Jakobsen, P. H., Riley, E. M., Allen, S. J., Larsen, S. O., Bennett, S., Jepsen, S., & Greenwood, B. M. (1991). Differential antibody response of Gambian donors to soluble Plasmodium falciparum antigens. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 85(1), 26–32. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(91\)90141-K](https://doi.org/10.1016/0035-9203(91)90141-K)
- Le Hesran, J. Y., Personne, I., Personne, P., Fievet, N., Dubois, B., Beyeme, M., ... Deloron, P. (1999). Longitudinal study of Plasmodium falciparum infection and immune responses in infants with or without the sickle cell trait. *International Journal of Epidemiology*, 28(4), 793–798. <https://doi.org/10.1093/ije/28.4.793>
- Lell, B., May, J., Schmidt-Ott, R. J., Lehman, L. G., Luckner, D., Greve, B., ... Kremsner, P. G. (1999). The Role of Red Blood Cell Polymorphisms in Resistance and Susceptibility to Malaria. *Clinical Infectious Diseases*, 28(4), 794–799. <https://doi.org/10.1086/515193>
- Luzzatto, L., Nwachuku-Jarrett, E. S., & Reddy, S. (1970). Increased Sickling Of Parasitised Erythrocytes As Mechanism

- Of Resistance Against Malaria In The Sickle-Cell Trait. *The Lancet*, 295(7642), 319–322. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(70\)90700-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(70)90700-2)
- Marsh, K., Otoo, L., Hayes, R. J., Carson, D. C., & Greenwood, B. M. (1989). Antibodies to blood stage antigens of *Plasmodium falciparum* in rural Gambians and their relation to protection against infection. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 83(3), 293–303. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(89\)90478-1](https://doi.org/10.1016/0035-9203(89)90478-1)
- Marsh, Kevin, Forster, D., Waruiru, C., Mwangi, I., Winstanley, M., Marsh, V., ... Snow, R. (1995). Indicators of Life-Threatening Malaria in African Children. *New England Journal of Medicine*, 332(21), 1399–1404. <https://doi.org/10.1056/NEJM199505253322102>
- Mwangi, T. W. (2004). *Clinical epidemiology of malaria under differing levels of transmission* (The Open University). <https://doi.org/10.21954/ou.ro.0000e823>
- Ntoumi, F., Mercereau-Puijalon, O., Ossari, S., Luty, A., Reltien, J., Georges, A., & Millet, P. (1997). *Plasmodium falciparum*: Sickle-Cell Trait Is Associated with Higher Prevalence of Multiple Infections in Gabonese Children with Asymptomatic Infections. *Experimental Parasitology*, 87(1), 39–46. <https://doi.org/10.1006/expr.1997.4173>
- Pasvol, G., Weatherall, D. J., & Wilson, R. J. M. (1978). Cellular mechanism for the protective effect of haemoglobin S against *P. falciparum* malaria. *Nature*, 274(5672), 701–703. <https://doi.org/10.1038/274701a0>
- Polley, S. D., Mwangi, T., Kocken, C. H. M., Thomas, A. W., Dutta, S., Lanar, D. E., ... Marsh, K. (2004). Human antibodies to recombinant protein constructs of *Plasmodium falciparum* Apical Membrane Antigen 1 (AMA1) and their associations with protection from malaria. *Vaccine*, 23(5), 718–728. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2004.05.031>
- Roberts, D. J., & Williams, T. N. (2003). Haemoglobinopathies and resistance to malaria. *Redox Report*, 8(5), 304–310. <https://doi.org/10.1179/135100003225002998>
- Roth, E. F., Friedman, M., Ueda, Y., Tellez, I., Trager, W., & Nagel, R. L. (1978). Sickling Rates of Human as Red Cells Infected in Vitro with *Plasmodium falciparum* Malaria. *Science*, 202(4368), 650–652. <https://doi.org/10.1126/science.360396>
- Shear, H., Roth, E. J., Fabry, M., Costantini, F., Pachnis, A., Hood, A., & Nagel, R. (1993). Transgenic mice expressing human sickle hemoglobin are partially resistant to rodent malaria. *Blood*, 81(1), 222–226. <https://doi.org/10.1182/blood.V81.1.222.222>
- Snow, R. W., Nahlen, B., Palmer, A., Donnelly, C. A., Gupta, S., & Marsh, K. (1998). Risk of Severe Malaria among African Infants: Direct Evidence of Clinical Protection during Early Infancy. *The Journal of Infectious Diseases*, 177(3), 819–822. <https://doi.org/10.1086/517818>
- Stirnadel, H. A., StÅ¶ckle, M., Felger, I., Smith, T., Tanner, M., & Beck, H. (1999). Malaria infection and morbidity in infants in relation to genetic polymorphisms in Tanzania. *Tropical Medicine & International Health*, 4(3), 187–193. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.1999.43381.x>
- Willcox, M., Björkman, A., Brohult, J., Pehrson, P.-O., Rombo, L., & Bengtsson, E. (1983). A case-control study in northern Liberia of *Plasmodium falciparum* malaria in haemoglobin S and β -thalassaemia traits. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 77(3), 239–246. <https://doi.org/10.1080/00034983.1983.11811704>
- Williams, T. N., Mwangi, T. W., Roberts, D. J., Alexander, N. D., Weatherall, D. J., Wambua, S., ... Marsh, K. (2005). An Immune Basis for Malaria Protection by the Sickle Cell Trait. *PLoS Medicine*, 2(5), e128. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0020128>
- Williams, T. N., Weatherall, D. J., & Newbold, C. I. (2002). The membrane characteristics of *Plasmodium falciparum* -infected and -uninfected heterozygous α 0 thalassaemic erythrocytes. *British Journal of Haematology*, 118(2), 663–670. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2002.03610.x>