

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

УДК 577.151.63

ГЛУТАТИОН S-ТРАНСФЕРАЗЫ У ГЕЛЬМИНТОВ

Л. П. Смирнов¹, Е. В. Борвинская¹, А. А. Кочнева², И. В. Суховская¹

¹ Институт биологии Карельского научного центра РАН

² Петрозаводский государственный университет

Процесс биотрансформации токсических соединений у большинства живых организмов является двухфазным. Основным комплексом фазы I являются ферменты системы цитохрома P450, а фазы II – глутатион S-трансферазы. У гельминтов, в связи с редукцией активности основного комплекса фазы I биотрансформации ксенобиотиков – системы цитохромов P-450, предполагается наличие компенсаторных изменений других компонентов биохимической защиты, в том числе усиление метаболической роли ферментов второй фазы биотрансформации, направленное на преодоление стресса, вызванного действием токсинов. Исходя из этого, ключевую роль в механизмах детоксикации у гельминтов могут принимать на себя глутатион S-трансферазы. Известно, что глутатион S-трансферазы – это эволюционно древнее семейство мультифункциональных ферментов, которые участвуют в детоксикации потенциально опасных молекул экзо- и эндогенного происхождения (канцерогены, лекарственные препараты, продукты перекисного окисления и др.), катализируя реакции конъюгации органических молекул с восстановленным глутатионом. В настоящем обзоре проанализировано современное состояние исследований глутатион S-трансфераз гельминтов, представлена информация по выделению и изучению изоферментного состава цитозольных глутатион S-трансфераз (cGST) у гельминтов и их сходству с соответствующими ферментами хозяев. Проведен сравнительный анализ спектра изоферментов GST у представителей класса *Trematoda*, *Cestoda*, *Nematoda*. Показано, что цитозольные глутатион S-трансферазы у паразитов как проявляют сходство с cGST хозяев, так и имеют некоторые существенные структурные, биохимические и молекулярно-биологические отличия. В статье также приведены данные по номенклатуре и классификации ферментов. Показано, что изучение энзиматических систем, специфичных для паразита, способствует обнаружению белков, играющих решающую роль при выживании в хозяине, что может оказаться существенным при развитии методов химиотерапии паразитозов.

К л ю ч е в ы е с л о в а: глутатион S-трансферазы; трематоды; цестоды; нематоды.

L. P. Smirnov, E. V. Borvinskaya, I. V. Sukhovskaya, A. A. Kochneva.
GLUTATHIONE S-TRANSFERASES IN HELMINTHS

The process of biotransformation of toxic compounds in living organisms typically comprises two phases. The main complex of phase I is the P-450 cytochrome enzymatic sys-

tem; in phase II it is glutathione S-transferase enzymes. In helminths the activity of the P-450 cytochrome system is reduced, wherefore compensatory changes of other components of biochemical protection, including the strengthening of the metabolic role of the enzymes of the second phase of biotransformation, can be hypothesized. Glutathione S-transferases may thus assume the key role in detoxification processes in helminths. Glutathione S-transferases are an evolutionarily ancient family of multifunctional enzymes which participate in detoxification of potentially dangerous exo- and endogenous molecules (carcinogens, drugs, peroxidation products, etc.) by catalyzing the conjugation of organic molecules with reduced glutathione. In the present review the current state of research on glutathione S-transferases in helminths has been analyzed, and information on the isolation and study of the isoenzyme spectrum of cytosolic glutathione S-transferases (cGST) of helminths and their hosts is given. The comparative analysis of the range of GST isoenzymes in different members of classes *Trematoda*, *Cestoda*, *Nematoda* was carried out. Both similarities and essential differences of cGST of parasites and their hosts are shown at the structural, biochemical and molecular levels. Data on the nomenclature and classification of the enzymes are also presented. It is demonstrated that studies of parasite-specific enzymatic systems contribute to the detection of the proteins playing a crucial role in the helminth survival in the host and are essential for the development of anthelmintic therapy.

Key words: glutathione S-transferase; classification; trematodes; cestodes; nematodes.

Половозрелые особи гельминтов, обитающие исключительно в средах первого порядка, подвергаются воздействию широкого круга чужеродных молекул, включающих вторичные метаболиты диеты хозяина, компоненты его иммунной защиты, разного рода поллютанты из сред второго порядка, а также антигельминтные препараты. Большинство паразитов имеет сниженные возможности обмена веществ из-за активного использования метаболизма хозяина, поэтому их выживание сильно зависит от ограниченного числа собственных метаболических путей.

Процесс биотрансформации токсических соединений у большинства живых организмов является двухфазным. Основным комплексом фазы I являются ферменты системы цитохрома P450 (CYP450), а фазы II – глутатион S-трансферазы (GST) [Precious, Barrett, 1989]. Глутатион S-трансферазы (E. C. 2.5.1.18) – это эволюционно древнее семейство мультифункциональных энзимов, которые участвуют в детоксикации потенциально опасных молекул экзо- и эндогенного происхождения (канцерогены, лекарственные препараты, продукты перекисного окисления и др.), катализируя реакции конъюгации ксенобиотиков с восстановленным глутатионом (GSH) [Armstrong, 1997].

Ферменты группируются в три подсемейства согласно их субклеточной локализации: цитозольные или канонические, митохондриальные и микросомальные. Цитозольные GST (cGST) – это наиболее многочисленная и хорошо исследованная группа ферментов. Их номенклатура основана на классификации

канонических GST человека и обозначается буквами греческого или латинского алфавита. Она используется для таксономии GST не только всех видов позвоночных, но и других организмов, как эукариот, так и прокариот [Hayes et al., 2005]. Классы GST, проявляющие организменную специфику, обнаружены только у представителей определенных царств или типов, например, лямбда (L), фи (F), тау (U) у растений, дельта (D), эпсилон (E) у насекомых и бета (B) у прокариот. Такие классы, как альфа (A), мю (M), пи (P), тэта (T), сигма (S), зета (Z) и омега (O), встречаются не только у млекопитающих, но и могут быть обнаружены в любом организме, в том числе у гельминтов.

Для классификации cGST, выявленных у разных организмов, используется ряд критериев [Sheehan et al., 2001], базирующихся на сравнении первичной структуры исследуемого фермента с таковой известных cGST млекопитающих. Кроме того, критерии сравнительного анализа включают иммунную специфику, кинетические свойства (субстратная специфичность и чувствительность к ингибиторам), особенности третичной (строение активного центра) и четвертичной структуры мономеров, благодаря которой образуется димерная форма. Хотя мономеры могут осуществлять катализ независимо, тем не менее показано, в том числе на cGST, выделенных из *Plasmodium falciparum* [Liebau et al., 2005], что ферменты проявляют активность в виде димеров.

Глутатион S-трансферазы могут играть жизненно важную роль в метаболизме токсинов у гельминтов, в связи с критическими

функциональными изменениями в каскаде реакций детоксикации на уровне ферментов первой фазы биотрансформации. Так, известно, что за исключением некоторых протозойных паразитов, таких как эпимастиготы *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909), *T. brucei* (Plimmer and Bradford, 1899), *Plasmodium bergeri* (Vincke and Lips, 1948) и *Leishmania donovani* (Ross, 1903), у гельминтов активность ферментов системы CYP450 либо не обнаруживается [Precious, Barret, 1989], либо крайне низка. Например, у половозрелой особи *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) скорость метаболического преобразования 7-этоксирезорурфина (субстрата цитохромов) в резорурфин в 10 000 раз ниже, чем в микросомах печени крыс [Cvilinik et al., 2009]. В связи с этим у гельминтов предполагается наличие компенсаторных изменений других компонентов биохимической защиты, в том числе усиление метаболической роли второй фазы биотрансформации, направленное на преодоление стресса, вызванного действием токсинов.

В настоящей работе проанализированы литературные данные по выделению, изучению изоферментного состава и номенклатуре cGST, которые позволяют провести сравнительный анализ структуры и функций этих ферментов у гельминтов и их хозяев.

Глутатион S-трансферазы у трематод

Печеночная двуустка *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) инфицирует широкий круг видов млекопитающих, в том числе человека. Экономические потери от фасциолеза в животноводческих хозяйствах мира составляют более 3 млрд долларов в год. К 2009 году в мире насчитывалось 2,4 миллиона человек, инфицированных *F. hepatica*, а риску заражения подверглось более 180 миллионов. Поэтому неудивительно, что данная трематода является одним из важных объектов биохимических исследований специфики метаболизма гельминтов, в результате которых могут быть получены знания, необходимые при создании эффективных средств борьбы с паразитами. В частности, представители суперсемейства cGST рассматриваются как кандидаты на создание вакцин против разных видов паразитических червей [Brophy, Pritchard, 1994].

Дигенеи характеризуются очень высоким уровнем активности cGST. У *F. hepatica* концентрация ферментов, экстрагируемых из тканей, может достигать 3 % от общего количества водорастворимых белков [Hillyer et al., 1992], при этом фермент представлен множественными изоформами. Методом аффинной хроматографии выделено до пяти белковых форм, которые

по степени взаимодействия с GSH-матрицей могут быть разделены на группы с «высоким» и «низким» сродством [Brophy et al., 1990]. При этом 75–90 % активности приходилось на долю «истинных» cGST, т. е. проявляющих максимальное сродство к GSH. Все изоформы, как показано методом электрофореза в полиакриламидном геле, представляют собой белки с молекулярными массами 26 и 26,5 килодальтон (кДа) [Wijffels et al., 1992]. Активные формы фермента имеют димерную структуру, молекулярная масса которой, определяемая методом гель-хроматографии, составляет 43–47 кДа. Анализ аминокислотной последовательности N-концевого региона показал высокий уровень гомологии с cGST млекопитающих, отнесенных к M классу. Химэйл с соавторами [Chemale et al., 2006] при протеомном анализе выявили у *F. hepatica* до десяти изоформ cGST. Изучение масс-спектров первичной структуры ферментов показало, что кроме количественно преобладававших cGST M класса присутствовали белки, которые по участкам аминокислотных последовательностей можно классифицировать как принадлежащие энзимам S и O классов. Известно, что cGST S класса принимают активное участие в синтезе простагландинов, выполняя функции простагландинсинтетаз. Предполагается, что простагландины у гельминтов участвуют в реакциях супрессии иммунного ответа хозяина [Belley, Chadee, 1995]. Поэтому выявление cGST S класса у *F. hepatica* может свидетельствовать об использовании паразитом этого метаболического пути для подавления иммунного ответа хозяина [LaCourse et al., 2012]. Стоит отметить, что у близкородственной *F. gigantica* (Linnaeus, 1758) в первичной последовательности аналогичных cGST S класса обнаруживаются четыре аминокислотные замены, вероятно связанные с географической локализацией трематоды (Египет, Таиланд, Индия) [Morphew et al., 2012].

Другая группа трематод, вызывающая повышенный интерес исследователей, относится к роду *Schistosoma*. Это неудивительно, поскольку шистозомоз широко распространен в мире – им страдает более 200 миллионов человек, и более 800 тысяч смертей в год так или иначе связаны с этим паразитозом [Taylor et al., 1988]. В цитоплазматическом экстракте *S. mansoni* выявлено три изофермента cGST (SmGST-1, SmGST-2, SmGST-3) с M_r субъединиц 28,5 кДа [O'Leary, Трасу, 1988]. В дальнейшем было выявлено, что в комплексе cGST есть необычный изофермент, состоящий из субъединиц с M_r 26 кДа и отличавшийся от остальных изоформ взаимодействием с окисленной,

а не с восстановленной формой GSH [O'Leary et al., 1992]. Этот изоэнзим преимущественно катализировал конъюгацию модельного эпоксида – 1,2-эпокси-3-р-нитрофеноксипропана и детоксикацию дихлорвоса (препарат против шистозомоза) [O'Leary, Tracy, 1991]. Для сGST сосальщика характерна мозаичная структура, так как обнаружены участки с набором последовательностей, характерных для А и М классов, тогда как в целом уровень гомологии с этими ферментами млекопитающих по аминокислотному составу был низким [Taylor et al., 1988]. Аналогичные структурные особенности описаны и у сGST *S. japonicum*, родственной *S. mansoni* [Walker et al., 1993]. Основные отличия между ферментами этих гельминтов заключались в том, что сGST *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907) по общим каталитическим свойствам относительно ингибиторов была сходна с сGST М класса млекопитающих, а сGST *S. japonicum* (Weinland, 1858) проявляла свойства энзимов как А, так и М классов.

В странах Восточной и Юго-Восточной Азии широко распространен клонорхоз – гельминтоз, вызываемый печеночными сосальщиками *Clonorchis sinensis* (McConnell, 1874), которыми заражено более 7 млн человек [Crompton, 1999]. Из *C. sinensis* выделено два изофермента сGST с Mr 28 и 26 кДа, молярное соотношение между которыми составило 14:1 [Kang et al., 2001]. Данные филогенетического анализа последовательностей аминокислотного состава 28 кДа сGST позволили отнести этот изофермент к S классу, в то время как 26 кДа изофермент классифицирован как представитель М класса [Kang et al., 2001; Hong et al., 2001].

Помимо клонорхоза население Юго-Восточной и Восточной Азии подвержено системной инвазии трематодами *Paragonimus westermani* (Kerbert, 1878), вызывающими острые и хронические воспалительные процессы в легких. В ходе исследований в комплексе сGST *P. westermani* (Kerbert, 1878) выявлены два изофермента. Изоэнзим с Mr мономера 28 кДа (Pw28GST) на 41–45 % был сходен с 28-кДа GST шистозом [Hong et al., 2000]. Кроме того, у выделенного энзима обнаружено 58 % гомологии в N-концевом каталитическом домене с простагландин синтетазой крысы, курицы и кальмара, что позволило классифицировать его как фермент S класса. Этот фермент был активен относительно продуктов перекисного окисления липидов, таких как третбутил гидропероксид, транс-2-ноненаль и транс,транс-декаеналь. Также выделена и клонирована GST с Mr 26 кДа (Pw26GST), аминокислотная последовательность которой была на 48–72 % сходна с аналогичными 26-кДа

GST других трематод [Kim et al., 2007]. При построении филогенетического древа выяснилось, что этот фермент попадает в один кластер с GST М класса Sm26GST-1 *S. mansoni*, а также мышей, крыс и кур. Но у этого фермента есть особенность, которая связана с потерей серина 68, который является одним из десяти консервативных аминокислот в активном сайте фермента, являющихся классификационной характеристикой GST М класса. Предполагается, что отсутствие этой аминокислоты приводит к низкой активности Pw26GST с транс-4-фенил-3-бутен-2-оном, специфическим субстратом GST М класса млекопитающих.

Таким образом, по всей видимости, сGST играют важную роль в метаболизме трематод, что обуславливает высокий уровень экспрессии фермента у данных организмов. При этом сGST класса S могут играть важную роль в приспособлении трематод к ведению паразитического образа жизни и адаптации к иммунному ответу хозяина. «Мозаичные» (промежуточные) характеристики некоторых изоформ сGST свидетельствуют об их архетипичности, так как расщепление сGST на канонические классы М и А, по-видимому, произошло позднее, при становлении позвоночных.

Глутатион S-трансферазы у цестод

Цестода *Taenia solium* (Linnaeus, 1758) – опасный паразит человека как на личиночной (цистицерки), так и на взрослой стадиях. Цистицеркоз является широко распространенным зоонозом в развивающихся странах Азии и Латинской Америки. Например, результаты серологических исследований показали, что более 3 % от общей численности населения Мехико заражены цистицеркозом [Vibanco-Perez et al., 1999]. Комплекс сGST, выделенный из цистицерков *T. solium* по субстратной специфичности имел некоторое сходство с сGST А и М классов млекопитающих и значительно отличался от сGST Р и Т классов. Пул изоформ фермента включал массивную 26,5 кДа (SGSTM1) и минорную 25,5 кДа (SGSTM2) формы. Компьютерный поиск в базах данных по белкам показал, что набор N-концевых аминокислотных последовательностей обоих имел высокий уровень гомологии с таковыми ферментов М класса различных организмов, а между собой эти последовательности были сходны на 40 % [Vibanco-Perez et al., 2002]. Анализ свойств доминирующей изоформы 26,5 кДа показал, что нативный фермент является димером, молекулярная масса которого составляет 60 ± 4 кДа. Изоформа стабильно активна в диапазоне pH 4,5–8,5 и при

температуре 10–40°. Активность сохраняется вплоть до 75°. По субстратной специфичности и чувствительности к ингибиторам фермент был сходен с cGST млекопитающих как А, так и М класса [Plancarte et al., 2004]. Нгуен с соавторами [Nguyen et al., 2010] выделили из цистицерков *T. solium* изоформу, которая, по их мнению, является ферментом, сходным с cGST S класса. Эти сведения весьма противоречивы, поскольку полученная cGST блокируется ингибиторами, специфичными для изоформ А и М классов, хотя есть данные о том, что cGST гельминтов А, М и S классов могут иметь перекрывающуюся чувствительность к специфическим ингибиторам [Torres-Rivera, Landa, 2008].

Получены и описаны рекомбинантные cGST из цестод *Echinoccus granulosus* (Batsch, 1798) и *E. multilocularis* (Leuckart, 1863), взрослые формы которых паразитируют у хищников сем. Псовых, а личиночные формы, попадая в человека, локализуются главным образом в печени и легких и формируют гидатидные цисты, вырастающие до значительных размеров. Эхинококкоз в 90 % случаев приводит к летальному исходу в течение 10 лет после постановки диагноза [Liebau et al., 1996a; Harispe et al., 2010]. Молекулярные массы мономеров *E. multilocularis* составили 25–25,5 кДа. Если по структуре эти cGST были сходны с таковыми М класса млекопитающих, то относительно взаимодействия с субстратами и ингибиторами им, так же как и, например, cGST *S. mansoni*, свойственна мозаичность, то есть проявление свойств, характерных для ферментов не только М класса, но и А и Р классов.

У *Moniezia expansa* (Rudolphi, 1810), паразитирующей в кишечнике овец, были выделены четыре формы cGST, для которых не была обнаружена явная классовая взаимосвязь ни с одной из cGST млекопитающих. Изучение N-концевой последовательности указало на топологическое сходство с ферментами А и М классов [Brophy et al., 1989]. Основная изоформа EII, на которую приходится до 50 % от общей активности с универсальным для цитозольных GST субстратом – 1-хлор-2,4-динитробензолом, катализировала конъюгацию ряда вторичных продуктов перекисного окисления липидов серий транс-алк-2-еналов и транс, транс-2,4-диеналов.

Таким образом, имеющиеся данные показывают, что у цестод наиболее часто встречаются изоформы cGST, по структуре сходные с ферментами А и М классов млекопитающих. Анализ субстратной специфики выделенных ферментов у гельминтов свидетельствует в пользу предположения об эволюционной древности этих ферментов, дивергенция которых по строению

активного центра на классы, описанные у млекопитающих, произошла на более поздних этапах. Присутствие изоформ S класса у представителей цестод требует уточнения.

Глутатион S-трансферазы у нематод

В качестве модельных объектов при исследовании cGST нематод наиболее часто используются круглые черви, представляющие опасность для человека и домашних животных, такие как, например, *Ascaris suum* (Goeze, 1782). Детальное и всестороннее описание cGST этого паразита произведено группой Либбау с соавторами [Liebau et al., 1997]. По результатам изучения аминокислотной последовательности построена топологическая модель фермента, которая показала отсутствие у белка структур, характерных для cGST А класса (экстраспираль над активным сайтом) и М класса (специфическая Мю-петля) млекопитающих, но продемонстрировала сильную топологическую связь cGST гельминта с ферментами Р класса. Из родственной *A. suum* нематоды *Ascaridia galli* (Schrank, 1788) выделена cGST, которая проявила высокий уровень специфической активности в реакции GSH-зависимой изомеризации простагландина PGH в PGE и заметный уровень активности при изомеризации PGH в PGD, что позволило идентифицировать этот фермент как cGST S класса [Meyer et al., 1996].

Анализ cGST, выделенных из нематоды *Setaria cervi* (Rudolphi, 1819), паразита крупного рогатого скота, показал, что M_r нативного фермента составила 49,2 кДа при M_r мономеров 24,6 кДа [Ahmad et al., 2008]. Двумерным электрофорезом не выявлено дополнительных фракций, что позволяет считать энзим гомодимером. cGST катализировала восстановление кумен гидропероксида, что указывает на возможность функционирования фермента как селен-независимой глутатион пероксидазы. У родственной *S. digitata* M_r мономера, определенный методом электрофореза, составил ~27 кДа, а гель-хроматография на носителе Sephacryl S-200 показала, что M_r нативного гомодимера составляет ~54 кДа. Верхний предел температурного диапазона активности фермента не превышал 40 °C [Srinivasan et al., 2011]. Информация, позволяющая сделать выводы о структуре выделенных белков, в данных работах, к сожалению, отсутствует.

Нематода *Onchocercus volvulus* (Bickel, 1982) вызывает повышенный интерес исследователей в связи с тем, что очень опасна для человека, единственного окончательного хозяина гельминта. Взрослые паразиты локализуются

в фиброзных узлах, располагающихся под кожей, апоневрозом мышц, надкостницей. Личинки (микрофилярии) обитают главным образом в поверхностных слоях кожи, часто в глазах («речная слепота»), реже в лимфатических узлах и внутренних органах и очень редко в крови. В эпизоотически значимых регионах Африки, Аравийского полуострова, Центральной и Южной Америки инвазировано около 18 млн человек и более 50 млн подвержены риску заражения [Perbandt et al., 2005]. В водорастворимой белковой фракции, выделенной из самок *O. volvulus*, выявлены изоферменты cGST с M_r мономеров 24, 25 и 32 кДа и минорная фракция – 36 кДа [Salinas et al., 1994]. M_r энзиматически активных cGST (Ov-GST1, Ov-GST2, Ov-GST3), определенный методом гель-хроматографии, находится в диапазоне 50–60 кДа, то есть эти ферменты функционируют в форме димеров [Liebau et al., 1994]. Получен клон мономера с M_r 24 кДа (OvGST2), который по аминокислотной последовательности был сходен с cGST P класса млекопитающих на 45 % и свободноживущей нематоды *Caenorhabditis elegans* (Steindachner, 1876) на 60 % [Liebau et al., 1996b]. По общей структуре OvGST2 демонстрирует как сходство с cGST P класса, так и некоторые важные отличия. Например, активный центр G-сайта, отвечающий за присоединение GSH, очень сходен с таковым человеческого «двойника». В свою очередь, H-сайт, отвечающий за присоединение гидрофобных молекул, более открыт и доступен для взаимодействия, что объясняет различия между ферментами в активности с одними и теми же субстратами [Liebau et al., 1997; Perbant et al., 2005]. Высокая степень сходства с OvGST2 по аминокислотной последовательности (79 %) обнаружена у cGST, выделенных из родственных филярий *Brugia malayi* (Brug, 1927) и *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877), паразитирующих в лимфатических узлах человека и, соответственно, также отнесенных к P классу [Rathaur et al., 2003].

Другой изофермент *O. volvulus* OvGST1 (масса субъединицы 32 кДа) представляет собой N-гликозилированный фермент, который имеет 38 % сходства по аминокислотной последовательности с cGST S класса головоногих моллюсков [Sommer et al., 2001], на 41 % сходен GST-11 *C. elegans* (cGST S класса), на 37 % с гематопозитическими GSH-зависимыми простагландин D синтетазы (PGDS) крысы (*Rattus norvegicus* (Berkenhout, 1769)), курицы (*Gallus gallus* (Linnaeus, 1758)) и мыши (*Mus musculus* (Linnaeus, 1758)). Интересно, что OvGST1 проявила больше сходства с PGDS человека (32 %), чем cGST S класса трематоды

Schistosoma haematobium (Bilharz, 1852) (28 %), родственной *S. mansoni* [Perbandt et al., 2008]. Рекомбинантная форма OvGST1 селективно изомеризовала PGH_2 в PGD_2 , в то время как другие известные cGST S класса не отличаются избирательностью и катализируют превращение простагландина PGH_2 не только в PGD_2 , но и в PGF_2 и PGE_2 [Sommer et al., 2003].

Изофермент *O. volvulus* OvGST3 сначала был отнесен к обширной группе белков, эволюционно связанных с cGST T класса [Liebau et al., 2000], однако затем систематическая принадлежность этого фермента была пересмотрена, и теперь он отнесен к cGST O (омега) класса [Campbell et al., 2001]. К этому ферменту проявляется повышенный интерес исследователей, поскольку доказано участие cGST O класса в антиоксидантной защите клеток при окислительном стрессе [Board, 2011]. В частности, OvGST3 активируется в присутствии транс-2-ноненаля, продукта перекисного окисления липидов. Кроме того, показано, что трансгенные *C. elegans*, которым интродуцировали ген OvGST3, обладали существенно более высокой выживаемостью по сравнению с таковыми дикого типа, как в условиях внутриклеточного окислительного стресса, вызванного редокс-активным хиноном (5-гидрокси-1,4-нафтохинон), так и при имитации окислительного стресса в окружающей среде (хозяин) с помощью активации гипоксантин/ксантин оксидазной системы, стимулирующей образование высоких концентраций перекиси водорода (H_2O_2) [Kampkötter et al., 2003]. Для cGST O класса характерна также активность тиол оксидоредуктазы, поэтому весьма вероятно участие OvGST3 в реакциях реверсивного S-глутатионирования и глутатион-связанной редокс регуляции S-глутатионированных белков, накапливающихся в клетке при окислительном стрессе [Liebau et al., 2008].

В цитозольных экстрактах нематод *Heligmosomoides polygyrus* (Dujardin, 1845), паразитирующих в тонком кишечнике мелких грызунов, обнаружены четыре изоформы cGST с M_r мономеров 23 и 24 кДа, из которых два энзима с pI 8,1 и 5,0 были количественно доминирующими, а ферменты с pI 5,3 и 5,8 – минорными [Brophy et al., 1994]. По результатам изучения аминокислотной последовательности белковой цепи рекомбинантной формы одной из доминирующих cGST было сделано предположение, что данная cGST может относиться к новому классу, который предложено было обозначить как N (ню) класс (HpGSTN2–2) [Campbell et al., 2001]. Дальнейшие исследования показали наличие структурного сходства N-конца молекулы (G сайт) на 31–34 %

с ферментами S класса дрозофилы, человека, крысы и мыши. Строение гидрофобной части активного сайта HpGSTN2–2 имело существенные отличия от аналогичного сайта cGST других классов и других организмов. Это привело авторов к согласию с Кэмпбеллом и соавторами [Campbell et al., 2001] о необходимости выделения HpGSTN2–2 в отдельный класс.

Большую экономическую проблему для сельскохозяйственных сообществ представляет кишечный паразит жвачных стронгилида *Haemonchus contortus* (Cobb, 1898). Особенностью этой нематоды является питание исключительно кровью хозяина. Из тканей *H. contortus* выделена cGST (HcGST-1), которая имела 70 % сходства по аминокислотной последовательности с ферментом, обнаруженным в экскреторно-секреторном окружении паразита [van Rossum et al., 2004]. По мнению авторов, HcGST-1 относится к новому классу cGST (N), специфичному для нематод. HcGST-1 взаимодействует с гематином, что характерно для ряда cGST A класса млекопитающих, которые, как предполагается, участвуют в детоксикации и/или транспорте гема [Mannervik et al., 1985].

Аналогичные гем-связывающие cGST были найдены у других нематод, питающихся кровью. Изоформа Ac-GST-1 с M_r мономера 24 кДа была выделена из кривоголовки *Ancylostoma caninum* (Dubini, 1843) и найдена только в соматических и экскреторно-секреторных экстрактах из взрослых паразитов. Фермент имел 58%-е сходство по аминокислотной последовательности с cGST *H. contortus* (HcGST-1), 65 % идентичности с cGST кишечных паразитов *H. polygyrus* (Dujardin, 1845) (HpGSTN2–2) и свободноживущей нематоды *Caenorhabditis elegans* (Osche, 1952) (CeGST-5), в то время как уровень сходства с cGST шистозом (Sj28) и GST-A3 человека не превышал 30 % [Zhan et al., 2005]. У некоего *Necator americanus* (Stiles, 1902), также питающегося кровью, методом двумерного электрофореза выявлено до восьми изоферментов cGST, из которых идентифицировано три изоэнзима – Na-GST-1, Na-GST-2 и Na-GST-3, проявивших структурное сходство с Ac-GST-1 на 69, 64 и 54 % соответственно [Zhan et al., 2010]. Изучение субстратной специфики показало, что эти изоферменты, так же как и Ac-GST-1 *A. caninum*, проявляли высокую активность в отношении гем/гематин. Это указывает на то, что исследованные ферменты играют важную роль в детоксикации и трафике гема и родственных соединений, появляющихся при потреблении крови данной группой гельминтов. В свою очередь наличие родственных ферментов у нематод других

семейств свидетельствует о широкой распространенности недавно открытого N класса GST среди круглых червей.

Анализ литературы показывает, что данные о структуре и особенностях функционирования изоферментного пула глутатион S-трансфераз носят весьма несистемный и фрагментарный характер. Следует также отметить, что большое количество работ по данной теме было проведено до широкого внедрения современных молекулярно-генетических методов и поэтому являются недостаточно информативными.

До конца не выяснены вопросы номенклатуры глутатион S-трансфераз у паразитических червей, что является общей проблемой при описании этих белков и у других таксонов беспозвоночных [Борвинская и др., 2013]. Вследствие того, что первоначально наиболее полно и подробно были описаны cGST млекопитающих, критерии, разработанные для них, традиционно применяются для классификации всех вновь открываемых энзимов. Однако многие авторы отмечают, что такой подход связан с большими трудностями при попытке описать предковые формы фермента, имеющие промежуточные свойства. Выяснение особенностей строения и функционирования GST гельминтов с этой точки зрения имеет большое значение для пополнения базы данных об эволюции данного фермента, на основе которой возможно создание новых принципов номенклатуры семейства.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии у гельминтов уникальных форм ферментов, изучение которых представляет несомненный интерес в связи с их возможной ролью в приспособлении к паразитическому образу жизни. Несмотря на то что многие cGST гельминтов в большей или меньшей степени схожи с ферментами M, P, S и O классов других организмов, они содержат существенные структурные различия по сравнению с энзимами хозяев, что делает их перспективными кандидатами для разработки паразитоспецифических вакцин. Некоторые успехи в этом направлении уже достигнуты. Например, иммунизация Ac-GST-1 снижала приживаемость *A. caninum* у собак на 40 %, а у хомяков более чем на 50 % [Zhan et al., 2005]. Определенные успехи достигнуты при использовании cGST в качестве вакцин при шистозомозе и фасциолезе [Carpron et al., 1992; Sexton et al., 1990]. Накопление знаний об энзиматических системах, которые либо отсутствуют, либо специфичны для паразита, может обнаружить большое число белков, играющих решающую роль при выживании в хозяине, что может оказаться существенным при развитии методов химиотерапии паразитозов.

Работа выполнена при поддержке средств федерального бюджета на выполнение государственного задания № 0221-2014-0003 и гранта Президента РФ для государственной поддержки научных исследований, проводимых ведущими научными школами РФ. Проект НШ-1410.2014.4.

Литература

- Борвинская Е. В., Смирнов Л. П., Немова Н. Н. Глутатион S-трансферазы у рыб (мини-обзор) // Труды Карельского научного центра РАН. 2013. № 3. С. 3–9.
- Ahmad R., Srivastava A. K., Walter R. D. Purification and biochemical characterization of cytosolic glutathione-S-transferase from filarial worms *Setaria cervi* // Comp. Biochem. Physiol. Part B. 2008. Vol. 151. P. 237–245.
- Armstrong R. N. Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione S-transferases // Chem. Res. Toxicol. 1997. Vol. 10. P. 2–18.
- Belley A., Chadee K. Eicosanoid production by parasites: from patho-genesis to immunomodulation? // Parasitol Today. 1995. Vol. 11, No 9. P. 327–34.
- Board P. G. The omega-class glutathione transferases: structure, function, and genetics // Drug Metabolism Reviews. 2011. Vol. 43. P. 226–235. doi: 10.3109/03602532.2011.561353.
- Brophy P. M., Southan C., Barrett J. Glutathione transferases in the tapeworm *Moniezia expansa* // Biochem J. 1989. Vol. 262. P. 939–946.
- Brophy P. M., Crowley P., Barrett J. Detoxification reactions of cytosolic glutathione transferases // Mol. Biochem. Physiol. 1990. Vol. 39. P. 155–162.
- Brophy P. M., Ben-Smith A., Brown A. et al. Glutathione S-transferase from the gastrointestinal nematode *Heligmosomoides polygyrus* and mammalian liver compared // Comp. Biochem. Physiol. 1994. Vol. 109. P. 585–592.
- Brophy P. M., Pritchard D. I. Parasitic helminth glutathione S-transferases: an update on their potential as targets for immuno- and chemotherapy // Exp. Parasitol. 1994. Vol. 79. P. 89–96.
- Campbell A. M., Teesdale-Spittle P. H., Barrett J. et al. A common class of nematode glutathione S-transferase (GST) revealed by the theoretical proteome of the model organism *Caenorhabditis elegans* // Comp. Biochem. Physiol. Part B. 2001. Vol. 128. P. 701–708.
- Capron A., Dessaint J. P., Capron M., Pierce R. J. Vaccine strategies against schistosomiasis // Immunobiology. 1992. Vol. 184(2–3). P. 282–94.
- Chemale G., Morphey R., Moxon J. V. et al. Proteomic analysis of glutathione transferases from the liver fluke parasite *Fasciola hepatica* // Proteomics. 2006. Vol. 6. P. 6263–6273.
- Cvilinik V., Lamka J., Skálová L. Xenobiotic metabolizing enzymes and metabolism of anthelmintics in helminthes // Drug Methabolism Reviews. 2009. Vol. 41, No 1. P. 8–26.
- Crompton D. W. T. How much human helminthiasis is there in the world // J. Parasitol. 1999. Vol. 85. P. 397–403. doi: 10.1080/03602530802602880.
- Harispe L., Garcia G., Arbildi P. et al. Biochemical analysis of a recombinant glutathione transferase from the cestode *Echinococcus granulosus* // Acta Tropica. 2010. Vol. 114. P. 31–36. doi: 10.1016/j.actatropica.2009.12.003.
- Hayes J. D., Flanagan J. U., Jowsey I. R. Glutathione transferases // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2005. Vol. 45. P. 51–88.
- Hillyer G. V., Soler de Galanesa M., Battisti G. Fasciola hepatica: host responders and nonresponders to parasite glutathione S-transferase // Exp. Parasitol. 1992. Vol. 75. P. 176–186.
- Hong S., Lee J., Lee D. et al. Molecular cloning and characterization of a mu-class glutathione S-transferase from *Clonorchis sinensis* // Mol. Biochem. Parasitol. 2001. Vol. 115. P. 69–75.
- Hong S. J., Kang S. Y., Chung Y. B. et al. Paragonimus westermani: a cytosolic glutathione S-transferase of a σ -class in adult stage // Exp. Parasitol. 2000. Vol. 94. P. 180–189.
- Kampkötter A., Volkmann T. E., Heger de Castro S. et al. Functional analysis of the glutathione S-transferase 3 from *Onchocerca volvulus* (Ov-GST-3): A parasite GST confers increased resistance to oxidative stress in *Caenorhabditis elegans* // J. Mol. Biol. 2003. Vol. 325. P. 25–37.
- Kang S., Ahn I., Park C. et al. Clonorchis sinensis molecular cloning and characterization of 28-kDa glutathione S-transferase // Exp. Parasitol. 2001. Vol. 97. P. 186–195.
- Kim T. Y., Lee J.-Y., Kim T. I. et al. Molecular cloning and enzymatic characterization of a class mu glutathione S-transferase of *Paragonimus westermani* // Parasitol Res. 2007. Vol. 101. P. 1225–1231.
- LaCourse E. J., Perally S., Morphey R. M. et al. The Sigma class glutathione transferase from the liver fluke *Fasciola hepatica* // PLoS Negl. Trop. Dis. 2012. Vol. 6, No 5: e1666. P. 1–14. doi: 10.1371/journal.pntd.0001666.
- Liebau E., Wildenburg G., Walter R. D., Henkle-Dührsen K. A novel type of glutathione S-transferase in *Onchocerca volvulus* // Infection and Immunity. 1994. Vol. 62. P. 4762–4767.
- Liebau E., Müller V., Lucius R. et al. Molecular cloning, expression and characterization of a recombinant glutathione S-transferase from *Echinococcus multilocularis* // Mol. Biochem. Parasitol. 1996a. Vol. 77. P. 49–56.
- Liebau E., Wildenburg G., Brophy P. M. et al. Biochemical analysis, gene structure and localization of the 24 kDa glutathione S-transferase from *Onchocerca volvulus* // Mol. Biochem. Parasitol. 1996b. Vol. 80. P. 27–39.
- Liebau E., Eckelt V. H. O., Wildenburg G. et al. Structural and functional analysis of a glutathione S-transferase from *Ascaris suum* // Biochem. J. 1997. Vol. 324. P. 659–666.
- Liebau E., Eschbach M.-L., Tawe W. et al. Identification of a stress-responsive *Onchocerca volvulus* glutathione S-transferase (Ov-GST-3) by RT-PCR differential display // Mol. Biochem. Parasitol. 2000. Vol. 109. P. 101–110.
- Liebau E., De Maria F., Burmeister C. et al. Cooperativity and pseudocooperativity in the glutathione

- S-transferase from *Plasmodium falciparum* // J. Biol. Chem. 2005. Vol. 280. P. 26121–26128.
- Liebau E., Höppner J., Mühlmeister M. et al. The secretory omega-class glutathione transferase OvGST3 from the human pathogenic parasite *Onchocerca volvulus* // FEBS Journal. 2008. Vol. 275. P. 3438–3453. doi: 10.1111/j.1742-4658.2008.06494.x.
- Mannervik B., Alin P., Guthenberg C. et al. Identification of three classes of cytosolic glutathione transferase common to several mammalian species: correlation between structural data and enzymatic properties // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1985. Vol. 82. P. 7202–7206.
- Meyer D. J., Muimo R., Thomas M. et al. Purification and characterization of prostaglandin-H isomerase, a sigma-class glutathione S-transferase, from *Ascaridia galli* // Biochem. J. 1996. Vol. 313. P. 223–227.
- Morphew R. M., Eccleston N., Wilkinson T. J. et al. Proteomics and in Silico Approaches To Extend Understanding of the Glutathione Transferase Superfamily of the Tropical Liver Fluke *Fasciola gigantica* // J. Proteome Res. 2012. Vol. 11. P. 5876–5889. doi: 10.1021/pr300654w.
- Nguyen H. A., Bae Y.-A., Lee E.-G. et al. A novel sigma-like glutathione transferase of *Taenia solium* metacystode // Int. J. Parasitol. 2010. Vol. 40. P. 1097–1106. doi: 10.1016/j.ijpara.2010.03.007.
- O'Leary K. A., Tracy J. W. Purification of three cytosolic glutathione S-transferases from adult *Schistosoma mansoni* // Arc. Biochem. Biophys. 1988. Vol. 264. P. 1–12.
- O'Leary K. A., Tracy J. W. Schistosoma mansoni: Glutathione S-transferase-catalyzed detoxication of dichlorvos // Experimental Parasitology. 1991. Vol. 72. P. 355–361.
- O'Leary K. A., Hathaway K. M., Tracy J. W. Schistosoma mansoni: single-step purification and characterization of glutathione S-transferase isoenzyme 4 // Exp. Parasitol. 1992. Vol. 75. P. 47–55.
- Perbandt M., Höppner J., Betzel C. et al. Structure of the major cytosolic glutathione S-transferase from the parasitic nematode *Onchocerca volvulus* // J. Biol. Chem. 2005. Vol. 280. P. 12630–12636.
- Perbandt M., Höppner J., Burmeister C. et al. Structure of the extracellular glutathione S-transferase OvGST1 from the human pathogenic parasite *Onchocerca volvulus* // J. Mol. Biol. 2008. Vol. 377. P. 501–511. doi: 10.1016/j.jmb.2008.01.029.
- Plancarte A., Rendon J. L., Landa A. Purification, characterization and kinetic properties of the *Taenia solium* glutathione S-transferase isoform 26.5 kDa // Parasitology Res. 2004. Vol. 93. P. 137–144.
- Precious W. Y., Barrett J. Xenobiotic metabolism in helminths // Parasitology Today. 1989. Vol. 5, No 5. P. 156–160.
- Rathaur S., Fischer P., Domagalski M. et al. *Brugia malayi* and *Wuchereria bancrofti*: gene comparison and recombinant expression of pi-class related glutathione S-transferases // Exp. Parasitol. 2003. Vol. 103. P. 177–181.
- Salinas G., Braun G., Taylor D. W. Molecular characterization and localization of an *Onchocerca volvulus* pi-class glutathione S-transferase // J. Mol. Biol. 1994. Vol. 66. P. 1–9.
- Sheehan D., Meade G., Foley V. M., Dowd C. A. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily // Biochem. J. 2001. Vol. 360. P. 1–16.
- Sexton J. L., Milner A. R., Panaccio M. et al. Glutathione S-transferase. Novel vaccine against *Fasciola hepatica* infection in sheep // J. Immunol. 1990. Vol. 145, No 11. P. 3905–3910.
- Sommer A., Nimtz M., Conradt H. S. et al. Structural analysis and antibody response to the extracellular glutathione S-transferases from *Onchocerca volvulus* // Infection and Immunity. 2001. Vol. 69. P. 7718–7728.
- Sommer A., Rickert R., Fischer P. et al. A dominant role for extracellular glutathione S-transferase from *Onchocerca volvulus* is the production of prostaglandin D₂ // Infection and Immunity. 2003. Vol. 71. P. 3603–3606.
- Srinivasan L., Mathew M., Karunan T., Muthuswamy K. Biochemical studies on glutathione S-transferase from filarial worm *Setaria digitata* // Parasitol. Res. 2011. Vol. 109. P. 213–219. doi: 10.1007/s00436-010-2227-x.
- Taylor J. B., Vidal A., Torpier G. et al. The glutathione transferase activity and tissue distribution of a cloned M_r 28K protective antigen of *Schistosoma mansoni* // EMBO J. 1988. Vol. 7. P. 465–472.
- Torres-Rivera A., Landa A. Glutathione transferases from parasites: a biochemical view // Acta Tropica. 2008. Vol. 105. P. 99–112.
- van Rossum A. J., Jefferies J. R., Rijsewijk F. A. M. et al. Binding of hematin by a new class of glutathione transferase from the blood-feeding parasitic nematode *Haemonchus contortus* // Infection and Immunity. 2004. Vol. 72. P. 2780–2790.
- Vibanco-Perez N., Jimenez L., Merchant M. T., Landa A. Characterization of glutathione S-transferase of *Taenia solium* // J. Parasitol. 1999. Vol. 85. P. 448–453.
- Vibanco-Perez N., Jimenez L., Mendoza-Hernandez G., Landa A. Characterization of a recombinant mu-class glutathione S-transferase from *Taenia solium* // Parasitol. Res. 2002. Vol. 88. P. 398–404.
- Walker J., Crowley P., Moreman A. D., Barrett J. Biochemical properties of cloned glutathione S-transferases from *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum* // Mol. Biochem. Parasitol. 1993. Vol. 61. P. 255–265.
- Wijffels G. L., Sexton J. L., Salvatore L. et al. Primary sequence heterogeneity and tissue expression of glutathione S-transferases of *Fasciola hepatica* // Exp. Parasitol. 1992. Vol. 74. P. 87–99.
- Zhan B., Liu S., Perally S. et al. Biochemical characterization and vaccine potential of a heme-binding glutathione transferase from the adult hookworm *Ancylostoma caninum* // Infection and Immunity. 2005. Vol. 73. P. 6903–6911.
- Zhan B., Perally S., Brophy P. M. et al. Molecular cloning, biochemical characterization, and partial protective immunity of the heme-binding glutathione S-transferases from the human hookworm *Necator americanus* // Infection and Immunity. 2010. Vol. 78. P. 1552–1563. doi: 10.1128/IAI.00848-09. Epub 2010 Feb 9.

Поступила в редакцию 24.06.2015

References

- Borvinskaya E. V., Smirnov L. P., Nemova N. N. Glutathione S-transferazy u ryb (mini-obzor) [Glutathione S-transferases in fish (minireview)]. *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN [Transactions of KarRC RAS]*. 2013. No 3. P. 3–9.
- Ahmad R., Srivastava A. K., Walter R. D. Purification and biochemical characterization of cytosolic glutathione-S-transferase from filarial worms *Setaria cervi*. *Comp. Biochem. Physiol. Part B*. 2008. Vol. 151. P. 237–245.
- Armstrong R. N. Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione S-transferases. *Chem. Res. Toxicol.* 1997. Vol. 10. P. 2–18.
- Belley A., Chadee K. Eicosanoid production by parasites: from patho-genesis to immunomodulation. *Parasitol Today*. 1995. Vol. 11, No 9. P. 327–34.
- Board P. G. The omega-class glutathione transferases: structure, function, and genetics. *Drug Metabolism Reviews*. 2011. Vol. 43. P. 226–235. doi: 10.3109/03602532.2011.561353.
- Brophy P. M., Southan C., Barrett J. Glutathione transferases in the tapeworm *Moniezia expansa*. *Biochem J*. 1989. Vol. 262. P. 939–946.
- Brophy P. M., Crowley P., Barrett J. Detoxification reactions of cytosolic glutathione transferases. *Mol. Biochem. Physiol.* 1990. Vol. 39. P. 155–162.
- Brophy P. M., Ben-Smith A., Brown A., Behnke J. M., Pritchard D. I. Glutathione S-transferase from the gastrointestinal nematode *Heligmosomoides polygyrus* and mammalian liver compared. *Comp. Biochem. Physiol.* 1994. Vol. 109. P. 585–592.
- Brophy P. M., Pritchard D. I. Parasitic helminth glutathione S-transferases: an update on their potential as targets for immuno- and chemotherapy. *Exp. Parasitol.* 1994. Vol. 79. P. 89–96.
- Campbell A. M., Teesdale-Spittle P. H., Barrett J., Liebau E., Jefferies J. R., Brophy P. M. A common class of nematode glutathione S-transferase (GST) revealed by the theoretical proteome of the model organism *Caenorhabditis elegans*. *Comp. Biochem. Physiol. Part B*. 2001. Vol. 128. P. 701–708.
- Capron A., Dessaint J. P., Capron M., Pierce R. J. Vaccine strategies against schistosomiasis. *Immunobiology*. 1992. Vol. 184(2–3). P. 282–94.
- Chemale G., Morphew R., Moxon J. V., Morassutti A. L., LaCourse E. J., Barrett J., Johnston D. A., Brophy P. M. Proteomic analysis of glutathione transferases from the liver fluke parasite *Fasciola hepatica*. *Proteomics*. 2006. Vol. 6. P. 6263–6273.
- Cvilinik V., Lamka J., Skálová L. Xenobiotic metabolizing enzymes and metabolism of anthelmintics in helminthes. *Drug Methabolism Reviews*. 2009. Vol. 41, No 1. P. 8–26.
- Crompton D. W. T. How much human helminthiasis is there in the world. *J. Parasitol.* 1999. Vol. 85. P. 397–403. doi: 10.1080/03602530802602880.
- Harispe L., Garcia G., Arbildi P., Pascovich L., Chalar C., Zaha A., Fernandes C., Fernandes V. Biochemical analysis of a recombinant glutathione transferase from the cestode *Echinococcus granulosus*. *Acta Tropica*. 2010. Vol. 114. P. 31–36. doi: 10.1016/j.actatropica.2009.12.003.
- Hayes J. D., Flanagan J. U., Jowsey I. R. Glutathione transferases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2005. Vol. 45. P. 51–88.
- Hillyer G. V., Soler de Galanesa M., Battisti G. *Fasciola hepatica*: host responders and nonresponders to parasite glutathione S-transferase. *Exp. Parasitol.* 1992. Vol. 75. P. 176–186.
- Hong S., Lee J., Lee D., Sohn W., Cho S. Molecular cloning and characterization of a mu-class glutathione S-transferase from *Clonorchis sinensis*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 2001. Vol. 115. P. 69–75.
- Hong S. J., Kang S. Y., Chung Y. B., Chung M. H., Oh Y.-J., Kang I., Bahk Y. Y., Kong Y., Cho S. Y. *Paragonimus westermani*: a cytosolic glutathione S-transferase of a σ -class in adult stage. *Exp. Parasitol* 2000. Vol. 94. P. 180–189.
- Kampkötter A., Volkmann T. E., Hegi de Castro S., Leiers B., Klotz L.-O., Johnson T. E., Link C. D., Henkle-Dührsen K. Functional analysis of the glutathione S-transferase 3 from *Onchocerca volvulus* (Ov-GST-3): A parasite GST confers increased resistance to oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*. *J. Mol. Biol.* 2003. Vol. 325. P. 25–37.
- Kang S., Ahn I., Park C., Chung Y., Hong S., Kong Y., Cho S., Hong S. *Clonorchis sinensis* molecular cloning and characterization of 28-kDa glutathione S-transferase. *Exp. Parasitol.* 2001. Vol. 97. P. 186–195.
- Kim T. Y., Lee J.-Y., Kim T. I., Moon K. H., Kang S.-Y., Hong S.-J. Molecular cloning and enzymatic characterization of a class mu glutathione S-transferase of *Paragonimus westermani*. *Parasitol. Res.* 2007. Vol. 101. P. 1225–1231.
- LaCourse E. J., Perally S., Morphew R. M., Moxon J. V., Prescott M. et al. The Sigma class glutathione transferase from the liver fluke *Fasciola hepatica*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2012. Vol. 6, No 5: e1666. P. 1–14. doi: 10.1371/journal.pntd.0001666.
- Liebau E., Wildenburg G., Walter R. D., Henkle-Dührsen K. A novel type of glutathione S-transferase in *Onchocerca volvulus*. *Infection and Immunity*. 1994. Vol. 62. P. 4762–4767.
- Liebau E., Müller V., Lucius R., Walter R. D., Henkle-Dührsen K. Molecular cloning, expression and characterization of a recombinant glutathione S-transferase from *Echinococcus multilocularis*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 1996a. Vol. 77. P. 49–56.
- Liebau E., Wildenburg G., Brophy P. M., Walter R. D., Henkle-Dührsen K. Biochemical analysis, gene structure and localization of the 24 kDa glutathione S-transferase from *Onchocerca volvulus*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 1996b. Vol. 80. P. 27–39.
- Liebau E., Eckelt V. H. O., Wildenburg G., Teesdale-Spittle P., Brophy P. M., Walter R. D., Henkle-Dührsen K. Structural and functional analysis of a glutathione S-transferase from *Ascaris suum*. *Biochem. J.* 1997. Vol. 324. P. 659–666.
- Liebau E., Eschbach M.-L., Tawe W., Sommer A., Fischer P., Walter R. D., Henkle-Dührsen K. Identification of a stress-responsive *Onchocerca volvulus* glutathione S-transferase (Ov-GST-3) by RT-PCR differential display. *Mol. Biochem. Parasitol.* 2000. Vol. 109. P. 101–110.
- Liebau E., De Maria F., Burmeister C., Perbandt M., Turella P., Antonini G., Federici G., Giansanti F., Stella L.,

- Lo Bello M., Caccuri A. M., Ricci G. Cooperativity and pseudocooperativity in the glutathione S-transferase from *Plasmodium falciparum*. *J. Biol. Chem.* 2005. Vol. 280. P. 26121–26128.
- Liebau E., Höppner J., Mühlmeister M., Burmeister C., Lüersen K., Perbandt M., Schmetz C., Buüttner D., Brattig N. The secretory omega-class glutathione transferase OvGST3 from the human pathogenic parasite *Onchocerca volvulus*. *FEBS Journal.* 2008. Vol. 275. P. 3438–3453. doi: 10.1111/j.1742-4658.2008.06494.x.
- Mannervik B., Alin P., Guthenberg C., Jensson H., Tahir M. K., Warholm M., Jornvall H. Identification of three classes of cytosolic glutathione transferase common to several mammalian species: correlation between structural data and enzymatic properties. *Proc Natl. Acad. Sci. USA.* 1985. Vol. 82. P. 7202–7206.
- Meyer D. J., Muimo R., Thomas M., Coates D., Isaac R. E. Purification and characterization of prostaglandin-H E-isomerase, a sigma-class glutathione S-transferase, from *Ascaridia galli*. *Biochem. J.* 1996. Vol. 313. P. 223–227.
- Morphew R. M., Eccleston N., Wilkinson T. J., McGarry J., Perally S., Prescott M. et al. Proteomics and in Silico Approaches To Extend Understanding of the Glutathione Transferase Superfamily of the Tropical Liver Fluke *Fasciola gigantica*. *J. Proteome Res.* 2012. Vol. 11. P. 5876–5889. doi: 10.1021/pr300654w.
- Nguyen H. A., Bae Y.-A., Lee E.-G., Kim S.-H., Diaz-Camacho S. P., Nawa Y., Kang I., Kong Y. A novel sigma-like glutathione transferase of *Taenia solium* metacystode. *Int. J. Parasitol.* 2010. Vol. 40. P. 1097–1106. doi: 10.1016/j.ijpara.2010.03.007.
- O'Leary K. A., Tracy J. W. Purification of three cytosolic glutathione S-transferases from adult *Schistosoma mansoni*. *Arc. Biochem. Biophys.* 1988. Vol. 264. P. 1–12.
- O'Leary K. A., Tracy J. W. *Schistosoma mansoni*: Glutathione S-transferase-catalyzed detoxication of dichlorvos. *Experimental Parasitology.* 1991. Vol. 72. P. 355–361.
- O'Leary K. A., Hathaway K. M., Tracy J. W. *Schistosoma mansoni*: single-step purification and characterization of glutathione S-transferase isoenzyme 4. *Exp. Parasitol.* 1992. Vol. 75. P. 47–55.
- Perbandt M., Höppner J., Betzel C., Walter R. D., Liebau E. Structure of the major cytosolic glutathione S-transferase from the parasitic nematode *Onchocerca volvulus*. *J. Biol. Chem.* 2005. Vol. 280. P. 12630–12636.
- Perbandt M., Höppner J., Burmeister C., Lüersen K., Betzel C., Liebau E. Structure of the extracellular glutathione S-transferase OvGST1 from the human pathogenic parasite *Onchocerca volvulus*. *J. Mol. Biol.* 2008. Vol. 377. P. 501–511. doi: 10.1016/j.jmb.2008.01.029.
- Plancarte A., Rendon J. L., Landa A. Purification, characterization and kinetic properties of the *Taenia solium* glutathione S-transferase isoform 26.5 kDa. *Parasitology Res.* 2004. Vol. 93. P. 137–144.
- Precious W. Y., Barrett J. Xenobiotic metabolism in helminthes. *Parasitology Today.* 1989. Vol. 5, No 5. P. 156–160.
- Rathaur S., Fischer P., Domagalski M., Walter R. D., Liebau E. *Brugia malayi* and *Wuchereria bancrofti*: gene comparison and recombinant expression of π -class related glutathione S-transferases. *Exp. Parasitol.* 2003. Vol. 103. P. 177–181.
- Salinas G., Braun G., Taylor D. W. Molecular characterization and localization of an *Onchocerca volvulus* π -class glutathione S-transferase. *J. Mol. Biol.* 1994. Vol. 66. P. 1–9.
- Sheehan D., Meade G., Foley V. M., Dowd C. A. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem. J.* 2001. Vol. 360. P. 1–16.
- Sexton J. L., Milner A. R., Panaccio M., Waddington J., Wijffels G., Chandler D., Thompson C., Wilson L., Spithill T. W., Mitchell G. F. et al. Glutathione S-transferase. Novel vaccine against *Fasciola hepatica* infection in sheep. *J. Immunol.* 1990. Vol. 145, No 11. P. 3905–3910.
- Sommer A., Nimtz M., Conradt H. S., Brattig N., Boettcher K., Fischer P., Walter R. D., Liebau E. Structural analysis and antibody response to the extracellular glutathione S-transferases from *Onchocerca volvulus*. *Infection and Immunity.* 2001. Vol. 69. P. 7718–7728.
- Sommer A., Rickert R., Fischer P., Steinhart H., Walter R. D., Liebau E. A dominant role for extracellular glutathione S-transferase from *Onchocerca volvulus*. Is the production of prostaglandin D₂. *Infection and Immunity.* 2003. Vol. 71. P. 3603–3606.
- Srinivasan L., Mathew M., Karunan T., Muthuswamy K. Biochemical studies on glutathione S-transferase from filarial worm *Setaria digitata*. *Parasitol. Res.* 2011. Vol. 109. P. 213–219. doi: 10.1007/s00436-010-2227-x.
- Taylor J. B., Vidal A., Torpier G., Meyer D. J., Roitsch C., Balloul J.-M., Southan C., Sondermeyer C., Pemble S., Lecocq J.-P., Capron A., Ketterer B. The glutathione transferase activity and tissue distribution of a cloned M_r28K protective antigen of *Schistosoma mansoni*. *EMBO J.* 1988. Vol. 7. P. 465–472.
- Torres-Rivera A., Landa A. Glutathione transferases from parasites: a biochemical view. *Acta Tropica.* 2008. Vol. 105. P. 99–112.
- van Rossum A. J., Jefferies J. R., Rijsewijk F. A. M., LaCourse E. J., Teesdale-Spittle P., Barrett J., Tait A., Brophy P. M. Binding of hematin by a new class of glutathione transferase from the blood-feeding parasitic nematode *Haemonchus contortus*. *Infection and Immunity.* 2004. Vol. 72. P. 2780–2790.
- Vibanco-Perez N., Jimenez L., Merchant M. T., Landa A. Characterization of glutathione S-transferase of *Taenia solium*. *J. Parasitol.* 1999. Vol. 85. P. 448–453.
- Vibanco-Perez N., Jimenez L., Mendoza-Hernandez G., Landa A. Characterization of a recombinant mu-class glutathione S-transferase from *Taenia solium*. *Parasitol. Res.* 2002. Vol. 88. P. 398–404.
- Walker J., Crowley P., Moreman A. D., Barrett J. Biochemical properties of cloned glutathione S-transferases from *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 1993. Vol. 61. P. 255–265.
- Wijffels G. L., Sexton J. L., Salvatore L., Pettitt J. M., Humphris D. C., Panaccio M., Spithill T. W. Primary sequence heterogeneity and tissue expression of glutathione S-transferases of *Fasciola hepatica*. *Exp. Parasitol.* 1992. Vol. 74. P. 87–99.

Zhan B., Liu S., Perally S., Xue J., Fujiwara R., Brophy P., Xiao S., Liu Y., Feng J., Williamson A., Wang Y., Bueno L. L., Mendez S., Goud G., Bethony J. M., Hawdon J. M., Loukas A., Jones K., Hotez P. J. Biochemical characterization and vaccine potential of a heme-binding glutathione transferase from the adult hookworm *Ancylostoma caninum*. *Infection and Immunity*. 2005. Vol. 73. P. 6903–6911.

Zhan B., Perally S., Brophy P. M., Xue J., Goud G., Liu S., Deumic V., de Oliveira L. M., Bethony J.,

Bottazzi M. E., Jiang D., Gillespie P., Xiao S-h., Gupta R., Loukas A., Ranjit N., Lustigman S., Oksov Y., Hotez P. Molecular cloning, biochemical characterization, and partial protective immunity of the heme-binding glutathione S-transferases from the human hookworm *Necator americanus*. *Infection and Immunity*. 2010. Vol. 78. P. 1552–1563. doi: 10.1128/IAI.00848–09. Epub 2010 Feb 9.

Received June 24, 2015

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Смирнов Лев Павлович

ведущий научный сотрудник лаборатории экологической биохимии
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: levps@rambler.ru

Борвинская Екатерина Витальевна

научный сотрудник лаб. экологической биохимии
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: katsu@inbox.ru
тел.: (8142) 769810

Кочнева Альбина Александровна

студентка 4 курса эколога-биологического факультета
Петрозаводский государственный университет
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: ko4neva93@yandex.ru

Суховская Ирина Викторовна

научный сотрудник лаборатории экологической биохимии
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: sukhovskaya@inbox.ru
тел.: 89052996049

CONTRIBUTORS:

Smirnov, Lev

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: levps@rambler.ru

Borvinskaya, Ekaterina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: katsu@inbox.ru
tel.: (8142) 769810

Koshneva, Al'bina

Petrozavodsk State University
33 Lenin St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: ko4neva93@yandex.ru

Sukhovskaya, Irina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: sukhovskaya@inbox.ru
tel.: 89052996049