

گلوکوتایون ترانسفرازها و مقاومت به حشره‌کش‌ها در حشرات ناقل بیماری‌ها

احمد علی عنایتی (Ph.D.)*

چکیده

گلوکوتایون ترانسفرازها (GST) خانواده متنوعی از آنزیم‌ها هستند که در همه جانداران هوایی یافت می‌شوند. این آنزیم‌ها در خنثی‌سازی 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 اکسیداتیو موثر می‌باشند. توجه به GST حشرات اساساً به دلیل اهمیت آن‌ها در مقاومت به حشره‌کش‌ها بوده است. GST‌ها حشره‌کش‌ها را یا به وسیله تسهیل واکنش دهی‌دروکلری‌ناسیون کاهشی و یا پیوند مواد سمی با گلوکوتایون 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 ژنوم آنوفل گامبه و مگس سرکه (دروزوفیلا ملانوگاستر) گستره کامل این خانواده از آنزیم‌ها در حشرات آشکار شد. در این مقاله مروری، جنبه‌های مختلف آنزیم‌های گلوکوتایون ترانسفراز و نقش آن‌ها در مقاومت به حشره‌کش‌ها به اختصار مورد بررسی قرار می‌گیرد.

واژه‌های کلیدی: گلوکوتایون ترانسفرازها، مقاومت به حشره‌کش‌ها، حشرات

مقدمه

عمل نکرده بلکه نقش ی‌ک کوآنزیم را بازی می‌کند (۵). گلوکوتایون ترانسفرازها در همه‌گیری‌شناسی سرطان و مقاومت به دارو بسیار مهم هستند (۱۰ تا ۱۶). لذا در پستانداران به خوبی مورد مطالعه قرار گرفتند. بسیاری از مطالعات انجام شده بر گلوکوتایون ترانسفرازهای حشرات به نقش آن‌ها در تجزیه و خنثی‌سازی ترکیبات خارجی به ویژه حشره‌کش‌ها، سموم گیاهی و نیز اخیراً استرس‌های ناشی از اکسیدکننده‌هایی مثل حشره‌کش‌های پیرتروئید می‌پردازند (۴، ۱۱ تا ۱۵).

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

* دکترای حشره‌شناسی پزشکی، عضو هیأت علمی (استادیار) دانشگاه علوم پزشکی مازندران ✉ ساری: پلومتر ۱۸ جاده خزرآباد، دانشکده بهداشت و مرکز تحقیقات بهداشت محیط
تاریخ دریافت: ۱۳۸۳/۱۱/۱۳ تاریخ تصویب: ۱۳۸۴/۱/۲۴

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 نام‌های گلوتاتیون ترانسفراز میکروزومی و محلول خوانده می شوند. گروه سوم از این آنزیم‌ها به نام رده کاپا در می‌توکندری‌ها و پراکسی‌زوم‌ها شناسایی شده اند (۱۷، ۱۶) که از نظر ساختار با گلوتاتیون ترانسفرازهای میکروزومی و محلول در سی‌توپلاسم متفاوت هستند (۱۸). تاکنون هیچ آنزیمی 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 گامیه سه ژن شناسایی شده است (۱۹). گلوتاتیون ترانسفرازهای میکروزومی پروتئین‌های سه قسمتی و چسبیده به غشاء می‌باشند. اگر چه گلوتاتیون ترانسفرازهای میکروزومی با انواع محلول از نظر منشاء و ساختمان بسیار متفاوت هستند، آنها یک نوع واکنش را تسهیل می‌کنند (۲۰، ۲۱). گلوتاتیون ترانسفرازهای میکروزومی در متابولیسم حشره‌کش‌ها نقش چندانی ندارند، بنابراین در این مقاله بیش از این در مورد آنها بحث نمی‌شود.

گلوتاتیون ترانسفرازهای محلول حشرات ابتداء بر اساس ترتیب خروج از روش‌های مختلف جداسازی و خالص سازی نظیر کروماتوگرافی و یا نقطه ایزوالکتریک شماره گذاری شدند (۲۲، ۲۳). متعاقباً از نظر ایمنی‌شناسی دو رده گلوتاتیون ترانسفراز در مگس‌های خانگی مورد شناسایی قرار گرفته و به نام‌های رده I و رده II خوانده شدند (۴). گلوتاتیون ترانسفرازهای رده II در همه حشرات به وسیله یک ژن تولید می‌شوند (۲۶ تا ۲۴). اگر چه بر اثر برش و دوزش‌های بعد از

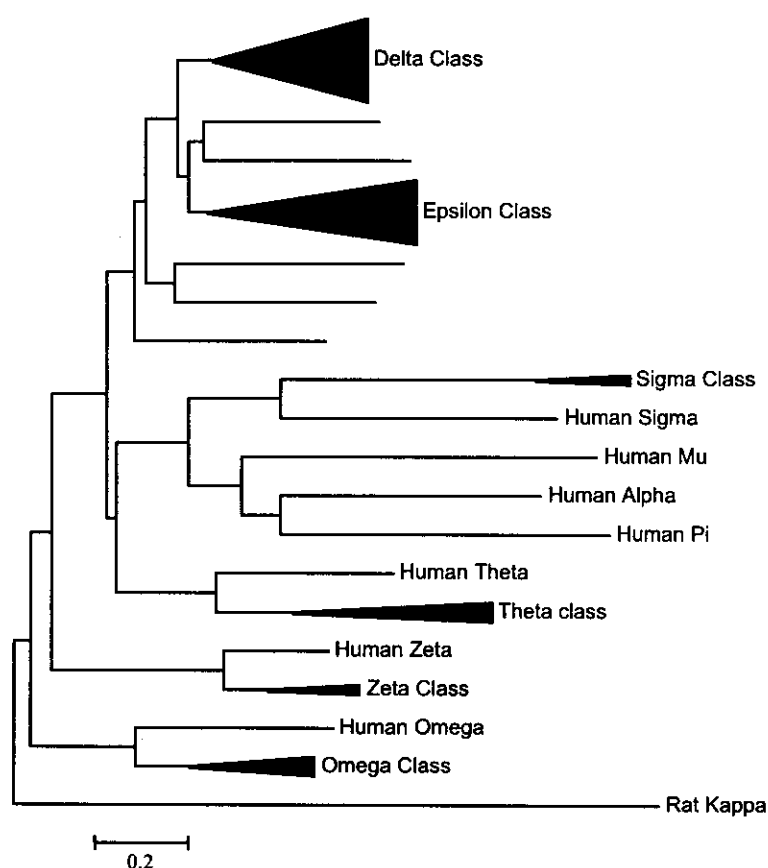
نسخه‌برداری، دو نسخه متفاوت از ژن بوجود می‌آید (۲۷). بر عکس رده II، گلوتاتیون ترانسفرازهای رده I در حشرات به وسیله یک خانواده چند ژنی در آنوفل گامیه، مگس سرکه و مگس خانگی کد می‌شوند (۱۹، ۲۸، ۲۹).

هم‌زمان با افزایش اطلاعات مربوط به ترتیب و توالی DNA در حشرات، GST‌های دیگری کشف شدند که به خوبی در رده‌های I و II گلوتاتیون ترانسفراز پستانداران قرار نمی‌گرفتند، بنابراین از حروف یونانی برای نام‌گذاری رده‌های این آنزیم‌ها استفاده شد (۳۰). مقایسه فیلوژنتیک ژن‌های گلوتاتیون ترانسفراز رده II حشرات و پستانداران نشان داد که رده II حشرات معادل رده سیگما می‌باشد که در گونه‌های بسیار متفاوتی از نماتدها تا پستانداران وجود دارند (۳۱). در مقابل، رده I GST مختص حشرات بوده و بر اساس راهنمای نام‌گذاری گلوتاتیون ترانسفرازها رده دلتا نامیده می‌شود. رده بزرگ دیگری از گلوتاتیون ترانسفرازها به نام رده اپسیلون نیز فقط در حشرات یافت می‌شود (۱۳). این دو رده از گلوتاتیون ترانسفرازها به طور مستقل در مگس سرکه و آنوفل گامیه تکامل و گسترش پیدا کردند که این موضوع بیانگر نقش مهم این آنزیم‌ها در سازش این حشرات با بحران‌های زیستی می‌باشد (۱۹، ۲۳).

عمده باقی‌مانده گلوتاتیون ترانسفرازهای محلول حشرات اعضاء رده های زتا، تتاو امگا می باشند (۱۹، ۳۳). درجه نسبتاً بالای ثبات در ژن‌های 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 گامیه سه ژن GSTu1، GSTu2 و GSTu3 وجود دارد که به آسانی در رده‌های موجود قرار نمی‌گیرد. آنها کم‌تر از ۴۰ درصد شباهت با سایر GST‌های حشرات داشته

نشده (unclassified, u) نام گذاری شده اند. ارتباط فیلوژنتیک رده های مختلف گلو تاتیون ترانسفرازها در شکل شماره ۱ نشان داده شده است.

وبه طور فیزیکی از ژن سایر اعضا خانواده GST روی کروموزوم های پشه ها جدا هستند (۲۷). ای-ن ژن ها ممکن است رده جدیدی از GST را مشخص کند، ولی در حال حاضر به طور موقت به عنوان انواع رده بندی



نمودار شماره ۱: درخت فیلوژنتیک نشان دهنده روابط بین نماینده رده های GST حشرات و پستانداران. ترتیبی اسیدهای امینه GST های محلول در سی‌توپلاسم *Anopheles gambiae* و *Drosophila melanogaster* با نماینده های رده های مربوط به پستانداران به وسیله نرم افزار ClustalW هم تراز شده است.

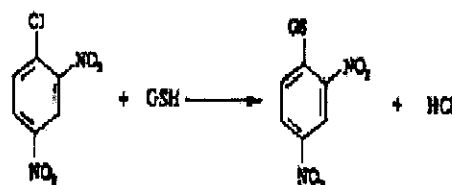
از آن جداسازی شده است و نیز رده آنزیم نام گذاری می شود. شماره هایی نیز به آنها داده می شود که نشان دهنده ترتیب کشف آنها است؛ به عنوان مثال AgGSTd12 دوازدهمین آنزیم آنوفل گامیه از رده دلتا

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

فعالیت می کنند و ساختمان چهارم آن‌ها در فعالیشان بسیار مهم است (۳۵).

نحوه عملکرد آنزیم GST.

در هر واکنش پیوند به وسیله GST، یک مولکول از گلوئاتیون احیاء شده (GSH) و یک مولکول از سوبسترای دوم که معمولاً 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 سوبسترای چربی دوست حمله می کند (۳۶، ۳۷). این واکنش نقاط الکترون دوست ترکیبات چربی دوست را خنثی کرده و بدین وسیله تشکیلات سلولی نظیر اکسیژن و نیتروژن DNA را از حملات مواد هسته دوست محافظت می کند. واکنش پیوند بین GSH و سوبسترای مدل ۱- کلو ۲ دی نیتروبنزن (CDNB) در شکل شماره ۲ نشان داده شده است.



شکل شماره ۲: واکنش پیوند بین ۱- کلو ۲ دی نیتروبنزن (CDNB) و گلوئاتیون احیاء شده که به وسیله آنزیم GST تسهیل می شود.

GST‌ها دارای تمایل و وابستگی شدید به GSH هستند و از آنجایی که این ماده با غلظت بالا در داخل سلول وجود دارد، می توان نتیجه گرفت که محل اتصال GSH در مولکول آنزیم GST دائماً اشغال است. اسیدامینه محل فعال آنزیم در پایانه N-باز گروه سولفیدریل GSH واکنش داده و آن را فعال می سازد. در اغلب GST‌های پستانداران، اسیدامینه محل فعال یک

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

جدول شماره ۱: خلاصه رده های GST در حشرات

رده GST	انتشار	تعداد نسخه های مورد قبول در	تعداد نسخه های مورد قبول در	مثال در سایر حشرات
		<i>A. gambiae</i>	<i>D. melanogaster</i>	
Delta	خط حشرات	۱۵	۱۱	<i>L. cuprina</i> , <i>M. domestica</i> , <i>N. lugens</i> , <i>C. varipennis</i>
Epsilon	خط حشرات	۸	۱۴	<i>P. xylostella</i> , <i>M. sexta</i> , <i>M. domestica</i>
Omega	ناترودها حشرات پستانداران	۱	۵	
Theta	پستانداران حشرات گی‌خواران	۲	۴	
Sigma	زرمشان کرم‌ها پستانداران حشرات	۱	۱	<i>M. domestica</i> , <i>B. germanica</i> , <i>C. fumiferana</i> , <i>M. sexta</i>
Zeta	ناترودها حشرات پستانداران گی‌خواران	۱	۲	

ساختار آنزیم:

GST‌های محلول در سیتوپلاسم پروتئین‌های دو قسمتی یکسان یا غیر یکسان، دارای وزن مولکولی حدود ۲۵kDa می باشند. زنجیره پلی پپتیدی هر قسمت به صورت دو بخش تا می خورد که به وسیله یک ناحیه اتصال دهنده متغیر به هم متصل می شوند. ناحیه انتهای N آنزیم (اسید آمینه ۱-۸۰) 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 سیستئین پیوند می یابند، یافت می شود (۳۴). اغلب اسیدهای آمینه 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 عمدتاً از اسیدهای آمینه این ناحیه تشکیل شده است. قسمت‌های فعال هریک بخش از آنزیم به طور مستقل

تیروزین می باشد (۳۷). اما در GST رده های دلتا و اپسیلون در حشرات این نقش را اسید آمینه سرین به عهده دارد (۳۴).

سازمان ژنی

تنوع واکنش هایی که به وسیله GST ها تسهیل می شود ناشی از سوبسترا و ویژگی وسیع اغلب این آنزیم ها و طبیعت وسیع ابرخانواده GST می باشد. در حشرات، نسخه برداری ژن، به خصوص در رده های مختص حشرات دلتا و اپسیلون، باعث گسترش خانواده GST شده است. از آن جایی که جانشینی تعداد معدودی اسید آمینه می تواند اثرات شگرفی بر سوبسترا ویژگی آنزیم ها داشته باشد (۳۸)، فرایند نسخه برداری، ایجاد تنوع و گزینش می تواند راز فهرست بلند واکنش هایی که به وسیله GST ها تسهیل می شوند را بازگو کند (۱۹).

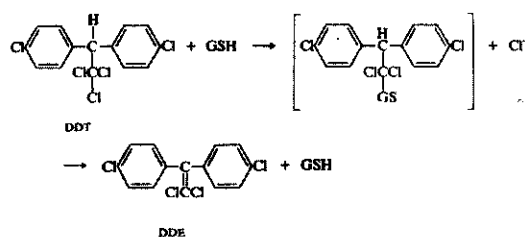
تنوع افزون تر GST ها به وسیله برش و دوزش های متناوب در آنوفل ها و ترتیب های مجدد ژنتیکی که منجر به ادغام ژن ها در مگس خانگی می شود، به وجود می آید. دو ژن GST در آنوفل گامیه به صورت متناوب برش و دوزش می شوند؛ بدین صورت که چهار پپتید مختلف با خواص کاتالیتیک متفاوت از ژن AgGSTD1 مربوط به رده دلتا به وجود می آیند (۳۹) و دو رونوشت دارای دو اگزون ۵' مشابه و دو اگزون ۳' متفاوت از یک ژن مربوط به رده سیگما به دست می آید (۲۷). ژنوم مگس خانگی شامل تعداد زیادی ژن های بدون اینترون است که GST های رده دلتا را بوجود در می آورند که بعضی از آن ها به نظر می رسد که در اثر ادغام انتهاهای ۵ و ۳ ژن های GST رده دلتا به وجود آمده باشند. این موضوع مشخص نیست که آیا همه این ژن های GST پرتین های عملیاتی تولید می کنند ولی به نظر می رسد که یک مکانیسم نو ترکیب نادر، مسؤول تنوع GST ها در این گونه می باشد (۲۸).

تنظیم بیان ژن GST

در گونه های جانوری غیر حشره، اغلب آنزیم های GST در برابر محرک ها و عوامل محیطی مختلف در بافت ها و مراحل رشد مختلف به طور متفاوتی پاسخ می دهند و یا تظاهر می یابند. یک چنین طرح پیچیده ای از تنظیم بیان ژن در حشرات نیز مورد انتظار می باشد. دو مقاله مروری تأثیر رژیم های مختلف غذایی، حشره کش ها و محرک های آزمایشگاهی را در بیان عمومی GST مورد بررسی قرار دادند (۴۰، ۴۱)، اکنون که گستره کامل خانواده GST در آنوفل گامیه و مگس سرکه مشخص شده است، مطالعات اختصاصی تری برای تعیین عوامل تنظیم کننده تک تک ژن های GST مورد نیاز است. در طول مراحل مختلف زندگی حشرات، سطوح و مقادیر فعالیت GST متفاوت است؛ به عنوان مثال در آندس اجیتی، مقدار کل فعالیت آنزیم با سوبستراهای 1-chloro 2,4 dinitrobenzene (CDNB) و dichloronitrobenzene (DCNB) در مراحل لاروی افزایش یافته در مرحله شفیرگی به حداکثر خود رسیده و در مرحله بلوغ با افزایش سن کاهش می یابد (۴۲). در یک مطالعه مقدماتی بر روی الگوی بیان GST های آنوفل گامیه مشخص شده که رونوشت های همه ژن های GST به جز یکی، در بالغ یک روز وجود دارد (۲۷).

مطالعه ای در زمینه اندازه گیری سطح بیان GST در مراحل مختلف زندگی آنوفل گامیه به عمل نیامده است، ولی بر اساس مطالعات انجام شده در حشرات دیگر می توان گمانه زنی کرد که سطوح آنزیم های مختلف در طول زندگی یک حشره تغییرات زیادی می کنند، به عنوان مثال GST سیگما در کرم جوانه صنوبر نام علمی *Choristoneura fumiferana* در مرحله فعال و تغذیه کننده لاروی به مقادیر خیلی کم بیان می یابد (۴۳).

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 (۱۳،۴۹). دهیدروکلریناسیون، یک مکانیسم مهم خنثی سازی ددت می باشد که به وسیله آنزیم های GST تسهیل می شود (۵۰). مکانیسم پیشنهادی متابولیسم ددت به وسیله GST در شکل شماره ۳ آمده است. اگر چه کمپلکس GST با ددت یافت نشده است، این ماده به عنوان کو آنزیم نقش مهمی در این واکنش دارد. آنیون تیولات که در محل فعال 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: متابولیسم ددت و تبدیل آن به ددای بوسیله 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 اجیتی، آنوفل گامبیه و آنوفل دیروس باعث ایجاد مقاومت به ددت شده است (۵۱). مقاومت به ددت و

مختلف در طول زندگی یک حشره تغییرات زیادی می کند، به عنوان مثال GST سیگما در کرم جوانه صنوبریانام علمی *Choristoneura fumiferana* در مرحله فعال و تغذیه کننده لاروی به مقادیر خیلی کم بیان می یابد (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 متعاقبا 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 باشند.

آنزیم های گلوتاتیون ترانسفراز و مقاومت به حشره کش ها

افزایش فعالیت آنزیم GST در مقاومت حشرات نسبت به اغلب گروه های عمده حشره کش ها و خنثی سازی اثرات سمی داروها نقش دارند (۴۶،۴۷،۴۸). در اغلب موارد GST خاصی که باعث مقاومت به حشره کش می شود، جدا نشده است. ولی شواهد غیر مستقیم درگیری آن ها در مقاومت را با ثبات می رساند. این شواهد شامل افزایش فعالیت آنزیم بر روی سوبستراهای مدل در سوش مقاوم در مقایسه با سوش حساس می باشد. در مواردی که با جزئیات بیش تر مورد مطالعه قرار گرفت، نشان داده شده است که مقاومت ناشی از افزایش در مقادیر یک یا چند

که دهیدروکلریناسیون ددت وابسته به GST مکانسیم مقاومت به ددت است (۵۹-۶۱). افزایش سطوح تولید GST در کولکس کوئین کوفاسیاتوس حداقل بخشی از مکانسیم مقاومت به ددت در این حشره را توجیه می‌کند (۶۲،۶۳).

در تعداد زیادی از گونه‌های پشه آنوفل، آنزیم‌های GST در مقاومت به حشره کش‌های ددت و فسفره نقش دارند (۶۵،۶۴،۱۱). مقاومت به ددت در مهم‌ترین ناقل مالاریا در آفریقا *An. gambiae* ناشی از آنزیم‌های GST است. فعالیت ددت دهیدروکلرینازی آنزیم‌های GST خالص شده از این گونه نشان داده است که ۲۰ برابر مقاومت به ددت در سوش ZANDS به وسیله آنزیم‌های GST که به صورت کمی و کیفی تغییر کرده‌اند به وجود آمده است (۶۶). یک افزایش هشت برابری در فعالیت ددت دهیدروکلرینازی در آنزیم‌های GST خالص شده از حشرات مقاوم در مقایسه با حشرات حساس مشاهده شده است. فعالیت آنزیم با CDNB، DCNB و ددت برای هر GST نسبتاً خالص سازی شده تعیین شد، ولی سوبسترا ویژگی متفاوتی مشاهده شده که نشان دهنده وجود ایزوآنزیم‌های مختلف می‌باشد (۷۳).

یکی از مکانسیم‌های مقاومت به ددت در آنوفل استغنیسی *Anopheles stephensi* ایران و سایر کشورهای خاور میانه و شبه قاره هند نیز افزایش فعالیت GST می‌باشد (۶۷-۷۰).

ژن‌های GST متعدد دیگری از رده اپسیلون از یک سوش مقاوم به ددت آنوفل گامیه به مقادیر زیاد بیان می‌شوند که یکی از آن‌ها به نام GSTe2 آنزیم را کثد می‌کند که بیش‌ترین مقدار دهید و کلریناسیون ددت را نشان می‌دهد (۳۸). نقشه برداری ژنتیکی ژن‌های مقاومت به ددت در آنوفل گامیه نشان دهنده عوامل

این حشره کش‌ها در سوش‌های مختلف می‌باشد (۵۲). دآلکیلا سیون حشره کش‌های فسفره ناشی از آنزیم‌های GST بخشی از مقاومت مگس‌های خانگی را به این حشره کش‌ها توجیه می‌کند (۵۳). مطالعه GST خالص شده از سوش‌های مقاوم به ددت و حشره کش‌های فسفره مگس خانگی نشان داد که ایزو فرم‌های متفاوتی که محصول ژن‌های مختلف می‌باشند مقاومت را ایجاد کرده‌اند (۱۱). فنوبار بیتال‌ها و حشره کش‌های کلره تولید GST‌ها را در مگس‌های خانگی القاء می‌کنند. حشراتی که قبل از تماس با حشره کش‌های فسفره با این مواد القاء کننده تماس پیدا کرده‌اند 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 کش‌های 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 PvuII در سوش مقاوم در مقایسه با سوش حساس تکثیر شده بودند (۱۲). فعالیت بالای GST در سوش Cornell مگس خانگی در ارتباط مستقیم با تولید بالای نسخه‌های mRNA ژن MdGST1 بوده است (۴).

فعالیت ددت دهیدروکلرینازی وابسته به GST در سوش‌های متعددی از آندس اجیتی مقاوم به ددت مشاهده شده است (۵۴، ۵۱ تا ۵۶). مکانسیم اصلی این مقاومت تولید بسیار بالای GST-1 در سوش‌های مقاوم آندس اجیتی در مقایسه با سوش‌های حساس بوده است (۵۷). در یک سوش مقاوم به ددت آندس اجیتی، دو نوع GST متفاوت از نظر ایمنی‌شناسی در مقادیر بالایی تولید می‌شوند (۵۸). افزایش بیان حداقل یکی از آن‌ها به وسیله جهش در یک ژن مهار کننده موقعیت (ترانس) در سوش مقاوم به ددت کنترل می‌شود (۴۹) اما ماهیت این ژن مشخص نشده است.

به طور مشابه در سوش‌های متعددی از پشه کولکس، با انجام مطالعات متابولسیم ددت مشخص شد

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

آنزیم AdGST 1-1 از پشه آنوفل دیروس تايلند خالص سازی 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 1-6 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 ظهور یابند، ممکن است بتوانند از طریق (sequestration)، حشره کش‌های پیرتروئید و فسفره را مهار و خنثی کنند (۷۲، ۷۳).

آنزیم‌های GST مسؤول موارد زیادی از مقاومت به حشره کش‌های فسفره نیز می‌باشند (۴۶). پیوند گلوئاتیون با حشره کش‌های فسفره منجر به خنثی سازی آن‌ها به دو روش می‌شود. در روش آلکیلایسیون، گلوئاتیون با گروه آلکیل مولکول حشره کش ترکیب می‌شود که در نتیجه در مگس خانگی مقاوم به حشره کش تراکلروئین فوس، دمتیلاسیون اتفاق می‌افتد (۷۴). در مکانیسم دوم که دآریلاسیون می‌باشد و در خنثی سازی پاراتیون و متیل پاراتیون در بید پشت نقره‌ای نقش دارد، گلوئاتیون 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 (۴۸، ۷۶). نقش مستقیم آنزیم‌های GST در متابولیسم حشره کش‌ها پیرتروئید مشخص نشده است. اما آن‌ها با خنثی سازی محصولات

پراکسیداسیون چربیها، القاء شده به وسیله حشره کش‌های پیرتروئید ممکن است در مقاومت به این حشره کش‌ها نقش داشته باشند (۱۵). یک آنزیم GST که از دلتا از یک گونه مقاوم به پیرتروئید برگ‌خوار قهوه‌ای برنج *Nilaparvata lugens* کلون شد نشان داد که دارای فعالیت پراکسیدازی قوی 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 (۷۷). مقادیر افزایش یافته آنزیم‌های GST در سایر گونه‌ها نیز ممکن است نقش مشابهی ایفاء کنند. آنزیم‌های GST با حشره کش‌های پیرترنید، اندرکش 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 (۷۸-۸۱). این آنزیم‌ها ممکن است به روش مهار مولکول‌های حشره کش تحت عنوان پدیده sequestration در مقاومت به آن‌ها موثر باشند (۸۲).

خلاصه:

پیشرفت در ژنتیک و بیوشیمی، پیچیدگی خانواده GST حشرات را مشخص کرد. عمل اختصاصی بعضی از آنزیم‌های GST به ویژه نقش آن‌ها در خنثی سازی مواد خارجی تعیین شد ولی سئوالات بی‌شماری است که باید در مورد سوبستراهای درون‌زاد این آنزیم‌ها دانسته شود. کشف الگوی دقیق بیان هر ژن و مطالعات آزمایشگاهی آن‌ها ممکن است سرنخ‌هایی از عمل آن‌ها به دست دهد.

فهرست منابع

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

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

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. Ortell, 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. Claudianos, F. Ortell, 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:

- sequence of two cDNAs and enzyme induction. *Insect Biochem Mol Biol*, 1995; **25**: 455-465.
27. Ding, Y., F. Ortell, 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. Toun, 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. Ortell, 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 Acadamy 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, *Chorstoneura 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. Oppenoorth, 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 *Anopheles 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