

BÀI TỔNG QUAN

KÊNH DẪN TRUYỀN Na^+ CÔNG ĐIỆN ÁP (Na_v) VÀ TÍNH KHÁNG THUỐC DIỆT CÔN TRÙNG Ở MUỖI TRUYỀN BỆNH SỐT XUẤT HUYẾT

Nguyễn Thị Kim Liên^{1,✉}, Nguyễn Thị Hương Bình²

¹Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Viện Sốt rét Ký sinh trùng Côn trùng Trung ương, Bộ Y tế

✉ Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: nklien@igr.ac.vn

Ngày nhận bài: 24.10.2016

Ngày nhận đăng 25.8.2017

TÓM TẮT

Bệnh sốt xuất huyết là bệnh truyền nhiễm cấp tính, có thể gây thành dịch lớn và có tỷ lệ tử vong cao. Bệnh lưu hành trên hơn 100 quốc gia trên thế giới ở hầu hết các châu lục. Sốt xuất huyết được lây truyền qua vector trung gian là muỗi *Aedes* (*Aedes aegypti* và *Aedes albopictus*). Việc kiểm soát vector truyền bệnh đóng vai trò quan trọng trong việc ngăn ngừa sự bùng phát của dịch. Trong các biện pháp kiểm soát vector truyền bệnh, việc sử dụng thuốc diệt côn trùng đã mang lại những hiệu quả đáng kể và thuốc diệt côn trùng được sử dụng rộng rãi hiện nay thuộc nhóm pyrethroid. Các hóa chất thuộc nhóm pyrethroid chủ yếu tác động lên côn trùng thông qua các thụ thể trên kênh dẫn truyền Na^+ của các neuron thần kinh ở côn trùng. Pyrethroid cản trở sự ngừng hoạt động của kênh dẫn truyền, kết quả là kênh K^+ mở trong thời gian dài làm gián đoạn tín hiệu điện trong hệ thống thần kinh, làm mất khả năng bay của côn trùng. Tuy nhiên, khả năng kháng thuốc ở côn trùng trong đó có muỗi đang khiến cho hiệu quả của thuốc diệt côn trùng bị giảm đi. Khả năng kháng thuốc được xác định là do các đột biến trên gen mã hóa cho kênh dẫn truyền Na^+ (voltage-gated sodium channel – VGSC). Cho đến nay, rất nhiều đột biến đã được xác định có liên quan đến tính kháng ở các quần thể muỗi *Aedes*. Thêm vào đó, tần suất của các đột biến trên gen VGSC ở các quần thể muỗi khác nhau có sự khác biệt rất lớn. Vì vậy, nghiên cứu tính kháng thuốc diệt ở muỗi *Aedes* sẽ giúp cho việc kiểm soát tốt đối với vector truyền bệnh sốt xuất huyết.

Từ khóa: Kênh dẫn truyền Na^+ công điện áp, tính kháng thuốc diệt côn trùng, muỗi *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, đột biến gen VGSC, vector truyền bệnh sốt xuất huyết

Muỗi truyền bệnh sốt xuất huyết

Muỗi là một trong các loài côn trùng gây hại đối với sức khỏe con người. Muỗi là vector chính lây truyền nhiều bệnh nguy hiểm, có nguy cơ tử vong cao cho con người như bệnh sốt rét (do muỗi Anopheles), bệnh sốt vàng da, bệnh sốt xuất huyết và hiện nay là bệnh Zika (do muỗi *Aedes*), bệnh giun chỉ (do muỗi *Culex*)...Vai trò truyền bệnh sốt xuất huyết của muỗi *Aedes* đã được chứng minh. Trong đó hai loài muỗi *Aedes aegypti* và *Aedes albopictus* được biết đến là các vector chính truyền bệnh sốt xuất huyết ở người (Smith *et al.*, 2016). Loài *Ae. aegypti* được xác định là vector quan trọng nhất, và loài *Ae. albopictus* cũng được nghiên cứu ở một số nước trong nhiều năm qua, tuy nhiên số liệu còn chưa đầy đủ.

Trong các bệnh do muỗi lây truyền, sốt xuất huyết là bệnh gây ảnh hưởng lớn đến sức khỏe cho cộng đồng trên toàn thế giới. Theo thống kê của Tổ chức y tế thế giới WHO, mỗi năm có khoảng 390 triệu người bị nhiễm sốt xuất huyết - đây là căn bệnh nhiệt đới lây lan nhanh nhất thế giới. Sốt xuất huyết là bệnh truyền nhiễm cấp tính do virus gây nên. Bệnh có thể gây thành dịch lớn và có tỷ lệ tử vong tương đối cao. Bệnh lưu hành trên 100 quốc gia thuộc các khu vực có khí hậu nhiệt đới và á nhiệt đới như vùng Đông Nam Á và Tây Thái Bình Dương, châu Mỹ, châu Phi với khoảng 2,5 tỷ người sống trong vùng nguy cơ (WHO, 2009; 2012). Các nhà nghiên cứu ước tính rằng 70% các trường hợp sốt xuất huyết nghiêm trọng trên thế giới tập trung ở châu Á, trong đó phần lớn là trẻ em dưới 15 tuổi, tỷ lệ tử vong trung bình do sốt xuất huyết khoảng 2,5-

5% (Guzman *et al.*, 2010; Marciel-de-Fretas *et al.*, 2012). Năm 2014, tình hình sốt xuất huyết có chiều hướng gia tăng tại nhiều quốc gia khu vực. Tuy nhiên, cho đến thời điểm này, vẫn chưa có chủng ngừa hoặc loại thuốc cụ thể nào điều trị sốt xuất huyết được phê duyệt chính thức. Vì vậy, biện pháp kiểm soát duy nhất hiện nay được thực hiện là kiểm soát đối với vector truyền bệnh.

Thuốc diệt côn trùng, cơ chế tác động và cơ chế giải độc ở muỗi

Từ năm 1950, thuốc diệt côn trùng đã được sử dụng ồ ạt cho việc kiểm soát số lượng muỗi trên thế giới. Các loại thuốc diệt côn trùng được sử dụng chủ yếu là các hợp chất Cl hữu cơ, phosphate hữu cơ, carbamate, pyrethroid.

Nhóm Cl hữu cơ bao gồm các hóa chất như DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane), dieldrin và lindan. Các hợp chất của nhóm này thường không tan trong nước, vì vậy rất bền vững trong môi trường. Do có độc tính cao với người, gây ô nhiễm môi trường và hiệu quả diệt muỗi không còn vì muỗi đã kháng với DDT nên hiện nay không còn được sử dụng.

Nhóm phosphate hữu cơ bao gồm các hóa chất như DDVP, malathion, parathion, diazinon, fenthion... Nhóm này cũng có độc tính cao với người, tuy nhiên không bền vững trong môi trường như nhóm Cl và có mùi khó chịu nên hiện nay chỉ được sử dụng ở mức hạn chế.

Nhóm carbamate bao gồm các hợp chất như izolan, dimetan, pyramate, pyrolan tuy nhiên nhóm này có hiệu lực thấp và giá thành cao nên ít được sử dụng.

Nhóm pyrethroid có nguồn gốc thực vật gồm allethrin (phân nhóm 1) có tác dụng diệt ruồi và muỗi nhưng không chịu được tác động của ánh sáng, tetramethrin, resmethrin, phenothrin... (phân nhóm 2), permethrin, fenvalerate (phân nhóm 3) có tác dụng diệt côn trùng mạnh, chịu được tác động của ánh sáng, cypermethrin, deltamethrin... (phân nhóm 4). Pyrethroid là hợp chất hữu cơ tự nhiên được tổng hợp từ hoa cúc (*Chrysanthemum cinerifolius*), là thuốc diệt côn trùng được sử dụng rộng rãi trong thương mại. Hiện nay, hóa chất thuộc nhóm pyrethroid được sử dụng nhiều do tương đối an toàn với người và môi trường, tự hủy nhanh trong đất, có tác dụng hạ gục nhanh và rất độc với côn trùng.

Pyrethroid là thuốc diệt côn trùng được sử dụng như một trong những biện pháp kiểm soát hiệu quả nhất trong cuộc chiến toàn cầu chống các bệnh lây

truyền qua muỗi trong đó có sốt xuất huyết. Cơ chế tác động của pyrethroid là làm thay đổi các chức năng của kênh dẫn truyền Na^+ cổng điện áp (voltage-gated sodium channel - Na_v), một chức năng rất cần thiết trong việc truyền tín hiệu trong hệ thống thần kinh. Nghiên cứu cơ chế tác động của các hóa chất thuộc nhóm pyrethroid cho thấy các chất này ảnh hưởng lên côn trùng bằng cách gắn vào kênh vận chuyển Na^+ của các neuron thần kinh ở côn trùng. Chúng thường ưu tiên gắn vào các kênh đang mở. Các kênh được bao bởi Na^+ vẫn còn đang mở ở giai đoạn hoạt động làm cho dây thần kinh bị kích thích dẫn đến sự mất kiểm soát. Khiến cho côn trùng bị co giật và không thể duy trì khả năng bay bình thường (Davies *et al.*, 2007; Dong *et al.*, 2014).

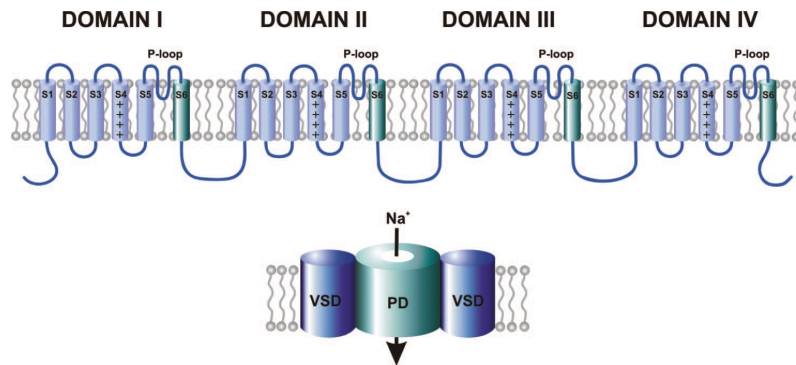
Từ những năm 2000-2009, lượng hóa chất sử dụng hàng năm cho việc diệt muỗi là 394 tấn phosphate hữu cơ và 154 tấn pyrethroid (WHO, 2011). Tuy nhiên, hiệu quả của các hóa chất diệt giờ đây đã bị đe dọa bởi cơ chế kháng với thuốc diệt ở muỗi. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy, tính kháng với hóa chất diệt ở côn trùng nói chung và ở muỗi nói riêng có thể là kết quả của các cơ chế khác nhau, như là đột biến của protein mục tiêu của hóa chất diệt, sự thâm nhập thấp hơn của hóa chất diệt (tính kháng vị trí đích) hay sự phân hủy sinh học đối với hóa chất diệt (tính kháng chuyển hóa). Vị trí đích không nhạy cảm và tính kháng chuyển hóa là hai cơ chế kháng được xác định ở muỗi (Hemingway *et al.*, 2004). Trong cơ chế kháng chuyển hóa, sự tăng cường hoạt động của các enzyme esterases, mono-oxygenases, và glutathione transferases có tác dụng phân hủy nhanh hoặc cô lập các hóa chất diệt côn trùng, do đó ức chế hoặc ngăn cản hóa chất diệt đến và gắn được vào các vị trí đích của nó. Tuy nhiên, trong hầu hết các trường hợp kháng, đột biến kháng ngã gục - kdr (knockdown resistance) trên kênh dẫn truyền Na^+ được biết đến là cơ chế kháng chính đối với pyrethroid (Hemingway *et al.*, 2004; Dong, 2007). Vì vậy, trong hoàn cảnh hiện nay khi chưa có giải pháp thay thế hiệu quả, cơ chế phân tử của tính kháng sẽ là bước chìa khóa nhằm cải thiện các chiến lược quản lý tính kháng thuốc diệt côn trùng ở muỗi (David *et al.*, 2014).

Kênh dẫn truyền natri cổng điện áp (Voltage-gated sodium channels - Na_v) và tính kháng thuốc diệt côn trùng

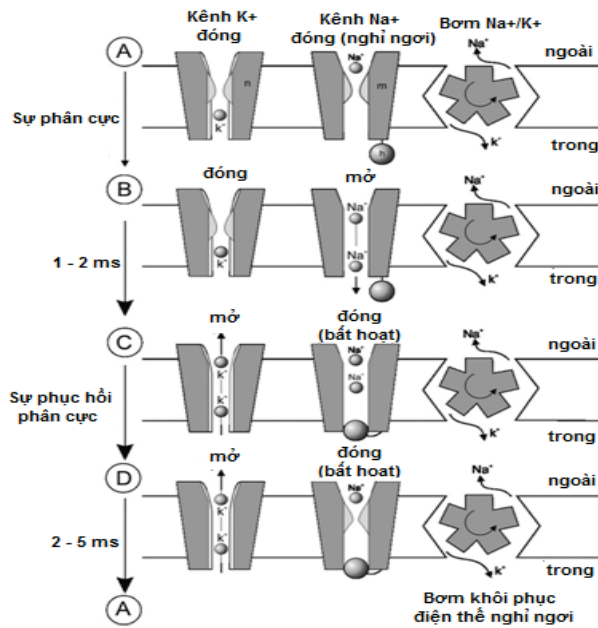
Kênh dẫn truyền Na^+ cổng điện áp là một protein vận chuyển qua màng rất quan trọng cho các hoạt động dẫn truyền điện thế trong tế bào thần kinh và các tế bào hoạt động theo cơ chế dẫn truyền điện

thể khác. Trong phản ứng với màng phân cực, kênh dẫn truyền natri mở (hoạt động) và cho phép ion natri đi qua vào trong tế bào, gây khử cực của màng tế bào. Sự kích hoạt của kênh natri chịu trách nhiệm cho giai đoạn hoạt động tăng điện thế nhanh chóng của màng tế bào. Trong một vài mili giây sau khi

kênh dẫn truyền mở, các lỗ trên kênh sẽ được đóng lại bởi các thành phần làm bất hoạt nhanh, quá trình đóng. Với vai trò quan trọng của chúng trong điều hòa điện thế màng, kênh dẫn truyền natri là vị trí mục tiêu tác động chính của hàng loạt các độc tố thần kinh trong đó có thuốc diệt côn trùng.



Hình 1. Cấu trúc của kênh vận chuyển Na⁺ cổng điện áp.



Hình 2. Cơ chế hoạt động của kênh dẫn truyền Na⁺.

Các lỗ trên kênh dẫn truyền được tạo thành bởi các tiểu đơn vị α của kênh dẫn truyền natri bao gồm bốn domain tương đồng lặp lại (I – IV). Mỗi domain có sáu phân đoạn vận chuyển màng (S1 – S6) được nối với nhau bởi các vòng lặp nội màng và ngoại màng (Hình 1). Các phân đoạn S1 – S4

trong mỗi domain hoạt động như một modul cảm ứng điện thế, trong khi phân đoạn S5 và S6 của mỗi domain và vòng lặp S5 – S6 của ngoại màng, được biết đến như là vùng P, tạo thành các modul rỗng dạng lỗ có tác dụng như một phễu chọn lọc ion hẹp ở phần ngoại bào. Kênh vận chuyển natri có hai

công: một cổng kích hoạt (phụ thuộc điện áp) gọi là cổng “M” và một cổng bất hoạt gọi là cổng “H”. Cổng “H” có một bộ ba kỵ nước của các amino acid (IFM ở động vật có xương sống hoặc MFM ở côn trùng) có thể chốt các phân của vòng lặp nội bào giữa DIII và DIV với một vị trí thụ thể nằm trong lỗ nội bào. Sự kích hoạt phụ thuộc điện áp dẫn đến sự đóng cổng bất hoạt (cổng “H”) trong vòng 1 – 2 mili giây (bất hoạt nhanh). Các kênh có thể bỏ qua kích hoạt và đi thẳng từ trạng thái hạn chế hoạt động đến một trạng thái bất hoạt bởi một quá trình phụ thuộc điện áp được gọi là trạng thái đóng bất hoạt. Tương tự, kênh có thể mở lại mà không có trạng thái bất hoạt ban đầu (Hille, 2001). Sự kích hoạt phụ thuộc điện áp được coi là kết quả sự chuyển động của bốn phân đoạn S4 tích điện dương. Trong phản ứng với màng phân cực, phân đoạn S4 di chuyển theo hướng ngoại bào dẫn đến sự thay đổi về hình dạng làm lỗ mở ra. Sau khi mở nhanh, kênh natri lại bị bất hoạt (đóng lại). Điều này đạt được bởi sự chuyển động của các hạt làm bất hoạt - tái phân cực (hình thành chủ yếu bởi sự giảm mỗi liên kết nội bào liên kết các domain III và IV) (Hình 2) (Davies *et al.*, 2007).

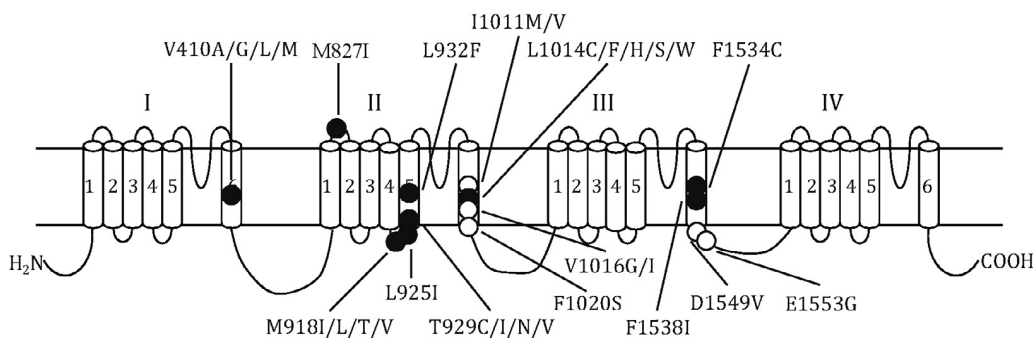
Pyrethroid chủ yếu cản trở sự ngừng hoạt động của kênh, kết quả là kênh Na⁺ mở trong thời gian dài (Bloomquist, 1996; Narahashi, 1986; 1996; Soderlund, 2010). Pyrethroid là nguyên nhân gây ra sự khử cực của màng tế bào thần kinh, làm gián đoạn tín hiệu điện trong hệ thống thần kinh của côn trùng (Bloomquist, 1996; Narahashi, 1986; 1996).

Nghiên cứu của O’Reilly và đồng tác giả (2006) xác định vị trí thụ thể pyrethroid thứ nhất trên kênh vận chuyển natri là PyR1 được hình thành bởi xoắn IIL45, IIS5 và IIS6 và vị trí thụ thể thứ hai (PyR2) được hình thành bởi xoắn IL45, IS5, IS6 và IIS6 (Du *et al.*, 2013). Phân tích trên mô hình máy tính cho thấy có hai vị trí đột biến được xác định trên vị trí thụ thể thứ nhất và ba vị trí đột biến khác được xác

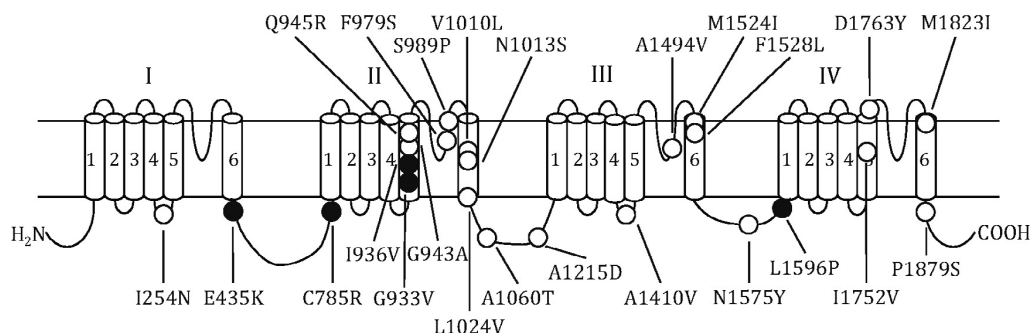
định trên vị trí thụ thể thứ hai đối với pyrethroid trên kênh dẫn truyền Na⁺ ở ruồi (Du *et al.*, 2013). Sự phát hiện vị trí thụ thể thứ hai cung cấp một mô hình có thể giải thích cho cơ chế phân tử trong hoạt động của pyrethroid và tính kháng cũng như sự chọn lọc cao của pyrethroid trên kênh vận chuyển Na⁺ cổng điện áp ở côn trùng so với động vật có vú. Kết quả này cũng có tác động dự báo và theo dõi tính kháng với pyrethroid ở côn trùng trong tương lai (Wang *et al.*, 2014).

Hiện nay, tính kháng với các hóa chất thuộc nhóm pyrethroid đang là vấn đề chính trong chương trình kiểm soát vector truyền bệnh cho người, trong đó có vector truyền bệnh sốt xuất huyết. Sự thay thế amino acid đơn trong kênh dẫn truyền Na⁺ cổng điện áp, được biết đến như là đột biến kháng ngã gục - kdr (knockdown resistance), là một trong các nguyên nhân chính trong tính kháng với pyrethroid ở một số loài muỗi trong đó có muỗi truyền bệnh sốt xuất huyết.

Các dạng phổ biến nhất của tính kháng với thuốc diệt côn trùng được phát hiện đầu tiên ở ruồi bởi Busvine (1951). Sự thay thế amino acid trên VGSC có thể làm giảm đáng kể sự nhạy cảm của kênh natri gắn với pyrethroid. Nó có thể cũng làm thay đổi cấu tạo của kênh natri đến một mức nào đó làm cho kênh ở trạng thái đóng hoặc ở trạng thái bất hoạt hình thành nên tính kháng hóa chất diệt. Một số đột biến liên quan đến tính kháng ở côn trùng đã được xác định trên kênh dẫn truyền natri (Hình 3, 4) (Rinkevich *et al.*, 2013). Các đột biến mới liên quan đến tính kháng pyrethroid tiếp tục được phát hiện trên quần thể muỗi *Ae. aegypti* thu thập ở Châu Phi, Châu Á và Châu Mỹ Latinh (Rinkevich *et al.*, 2013). Điều đáng chú ý là các đột biến này không nằm trên các vị trí thụ thể thứ nhất (IIL45, IIS5 và IIS6) và vai trò của chúng đối với tính kháng còn cần được chứng minh bằng thực nghiệm.



Hình 3. Một số đột biến đã được phát hiện trên nhiều loài côn trùng khác nhau liên quan đến tính kháng với pyrethroid.



Hình 4. Một số đột biến đã được phát hiện riêng lẻ trên một loài côn trùng liên quan đến tính kháng với pyrethroid.

Đột biến trên gen mã hóa cho kênh dẫn truyền natri (voltage-gated sodium channel - VGSC) và tính kháng thuốc diệt côn trùng ở muỗi truyền bệnh sốt xuất huyết

Các đột biến trên gen *VGSC* làm thay đổi amino acid có liên quan đến tính kháng thuốc diệt côn trùng ở muỗi *Ae. aegypti* đã được xác định tại các vị trí: Gly923Val, Leu982Thr, Val1005Gly (Bregues *et al.*, 2003); Ile1011Met/Val, Val1016Gly/Ile (Saavedra-Rodriguez *et al.*, 2007; Rajatileka *et al.*, 2008; Lima *et al.*, 2011; Stenhouse *et al.*, 2013; Martins *et al.*, 2009a; 2009b; 2013); Ile1018Met/Val, Val1023Ile/Gly (Bregues *et al.*, 2003; Saavedra-Rodriguez *et al.*, 2007); Arg565Ser, Glu1122Gly, Asp1794Tyr (Chang *et al.*, 2009); Val1016Ile, Phe1534Cys (Harris *et al.*, 2010; Linss *et al.*, 2014); Phe1552Cys (Yanola *et al.*, 2010); Ser989Pro (Kawada *et al.*, 2014); Thr1520Ile (Kushwah *et al.*, 2015); Ser996Pro, Phe1565Cys (Wuliandari *et al.*, 2015).

Các nghiên cứu cũng cho thấy, tần suất của các đột biến trên các quần thể muỗi ở các quốc gia khác nhau có sự khác biệt rất lớn. Đột biến Ile1011Met/Val và Val1016Ile/Gly trên vùng IIS6 của kênh dẫn truyền Na⁺ được xác định là có vai trò quan trọng trong tính kháng với pyrethroid ở muỗi *Ae. aegypti* (Bregues *et al.*, 2003; Saavedra-Rodriguez *et al.*, 2007; Chang *et al.*, 2009) và được phát hiện khá phổ biến nhất ở Châu Mỹ Latinh (Saavedra-Rodriguez *et al.*, 2007; Martins *et al.*, 2009b; Siller *et al.*, 2011; McAllister *et al.*, 2012; Marcombe *et al.*, 2012). Nghiên cứu cho thấy tần suất của đột biến kdr 1016Ile tăng lên nhanh ở những nơi sử dụng nhiều pyrethroid, như Brazil và Mexico (Martine *et al.*, 2009a; Garcia *et al.*, 2009). Đột biến thay thế valine thành glycine ở domain II (Val1016Gly) liên quan đến tính kháng với dạng II

của pyrethroid, deltamethrin. Tuy nhiên, tần suất Val1016Gly khá thấp ở Đông Nam Á, bao gồm Indonesia (Bregues *et al.*, 2003), Thái Lan (Rajatileka *et al.*, 2008; Srisawat *et al.*, 2010), Việt Nam (Kawada *et al.*, 2009), Đài Loan (Chang *et al.*, 2009) và Malaysia (Ishak *et al.*, 2015). Tần suất alen 1016Gly được tìm thấy là 0,23 trong nghiên cứu của Rajatileka và đồng tác giả năm 2008, tuy nhiên trong nghiên cứu của Stenhouse và đồng tác giả năm 2013 lại cho thấy tần suất của allele này cao ở Thái Lan. Đột biến kdr Phe1534Cys được tìm thấy ở Việt Nam (Kawada *et al.*, 2009), Thái Lan (Yanola *et al.*, 2011), Brazil, Venezuela, đảo Madeira (Seixas *et al.*, 2013), Myanmar (Kawada *et al.*, 2014), Malaysia (Ishak *et al.*, 2015), đảo Grand Cayman (Harris *et al.*, 2010), và Martinique (Marcombe *et al.*, 2012), với tần suất cao ở Việt Nam (Kawada *et al.*, 2009), Caribbean (Harris *et al.*, 2010), Thái Lan (Yanola *et al.*, 2011), Venezuela (Seixas *et al.*, 2013). Nghiên cứu của Kawada và đồng tác giả (2014) trên quần thể muỗi *Ae. aegypti* ở Myanmar cho thấy các đột biến Ser989Pro, Val1016Gly được tìm thấy khá phổ biến, trong khi đột biến Phe1534Cys ít phổ biến hơn và đột biến Ile1011Met/Val, Leu1014Phe không được xác định.

Bên cạnh những nghiên cứu trên muỗi *Ae. aegypti*, những năm gần đây đã có thêm các báo cáo về hiện tượng kháng hóa chất diệt ở *Ae. albopictus*. Từ những nghiên cứu đầu tiên phát hiện đột biến Phe1534Cys trên quần thể *Ae. albopictus* ở Singapore (Kasai *et al.*, 2011), cho đến gần đây đã có thêm nhiều nghiên cứu cho thấy quần thể muỗi *Ae. albopictus* ở một số vùng đã có hiện tượng kháng với hóa chất diệt như DDT và deltamethrin (Kamgang *et al.*, 2011). Nghiên cứu tính kháng hóa chất diệt của quần thể muỗi *Ae. albopictus* ở Malaysia cho thấy đã phát hiện sự kém nhạy cảm của

acetylcholinesterase chứng tỏ các quần thể này đã xuất hiện tính kháng với hóa chất thuộc nhóm carbamate hoặc phosphate hữu cơ (Chen *et al.*, 2013). Nghiên cứu tính kháng hóa chất diệt của quần thể muỗi *Ae. albopictus* ở Mỹ cũng cho thấy có hiện tượng kháng với DDT, malathion và hóa chất thuộc nhóm phosphate, tuy nhiên các quần thể này vẫn còn nhạy cảm với các hóa chất thuộc nhóm pyrethroid (Marcombe *et al.*, 2014). Hiện tượng kháng với DDT nhưng vẫn còn mẫn cảm với deltamethrin của các quần thể muỗi *Ae. albopictus* cũng được báo cáo ở Ấn Độ (Das and Dutta, 2014). Nghiên cứu mới nhất của Chen và đồng tác giả năm 2016 đã phát hiện đột biến Phe1534Ser trên gen *VGSC* ở quần thể muỗi *Ae. albopictus* kháng với pyrethroid ở Trung Quốc.

Có thể thấy rằng tính kháng hóa chất diệt ở muỗi truyền bệnh sốt xuất huyết đang được các nhà nghiên cứu trên thế giới hết sức quan tâm. Đột biến trên kênh dẫn truyền natri được xác định là cơ chế chính liên quan đến tính kháng thuốc diệt côn trùng ở muỗi. Tuy nhiên, có sự khác biệt khá rõ rệt về tần xuất các đột biến trên gen *VGSC* ở các quần thể muỗi ở các quốc gia khác nhau và khác nhau ở hai loài muỗi *Ae. aegypti* và *Ae. albopictus*. Vì vậy, việc nghiên cứu các đột biến gen liên quan đến tính kháng hóa chất diệt ở hai loài muỗi này là rất cần thiết để có được chiến lược kiểm soát hiệu quả.

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn thành với sự tài trợ kinh phí của Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) cho đề tài mã số 106.NN02.2015.17.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bloomquist JR (1996) Ion channels as targets for insecticides. *Annu Rev Entomol* 41(1): 163–190.

Bregues C, Hawkes NJ, Chandre F, McCarroll L, Duchon S, Guillet P, Manguin S, Morgan JC, Hemingway J (2003) Pyrethroid and DDT cross-resistance in *Aedes aegypti* is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. *Med Vet Entomol* 17: 87–94.

Busvine JR (1951) Mechanism of resistance to insecticide in houseflies. *Nature* 168: 193 – 195.

Chang C, Shen WK, Wang TT, Lin YH, Hsu EL, Dai SM (2009) A novel amino acid substitution in a voltage-gated sodium channel is associated with knockdown resistance to permethrin in *Aedes aegypti*. *Insect Biochem Mol Biol* 39: 272–278.

Chen CD, Nazni WA, Lee HL, Norma-Rashid Y, Lardizabal ML, Sofian-Azirun M (2013) Temephos

resistance in field *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) from Selangor, Malaysia. *Trop Biomed* 30(2): 220–230.

Chen H, Li K, Wang X, Yang X, Lin Y, Cai F, Zhong W, Lin C, Lin Z, Ma Y (2016) First identification of kdr allele F1534S in *VGSC* gene and its association with resistance to pyrethroid insecticides in *Aedes albopictus* populations from Haikou City, Hainan Island, China. *Infect Dis Poverty* 5: 31 DOI 10.1186/s40249-016-0125-x.

Das M and Dutta P (2014) Status of insecticide resistance and detoxifying enzyme activity of *Aedes albopictus* population in Sonitpur district of Assam, India. *Int J Mosq Res* 1(4): 35–41.

David JP, Faucon F, Chandor-Proust A, Poupardin R, Riaz MA, Bonin A, Navratil V, Reynaud S (2014) Comparative analysis of response to selection with three insecticides in the dengue mosquito *Aedes aegypti* using mRNA sequencing. *BMC Genomics* 15: 174 DOI 10.1186/1471-2164-15-174.

Davies TGE, Field LM, Usherwood PNR, Williamson MS (2007) DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels. *IUBMB Life* 59: 151–162.

Dong K (2007) Insect sodium channels and insecticide resistance. *Invert Neurosci* 7: 17–30.

Dong K, Du Y, Rinkevich F, Nomura Y, Xu P, Wang L, Silver K, Zhorov BS (2014) Molecular biology of insect sodium channels and pyrethroid resistance, *Insect Biochem. Mol Biol* 50: 1–17.

Du Y, Nomura Y, Satar G, Hu Z, Nauen R, He SY, Zhorov BS, Dong K (2013) Molecular evidence for dual pyrethroid-receptor sites on a mosquito sodium channel. *PNAS* 110(29): 11785–11790.

Garcia GP, Flores AE, Fernandez-Salas I, Saavedra-Rodriguez K, Reyes-Solis G, Lozano-Fuentes S, Bond JG, Casas-Martinez M, Ramsey JM, Garcia-Rejon J, Dominguez-Galera M, Ranson H, Hemingway J, Eisen L, Black WC (2009) Recent rapid rise of a permethrin knock down resistance allele in *Aedes aegypti* in Mexico. *PLoS Negl Trop Dis* 3: e531 DOI 10.1371/journal.pntd.0000531.

Guzman MG, Halstead SB, Artsob H, Buchy P, Farrar J, Gubler DJ, Hunsperger E, Kroeger A, Margolis HS, Martinez E, Nathan MB, Pelegring JL, Simmons C, Yoksan S, Peeling RW (2010) Dengue: a continuing global threat. *Nat Rev Microbiol* 8: S7–S16.

Harris AF, Rajatileka S, Ranson H (2010) Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* from Grand Cayman. *Am J Trop Med Hyg* 83: 277–284.

Hemingway J, Hawkes NJ, McCarroll L, Ranson H (2004) The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. *Insect Biochem Mol Biol* 34(7): 653–665.

Hille B (2001) Ion Channels of Excitable Membranes. Sinauer, Sunderland, MA.

- Ishak IH, Jaal Z, Ranson H, Wondji CS (2015) Contrasting patterns of insecticide resistance and knockdown resistance (kdr) in the dengue vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from Malaysia. *Parasit Vectors* 8: 181 DOI 10.1186/s13071-015-0797-2
- Kamgang B, Marcombe S, Chandre F, Nchoutpouen E, Nwane P, Etang J, Corbel V, Paupy C (2011) Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Central Africa. *Parasit Vectors* 4: 79 DOI 10.1186/1756-3305-4-79.
- Kasai S, Ng LC, Lam-Phua SG, Tang CS, Itokawa K, Komagata O, Kobayashi M, Tomita T (2011) First detection of a putative knockdown resistance gene in major mosquito vector, *Aedes albopictus*. *Jpn J Inf Dis* 64(3): 217–221.
- Kawada H, Higa Y, Komagata O, Kasai S, Tomita T, Yen NT, Loan LL, Sanchez RAP, Takagi M (2009) Widespread distribution of a newly found point mutation in the voltage-gated sodium channel in pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* populations in Vietnam. *PLoS Negl Trop Dis* 3: 10 DOI 10.1371/journal.pntd.0000527.
- Kawada H, Oo SZM, Thaug S, Kawashima E, Maung YNM, Thu HM, Thant KZ, Minakawa N (2014) Co-occurrence of point mutations in the voltage-gated sodium channel of pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* populations in Myanmar. *PLOS Negl Trop Dis* 8(7): e3032 DOI 10.1371/journal.pntd.0003032.
- Kushwah RBS, Dykes CL, Kapoor N, Adak T, Singh OP (2015) Pyrethroid-resistance and presence of two knockdown resistance (kdr) mutations, F1534C and a novel mutation T1520I, in Indian *Aedes aegypti*. *PLoS Negl Trop Dis* 9(1): e3332 DOI 10.1371/journal.pntd.0003332.
- Lima EP, Paiva MHS, de Araujo AP, da Silva EVG, da Silva UM, de Oliveira LN, Santana AEG, Barbosa CN, de Paiva Neto CC, Goulart MOF, Wilding CS, Ayres CFJ, de Melo Santos MAV (2011) Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceará, Brazil. *Parasit Vectors* 4: 5 DOI 10.1186/1756-3305-4-5.
- Linss JGB, Brito LP, Garcia GA, Araki AS, Bruno RV, Lima JBP, Valle D, Martins AJ (2014) Distribution and dissemination of the Val1016Ile and Phe1534Cys kdr mutations in *Aedes aegypti* Brazilian natural populations. *Parasit Vectors* 7: 25 DOI 10.1186/1756-3305-7-25.
- Maciel-de-Freitas R, Aguiar R, Bruno RV, Guimaraes MC, Lourenco-de-Oliveira R, Sorgine MHF, Struchiner CJ, Valle D, O'Neill SL, Moreira LA (2012) Why do we need alternative tools to control mosquito-borne diseases in Latin America? *Mem Inst Oswaldo Cruz* 107: 828–829.
- Marcombe S, Mathieu RB, Pocquet N, Riaz MA, Poupardin R, Selior S, Darriet F, Reynaud S, Yebakima A, Corbel V, David JP, Chandre F (2012) Insecticide resistance in the dengue vector *Aedes aegypti* from Martinique: distribution, mechanisms and relations with environmental factors. *PLoS One* 7: e30989 DOI 10.1371/journal.pone.0030989.
- Marcombe S, Farajollahi A, Healy SP, Clark GG, Fonseca DM (2014) Insecticide resistance status of United States populations of *Aedes albopictus* and mechanisms involved. *PLoS One* 9: e101992 DOI 10.1371/journal.pone.0101992
- Martins AJ, Lima JB, Peixoto AA, Valle D (2009a) Frequency of Val1016Ile mutation in the voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti* Brazilian populations. *Trop Med Int Health* 14: 1351–1355.
- Martins AJ, Lins RM, Linss JG, Peixoto AA, Valle D (2009b) Voltage-gated sodium channel polymorphism and metabolic resistance in pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* from Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 81: 108–115.
- Martins AJ, Brito LP, Linss JGB, da Silva Rivas GB, Machado R, Bruno RV, Lima JBP, Valle D, Peixoto AA (2013) Evidence for gene duplication in the voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti*. *Evolution, Medicine, and Public Health* pp. 148–160.
- McAllister JC, Godsey MS, Scott ML (2012) Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from Port-au-Prince, Haiti. *J Vect Ecol* 37: 325–332.
- Narahashi T (1986) Mechanisms of action of pyrethroids on sodium and calcium channel gating. *Neuropharmacology and Pesticide Action*, eds Ford MG, Usherwood PNR, Reay RC, Lunt GG (Ellis Horwood, Chichester, England), pp 36–60.
- Narahashi T (1996) Neuronal ion channels as the target sites of insecticides. *Pharmacol Toxicol* 79(1): 1–14.
- O'Reilly AO, Khambay BPS, Williamson MS, Field LM, Wallace BA, Davies TGE (2006) Modelling insecticide-binding sites in the voltage-gated sodium channel. *Biochem J* 396: 255–263.
- Rajatileka S, Black WC 4th, Saavdra-Rodriguez K, Trongtokit Y, Apiwathnasorn C, McCall PJ, Ranson H (2008) Development and application of a simple colorimetric assay reveals widespread distribution of sodium channel mutations in Thai populations of *Aedes aegypti*. *Acta Trop* 108: 54–57.
- Rinkevich FD, Du YZ, Dong K (2013) Diversity and convergence of sodium channel mutations involved in resistance to pyrethroids. *Pestic Biochem Physiol* 106(3): 93–100.
- Saavedra-Rodriguez K, Marquez LU, Rajatileka S, Moulton M, Flores AE, Fernández-Salas I, Bisset J, Rodríguez MM, McCall PJ, Donnelly MJ, Ranson H, Hemingway J, Black WC (2007) IV: A mutation in the voltage-gated sodium channel gene associated with pyrethroid resistance in Latin American *Aedes aegypti*. *Insect Mol Biol* 16: 785–798.

- Seixas G, Salgueiro P, Silva AC, Campos M, Spenassatto C, Reyes-Lugo M, Novo MT, Ribolla PE, Silva Pinto JP, Sousa CA (2013) *Aedes aegypti* on Madeira Island (Portugal): genetic variation of a recently introduced dengue vector. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 108 Suppl 1: 3–10.
- Siller Q, Ponce G, Lozano S, Flores AE (2011) Update on the frequency of Ile1016 mutation in voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti* in Mexico. *J Am Mosq Control Assoc* 27: 357–362.
- Smith LB, Kasai S, Scott JG (2016) Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: Important mosquito vectors of human diseases. *Pestic Biochem Physiol* 133: 1–12.
- Soderlund DM (2010) State-dependent modification of voltage-gated sodium channels by pyrethroids. *Pestic Biochem Physiol* 97(2): 78–86.
- Srisawat R, Komalamisra N, Eshita Y, Zheng M, Ono K, Itoh TQ, Matsumoto A, Petmitr S, Rongsriyam Y (2010) Point mutations in domain II of the voltage-gated sodium channel gene in deltamethrin-resistant *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Appl Entomol Zool* 45: 275–282.
- Stenhouse SA, Plernsub S, Yanola J, Lumjuan N, Dantrakool A, Choochote W, Somboon P (2013) Detection of the V1016G mutation in the voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) by allele-specific PCR assay, and its distribution and effect on deltamethrin resistance in Thailand. *Parasit Vectors* 6(1): 253 DOI 10.1186/1756-3305-6-253.
- Yanola J, Somboon P, Walton C, Nachaiwieng W, Prapanthadara L (2010) A novel F1552 / C1552 point mutation in the *Aedes aegypti* voltage-gated sodium channel gene associated with permethrin resistance. *Pestic Biochem Physiol* 96: 127–131.
- Yanola J, Somboon P, Walton C, Nachaiwieng W, Somwang P, Prapanthadara L (2011) High-throughput assays for detection of the F1534C mutation in the voltage-gated sodium channel gene in permethrin resistant *Aedes aegypti* and the distribution of this mutation throughout Thailand. *Trop Med Int Health* 16: 501–509.
- Wang L, Nomura Y, Du Y, Liu N, Zhorov BS, Dong K (2014) A mutation in the intracellular loop III/IV of sodium channel synergizes the effect of mutations in helix IIS6 on pyrethroid resistance. *Mol Pharmacol* 87: 421–429.
- WHO, Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control, World Health Organization (WHO) and the special programme for research and tropical diseases (TDR), 2009.
- WHO - World Health Organization. 2011. Action against dengue: dengue day campaigns across Asia. WHO, Geneva, Switzerland.
- WHO, in: WHO (Ed.), Dengue and Severe Dengue, World Health Organization, Geneva, 2012.
- Wuliandari JR, Lee SF, White VL, Tantowijoyo W, Hoffmann AA, Endersby-Harshman NM (2015) Association between three mutations, F1565C, V1023G and S996P, in the voltage-sensitive sodium channel gene and knockdown resistance in *Aedes aegypti* from Yogyakarta, Indonesia. *Insects* 6: 658–685.

VOLTAGE-GATED SODIUM CHANNELS (Na_v) AND INSECTICIDE RESISTANCE IN MOSQUITO, A VECTOR OF DENGUE FEVER

Nguyen Thi Kim Lien¹, Nguyen Thi Huong Binh²

¹*Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology*

²*National Institute of Malariaology Parasitology and Entomology, Ministry of Health*

SUMMARY

Dengue fever is an acute infectious disease, can cause large epidemics and high mortality rates. The disease circulate in more than 100 countries in the world. Dengue fever is transmitted by intermediary vector, which is mosquito *Aedes* (*Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*). The mosquito control plays an importance role in preventing the outbreak. In the control vector, the use of insecticides has brought significant efficiency. Currently, insecticide chemicals which are used commonly is pyrethroid. Pyrethroid effect mainly on insects through receptors of voltage-gated sodium channels in neurons of insects. Pyrethroid inhibit the inactivation of sodium channel leading sodium channel open in a long time and interrupt electrical signals in the nervous system. Insects lose the control in flying and die. However, effectiveness of the insecticides are reduced by insecticide resistance of mosquito. In insects and in particular mosquito formed many different resistance mechanisms including of a mutation of the proteins targeted by the insecticide (target-site insensitivity), a lower penetration of the insecticide, its sequestration, or its biodegradation (metabolic resistance). Among of these mechanisms, the insecticide resistance is determined mainly by mutations in gene coding for voltage-gated sodium channels (*VGSC*) (knockdown resistance mutation – *knr* mutation). Today, many mutations were

determined that were associated to insecticide resistance in mosquito populations. Additions, frequency of mutations in *VGSC* gene in different mosquito populations have a great difference. Thus, the insecticide resistance in *Aedes* mosquito being the interest of many researchers in the world and researching insecticide resistance will help to control better for vector of dengue fever.

Keywords: *Voltage-gated sodium channels, insecticide resistance, Aedes aegypti, Aedes albopictus, mutations in VGSC gene, vector of dengue fever*