

## گلوتاتیون ترانسفرازها و مقاومت به حشره‌کش‌ها در حشرات ناقل بیماری‌ها

\*احمد علی عنایتی (Ph.D.)

### چکیده

گلوتاتیون ترانسفرازها (GST) خانواده متنوعی از آنزیم‌ها هستند که در همه جانداران هوازی یافت می‌شوند. این آنزیم‌ها در خثی‌سازی طیف وسیعی از مواد سمی درون زاد و برون زاد از جمله حشره‌کش‌ها نقش اساسی دارند. همچنین در نقل و انتقال داخل سلولی، تولید هورمون‌ها و محافظت در مقابل استرس‌های اکسیدانی موثر می‌باشند. توجه به GST‌ها حشره‌کش‌ها را یا به وسیله تسهیل حشرات اساساً به دلیل اهمیت آن‌ها در مقاومت به حشره‌کش‌ها بوده است. GST‌ها حشره‌کش‌ها را یا به وسیله تسهیل واکنش دهی دهیدروکلریناسیون کاهشی و یا پیوند مواد سمی با گلوتاتیون احیاء شده، دگرگون می‌کنند که این موضوع باعث تولید متابولیت‌هایی می‌شود که حلالیت بیشتری در آب داشته و به راحتی دفع می‌شوند. به علاوه آن‌ها در دفع انواع رادیکال‌های سمی بدون اکسیژنی که در جریان فعالیت حشره‌کش‌ها به وجود می‌آیند، نقش دارند. با مشخص شدن ژن‌های آنوفل گامبیه و مگس سرکه (دروزوفیلا ملانوگاستر) گستره کامل این خانواده از آنزیم‌ها در حشرات آشکار شد. در این مقاله مروری، جنبه‌های مختلف آنزیم‌های گلوتاتیون ترانسفراز و نقش آن‌ها در مقاومت به حشره‌کش‌ها به اختصار مورد بررسی قرار می‌گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** گلوتاتیون ترانسفرازها، مقاومت به حشره‌کش‌ها، حشرات

### مقدمه

عمل نکرده بلکه نقشی که کوآنزیم را بازی می‌کند<sup>۱</sup>). گلوتاتیون ترانسفرازها در همه گیری‌شناسی سرطان و مقاومت به داروه ابیار مهم هستند<sup>(۲-۶)</sup>. لذا در پستانداران به خوبی مورد مطالعه قرار گرفتند. بسیاری از مطالعات انجام شده بر گلوتاتیون ترانسفرازهای حشرات به نقش آن‌ها در تجزیه و خثی‌سازی ترکیبات خارجی به ویژه حشره‌کش‌ها، سوم گیاهی و نیز اخیراً استرس‌های ناشی از اکسیدانتهایی مثل حشره‌کش‌های پیترونیک می‌پردازند<sup>(۷-۱۰)</sup>.

گلوتاتیون ترانسفرازها (GST) خانواده بزرگی از آنزیم‌های چند منظوره هستند که در خثی‌سازی طیف وسیعی از مواد سمی خارجی از جمله حشره‌کش‌ها نقش دارند<sup>(۱)</sup>. این آنزیم‌ها اساساً واکنش پیوند بین ترکیبات الکترون دوست با گروه تیول مولکول گلوتاتیون احیاء شده را تسهیل می‌کنند. این عمل معمولاً قابلیت اتحال در آب و دفع شدن محصول واکنش را بیشتر می‌کند<sup>(۲-۴)</sup>. به علاوه تعدادی از آنزیم‌های گلوتاتیون ترانسفراز، واکنش دهیدروکلریناسیون را تسهیل می‌کنند که در آن گلوتاتیون احیاء شده به عنوان یک کوئنزوگه

\* دکترای حشره‌شناسی پزشکی، عضو هیأت علمی (استادیار) دانشگاه علوم پزشکی مازندران

تاریخ دریافت: ۱۳۸۴/۱۱/۱۳ تاریخ تصویب: ۱۳۸۴/۱/۲۴

نسخه برداری، دو نسخه متفاوت از ژن بوجود می آید (۲۷). بر عکس رده II، گلوتاتیون ترانسفرازهای رده I در حشرات به وسیله یک خانواده چند ژنی در آنوفل گامبیه، مگس سرکه و مگس خانگی کد می شوند (۱۹، ۲۸، ۲۹).

هم زمان با افزایش اطلاعات مربوط به ترتیب و توالی DNA در حشرات، GSTهای دیگری کشف شدند که به خوبی در رده های I و II گلوتاتیون ترانسفراز پستانداران قرار نمی گرفتند، بنابراین از حروف یونانی برای نام گذاری رده های این آنزیم ها استفاده شد (۳۰). مقایسه فیلورئتیک ژن های گلوتاتیون ترانسفراز رده II حشرات و پستانداران نشان داد که رده II حشرات معادل رده سیگما می باشد که در گونه های بسیار متفاوتی از نمادها تا پستانداران وجود دارند (۳۱). در مقابل، رده I GST مختص حشرات بوده و بر اساس راهنمای نام گذاری گلوتاتیون ترانسفرازها رده دلتا نامیده می شود. رده بزرگ دیگری از گلوتاتیون ترانسفرازها به نام رده اپسیلون نیز فقط در حشرات یافت می شود (۱۳). این دو رده از گلوتاتیون ترانسفرازها به طور مستقل در مگس سرکه و آنوفل گامبیه تکامل و گسترش پیدا کردند که این موضوع بیانگر نقش مهم این آنزیم ها در سازش این حشرات با بحراهنای زیستی می باشد (۱۹).

عمده باقی مانده گلوتاتیون ترانسفرازهای محلول حشرات اعضاء رده های زتا، تتاو امگا می باشدند (۱۹، ۳۳). درجه نسبتا بالای ثبات در ژن های گلوتاتیون ترانسفرازها در جانداران مختلف بیانگر این است که آنها نقش بسیار مهمی در یک مسیر فیزیولوژیک ثابت و یکسان دارند. در مجموعه GSTهای محلول در سیتوپلاسم کشف شده آنوفل گامبیه سه زن GSTu1، GSTu2، GSTu3 وجود دارد که به آسانی در رده های موجود قرار نمی گیرد. آنها کم تراز ۴۰ درصد شباهت با سایر GSTهای حشرات داشته

رده بندی و نامگذاری:

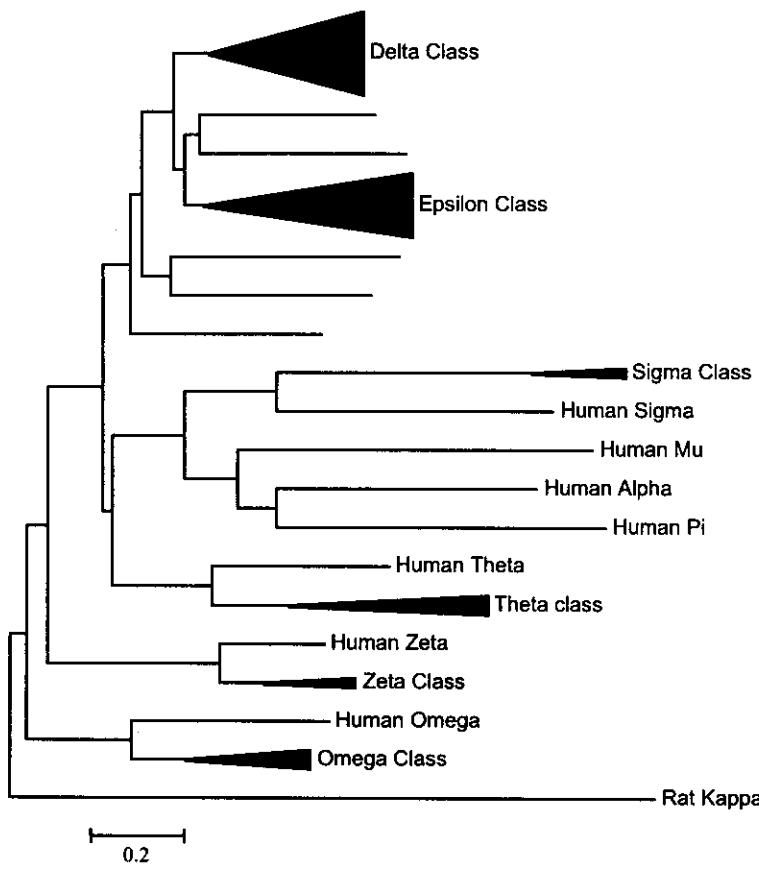
حداقل دو گروه بزرگ گلوتاتیون ترانسفراز وجود دارد که قرابت دوری با هم داشته و بر اساس موقعیت و قرار گرفتن آنها در داخل سلول به نام های گلوتاتیون ترانسفراز میکروزومی و محلول خوانده می شوند. گروه سومی از این آنزیم ها به نام رده کاپا در می توکندری ها و پراکسیزوم ها شناسایی شده اند (۱۷، ۱۶) که از نظر ساختار با گلوتاتیون ترانسفرازهای میکروزومی و محلول در سیتوپلاسم متفاوت هستند (۱۸). تاکنون هیچ آنژی می از این رده در حشرات شناسایی نشده است.

تنها یک ژن گلوتاتیون ترانسفراز میکروزومی در ژنوم مگس سرکه وجود دارد، در حالی که در ژنوم آنوفل گامبیه سه ژن شناسایی شده است (۱۹). گلوتاتیون ترانسفرازهای میکروزومی پروتئین های سه قسمتی و چسییده به غشاء می باشند. اگر چه گلوتاتیون ترانسفرازهای میکروزومی با انواع محلول از نظر منشاء و ساختمان بسیار متفاوت هستند، آنها یک نوع واکنش را تسهیل می کنند (۲۰، ۲۱). گلوتاتیون ترانسفرازهای میکروزومی در متابولیسم حشره کش ها نقش چندانی ندارند، بنابراین در این مقاله بیش از این در مورد آنها بحث نمی شود.

گلوتاتیون ترانسفرازهای محلول حشرات ابتداء بر اساس ترتیب خروج از روش های مختلف جداسازی و خالص سازی نظیر کروماتوگرافی و یا نقطه ایزو والکتریک شماره گذاری شدن (۲۲، ۲۳). متعاقباً از نظر اینمی شناسی دو رده گلوتاتیون ترانسفراز در مگس های خانگی مورد شناسایی قرار گرفته و به نام های رده I و رده II خوانده شدن (۴). گلوتاتیون ترانسفرازهای رده II در همه حشرات به وسیله یک ژن تولید می شوند (۲۴). اگر چه بر اثر بررش و دوزش های بعد از

نشده (unclassified, u) نام گذاری شده است. ارتباط فیلوزنوتیک رده های مختلف گلوتاتیون ترانسفرازها در شکل شماره ۱ نشان داده شده است.

و به طور فیزیکی از زن سایر اعضاء خانواده GST روی کروموزوم های پشه ها جدا هستند (۲۷). این زن هاممکن است رده جدیدی از GST را مشخص کند، ولی در حال حاضر به طور موقت به عنوان انواع رده بندی



**نمودار شعارة ۱:** درخت فیلوزنوتیک نشان دهنده روابط بین نماینده رده های GST حشرات و پستانداران. ترتیب یابی اسیدهای امینه GST های محلول در سی توبلاسم *Drosophila melanogaster* و *Anopheles gambiae* با نماینده های رده های مربوط به پستانداران به وسیله نرم افزار ClustalW همتراز شده است.

از آن جداسازی شده است و نیز رده آنزیم نام گذاری می شود. شماره هایی نیز به آنها داده می شود که نشان دهنده ترتیب کشف آنها است؛ به عنوان مثال دوازدهمین آنزیم آنوفل گامبیه از رده دلتا AgGSTd12

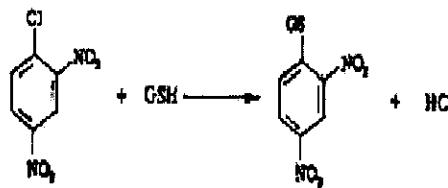
رده بندی آنزیم های گلوتاتیون ترانسفراز در پستانداران مورد بازنگری قرار گرفت تا در بر گیرنده گلوتاتیون ترانسفراز های حشرات نیز بشود (۳۰). بنابراین هر یک از زن های گلوتاتیون ترانسفراز به نام گونه ای که

## فعالیت می کنند و ساختمان چهارم آنها در فعالیتشان

بسیار مهم است (۳۵).

نحوه عملکرد آنزیم GST.

در هر واکنش پیوند به وسیله GST، یک مولکول از گلوتاتیون احیاء شده (GSH) و یک مولکول از سوستراپ دوم که ععمولاً ترکیبی ((چربی دوست)) است، با هم ادغام شده و تشکیل یک تیواستر را می دهند برای انجام این واکنش‌ها ابتدا گروه تیول GSH فعال می شود و سپس به صورت یک ((هسته دوست)) به سوستراپ چربی دوست حمله می کند (۳۶). این واکنش نقاط الکترون دوست ترکیبات چربی دوست را خنثی کرده و بدین وسیله تشکیلات سلولی نظری اکسیژن و نیتروژن DNA را از حملات مواد هسته دوست محافظت می کند. واکنش پیوند بین GSH و سوستراپ مدل ۱- کلرو ۲- دی نیترو بنز (CDNB) در شکل شماره ۲ نشان داده شده است.



شکل شماره ۲: واکنش پیوند بین ۱- کلرو ۲- دی نیترو بنز (CDNB) و گلوتاتیون احیاء شده که به وسیله آنزیم GST تهییل می شود.

GSTها دارای تسامیل و واپستگی شدید به GSH هستند و از آن جایی که این ماده با غلظت بالا در داخل سلول وجود دارد، می توان نتیجه گرفت که محل اتصال آب گریز و متغیر H که با مواد الکترون دوست، واکنش سولفیدریل GSH واکنش داده و آن را فعال می سازد. در اغلب GSTها پستانداران، اسیدامینه محل فعال یک

می باشد. انتشار رده‌های مختلف گلوتاتیون ترانسفراز در حشرات و سایر جانوران در جدول شماره ۱ خلاصه شده است.

جدول شماره ۱: خلاصه رده‌های GST در حشرات

رده	انبار	تعداد نسله های مورد تبریز مر	تعداد نسله های مورد قبول در <i>A. gambiae</i>	تعداد حشرات	GST	
					تعداد حشرات	قط حشرات
<i>L. cuprina</i> , <i>M. domesticus</i> , <i>N. lugens</i> , <i>C. varipennis</i>	۱۱			۱۰		
<i>D. melanogaster</i>						
<i>P. xylosteana</i> , <i>M. sexta</i> , <i>M. domestica</i>	۱۴	۸		۷	۷	Epsilon
		۰	۱	۰	۰	Omega
	۱	۷		۷	۷	Theta
<i>M. domestica</i> , <i>B. germanica</i> , <i>C. fumiferana</i> , <i>M. sexta</i>	۱	۱		۱	۱	Sigma
		۰	۰	۰	۰	Zeta
	۰	۰	۰	۰	۰	

## ساختار آنزیم:

GSTها محلول در سیتوپلاسم پروتئین‌های دو قسمتی یکسان یا غیر یکسان، دارای وزن مولکولی حدود ۲۰kDa می باشد. زنجیره پلی پیتیدی هر قسمت به صورت دو بخش تا می خورد که به وسیله یک ناحیه اتصال دهنده متغیر بهم متصل می شوند. ناحیه انتهای N آنزیم (اسید امینه ۱-۱۰۰) مرکب از چهار صفحه بتا و سه مارپیچ آلفا می باشد که ساختاری شبیه ناحیه احیاء کننده سولفور دارد که در اغلب پروتئین‌هایی که با GSH یا سیستین پیوند می یابند، یافت می شود (۳۶). اغلب اسیدهای امینه ای که در این ناحیه قرار دارند در اتصال و پیوند با GSH نقش دارند. ناحیه بزرگتر پایانه C از تعداد متغیری از مارپیچ آلفا تشکیل شده است. قسمت آب گریز و متغیر H که با مواد الکترون دوست، واکنش می دهد عمده ای از اسیدهای امینه این ناحیه تشکیل شده است. قسمت‌های فعال هر بخش از آنزیم به طور مستقل

### تنظیم بیان ژن GST

در گونه‌های جانوری غیر حشره، اغلب آنزیم‌های GST در برابر محرک‌ها و عوامل محیطی مختلف در بافت‌ها و مراحل رشد مختلف به طور متفاوتی پاسخ می‌دهند و یا ناظر می‌یابند. یک چنین طرح پیچیده‌ای از تنظیم بیان ژن در حشرات نیز مورد انتظار می‌باشد. دو مقاله مژوی تأثیر رژیم‌های مختلف غذایی، حشره‌کش‌ها و محرک‌های آزمایشگاهی را در بیان عمومی GST مورد بررسی قرار دادند (۱۱، ۴۰)، اکنون که گستره کامل خانواده GST در آنوفل گامبیه و مگس سرکه مشخص شده است، مطالعات اختصاصی تری برای تعیین عوامل تنظیم کننده تک تک ژن‌های GST مورد نیاز است. در طول مراحل مختلف زندگی حشرات، سطوح و مقادیر فعالیت GST متفاوت است؛ به عنوان مثال در آندس اجیپتی، مقدار کل فعالیت آنزیم با سویستراهای (CDNB) 1-chloro 2,4 dinitrobenzene (DCNB) در مراحل لاروی و dichloronitrobenzene افزایش یافته در مرحله شفیرگی به حداقل خود رسیده و در مرحله بلوغ با افزایش سن کاهش می‌یابد (۴۲). در یک مطالعه مقدماتی بر روی الگوی بیان GST‌های آنوفل گامبیه مشخص شده که رونوشت‌های همه ژن‌های GST به جز یکی، در بالع یک روزه وجود دارد (۲۷).

مطالعه‌ای در زمینه اندازه گیری سطح بیان GST در مراحل مختلف زندگی آنوفل گامبیه به عمل نیامده است، ولی بر اساس مطالعات انجام شده در حشرات دیگرمی توان گمانه زنی کرد که سطوح آنزیم‌های مختلف در طول زندگی یک حشره تغییرات زیادی می‌کند، به عنوان مثال GST سیگما در کرم جوانه *Choristoneura fumiferana* صنوب‌یابان علمی می‌کند، در مرحله فعال و تغذیه کننده لاروی به مقادیر خیلی کم بیان می‌یابد (۴۳).

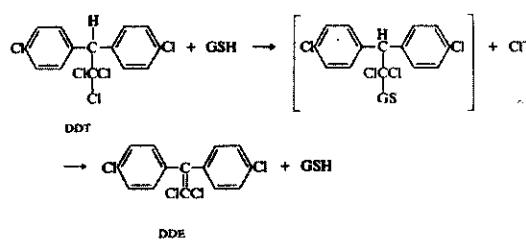
تیروزین می‌باشد (۳۷)، اما در GST رده‌های دلتا و اپسیلون در حشرات این نقش را اسید امینه سرین به عهده دارد (۳۴).

### سازمان ژنی

تنوع واکنش‌هایی که به وسیله GST‌ها تسهیل می‌شود ناشی از سویستراویزگی وسیع اغلب این آنزیم‌ها و طبیعت وسیع ابرخانواده GST می‌باشد. در حشرات، نسخه‌برداری ژن، به خصوص در رده‌های مختص حشرات دلتا و اپسیلون، باعث گسترش خانواده GST شده است. از آنجایی که جانشینی تعداد محدودی اسید امینه می‌تواند اثرات شکرگی بر سویسترا ویژگی آنزیم‌ها داشته باشد (۳۸)، فرایند نسخه‌برداری، ایجاد تنوع و گزینش می‌تواند راز فهرست بلند واکنش‌هایی که به وسیله GST‌ها تسهیل می‌شوند را بازگو کند (۱۹).

تنوع افزون‌تر GST‌ها به وسیله برش و دوزش‌های متناوب در آنوفل‌ها و ترتیب‌های مجدد ژنتیکی که منجر به ادغام ژن‌ها در مگس خانگی می‌شود، به وجود می‌آید. دو ژن GST در آنوفل گامبیه به صورت متناوب برش و دوزش می‌شوند؛ بدین صورت که چهار پیشید مختلف با خواص کاتالیتیک متفاوت از ژن AgGSTD1 مربوط به رده دلتا به وجود می‌آیند (۳۹) و دو رونوشت دارای دو اگزون<sup>۵</sup> مشابه و دو اگزون<sup>۳</sup> متفاوت از یک ژن مربوط به رده سیگما به دست می‌آید (۲۷)، ژنوم مگس خانگی شامل تعداد زیادی ژن‌های بدون اینترونی است که GST‌های رده دلتا را بوجود در می‌آورند که بعضی از آن‌ها به نظر می‌رسد که در اثر ادغام انتهای‌های ۵ و ۳ ژن‌های GST رده دلتا به وجود آمده باشند. این موضوع مشخص نیست که آیا همه این ژن‌های GST پرتبین‌های عملیاتی تولید می‌کنند ولی به نظر می‌رسد که یک مکانیسم نوترکیب نادر، مسؤول تنوع GST‌ها در این گونه می‌باشد (۲۸).

GST می باشد که این افزایش می تواند ناشی از تکثیر ژن و یا افزایش در شدت نسخه برداری از تعداد اولیه ژن باشد، در هر حال تغییر کیفی در آنزیم غیر محتمل است (۴۹،۱۲). دهیدروکلریناسیون، یک مکانیسم مهم خنثی سازی ددت می باشد که به وسیله آنزیمهای GST تسهیل می شود (۵۰). مکانیسم پیشنهادی متabolیسم ددت به وسیله GST در شکل شماره ۳ آمده است. اگرچه کمپلکس GST با ددت یافت نشده است، این ماده به عنوان کو آنزیم نقش مهمی در این واکنش دارد. آنیون تیولات که در محل فعل آنزیم ایجاد می شود، یک اتم هیدروژن از مولکول ددت جدا می کند که این باعث از دست دادن یک اتم کلر مولکول ددت و در نهایت تبدیل آن به ددای (DDE) می شود. سایر حشره کش های کلره نظیر لیندان نیز به وسیله GST ها تجزیه و خنثی می شوند.



شکل شماره ۳: متabolیسم ددت و تبدیل آن به ددای به وسیله گلوتاتیون-اس-ترانسفراز، واکنش بنام ددت دهیدروکلریناسیون و آنزیم مربوطه تحت عنوان ددت دهیدروکلریناز که نوعی GST می باشد، معروف است.

افزایش شدت دهیدروکلریناسیون ددت در تعداد زیادی از گونه های حشرات نظیر مگس های خانگی، آندس اجیپتی، آنوفل گامبیه و آنوفل دیرووس باعث ایجاد مقاومت به ددت شده است (۵۱). مقاومت به ددت و

مخالف در طول زندگی یک حشره تغییرات زیادی می کند، به عنوان مثال GST سیگما در کرم جوانه *Choristoneura fumiferana* صنوبربانام علمی در مرحله فعل و تغذیه کننده لاروی به مقادیر خیلی کم بیان می باشد (۴۳).

تغییرات سطح فعالیت GST در بافت های مختلف حشرات در گونه های مختلفی گزارش شده است. در مواردی که تفاوت در فعالیت در مورد تک تک آنزیم ها مشخص شده باشد، اطلاعات ذی قیمتی در مورد نقش GST های مختلف به دست می آید. بنابر این یافته که GST های رده سیگما در مگس های خانگی و مگس سرکه در عضلات غیر مستقیم پرواز و در ارتباط با تروپونین H قرار دارند، این فرضیه را مطرح می کند که این آنزیم ها نقش ساختمانی دارند نه نقش کاتالیتیکی. البته متعاقباً مشخص شد که این آنزیم ها نقش مهمی در خنثی سازی فشار ناشی از عوامل اکسید کننده دارند (۴۴،۴۵). مقادیر بسیار بالای فعالیت GST در بافت چربی و روده میانی حشرات گزارش شده است. این دو بافت از مهم ترین مراکز خنثی سازی مواد سمی خارجی می باشد.

آنزیم های گلوتاتیون ترانسفراز و مقاومت به حشره کش ها

افزایش فعالیت آنزیم GST در مقاومت حشرات نسبت به اغلب گروه های عملده حشره کش ها و خنثی سازی اثرات سمی داروها نقش دارند (۱۱،۱۵،۴۶،۴۸). در اغلب موارد GST خاصی که باعث مقاومت به حشره کش می شود، جدا شده است. ولی شواهد غیر مستقیم در گیری آن ها در مقاومت را با ثبات می رساند. این شواهد شامل افزایش فعالیت آنزیم بر روی سویستراها مدل در سوش مقاوم در مقایسه با سوش حساس می باشد. در مواردی که با جزئیات بیشتر مورد مطالعه قرار گرفت، نشان داده شده است که مقاومت ناشی از افزایش در مقادیر یک یا چند

که دهیدرو کلریناسیون ددت وابسته به GST مکانسیم مقاومت به ددت است (۵۱-۵۹). افزایش سطوح تولید GST در کولکس کوئین کوفاسیاتوس حداقل بخشی از مکانسیم مقاومت به ددت در این حشره را توجیه می کند (۶۲، ۶۳).

در تعداد زیادی از گونه های پشه آنوفل، آنزیم های GST در مقاومت به حشره کش های ددت و فسفره نقش دارند (۶۴، ۶۵). مقاومت به ددت در مهم ترین ناقل مalarیا در آفریقا *An. gambiae* ناشی از آنزیم های GST است. فعالیت ددت دهیدرو کلریناسی آنزیم های GST خالص شده از این گونه نشان داده است که ۲۰ برابر مقاومت به ددت در سوش ZANDS به وسیله آنزیم های GST که به صورت کمی و کیفی تغییر کرده اند به وجود آمده است (۶۶). یک افزایش هشت برابری در فعالیت ددت دهیدرو کلریناسی در آنزیم های GST خالص شده از حشرات مقاوم در مقایسه با حشرات حساس مشاهده شده است. فعالیت آنزیم با CDBN و DDT برای هر GST نسبتا خالص سازی شده تعیین شد، ولی سوستراویژگی متفاوتی مشاهده شده که نشان دهنده وجود ایزو آنزیم های مختلف می باشد (۶۷).

یکی از مکانسیم های مقاومت به ددت در آنوفل استفتی *Anopheles stephensi* ایران و سایر کشورهای خاور میانه و شبه قاره هند نیز افزایش فعالیت GST می باشد (۶۸-۷۰).

ژن های GST متعدد دیگری از رده اپسیلون از یک سوش مقاوم به ددت آنوفل گامبیه به مقادیر زیاد بیان می شوند که یکی از آن ها بنام GSTe2 آنزیم GST را کثید می کند که بیشترین مقدار دهید و کلریناسیون ددت را نشان می دهد (۷۱). نقشه برداری ژنتیکی ژن های مقاومت به ددت در آنوفل گامبیه نشان دهنده عوامل

این حشره کش هادر سوش های مختلف می باشد (۵۲). آلکلیلاسیون حشره کش های فسفره ناشی از آنزیم های GST بخشی از مقاومت مگس های خانگی را به این حشره کش ها توجیه می کند (۵۳). مطالعه خالص شده از سوش های مقاوم به ددت و حشره کش های فسفره مگس خانگی نشان داد که ایزو فرم های متفاوتی که محصول ژن های مختلف می باشند مقاومت را ایجاد کرده اند (۱۱). فنویار بیان ها و حشره کش های کلره تولید GST ها در مگس های خانگی القاء می کند. حشراتی که قبل از تماس با حشره کش های فسفره با این مواد القاء کننده تماس پیدا کرده اند تا حدود زیادی از خطر مرگ در امان مانده بودند (۴۶). تولید مقادیر زیاد GST در سوش Cornell مگس خانگی باعث ایجاد مقاومت به حشره کش های فسفره شده بود. مکانسیم این افزایش تولید آنزیم GST تکثیر ژن تشخیص داده شد چرا که یک قطعه ۱/۶ کیلو بازی EcoRI و یک قطعه ۸/۴ کیلو بازی Pvull در سوش مقاوم در مقایسه با سوش حساس تکثیر شده بودند (۱۲)، فعالیت بالای GST در سوش Cornel مگس خانگی در ارتباط مستقیم با تولید بالای نسخه های mRNA ژن MdGST1 بوده است (۴).

فعالیت ددت دهیدرو کلریناسی وابسته به GST در سوش های متعددی از آندس اجیتی مقاوم به ددت مشاهده شده است (۵۱، ۵۴-۵۶). مکانسیم اصلی این مقاومت تولید بسیار بالای -1 GST در سوش های مقاوم آندس اجیتی در مقایسه با سوش های حساس بوده است (۵۷). در یک سوش مقاوم به ددت آندس اجیتی، دونوع GST متفاوت از نظر اینمنی شناسی در مقادیر بالایی تولید می شوند (۵۸). افزایش بیان حداقل یکی از آن ها به وسیله جهش در یک ژن مهار کننده موقعیت (ترانس) در سوش مقاوم به ددت کنترل می شود (۴۹) اما ماهیت این ژن مشخص نشده است.

به طور مشابه در سوش های متعددی از پشه کولکس، با انجام مطالعات متابولیسم ددت مشخص شد

پراکسیداسیون چربیها، القاء شده به وسیله حشره کش‌های پیرتروئید ممکن است در مقاومت به این حشره کش‌ها نقش داشته باشدند(۱۵). یک آنزیم GST که از رده دلتا از یک گونه مقاوم به پیرتروئید برگخوار قهوهای برنج *Nilaparvata lugens* کلون شد نشان داد که دارای فعالیت پراکسیدازی قویی بوده و تصور بر این است که این آنزیم در پیشگیری و یا بازسازی آسیب‌های ناشی از اکسیداسیون به وجود آمده به وسیله حشره کش‌های پیرتروئید نقش موثری داشته باشد(۷۶). مقادیر افزایش یافته آنزیم‌های GST در سایر گونه‌ها نیز ممکن است نقش مشابهی ایفاء کند. آنزیم‌های GST با حشره کش‌های پیرترنید، اندرکنش نشان می‌دهند که از این پدیده می‌توان در تعیین مقادیر این حشره کش‌ها بر روی سطوح مختلف نظیر پشه بندهای آغشته به حشره کش استفاده کرد(۷۷-۷۸). این آنزیم‌ها ممکن است به روش مهار مولکول‌های حشره کش تحت عنوان پدیده sequestration در مقاومت به آن‌ها موثر باشند(۷۹).

#### خلاصه:

پیشرفت در ژنتیک و بیوشیمی، پیجدگی خانواده GST حشرات را مشخص کرد. عمل اخلاقی بعضی از آنزیم‌های GST به ویژه نقش آن‌ها در خنثی‌سازی مواد خارجی تعیین شد و لی سوالات بی‌شماری است که باید در مورد سوبستراهای درون‌زاد این آنزیم‌ها دانسته شود. کشف الگوی دقیق بیان هر ژن و مطالعات آزمایشگاهی آن‌ها ممکن است سرخ‌هایی از عمل آن‌ها به دست دهد.

کنترلی سیس و ترانس در بیان مقادیر زیاد آنزیم‌های رده اپسیلون می‌باشد(۷۱).

آنژیم ۱-۱ AdGST از پشه آنوفل دیروس تایلند خالص‌سازی شد و خصوصیات آن مورد مطالعه قرار گرفت. ژن مربوطه سپس کلون و در *E.coli* بیان شد و خصوصیات آنزیم تولید شده تعیین گردید. این آنزیم دارای ۴ برابر فعالیت ددت دهیدوکلرینازی بیش‌تری نسبت به AdGST ۱-۶ خالص شده از آنوفل گامبیه مقاوم به ددت می‌باشد. پیشنهاد شده است که علاوه بر فعالیت ددت آزی این آنزیم‌ها، اگر آن‌ها در مقادیر بالا در حشرات ظهرور یابند، ممکن است بتوانند از طریق (sequestration)، حشره کش‌های پیرتروئید و فسفره را مهار و خنثی کنند(۷۲,۷۳).

آنژیم‌های GST مسؤول موارد زیادی از مقاومت به حشره کش‌های فسفره نیز می‌باشند(۴۶). پیوند گلوتاتیون با حشره کش‌های فسفره منجر به خنثی‌سازی آن‌ها به دو روش ممی‌شود. در روش آلکیلاسیون، گلوتاتیون با گروه آلکیل مولکول حشره کش ترکیب می‌شود که در نتیجه در مگس خانگی مقاوم به حشره کش تراکلروین فوس، دمتیلاسیون اتفاق می‌افتد(۷۴). در مکانیسم دوم که دآریلاسیون می‌باشد و در خنثی‌سازی پاراتیون و متیل پاراتیون در بید پشت نقره‌ای نقش دارد، گلوتاتیون با گروه جدا شونده ترکیب می‌شود(۷۵). آنزیم‌های GST نو ترکیب از بید پشت نقره‌ای نقش این آنزیم‌ها را در متابولیسم حشره کش‌های فسفره نشان داده‌اند(۴۴,۷۶). نقش مستقیم آنزیم‌های GST در متابولیسم حشره کش‌ها پیرتروئید مشخص نشده است. اما آن‌ها با خنثی‌سازی محصولات

## فهرست منابع

- Current Medicinal Chemistry*, 1999; 6: p. 279-309.

1.. Salinas, A.E. and M.G. Wong,  
*Glutathione S-Transferases - A Review.*

2. Habig, W.H., M.J. Pabst, and W.B. Jakoby, *Glutathione S-Transferases*. The *Journal of Biological Chemistry*, 1974; **249**: 7130-7139.
3. Chasseaud, L.F., The role of glutathione and glutathione S-transferases in the metabolism of chemical carcinogens and other electrophilic agents. *Advances in Cancer Research*, 1979; **29**: 175-274.
4. Fournier, D., J.M. Bride, M. Poire, Insect glutathione S-transferases. Biochemical characteristics of the major forms from houseflies susceptible and resistant to insecticides. *Journal of Biological Chemistry*, 1992. **267**: p. 1840-1845.
5. Clark, A.G., N.A. Shamaan, W.C. Dauterman, Characterization of multiple glutathione transferases from the housefly, *Musca domestica* (L). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1984; **22**: 51-59.
6. Hayes, J.D. and D.J. Pulford, The glutathione S-transferase supergene family - Regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 1995; **30**: 445-600.
7. Hayes, J.D. and C.R. Wolf, Molecular mechanisms of drug resistance. *Biochemical Journal*, 1990; **272**: 281-295.
8. Morrow, C.S. and K.H. Cowan, Glutathione S-transferases and drug resistance. *Cancer cells*, 1990; **2**: 15-22.
9. Tanner, B., J.G. Hengstler, B. Dietrich, Glutathione, glutathione S-transferase alpha and pi, and aldehyde dehydrogenase content in relationship to drug resistance in ovarian cancer. *Gynecologic Oncology*, 1997; **65**: 54-62.
10. Tew, K.D., Glutathione-associated enzymes in anticancer drug resistance. *Cancer Research*, 1994; **54**: 4313-4320.
11. Clark, A.G., N.A. Shamaan, M.D. Sinclair, Insecticide metabolism by multiple glutathione S-transferases in two strains of the house fly, *Musca domestica* (L). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1986; **25**: 169-175.
12. Wang, J.Y., S. McCommas, and M. Syvanen, Molecular cloning of a glutathione S-transferase overproduced in an insecticide-resistant strain of the housefly (*Musca domestica*). *Mol Gen Genet*, 1991; **227**(2): 260-6.
13. Ranson, H., L. Rossiter, F. Ortelli, Identification of a novel class of insect glutathione S-transferases involved in resistance to DDT in the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Biochem J*, 2001; **359**(Pt 2): 295-304.
14. Sawicki, R., S.P. Singh, A.K. Mondal, et al., Cloning, expression and biochemical characterization of one Epsilon-class (GST-3) and ten Delta-

- class (GST-1) glutathione S-transferases from *Drosophila melanogaster*, and identification of additional nine members of the Epsilon class. *Biochem J.*, 2003; **370**(1): 661-669.
15. Vontas, J.G., G.J. Small, and J. Hemingway, Glutathione S-transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. *Biochem J.*, 2001. **357**(Pt 1): 65-72.
16. Morel, F., C. Rauch, E. Petit, Gene and protein characterization of the human glutathione S-transferase kappa and evidence for a peroxisomal localization. *J Biol Chem*, 2004. **279**: p. 16246-16253.
17. Lander, J.E., J.F. Parsons, C.L. Rife, Parallel evolutionary pathways for glutathione transferases: structure and mechanisms of the mitochondrial class kappa enzyme rGSTK1-1. *Biochemistry*, 2004; **43**: 252-261.
18. Robinson, A., G.A. Huttley, H.S. Booth, Modeling and bioinformatics studies of the human Kappa-class glutathione transferase predict a novel third glutathione transferase family with similarity to prokaryotic 2-hydroxychromene-2-carboxylate isomerases. *Biochem J*, 2004; **379**: 541-552.
19. Ranson, H., C. Cladanos, F. Ortelli, Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. *Science*, 2002. **298**(5591): p. 179-81.
20. Gakuta, T. and A. Toshiro, Disruption of the Microsomal glutathione S-transferase-like gene reduces life span of *Drosophila melanogaster*. *Gene*, 2000; **253**: 179-187.
21. Prabhu, K.S., P.V. Reddy, G. Gmpricht, Microsomal glutathione S-transferase A1-1 with glutathione peroxidase activity from sheep liver: molecular cloning, expression and characterization. *Biochem J.*, 2001; **360**: 345-354.
22. Clark, A.G., G.L. Dick, S.M. Martindale, Glutathione S-transferases from the New Zealand grass grub, *Costelytra zealandica*. *Insect Biochemistry*, 1985; **15**: 35-44.
23. Prapanthadara, L., J. Hemingway, and A.J. Ketterman, Partial purification and characterization of glutathione S-transferase involved in DDT resistance from the mosquito *Anopheles gambiae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1993; **47**: 119-133.
24. Reiss, R.A. and A.A. James, A glutathione S-transferase gene of the vector mosquito, *Anopheles gambiae*. *Insect Molecular Biology*, 1993; **2**: 25-32.
25. Beall, C., C. Fyrberg, S. Song, Isolation of a *Drosophila* gene encoding glutathione S-transferase. *Biochemical Genetics*, 1992. **30**: p. 515-527.
26. Synder, M.J., J.K. Walding, and R. Feyereisen, Glutathione S-transferases from larval *Manduca sexta* midgut:

- sequense of two cDNAs and enzyme induction. *Insect Biochem Mol Biol*, 1995; **25**: 455-465.
27. Ding, Y., F. Ortelli, L.C. Rossiter, The *Anopheles gambiae* glutathione transferase supergene family: annotation, phylogeny and expression profiles. *BMC Genomics*, 2003; **4**(1): 35.
28. Zhou, Z.H. and M. Syvanen, A complex glutathione transferase gene family in the housefly *Musca domestica*. *Mol Gen Genet*, 1997; **256**: 187-194.
29. Toung, Y.-P.S., T. Hsieh, and C.-P.D. Tu, The glutathione S-transferase D genes: a divergently organized, intronless gene family in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Biological Chemistry*, 1993; **268**: 9737-9746.
30. Chelvanayagam, G., M.W. Parker, and P.G. Board, Fly fishing for GSTs: a unified nomenclature for mammalian and insect glutathione transferases. *Chem. Biol. Interact.*, 2001; **133**: 256-260.
31. Agianian, B., P.A. Tucker, A. Schouten, Structure of a *Drosophila* sigma class glutathione S-transferase reveals a novel active site topography suited for lipid peroxidation products. *J Mol Biol*, 2003; **326**(1): 151-65.
32. Enayati, A.A., H. Ranson, and J. Hemingway, Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect Mol Biol*, 2005; **14**(1): 3-8.
33. Board, P.G., R.T. Baker, G. Chelvanayagam, Zeta, a novel class of glutathione transferase in a range of species from plants to humans. *Biochem. J.*, 1997; **328**: 929-935.
34. Sheehan, D., G. Meade, V.M. Foley, Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem. J.*, 2001; **360**: 1-16.
35. Mannervik, B., The isoenzymes of glutathione transferase. *Advances in Enzymology*, 1985; **57**: 357.
36. Habig, W.H. and W.B. Jakoby, Glutathione S-transferases (rat and human). *Methods Enzymol*, 1981; **77**: 218-31.
37. Wilce, M.C., S.C. Feil, P.G. Board, Crystallization and preliminary X-ray diffraction studies of a glutathione S-transferase from the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina*. *Journal of Molecular Biology*, 1994; **236**: 1407-1409.
38. Ortelli, F., L.C. Rossiter, J. Vontas, Heterologous expression of four glutathione transferase genes genetically linked to a major insecticide-resistance locus from the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Biochem. J.*, 2003; **373**: p. 957-963.
39. Ranson, H., F.H. Collins, and J. Hemingway, The role of alternative mRNA splicing in generating heterogeneity within the *Anopheles gambiae* class I glutathione S-transferase

- family. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*, 1998; **95**: 14284-14289.
40. Clark, A.G., The comparative enzymology of the glutathione S-transferases from non-vertebrate organisms. *Comparative Biochemistry and physiology*, 1989. **92**: p. 419-446.
41. Yu, S.J., Insect Gutathione S-Transferases. *Zoological Studies*, 1996; **35**(1): 9-19.
42. Hazelton, G.A. and C.A. Laing, Glutathione S-transferase activities in the yellow-fever mosquito [Aedes aegypti (Loisville)] during growth and aging. *Biochemical Journal*, 1983; **210**: 281-287.
43. Feng, Q.L., K.G. Davey, A.S.D. Pang, Glutathione S-transferase from the spruce budworm, Choristoneura fumiferana: identification, characterization, localization, cDNA cloning and expression. *Insect Biochem Mol Biol*, 1999; **29**: 779-793.
44. Franciosa, H. and J.B. Berge, Glutathione S-transferases in housefly (*Musca domestica*): location of GST-1 and GST-2 families. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 1995; **25**: 311-317.
45. Clayton, J.D., R.M. Cripps, J.C. Sparrow, et al., Interaction of troponin-H and glutathione S-transferase-2 in the indirect flight muscles of *Drosophila melanogaster*. *Muscle Res Cell Motil*, 1998. **19**(2): p. 117-27.
46. Hayes, J.D. and C.R. Wolf, Role of glutathione transferase in drug resistance, in Glutathione conjugation: *mechanisms and biological significance*, H. Sies and B. Ketterer, Editors. London: Academic Press itd. 1988: 315-355.
47. Prapanthadara, L.A. and A.J. Ketterman, Qualitative and quantitative changes in glutathione s- transferases in the mosquito anopheles gambiae confer ddt- resistance. *Biochemical Society Transactions*, 1993; **21**: 304S.
48. Huang, H.S., N.T. Hu, Y.E. Yao, Molecular cloning and heterologous expression of a glutathione S- transferase involved in insecticide resistance from the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 1998; **28**: 651-658.
49. Grant, D.F. and B.D. Hammock, Genetic and molecular evidence for a trans-acting regulatory locus controlling glutathione S-transferase-2 expression in *Aedes aegypti*. *Molecular and General Genetics*, 1992; **234**: 169-176.
50. Clark, A.G. and N.A. Shamaan, Evidence that DDT-dehydrochlorinase from the house fly is a glutathione S-transferase. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1984; **22**: 249-261.
51. Kimura,T. and A.W.A. Brown, DDT-dehydrochlorinase in *Aedes aegypti*. *Journal of Economic Entomology*, 1964; **57**: 710-716.

52. Motoyama, N. and W.C. Dauterman, Interstrain comparison of glutathione-dependent reactions in *susceptible and resistant houseflies*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1975; 5: 489-495.
53. Oppenorth, F.J., H.R. Smissaert, W. Welling, Insensitive acetylcholinesterase, high glutathione S-transferase, and hydrolytic activity as resistance factors in a tetrachlorvinphos-resistant strain of housefly. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1977; 7: 34-47.
54. Hooper, G.H.S., Gas-liquid chromatography analysis of DDT metabolism in *Aedes aegypti*. *Journal of Economic Entomology*, 1968; 61: 858-859.
55. Rathor, H.R. and R.J. Wood, In-vivo and in-vitro studies on DDT uptake and metabolism in susceptible and resistant strains of the mosquito *Aedes aegypti* L. *Pesticide Science*, 1981; 12: 255-264.
56. Rathor, H.R. and R.J. Wood, Inheritance of DDT dehydrochlorination and of a mechanism restricting uptake of DDT in the mosquito *Aedes aegypti*. *Genome*, 1987; 29: 357-360.
57. Grant, D.F. and F. Matsumura, Glutathione S-transferase-1 in *Aedes aegypti* larvae. Purification and properties. *Insect Biochemistry*, 1988; 18: 615-622.
58. Grant, D.F., Evolution of glutathione S-transferase subunits in Culicidae and related Nematocera: Electrophoretic and immunological evidence for conserved enzyme structure and expression. *Insect Biochemistry*, 1991; 21: 435-445.
59. Kimura, T., J.R. Duffy, and A.W.A. Brown, Dehydrochlorination and DDT-resistance in *Culex* mosquitoes. *Bulletin of the World Health Organization*, 1965; 32: p. 557-561.
60. Hooper, G.H.S., Metabolism of insecticides by *Culex pipiens quinquefasciatus* I. In vivo metabolism of DDT by larvae. *Journal of Economic Entomology*, 1967; 61: 490-493.
61. Kalra, R.L., A.S. Perry, and J.W. Miles, Studies on the mechanism of DDT resistance in *Culex pipiens fatigans*. *Bulletin of the World Health Organization*, 1967; 37: 651-656.
62. Amin, A.M. and J. Hemingway, Preliminary investigation of the mechanisms of DDT and pyrethroid resistance in *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera:Culicidae) from Saudi Arabia. *Bulletin of Entomological Research*, 1989; 79: 361-366.
63. Kasai, S., I.S. Weerasinghe, and T. Shono, P450 Monooxygenases Are an Important Mechanism of Permethrin Resistance in *Culex quinquefasciatus* Say Larvae. *Arch.Insect Biochem.& Physiol.*, 1998; 37:47-56.
64. Motoyama, N. and W.C. Dauterman, Genetic studies on glutathione-dependent

- reactions in resistant strains of the house fly, *Musca domestica* L. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1977; 7: 443-450.
65. Hemingway, J., J. Miyamoto, and P.R.J. Herath, A possible novel link between organophosphorus and DDT insecticide resistance genes in *Anopheles*: supporting evidence from fenitrothion metabolism studies. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1991; 39: 49-56.
66. Prapanthadara, L., J. Hemingway, and A.J. Ketterman, DDT-resistance in *Anopheles gambiae* Giles from Zanzibar Tanzania, based on increased DDT-dehydrochlorinase activity of glutathione S-transferases. *Bulletin of Entomological Research*, 1995; 85: 267-274.
67. Enayati, A.A., Cross resistance between DDT and permethrin in *Anophles stephensi* from Iran, 1992, Tarbiat Modarress University, *Faculty of Medicine: Tehran*. 213.
68. Enayati, A.A. and H. Ladonni, Mechanism of DDT and permethrin resistance in *Anopheles stephensi* from Bandar-Abbas, Iran. *MJMS*, 1997; 6(13): 31-37.
69. Enayati, A.A., H. Vatandoost, H. Ladonni, Molecular evidence for a kdr-like pyrethroid resistance mechanism in the malaria vector mosquito *Anopheles stephensi*. *Medical and Veterinary Entomology*, 2003; 17: 138-144.
70. Ladonni, H., Genetics and biochemistry of insecticide resistance in *Anopheles stephensi*, in *School of Tropical Medicine*. 1988; Liverpool: Liverpool.
71. Ranson, H., B. Jensen, X. Wang, Genetic mapping of two loci affecting DDT resistance in the malaria vector, *Anopheles gambiae*. *Insect Mol.Biol.*, 2000; 6: 499-507.
72. Prapanthadara, L., S. Koottathep, N. Promtet, Purification and characterization of a major glutathione S-transferase from the mosquito *Anopheles dirus* (Species B). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 1996; 26: 277-285.
73. Prapanthadara, L., H. Ranson, P. Somboon, Cloning, expression and characterization of an insect class I glutathione S-transferase from *Anopheles dirus* species B. *Insect Biochem Mol Biol*, 1998; 28(5-6): 321-9.
74. Oppenoorth, F.J., L.J.T. Van der Pas, and N.W.H. Houx, Glutathione S-transferase and hydrolytic activity in a tetrachlorvinphos-resistant strain of housefly and their influence on resistance. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1979; 11: 176-188.
75. Chiang, F.-M. and C.-N. Sun, Glutathione transferase isozymes of diamondback moth larvae and their role in the degradation of some

- organophosphorus insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1993; **45**: p. 7-14.
76. Wei, S.H., A.G. Clark, and M. Syvanen, Identification and cloning of a key insecticide-metabolizing glutathione S-transferase (MdGST-6A) from a hyper insecticide-resistant strain of the housefly *Musca domestica*. *Insect Biochem Mol Biol*, 2001; **31**(12): p. 1145-53.
77. Vontas, J.G., G.J. Small, D.C. Nikou, Purification, molecular cloning and heterologous expression of a glutathione S-transferase involved in insecticide resistance from the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Biochem J*, 2002; **362**(Pt 2): 329-37.
78. Enayati, A.A., Residue Analysis On And Efficacy Of Pyrethroid-Impregnated Bednets Against Resistant Anopheles, in *Liverpool School of Tropical Medicine*. 2002; Liverpool: Liverpool
79. Enayati, A.A., J.G. Vontas, G.J. Small, Quantification of pyrethroid insecticides from treated bednets using a mosquito recombinant glutathione S-transferase. *Med Vet Entomol*, 2001; **15**(1):58-63.
80. Erlanger, T.E., A.A. Enayati, J. Hemingway, Field issues related to effectiveness of insecticide-treated nets in Tanzania. *Med Vet Entomol*, 2004; **18**: 153-160.
81. Enayati, A.A., L. Lengeler, T. Erlanger, Field evaluation of a recombinant glutathione S-transferase-based pyrethroid quantification assay. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2005; In press.
82. Kostaropoulos, I., A.I. Papadopoulos, A. Metaxakis, Glutathione S-transferase in the defence against pyrethroids in insects. *Insect Biochem Mol Biol*, 2001; **31**(4-5):313 9