



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR, EMBRIOLOGIA E GENÉTICA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Jéssica Sueli dos Santos Batista

Genes de resistência metabólica a inseticidas em *Aedes aegypti*: uma revisão integrativa

Florianópolis

2024

Jéssica Sueli dos Santos Batista

Genes de resistência metabólica a inseticidas em *Aedes aegypti*: uma revisão integrativa.

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Norma Machado da Silva, Dra.

Florianópolis

2024

Dados inseridos pela própria autora.
Ficha catalográfica gerada por meio de sistema automatizado gerenciado pela
BU/UFSC.

Batista, Jéssica Sueli dos Santos

Genes de resistência metabólica a inseticidas em *Aedes aegypti*: : uma revisão integrativa. / Jéssica Sueli dos Santos Batista ; orientadora, Norma Machado da Silva, 2024.

52 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas,
Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. culicídeos. 3. detoxificação
metabólica. 4. inseticidas. I. Silva, Norma Machado da .
II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em
Ciências Biológicas. III. Título.

Jéssica Sueli dos Santos Batista

Genes de resistência metabólica a inseticidas em *Aedes aegypti*: uma revisão integrativa.

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas e aprovado em sua forma final pelo Curso de Ciências Biológicas

Florianópolis, 09 de agosto de 2024.

Insira neste espaço
a assinatura

Coordenação do Curso

Banca examinadora

Insira neste espaço
a assinatura

Profa Norma Machado da Silva, Dra.
Orientadora.

Insira neste espaço
a assinatura

Profa. Leili Daiane Hausmann, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Insira neste espaço
a assinatura

Andre Akira Gonzaga Yoshikawa, Msc
Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2024

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à minha orientadora, professora Norma, que me ajudou e me guiou desde o início deste trabalho, sempre presente para indicar a direção correta e as melhores formas de solucionar os obstáculos que surgiram ao longo do caminho, e que sem a sua dedicação e conhecimento este trabalho não seria possível. Gostaria de agradecer especialmente à minha mãe, que sempre me incentivou, foi e é meu maior apoio em todos os momentos difíceis e sempre comemorou cada alegria dessa jornada de graduação comigo. Nesses últimos anos, gostaria de agradecer especialmente ao Lucas, meu namorado e parceiro de vida, pelo suporte, por estar sempre comigo nos melhores e piores momentos e pelo amor. Também deixo aqui um espaço para agradecer a todas as pessoas que fizeram parte da minha vida acadêmica durante o curso, especialmente ao meu grande parceiro de estágio em Ciências, Gabriel. Aos demais colegas, professores e servidores, que me ajudaram de alguma forma, deixo aqui meu sincero agradecimento a todos

RESUMO

O mosquito da espécie *Aedes aegypti* é vetor de algumas arboviroses como Chikungunya, Dengue, Febre amarela urbana e Zika. Para controlar o tamanho populacional desse vetor são utilizados inseticidas com diferentes mecanismos de ação. Entretanto, o uso indiscriminado desses produtos traz como consequência o desenvolvimento de resistência às moléculas comumente usadas, e pode ser causada por diferentes mecanismos. Dentre esses, a detoxificação metabólica, causada pela superexpressão de genes de diferentes famílias enzimáticas. O objetivo desse trabalho foi investigar quais são os principais genes superexpressos, das diferentes famílias enzimáticas, que têm sido relacionados com a resistência metabólica em *Aedes aegypti* e com quais classes de inseticidas estão associados. Foi realizada uma revisão integrativa em dois bancos de dados (SCOPUS e PUBMED), utilizando o operador booleano AND e nove diferentes combinações de palavras-chaves. Em 30 artigos analisados verificou-se que a família das enzimas Citocromos P450 é a mais associada à resistência metabólica, inclusive resistência cruzada, sendo no total 68 genes citados em diferentes artigos. Para as Glutathione S-transferases foram encontrados 12 genes, e para as esterases 5 genes. A classe de inseticidas mais investigada e associada ao fenótipo de resistência metabólica foi a dos piretróides, seguida pela classe dos organofosforados e dos organoclorados. Os genes mais citados da família das Citocromo P450, cuja superexpressão tem sido associada à resistência aos piretróides, são: *CYP9J32*; *CYP6M11*; *CYP6BB2* e *CYP6N12*. Nas famílias das Esterases e Glutathione S-transferase os genes mais analisados foram, respectivamente: *CCEAE3A* e *GSTe2*, e ambos estão associados à resistência aos compostos da classe dos organofosforados. Esta revisão mostra que em populações desse mosquito mecanismos de metabolização a compostos inseticidas de diferentes classes têm sido selecionados e, portanto, estratégias alternativas de controle de suas populações precisam ser adotadas.

Palavras-chave: culicídeos; detoxificação metabólica; inseticidas.

ABSTRACT

Aedes aegypti mosquito is a vector of arboviroses such as Chikungunya, Dengue, Urban Yellow Fever and Zika. To control the population size of this vector, insecticides with different action mechanisms are used. However, the continuous use of these compounds results in the development of resistance to commonly used molecules. Resistance can be caused by different mechanisms, being metabolic detoxification, caused by the overexpression of genes from different enzyme families, one of them. The objective of this study was to investigate which are the main overexpressed genes, from different enzyme families, which have been related to metabolic resistance in *Aedes aegypti*, and which insecticides classes they are related to. An integrative review was carried out in two databases (Scopus and Pubmed), using the boolean operator "AND" and nine different combinations of keywords. In thirty articles analyzed, it was found that the Cytochrome P450 enzymes family is the most associated with metabolic resistance, including cross-resistance, with a total of sixty-eight genes cited in different articles. For Glutathione S-transferases 12 genes were found, and for esterases 5 genes. The class of insecticides most investigated and associated with metabolic resistance phenotype were pyrethroids, followed by organophosphates and organochlorines. The most cited genes from Cytochrome P450 family, whose overexpression has been associated with pyrethroids resistance, are: CYP9J32; CYP6M11; CYP6BB2 e CYP6N12. In the Esterases and Glutathione S-transferase families, the most analyzed genes were, respectively: CCEAE3A e GSTe2, and both were associated with resistance to organophosphate compounds. This review shows that in populations of this mosquito, mechanisms for metabolizing insecticidal compounds from different classes have been selected, and therefore, alternative strategies for controlling their populations need to be adopted.

Keywords: culicidae; metabolic detoxification; insecticides.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Modelo de distribuição global de <i>Aedes aegypti</i> conforme o nicho ecológico da espécie, no ano de 2020. Legenda: 1 para alto e 0 para baixo potencial	13
Figura 2. Fluxograma da seleção dos artigos científicos para a leitura	24
Figura 3. Genes superexpressos da família das Citocromo P450 que apareceram pelo menos em dois ou mais artigos	25
Figura 4. Genes superexpressos da família das Esterases.	29
Figura 5. Genes superexpressos da família das Glutathione S-transferases.....	30

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Relação da quantidade de artigos encontrados na base de dados PUBMED e na base de dados SCOPUS.	23
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quantidade de vezes em que genes das diferentes famílias enzimáticas foram citados em trabalhos relacionados com resistência a inseticidas de diferentes classes.	26
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AChe1	Acetilcolinesterase
CYP450	Citocromo P450
EST	Esterase
Ex.	Exemplo
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GST	Glutathione S-transferase
OMS	Organização Mundial de Saúde

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
1.1	ASPECTOS GERAIS SOBRE <i>Aedes Aegypti</i>	13
1.2	ASPECTOS GERAIS SOBRE INSETICIDAS	14
1.3	MECANISMOS DE RESISTÊNCIA A INSETICIDAS	18
1.3.1	RESISTÊNCIA METABÓLICA	19
1.3.2	OUTROS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA	21
2	JUSTIFICATIVA	16
3	HIPÓTESE	17
4	OBJETIVOS.....	18
4.1	OBJETIVO GERAL	18
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
5	MATERIAL E MÉTODOS	19
5.1	TIPO DE PESQUISA	19
5.2	BUSCA NAS BASES DE DADOS.....	19
5.2.1	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	20
5.2.2	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	20
5.3	SELEÇÃO DOS ARTIGOS E ANÁLISE QUALITATIVA.....	21
5.4	COLETA DOS DADOS E ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	21
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
6.1.1	CITOCROMO P450	24
6.1.2	ESTERASES	28
6.1.3	GLUTATIONA S-TRANSFERASES.....	29
7	CONCLUSÃO	32
	REFERÊNCIAS	33
	APÊNDICE A – TÍTULOS E AUTORES DOS ARTIGOS QUE FORAM LIDOS NA ÍNTEGRA PARA A COLETA DE DADOS.....	39
	APÊNDICE B – DADOS QUE FORAM EXTRAÍDOS DOS ARTIGOS SELECIONADOS	41

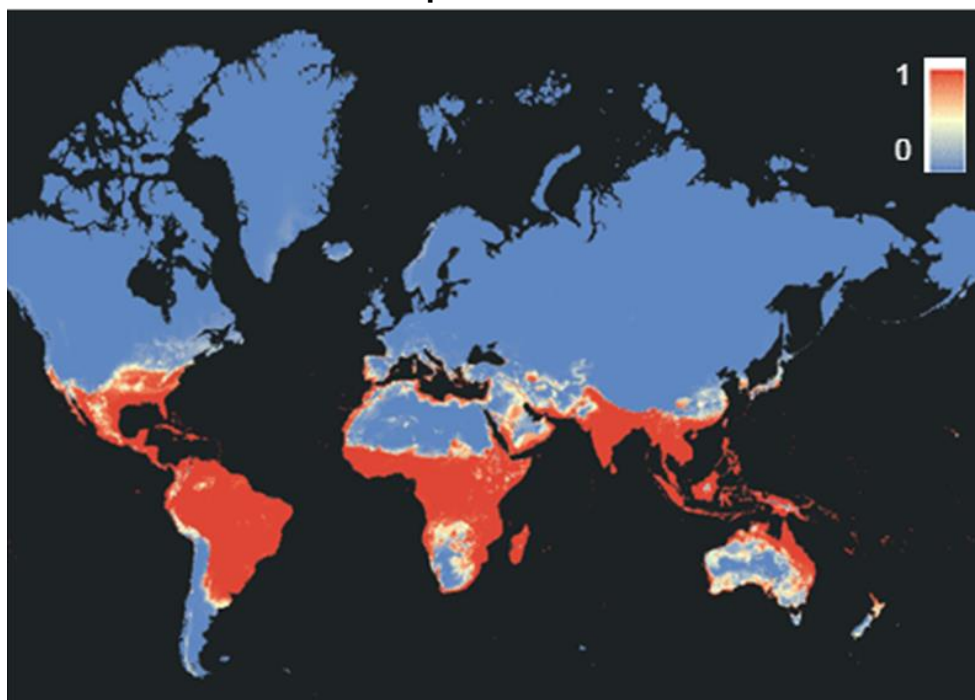
1 INTRODUÇÃO

1.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE *Aedes Aegypti*

O *Aedes aegypti* é um artrópode pertencente à ordem Diptera, família Culicidae. É um mosquito considerado urbano porque tem sua dispersão favorecida perto de domicílios, o que auxilia na reprodução devido às condições favoráveis. É um inseto originário da África, ocorre nas regiões tropicais e subtropicais do globo (Figura 1), e veio para o Brasil através das grandes migrações no século XVI (Consoli e Oliveira, 1994).

Indivíduos da espécie *Aedes aegypti* são vetores das principais arboviroses, doenças transmitidas por vetores, dentre elas a febre amarela urbana, Chikungunya, Zika e é o principal vetor dos quatro sorotipos de vírus da dengue (DENV-1, DENV-2, DENV-3, DEN-V 4 e DEN-V 5) (Black *et al.*, 2002; Campos, 2015; Mustafa *et al.*, 2015; OMS 2008). Devido à sua grande importância nas arboviroses em escala global, essa espécie tem sido estudada no Brasil desde 1906, quando o Instituto Manguinhos, atualmente conhecido como Instituto Oswaldo Cruz, começou a investigar os primeiros casos de febre amarela. (Oliveira, 2008).

Figura 1. Modelo de distribuição global de *Aedes aegypti* conforme o nicho ecológico da espécie, no ano de 2020. Legenda: 1 para alto e 0 para baixo potencial



Fonte: adaptado de VectorMap. Link <https://vectormap.si.edu/>

Embora os indivíduos adultos se alimentem de açúcares provenientes de plantas, as fêmeas necessitam de sangue para a maturação dos ovários e o desenvolvimento completo dos ovos (Wermelinger *et al.*, 2015), essa espécie pode ser considerada antropofílica por possuir preferência a alimentar-se de sangue humano. Estudos mostram que essa preferência está estritamente interligada com a expressão de um gene específico, e com a sensibilidade de receptores odoríferos do mosquito a um composto presente em altos níveis em odores humanos (Mcbride, *et al.* 2014). Com isso é possível entender seus hábitos sinantrópicos, coabitando com os humanos. Além disso, a espécie tem seu ciclo mais ativo ao amanhecer e ao entardecer, entretanto, pode se alimentar a qualquer hora do dia e, já é sabido que esta espécie possui hábitos oportunistas habitando locais fora do seu ótimo (Carvalho, *et al.* 2017; Lourenço, 2015).

O ciclo de vida básico dos mosquitos normalmente consiste em: ovo, quatro estágios larvais, a pupa e o adulto. Da oviposição à fase adulta decorrem em média 10 dias, considerando que as condições estejam todas favoráveis para o desenvolvimento sem interrupção no ciclo, incluindo temperatura e disponibilidade de alimentos. Os ovos tendem a ser depositados dentro dos recipientes nas paredes internas (Consoli e Oliveira, 1994). Nesse ciclo podemos dividir em duas fases, uma aquática e outra terrestre, as fases imaturas ocorrem na presença e necessidade de água e, no organismo adulto, que é terrestre, acaba voltando para a fase aquática apenas na ovoposição, e isso é um grande fator para diminuir a competição intraespecífica entre o organismo adulto e as fases imaturas (Carvalho *et al.*, 2017).

Uma habilidade de extrema importância é a capacidade de se manter em um estado de dormência durante o estágio de ovo, chamado de quiescência. Essa adaptação possibilita uma pausa no desenvolvimento do embrião, garantindo a manutenção do ciclo de vida mesmo que as condições climáticas por um período não estejam ideais. Dessa forma ocorre a suspensão temporariamente da eclosão após o término do desenvolvimento embrionário (Consoli e Oliveira, 1994).

As fêmeas de *Aedes aegypti* possuem preferência na ovoposição por recipientes pequenos, como vasos de plantas, copos plásticos, garrafas PET, latas de alumínio e que na sua maioria tenham o interior escuro, devido à fotofobia em estágios iniciais do desenvolvimento, o que está ligado com a maior probabilidade de sucesso reprodutivo da espécie por dificultar a visualização nesses recipientes (Carvalho, *et al.*, 2017).

1.2 ASPECTOS GERAIS SOBRE INSETICIDAS

O *Aedes aegypti* desempenha um papel crucial na saúde pública devido à sua capacidade de transmitir várias arboviroses pelo mundo. A febre amarela, por exemplo, afeta cerca de 200.000 pessoas a cada ano, resultando em aproximadamente 30.000 mortes. A maioria dos casos, cerca de 90%, ocorre na África. Esses números destacam a importância de medidas eficazes de controle e vacinação para proteger as populações vulneráveis (Garske *et al.*, 2014). Em 2022, segundo a OMS, foram registrados nas Américas mais de 2.800.000 casos de dengue e mais de 270.000 casos de Chikungunya (OMS, 2023).

O controle químico desses organismos para evitar surtos de arboviroses foi um grande avanço no século XX, pois o controle vetorial é o meio mais eficaz para diminuir a incidência das doenças na população. Nesse caso, os inseticidas são amplamente utilizados para esse controle tanto no meio urbano quanto no meio rural, porém, sua facilidade de acesso faz com que muitas pessoas os usem sem qualquer discriminação, o que torna muitas linhagens resistentes a determinados inseticidas (Braga e Valle, 2007).

O emprego contínuo de um mesmo agente ao longo de diversos anos consecutivos, muitas vezes motivado por questões de gestão deficiente e pela aquisição em larga escala por parte das entidades que buscam controle dos mosquitos, promove a evolução da resistência dos mesmos a tais substâncias. O uso de inseticidas químicos também traz consigo repercussões indesejadas, como a erradicação de espécies não-alvo, a poluição ambiental, a bioacumulação destes produtos na cadeia alimentar, a contaminação dos alimentos e ameaças à saúde humana e animal (Carvalho, *et al.*, 2017).

Essa diversidade de inseticidas pode ser aplicada tanto na fase larval quanto na fase adulta da espécie, dependendo da classe de inseticida a ser utilizada. Além das formas tradicionais de aplicação de inseticidas por nebulização (Ultra Baixo Volume) e aplicação direta nos criadouros, outras estratégias também estão sendo exploradas, como, por exemplo, o uso de mosquitos dispersores de inseticidas, dispositivos com liberação contínua e roupas e tecidos impregnados com inseticida (Abad-Franch *et al.*, 2015; Devine *et al.*, 2009).

O método que utiliza mosquitos como dispersores de inseticidas consiste em atrair fêmeas de *Aedes aegypti* para recipientes contendo piriproxifeno, um regulador de crescimento de insetos altamente eficaz, pois atua como um análogo de hormônio juvenil, interferindo no desenvolvimento das larvas e pupas, impedindo sua transformação em adultos férteis. Nessas estações de disseminação, as fêmeas se

contaminam com o piriproxifeno, que adere ao corpo delas, particularmente nas patas. Após se contaminarem, as fêmeas retornam aos criadouros naturais para oviposição, onde transferem o piriproxifeno para a água dos criadouros. Esse processo aumenta significativamente a mortalidade das larvas e pupas, uma vez que o piriproxifeno impede a ecdise (muda) necessária para a metamorfose completa dos mosquitos. Estudos demonstraram que esse método pode alcançar uma cobertura quase completa dos locais de reprodução, pois as fêmeas contaminadas visitam múltiplos criadouros durante o seu ciclo de vida. Isso resulta em uma redução drástica na emergência de mosquitos adultos. Durante testes a disseminação do piriproxifeno por mosquitos adultos reduziu a população de mosquitos emergentes em até 98%, destacando-se como uma ferramenta poderosa para o controle de vetores em áreas urbanas (Abad-Franch *et al.*, 2015; Devine *et al.*, 2009).

Por outro lado, métodos como os dispositivos de liberação contínua de inseticidas, utilizados normalmente em ambientes domiciliares, causa desorientação das fêmeas no ambiente reduzindo a quantidade de picadas e a redução da presença da fêmea nesses ambientes (Rapley *et al.*, 2009; Ritchie e Devine, 2013). A impregnação de roupas e tecidos com inseticidas é um método já utilizado em uniformes militares para evitar picadas de insetos na natureza e agora adaptado para uniformes escolares, visando prevenir picadas de mosquito em estudantes durante o período de aula, reduzindo a necessidade do uso de repelentes convencionais. Entre as limitações desse método estão o contato contínuo com o produto, a dificuldade de fabricação e manutenção desses uniformes, e a proteção limitada aos dias letivos (Tozan *et al.*, 2014; Wilder-Smith *et al.*, 2011, 2012). Além disso, telas impregnadas com inseticidas, geralmente usando deltametrina, podem ser instaladas em portas e janelas de residências, escolas e instalações de saúde, priorizando áreas com alto número de infecções por mosquitos. No entanto, esse método apresenta limitações, como a dificuldade de uso em larga escala e os custos de instalação e manutenção (Baly *et al.*, 2011, 2012, 2016).

Os inseticidas químicos podem ser de origem orgânica ou inorgânica. Os principais grupos de inseticidas orgânicos incluem os organofosforados, carbamatos e piretróides. Todos esses grupos atuam sobre o sistema nervoso central dos insetos e são amplamente utilizados em programas de controle de doenças transmitidas por vetores (Braga e Valle, 2007).

Os organoclorados são uma classe de inseticidas que contêm carbono, hidrogênio e cloro. Esses compostos são divididos em quatro grupos principais: difenil-

alifáticos; hexaclorociclohexanos; ciclodienos; policloroterpenos (WARE, 2000). Os organoclorados possuem representantes como DDT, metoxicloro, dieldrina, clordano, toxafeno, mirex, cepona, lindano e hexaóxido de benzeno (Siddiqui *et al.*, 2023). Essa classe de inseticidas, apesar de ser amplamente utilizada em programas de controle da malária, foi descontinuada e até proibida em muitos países devido à sua persistência no ambiente e ao acúmulo nos tecidos de animais e humanos (Chen e Rogan, 2003; Ferrer, 2003; Palchick, 1996; Waliszewski, *et al.*, 2003). As restrições referiram-se principalmente ao uso agrícola do DDT, embora a OMS ainda recomende seu uso no controle de vetores em alguns contextos (Chavasse, *et al.*, 1997; OMS, 1995). Os inseticidas ciclodienos são um grupo pertencente a classe dos organoclorados, e são exemplos as seguintes substâncias: clordano, aldrin e dieldrin. Foram desenvolvidos após a Segunda Guerra Mundial e caracterizam-se por sua persistência e estabilidade no solo, além de serem relativamente estáveis à luz solar e ultravioleta. Devido a essas propriedades, foram usados principalmente no controle de térmitas e outros insetos cujas larvas se alimentam nas raízes das plantas (Ware, 2000).

Os organofosforados são um grupo de inseticidas que contêm fósforo e foram descobertos após os organoclorados. Possuem alguns representantes como: clorpirifós, malation, paration metil, fosmet, diazinon, que possuem modo de ação a inibição da enzima Acetilcolinesterase (AChE) (Siddiqui *et al.*, 2023). Os organofosforados são classificados em três subgrupos: alifáticos, cálculos de fenil e heterocíclicos. Amplamente utilizados em saúde pública, esses inseticidas oferecem vantagens sobre os organoclorados, como biodegradabilidade e menor acumulação nos tecidos. No entanto, sua principal desvantagem é a instabilidade química, exigindo atualizações periódicas de aplicação. Além disso, são mais tóxicos para vertebrados, mesmo em doses relativamente baixas. (Palchick, 1996, Ware, 2000).

Os carbamatos são inseticidas derivados do ácido carbâmico, surgindo comercialmente por volta dos anos 1960, com o carbaril sendo um dos mais utilizados, entretanto possui outros representantes como: aldicarb e moban (Siddiqui *et al.*, 2023). Assim como os organofosforados, possuem ação letal rápida sobre os insetos, mas com um poder residual mais curto. São sistêmicos para as plantas e inibem a AChE, embora através de carbamilação, diferindo dos organofosforados. Uma diferença importante é que a inibição da AChE pelos carbamatos é reversível (Ware, 2000).

Os piretróides são inseticidas sintéticos que mimetizam as propriedades do piretro, uma substância natural extraída de flores do gênero *Chrysanthemum* (Melnikov, 1971). São biodegradáveis, não cumulativos e geralmente seguros para aves e

mamíferos, embora a toxicidade possa variar entre espécies. No entanto, são extremamente tóxicos para animais aquáticos (He e Deng, 1996). Apresentam alta atividade inseticida em doses baixas e têm a capacidade de provocar a movimentação dos insetos, forçando-os a sair de seus esconderijos devido à rápida excitação do sistema nervoso. Os piretróides são divididos em quatro gerações, cada uma com compostos mais eficazes e fotoestáveis (Narahashi, 2002). Os piretróides são um grupo de inseticidas que possuem como representantes cipermetrina, deltametrina e permetrina como os mais conhecidos (Siddiqui *et al.*, 2023), e possui seu modo de ação como modulador de canais de sódio das células do sistema nervoso dos insetos, o que pode causar uma paralisia excitatória no indivíduo e levar a morte (Davies *et al.*, 2007). Para o controle larval também pode-se utilizar inseticidas inibidores da síntese de quitina e análogos de hormônios juvenis e para os adultos os inseticidas da classe dos piretróides têm sido os mais comumente usados (Braga e Valle, 2007).

1.3 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA A INSETICIDAS

O uso indiscriminado devido à facilidade de acesso a esses produtos químicos traz uma problemática que é a resistência desenvolvida à determinados inseticidas. A resistência vetorial ocorre quando há uma população de insetos originalmente susceptível a um inseticida, e depois se percebe que o inseticida não atua mais de forma eficaz nessa população de insetos (OMS, 1970).

Há diferentes causas que estão associadas ao fenótipo de resistência a inseticidas, dentre elas estão, o uso de produtos com doses acima ou abaixo das recomendadas pelos fabricantes; mistura indevida de ingredientes ativos em propriedades agrícolas e ausência de critérios no uso de programas de tratamento fitossanitário (Chaves *et al.*, 2014). O excesso e o uso contínuo de inseticidas podem vir a desencadear a resistência vetorial e, em conjunto a fatores do próprio inseto faz com que aconteça o surgimento de cepas resistentes. À medida que essa resistência aumenta, os inseticidas são utilizados em concentrações maiores, formando um ciclo vicioso e aumentando a resistência para as próximas gerações de insetos (Diel, *et al.*, 2003).

A pesquisa sobre a resistência a inseticidas em mosquitos aumentou significativamente desde a década de 1950, quando foi relatada pela primeira vez a resistência a inseticidas à base de hidrocarbonetos clorados. Diversos mecanismos de resistência foram identificados em diferentes espécies de mosquitos, destacando-se o

aumento da desintoxicação metabólica de inseticidas e a diminuição da sensibilidade das proteínas alvo. Avanços tecnológicos recentes, como o sequenciamento do genoma completo e a determinação de polimorfismo de nucleotídeo único, têm permitido aos pesquisadores identificar genes de resistência e mecanismos de resistência a inseticidas em nível genômico (Liu, 2015).

1.3.1 RESISTÊNCIA METABÓLICA

A resistência metabólica aos inseticidas é uma preocupação crescente na área de controle de vetores, especialmente em relação ao *Aedes aegypti*, um importante vetor de arboviroses. A resistência metabólica é frequentemente mediada pela superexpressão de enzimas envolvidas na detoxificação de inseticidas, como as das famílias das enzimas citocromos P450, das esterases e das glutatona S-transferases. Essas enzimas catalisam reações bioquímicas que resultam na degradação ou sequestro das moléculas de inseticidas, reduzindo assim a eficácia dos tratamentos. Entender os mecanismos subjacentes à resistência metabólica em *Aedes aegypti* é essencial para desenvolver estratégias de controle eficazes e sustentáveis, visando combater a transmissão de doenças transmitidas por mosquitos (Hemingway *et al.*, 2000; Liu, 2015).

As monooxigenases, uma classe de enzimas pertencente à família dos citocromos P450, desempenham um papel fundamental na resistência metabólica de *Aedes aegypti* aos inseticidas. Essas enzimas são responsáveis pela metabolização de moléculas tóxicas para o organismo do mosquito, como os piretróides, modificando-as quimicamente para facilitar sua excreção celular (Guengerich, 2008). O aumento da expressão de genes que codificam monooxigenases está associado à resistência dos mosquitos aos inseticidas, tornando-se um mecanismo adaptativo comum nesses organismos (Nebert e Russell, 2002). Além disso, a presença dessas enzimas em diversas regiões do corpo do mosquito, incluindo o intestino, o corpo gorduroso e os túbulos de Malpighi, ressalta sua importância no metabolismo e na detoxificação de compostos químicos nocivos (Werck-Reichhart e Feyereisen, 2000). Entre os genes mais estudados da família das Citocromos P450 destaca-se o gene *CYP9M10*, que é frequentemente associado à resistência a piretróides (David *et al.*, 2008). Além disso, os genes *CYP6Z6* e *CYP6Z8* também foram implicados na resistência a múltiplos inseticidas, demonstrando a versatilidade das enzimas CYP450 na detoxificação de diferentes químicos (Ranson *et al.*, 2002).

As esterases são uma importante família de enzimas envolvidas na metabolização de uma ampla variedade de compostos químicos, incluindo inseticidas. Essas enzimas catalisam reações de hidrólise, nas quais a quebra de ligações éster ocorre com a adição de uma molécula de água. Nos mosquitos *Aedes aegypti*, as esterases desempenham um papel crucial na resistência metabólica aos inseticidas, especialmente aos piretróides. Esses compostos são sensíveis à ação das esterases devido à presença de grupos éster em sua estrutura molecular. Quando expostos a inseticidas piretróides, os mosquitos com alta expressão e atividade dessas esterases são capazes de uma metabolização mais eficiente dos inseticidas e redução de sua toxicidade. Esse aumento na expressão das esterases e outras enzimas metabólicas é um mecanismo adaptativo que os mosquitos desenvolvem como resposta à pressão seletiva exercida também pelos inseticidas. Como resultado, a resistência metabólica mediada pelas esterases é uma das principais estratégias que os mosquitos *Aedes aegypti* utilizam para sobreviver à exposição a inseticidas e representa um desafio significativo para o controle de vetores de doenças (Feyereisen, 2015; Narahashi, 2000; Ranson e Hemingway, 2005). O gene *Cceae3a* é conhecido por sua capacidade de degradar principalmente organofosforados, reduzindo a eficácia desse composto (Dusfour *et al.* 2015; Goindin *et al.* 2017).

As glutathione S-transferases (GSTs) são enzimas multifuncionais que desempenham um papel crucial no metabolismo, desintoxicação e excreção de uma ampla variedade de compostos, incluindo os inseticidas. Essas enzimas estão presentes em muitos organismos, incluindo insetos, onde desempenham um papel essencial na proteção contra produtos químicos xenobióticos. Em mosquitos, como o *Aedes aegypti*, as GSTs desempenham um papel fundamental na resistência a inseticidas, facilitando a metabolização de substâncias tóxicas. As GSTs possuem sítios ativos que permitem a conjugação da glutathione a uma variedade de substratos eletrofílicos, incluindo alguns grupos presentes em inseticidas, como os organofosforados (exemplo: malationa) e piretróides (ex.: permetrina) (Hayes *et al.*, 2005). Essa capacidade de conjugar glutathione aos inseticidas, facilitando sua excreção do organismo do mosquito, torna as GSTs um componente importante na resistência metabólica dos mosquitos aos inseticidas. Estudos têm demonstrado que a superexpressão de genes que codificam GSTs está associada à resistência a inseticidas em mosquitos, proporcionando-lhes uma vantagem adaptativa contra as substâncias químicas utilizadas para controlar suas populações (Enayati *et al.*, 2005; Huber *et al.*, 2008; Lumjuan *et al.*, 2011). O gene *GSTe2* está associado na superexpressão de enzimas por conferir resistência ao DDT e

a alguns piretróides, enquanto *GSTe4* está envolvido na resistência a várias classes de inseticidas (Poupardin *et al.*, 2008).

Além desses, outros grupos enzimáticos, como as UDP-Glicosiltransferases (UGT) e as Aldo-keto Redutases (AKR), também são investigados por seu papel potencial na resistência metabólica. As UGTs podem estar envolvidas na detoxificação de xenobióticos, incluindo inseticidas, embora seu papel exato ainda esteja em estudo. Já as AKRs participam na redução de compostos tóxicos, contribuindo para a resistência do mosquito a diferentes agentes químicos (Poupardin *et al.*, 2008).

1.3.2 OUTROS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

A cutícula dos insetos, é uma estrutura complexa e multicamadas que desempenha um papel fundamental na proteção e na adaptação deles ao ambiente. Composta por várias camadas distintas, cada uma com funções específicas, a cutícula proporciona resistência mecânica, proteção contra desidratação e barreira contra substâncias químicas, incluindo inseticidas. A epicutícula, camada mais externa, é composta principalmente por lipídios, como ceras e polímeros lipofílicos, conferindo impermeabilidade e proteção contra danos físicos. Por sua vez, a exocutícula é responsável pela rigidez da cutícula, sendo composta principalmente por quitina e proteínas esclerotizadas. Já a endocutícula, camada mais interna, contribui para a flexibilidade da cutícula e é depositada de forma contínua ao longo da vida do inseto. A epiderme, por sua vez, é responsável pela produção das outras camadas da cutícula, sendo composta por células vivas que secretam os componentes da cutícula. Estudos demonstram que alterações na composição e na estrutura da cutícula podem estar associadas à resistência dos mosquitos aos inseticidas, tornando-a um importante alvo para o desenvolvimento de estratégias de controle de vetores (Balabanidou *et al.*, 2018; Hemingway e Ranson, 2000)

As modificações na estrutura da cutícula dos insetos desempenham um papel significativo na resistência a inseticidas, oferecendo uma barreira física e química que pode reduzir a eficácia dos produtos químicos utilizados no controle de pragas. O espessamento da cutícula, associado a um aumento na quantidade de ceras e polímeros lipofílicos, pode limitar a penetração dos inseticidas na cutícula, diminuindo sua eficácia (Balabanidou *et al.*, 2018). Além disso, alterações na composição química da cutícula, incluindo a expressão de enzimas detoxificadoras, como as do sistema

citocromo P450, podem contribuir para a resistência a inseticidas ao aumentar a capacidade de degradação dos produtos químicos antes que eles atinjam os tecidos do inseto (Arrese e Soulages, 2010; Balabanidou *et al.*, 2018). Mudanças nas proteínas cuticulares também podem afetar a integridade e a função da cutícula, potencialmente influenciando na resistência a inseticidas (Cornman e Trewitt, 2017). Essas adaptações na estrutura da cutícula são exemplos de estratégias evolutivas adquiridas pelos insetos para sobreviver à pressão seletiva exercida pelos inseticidas ao longo do tempo.

A insensibilidade do local-alvo é um dos principais mecanismos de resistência, resultante de modificações estruturais ou mutações em genes que codificam proteínas alvo dos inseticidas. Os canais de sódio, a acetilcolinesterase e os receptores de ácido γ -aminobutírico (GABA) são alvos comuns dos inseticidas e a resistência a esses compostos está se tornando cada vez mais prevalente (Liu, 2015).

Os inseticidas como os piretróides e o DDT (organoclorado) possuem como local-alvo os canais de sódio das células do sistema nervoso do inseto, atuam na proteína transmembrana do axônio, essa proteína é responsável por regular a entrada de sódio na célula. Eles exercem seus papéis tóxicos ao se ligarem aos canais de sódio mantendo os mesmos abertos por um período, o que induz a entrada de íons de sódio na membrana do axônio produzindo excessivos potenciais de ação seguidos de hiperpolarização da membrana (Dong, 2007). Indivíduos que desenvolvem resistência a esses inseticidas possuem o mecanismo denominado *knockdown resistance* (ou kdr), causado por mutações no gene que codifica essa proteína, resultando em substituições de aminoácidos que provavelmente afetam a afinidade de ligação das moléculas inseticidas na proteína (Hemingway *et al.*, 2000).

Os carbamatos e organofosforados possuem como modo de ação a inibição da ligação entre a enzima acetilcolinesterase com o neurotransmissor acetilcolina. Essa enzima é necessária no sistema nervoso, sendo responsável por realizar a hidrólise de neurotransmissores colinérgicos e impulsos nervosos terminais (Ware, 2000, Liu, 2015). A inibição da acetilcolinesterase na fenda sináptica gera uma hiperexcitação do sistema nervoso do organismo por conta do acúmulo de acetilcolina. Os indivíduos que desenvolvem resistência à essas moléculas de inseticidas carbamatos e organofosforados, possuem mutações no gene que codifica a enzima leva a modificações no sítio ativo da enzima AChE1 e em outras regiões, que resultam em insensibilidade aos inseticidas, que se dá pelo impedimento estérico ao sítio ativo da enzima, impossibilitando a acessibilidade de inibidores (Liu, 2015).

O neurotransmissor inibitório GABA é responsável por permeabilizar a membrana das células do sistema nervoso, permitindo a entrada de íons de cloro para dentro da célula, o que resulta na hiperpolarização e reduz a excitabilidade do sistema nervoso. Os receptores desse neurotransmissor estão presentes no sistema nervoso e neuromuscular dos mosquitos, e são formados por cinco subunidades que constituem os canais de cloro (Buckingham, 2005). Os inseticidas que atuam nos receptores do neurotransmissor GABA bloqueiam os canais de cloro, levando à superexcitação do sistema nervoso central dos mosquitos, resultando em paralisia e morte. Exemplos desses inseticidas incluem fipronil e ciclodienos, que se ligam aos receptores GABA e inibem a função normal dos canais de cloro, causando disfunção neuromuscular (Buckingham *et al.*, 2008; Ratra & Casida, 2001). O desenvolvimento de resistência dos mosquitos a inseticidas que afetam os receptores GABA pode ocorrer por meio de mutações genéticas que resultam na substituição de aminoácidos específicos na estrutura das subunidades desses receptores. Essas mutações conferem aos mosquitos uma capacidade reduzida de serem afetados pelos inseticidas, também tornando o controle desses vetores mais desafiador (Buckingham *et al.*, 2008; Baxter *et al.*, 2011; Zhao *et al.*, 2013).

2 JUSTIFICATIVA

O *Aedes aegypti* é um vetor capaz de transmitir diferentes arboviroses aos humanos, e diversos mecanismos de resistência a inseticidas têm sido encontrados nessa espécie (Liu, 2015). O conhecimento sobre diferentes aspectos da biologia do vetor pode contribuir para o controle de suas populações, especialmente porque, o controle vetorial ainda é a melhor maneira de prevenir arboviroses transmitidas por ele. O presente trabalho reúne dados da literatura, para apresentar um panorama geral e atualizado sobre os genes envolvidos no mecanismo de resistência metabólica a inseticidas nessa espécie de vetor, além de identificar quais moléculas, comumente utilizadas no controle de suas populações, têm sido mais investigadas. Muitos estudos sobre resistência metabólica têm sido realizados com essa espécie, e a compilação desses dados pode fornecer informações que contribuirão para o delineamento de trabalhos futuros. Esses trabalhos podem incluir, por exemplo, a investigação de outros genes das diferentes famílias enzimáticas que possam estar contribuindo para a resistência metabólica, além dos comumente investigados; bem como a análise de quais classes de inseticidas têm sido menos eficazes no controle do tamanho populacional do vetor, o que pode indicar a necessidade de selecionar outros métodos de controle das populações do vetor.

3 HIPÓTESE

A superexpressão de genes de famílias enzimáticas que atuam no metabolismo de moléculas com ação inseticida, principalmente genes da família das enzimas citocromos P450, mas também das esterases e glutathione-S-transferases, está associado ao fenótipo de resistência às moléculas de diferentes classes de inseticidas, em diferentes populações desse vetor de arboviroses.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Investigar quais genes de diferentes famílias enzimáticas têm sua superexpressão relacionada à resistência metabólica a inseticidas em *Aedes aegypti* e identificar quais classes de inseticidas têm sido mais investigadas.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar quais genes da família das citocromo 450 têm sido relacionados com a resistência metabólica em *Aedes aegypti*;
- Investigar quais genes da família das esterases têm sido relacionados com a resistência metabólica à inseticidas em *Aedes aegypti*;
- Investigar quais genes da família das glutationa-S-transferases têm sido relacionados com a resistência metabólica em *Aedes aegypti*;
- Identificar quais classes de inseticidas têm sido mais investigadas, associadas à resistência metabólica em *Aedes aegypti*.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 TIPO DE PESQUISA

Este estudo é uma revisão do atual estado de conhecimento sobre quais são os genes que têm sido investigados com relação a sua atuação na detoxificação metabólica a inseticidas no culicídeo *Aedes aegypti*. Também chamado de estudo do estado da arte ou revisão narrativa, um estudo do estado de conhecimento que analisa as produções bibliográficas de pesquisas para levantar o que se conhece sobre um determinado tema. Trata-se de um estudo descritivo da trajetória e distribuição da produção científica sobre um determinado objeto, estabelecendo relações contextuais com outras variáveis, como datas de publicação, temas abordados e periódicos em que os estudos foram publicados. A revisão integrativa realizada neste trabalho é usada para selecionar estudos relevantes. A seleção dos artigos é baseada em dois tipos de critérios: temáticos de proximidade, que avaliam a relevância dos estudos em relação à questão de pesquisa, e metodológicos de inclusão/exclusão, que consideram a qualidade metodológica dos estudos. Após a seleção, a análise se concentra nos resultados dos artigos escolhidos (Vosgerau e Romanowski, 2014).

5.2 BUSCA NAS BASES DE DADOS

Foi realizada uma busca bibliográfica na literatura científica internacional. As buscas foram realizadas nos seguintes bancos de dados:

- SCOPUS - <https://www.scopus.com>.
- Pubmed - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.

A busca foi realizada nos bancos de dados citados acima usando os operadores booleanos AND e OR combinando diferentes palavras-chave em inglês, e realizando a busca com as seguintes combinações:

- *Aedes aegypti and monooxygenases*.
- *Aedes aegypti and cytochrome P450*.

- *Aedes aegypti* and P450.
- *Aedes aegypti* and mixed function oxidases.
- *Aedes aegypti* and mixed function oxygenases.
- *Aedes aegypti* and esterases.
- *Aedes aegypti* and glutathione transferases.
- *Aedes aegypti* and GST.
- *Aedes aegypti* and glutathione S transferases.

Na base de dados SCOPUS, foram utilizados os seguintes filtros:

- English.
- Articles.

Na base de dados PUBMED, foram utilizados os seguintes filtros:

- Other animals.
- English.

5.2.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Artigos internacionais da literatura científica, publicados na língua inglesa, sem restrição de tempo, que abordam a superexpressão de genes via análises de mRNA) envolvidos com resistência metabólica a inseticidas de diferentes classes na espécie *Aedes aegypti*.
- Artigos que usaram uma linhagem de laboratório sabidamente suscetível para comparar com as amostras de campo ou linhagens que estavam sendo investigadas.

5.2.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Trabalhos de revisão bibliográfica.
- Artigos que abordavam apenas ensaios bioquímicos de atividade enzimática
- Teses, dissertações, resumos apresentados em eventos científicos

- Trabalhos sobre outras espécies de artrópodes.
- Trabalhos que não mostram análise de superexpressão de genes relacionados a resistência metabólica a inseticidas

5.3 SELEÇÃO DOS ARTIGOS E ANÁLISE QUALITATIVA

Primeiramente, os artigos foram selecionados pelo título e pelo resumo para verificar se possuíam critérios para exclusão. Os artigos duplicados nos resultados das diferentes bases de dados foram descartados. Em um segundo momento, foi realizada a leitura na íntegra dos artigos pré-selecionados, que estavam disponíveis de forma gratuita, e alguns também foram excluídos nessa etapa, quando se verificou que não continham as informações buscadas. Durante a leitura dos artigos, foi realizada uma análise qualitativa dos dados apresentados, verificando os seguintes itens: se foram usadas amostras comprovadamente resistentes oriundas de populações de campo que têm apresentado resistência a inseticidas ou linhagens que também são sabidamente resistentes; e se, como controle nas análises de expressão, foi usada uma linhagem de laboratório sabidamente suscetível, mantida sem contato com inseticidas.

5.4 COLETA DOS DADOS E ANÁLISE DOS RESULTADOS

Durante a leitura dos artigos selecionados foram coletadas as informações abaixo:

- Título do trabalho
- Autores e ano
- Nome do gene superexpresso
- Família enzimática
- Moléculas inseticidas investigadas e classe a que pertencem

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca na base de dados PUBMED iniciou-se em setembro de 2022 e continuou até fevereiro de 2023. Na base de dados SCOPUS, a busca começou em março de 2023 e foi concluída em agosto de 2023. O Quadro 1 mostra a quantidade de artigos encontrados em cada uma dessas bases de dados durante o período de busca, de acordo com as combinações de palavras-chave utilizadas. A quantidade de artigos encontrados com cada combinação de palavras-chave inclui artigos repetidos, encontrados com diferentes combinações usadas ou que apareceram nas buscas de ambas bases de dados, ou seja, representam os dados brutos das buscas.

O fluxograma (Figura 2) ilustra as etapas do processo metodológico de seleção de artigos para uma revisão integrativa. O processo iniciou, conforme citado anteriormente, com pesquisas nas bases de dados PUBMED e SCOPUS, utilizando combinações de palavras-chave especificadas no Quadro 1. Essas buscas iniciais resultaram na seleção de 264 artigos, baseando-se na leitura dos títulos e dos *abstracts*.

Para assegurar que os artigos selecionados atendessem aos critérios previamente definidos, foi realizada uma triagem detalhada. Essa etapa envolveu a leitura dos materiais e métodos e resultados dos artigos para verificar se abordavam a superexpressão de genes em relação à resistência a inseticidas. Então, artigos que abordavam apenas medição da atividade enzimática foram excluídos da análise. Após está triagem, 41 artigos foram selecionados para leitura completa. Durante essa fase, 11 artigos adicionais foram excluídos por serem considerados falsos positivos, ou seja, não atendiam aos critérios de inclusão estabelecidos para a revisão.

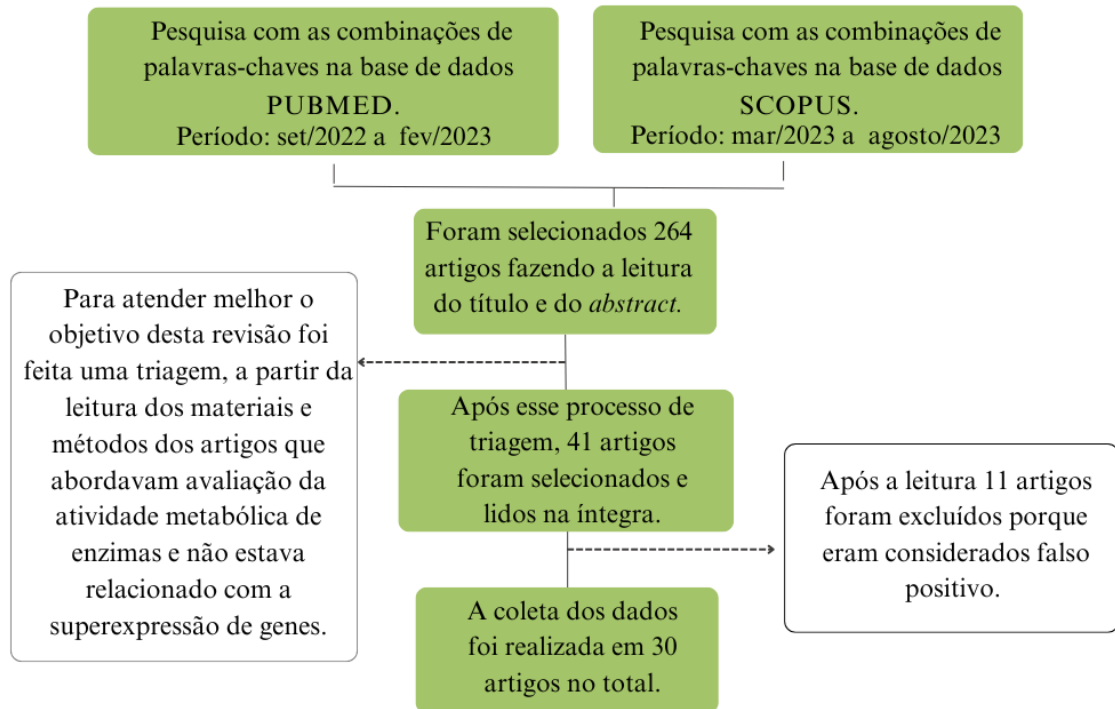
Por fim, a coleta de dados foi realizada com base nos 30 artigos que passaram por todas as etapas de seleção e triagem (Apêndice A).

Quadro 1. Relação da quantidade de artigos encontrados na base de dados PUBMED e na base de dados SCOPUS.

PALAVRAS CHAVES UTILIZADAS	FILTROS UTILIZADOS PUBMED	TOTAL DE ARTIGOS ENCONTRADOS NO PUBMED	FILTROS UTILIZADOS SCOPUS	TOTAL DE ARTIGOS ENCONTRADOS NO SCOPUS
1. <i>Aedes aegypti</i> and monoxygenases	<i>other animals, english</i>	133	<i>english, articles</i>	38
2. <i>Aedes aegypti</i> and cytochrome P450		88		138
3. <i>Aedes aegypti</i> and P450		91		145
4. <i>Aedes aegypti</i> and mixed function oxidases		131		58
5. <i>Aedes aegypti</i> and mixed function oxygenases		104		12
6. <i>Aedes aegypti</i> and esterases		296		236
7. <i>Aedes aegypti</i> and glutathione transferases		120		207
8. <i>Aedes aegypti</i> and GST		62		94
9. <i>Aedes aegypti</i> and glutathione S transferases		109		164
TOTAL DE ARTIGOS ENCONTRADOS		1134		1092

Fonte: elaborada pela autora

Figura 2. Fluxograma da seleção dos artigos científicos para a leitura



Fonte: elaborada pela autora

Ao todo, 85 genes superexpressos foram descritos nos 30 artigos, sendo eles 68 genes da família das Citocromo P450; 12 genes da família das Glutathione S-transferase e 5 genes da família das Esterases.

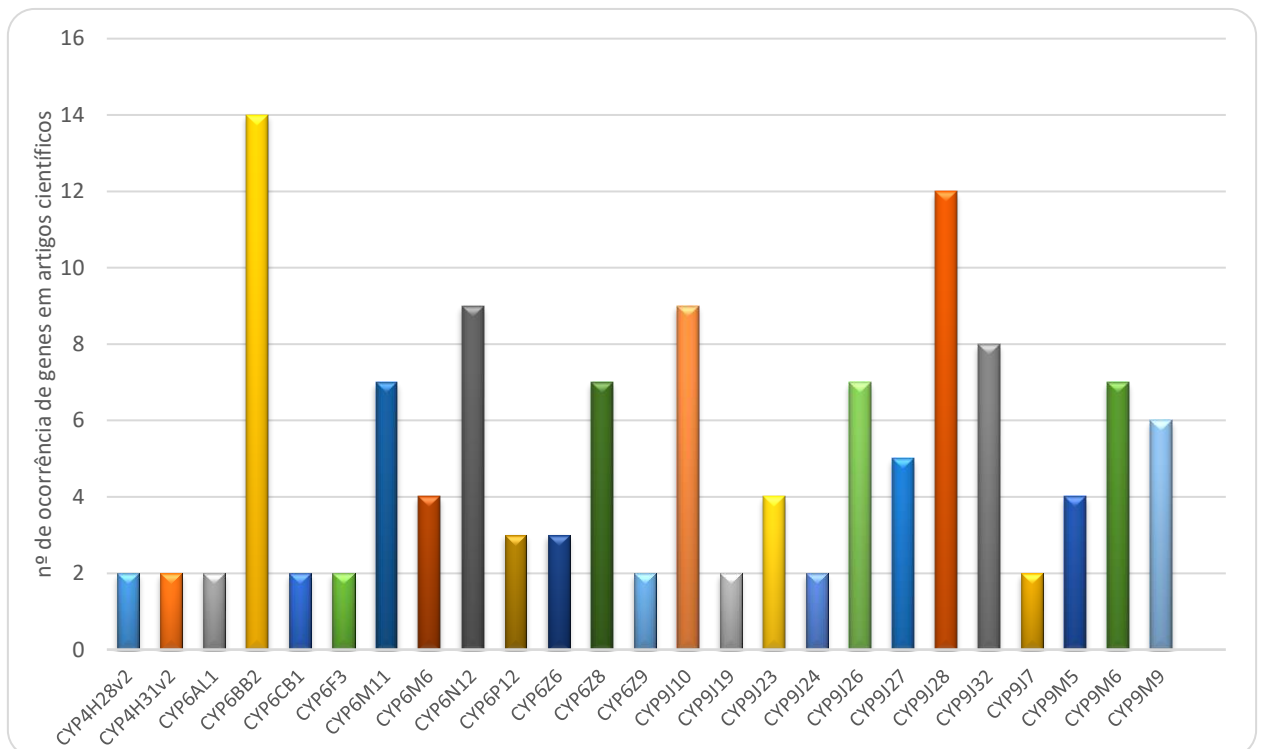
6.1.1 CITOCROMO P450

Conforme as análises, foram identificados 68 genes diferentes da família Citocromo P450 relacionados à superexpressão, dos quais 25 genes aparecendo em pelo menos dois artigos, conforme listado na Figura 3, e os genes que ocorreram em apenas um artigo são possíveis de observar no Apêndice B.

Os genes mais frequentemente superexpressos, ou seja, que obtiveram ocorrências em artigos como superexpressos em alguma proporção no estudo do artigo analisado, incluem os seguintes genes: *CYP9J32*, com 16 ocorrências, *CYP6M11*, com 14 ocorrências, e *CYP6P12*, com 11 ocorrências. Esses genes aparecem consistentemente em múltiplos estudos, indicando seu papel crucial na resposta dos mosquitos a inseticidas. A família Citocromo P450 é composta por uma

ampla variedade de genes, cada um potencialmente responsável pela metabolização de diferentes compostos químicos. A figura mostra uma vasta gama de genes P450 superexpressos, como *CYP4H28v2*, *CYP6BB2* e *CYP9M9*, indicando a complexidade das vias de detoxificação nos mosquitos.

Figura 3. Genes superexpressos da família das Citocromo P450 que apareceram pelo menos em dois ou mais artigos



Fonte: elaborada pela autora

Alguns genes, como *CYP4H3J2v*, *CYP6AA1* e *CYP6BC1*, foram encontrados em menos artigos, com 5 a 7 ocorrências. Isso sugere que, embora esses genes não sejam os mais frequentemente investigados, também desempenham um papel significativo na detoxificação de inseticidas.

A Tabela 1 mostra a quantidade de vezes em que os genes encontrados para cada família enzimática que foram associados a resistência metabólica de forma que foram superexpressos em diferentes artigos que realizaram o estudo com diferentes classes de inseticidas. Para a classe dos Carbamatos houve 44 associações com genes das três famílias enzimáticas. É possível observar que dos oito grupos de compostos com ação inseticidas, seis grupos estão relacionados com

a metabolização por enzimas de duas ou mais famílias de enzimas. Além dos piretróides, que é a classe de inseticidas mais investigada no que diz respeito à resistência metabólica, a segunda classe de inseticidas que foi mais investigada nos estudos foi a dos Organofosforados, com 45 associações a genes da família enzimática das CYPs.

Tabela 1. Quantidade de vezes em que genes das diferentes famílias enzimáticas foram citados em trabalhos relacionados com resistência a inseticidas de diferentes classes.

Classe de inseticida	Esterases	Glutathione S-Transferase	Citocromo P450
Carbamatos	1	5	38
Hidrocarbonetos		4	8
Metal			2
Neonicotinóides	2		19
Organoclorados		4	27
Organofosforados	9	17	45
Piretróides	2	8	121
Triazinas			3

Fonte: elaborada pela autora

Portanto, é possível interpretar a partir dos dados analisados que a família enzimática que teve maior associação à resistência metabólica, e a moléculas de diferentes classes de inseticidas, foi a família enzimática das CYPs, e também foi a que apresentou maior diversidade de genes superexpressos associado a resistência metabólica, conforme o Figura 3.

A maior quantidade de genes da família do Citocromo P450 relacionadas à resistência aos inseticidas como observado na Tabela 1, especialmente a classe dos piretróides, pode ser resultado da pressão seletiva causada pelo uso intensivo desses inseticidas, onde mosquitos com maior expressão desses genes têm uma vantagem adaptativa, sobrevivendo e proliferando (Martinez *et al.*, 2018).

Além disso, essa grande relação demonstrada pelos artigos analisados de genes da família Citocromo P450 associada a piretróides e organofosforados, sugere que esses inseticidas têm um impacto ambiental significativo, exercendo uma pressão seletiva intensa sobre as populações de mosquitos. Essa pressão seletiva pode estar levando à rápida evolução da resistência, afetando a eficácia desses inseticidas (David *et al.*, 2013). Além disso, a variabilidade genética entre populações de mosquitos pode influenciar a resposta diferencial à exposição a

inseticidas, levando à superexpressão de genes específicos em resposta a determinadas classes químicas (Donnelly *et al.*, 2016).

A superexpressão do mesmo gene em resposta a compostos de diferentes classes de inseticidas está relacionada ao que conhecemos como resistência cruzada. Por exemplo, o número de artigos encontrados citando os genes das CYPs tanto em piretróides quanto em carbamatos e organofosforados indica que mosquitos apresentando superexpressão de genes dessa família podem apresentar níveis de resistência a compostos inseticidas de diferentes classes (Poupardin *et al.*, 2010).

A classe de inseticidas que teve mais estudos associados a resistência metabólica, envolvendo diferentes famílias enzimáticas, foi a classe dos Piretróides. A combinação que mais foi frequente em estudos, relacionou piretróides e genes da família das Citocromos P450. Dentre os 68 genes CYP, houve 121 associações com a resistência a diferentes moléculas da classe dos piretróides. A combinação detalhada de cada gene referente sua respectiva família, associada à molécula de uma determinada classe de inseticida é possível observar no Apêndice B.

A resistência metabólica de *Aedes aegypti* à permetrina (piretróide) é um fenômeno complexo que envolve principalmente a ação das enzimas da família das CYPs. Estas enzimas desempenham um papel crucial na degradação de piretróides, como a permetrina, devido à sua diversidade, especificidade e capacidade adaptativa. A capacidade das enzimas citocromos P450 de oxidar a permetrina de maneira eficaz e específica faz com que essa família enzimática seja a principal responsável pela degradação do inseticida em *Aedes aegypti* (Feyereisen, 2015).

As CYPs são uma das famílias enzimáticas mais diversas, com muitas isoformas em *Aedes aegypti* que podem metabolizar uma ampla gama de substâncias xenobióticas. Isoformas específicas, como *CYP9J32*, *CYP9J28* e *CYP6M11*, estão associadas à metabolização da permetrina, demonstrando a alta especificidade dessas enzimas para os piretróides. Essa especificidade é crucial para a adaptação dos mosquitos, permitindo-lhes sobreviver em ambientes com alta pressão seletiva de inseticidas (Kasai *et al.*, 2014). O mecanismo de ação das CYPs envolve reações de monooxigenase, onde um átomo de oxigênio é incorporado na molécula da permetrina, convertendo-a em um metabólito mais polar. Este processo é facilitado pela estrutura tridimensional dos CYPs, que permite o ajuste fino da molécula de permetrina dentro do sítio ativo, facilitando as reações de oxidação

específicas. Estudos de *docking* molecular mostram que a permetrina se liga eficientemente ao sítio ativo de isoformas específicas de CYP, permitindo uma orientação ótima para a catálise das reações de oxidação (Bariami *et al.*, 2012).

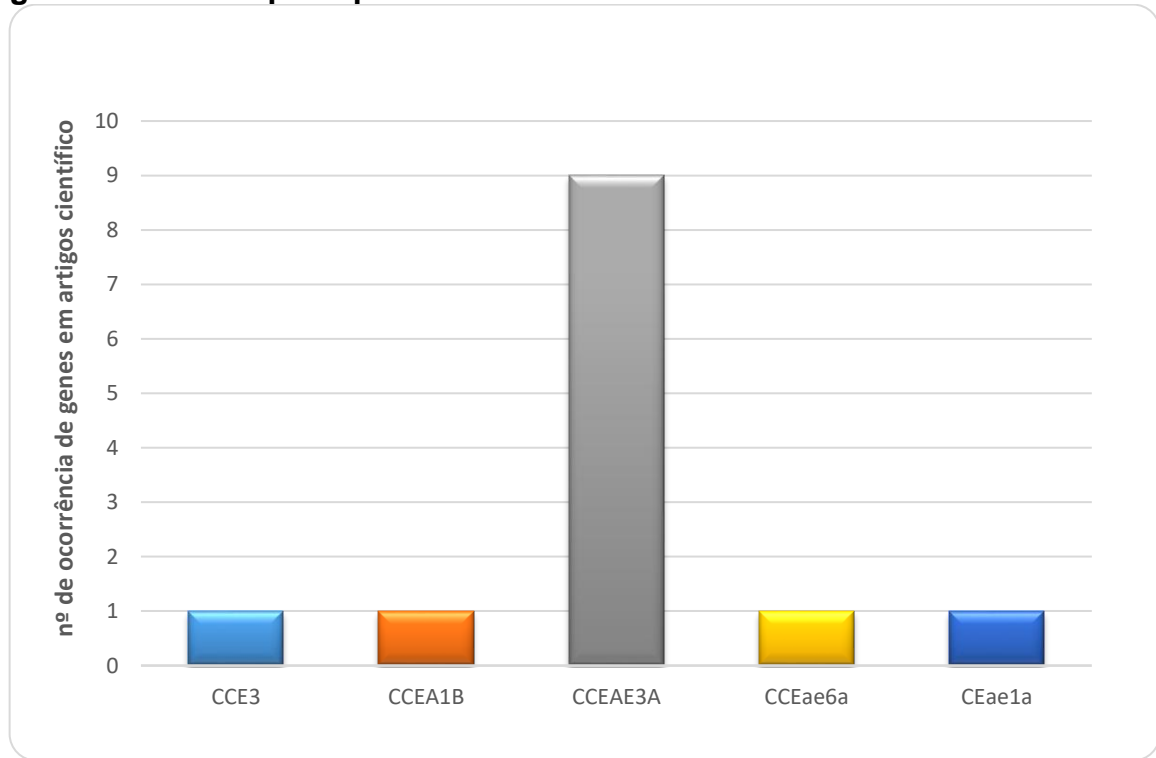
A pressão seletiva exercida pelo uso constante de piretróides promove a seleção de variantes de CYPs com maior eficiência catalítica para esses compostos. Isso resulta na superexpressão de CYPs específicos em populações resistentes, como observado em estudos de transcriptômica e proteômica. A exposição aos piretróides pode induzir a expressão de genes CYP através de vias regulatórias envolvendo receptores nucleares, como o receptor constitutivo de androstano (CAR) e o receptor de pregnano X (PXR) (Honkakoski e Negishi, 2000). O receptor constitutivo de androstano (CAR) é ativado pela presença de ligantes, como piretróides, ou outros sinais moleculares, levando à sua translocação para o núcleo celular, onde dimeriza com o receptor retinoide X (RXR). O complexo CAR-RXR então se liga a elementos de resposta a xenobióticos (XREs) no DNA, promovendo a expressão de genes CYP, como CYP2B6, que estão envolvidos na metabolização de piretróides (Li e Chiang, 2006). De forma similar, o receptor de pregnano X (PXR) é ativado por uma ampla gama de xenobióticos, incluindo piretróides, e também se transloca para o núcleo, onde forma heterodímeros com RXR. Este complexo se liga a elementos de resposta a xenosensores (PXREs) no DNA, estimulando a expressão de genes que codificam enzimas metabolizadoras de xenobióticos, como as isoformas de CYP3A (Waxman, 1999).

6.1.2 ESTERASES

Cinco genes principais das Esterases foram associados à resistência a inseticidas: *CCE3*, *CCEA1B*, *CCEAE3A*, *CCEae6a* e *CEae1a* (Figura 4), genes que codificam enzimas carboxilesterases são essenciais para a detoxificação de inseticidas, através da hidrólise de ésteres, conferindo resistência aos mosquitos. O gene *CCEAE3A* foi identificado como o de maior ocorrência, em nove estudos dos trinta analisados, deixando evidente a relação da superexpressão desse gene com o fenótipo de resistência a compostos organofosforados e carbamatos. Além disso, houve também a superexpressão de *CCE3*, a qual foi observada em populações de mosquitos resistentes a deltametrina, uma molécula de inseticida da classe dos piretróides, destacando seu papel também na metabolização de compostos

inseticidas de diferentes classes. Conforme a Tabela 1, a segunda classe de inseticidas que foi mais investigada foi a dos Organofosforados com 9 associações a genes da família das esterases.

Figura 4. Genes superexpressos da família das Esterases.



Fonte: elaborada pela autora

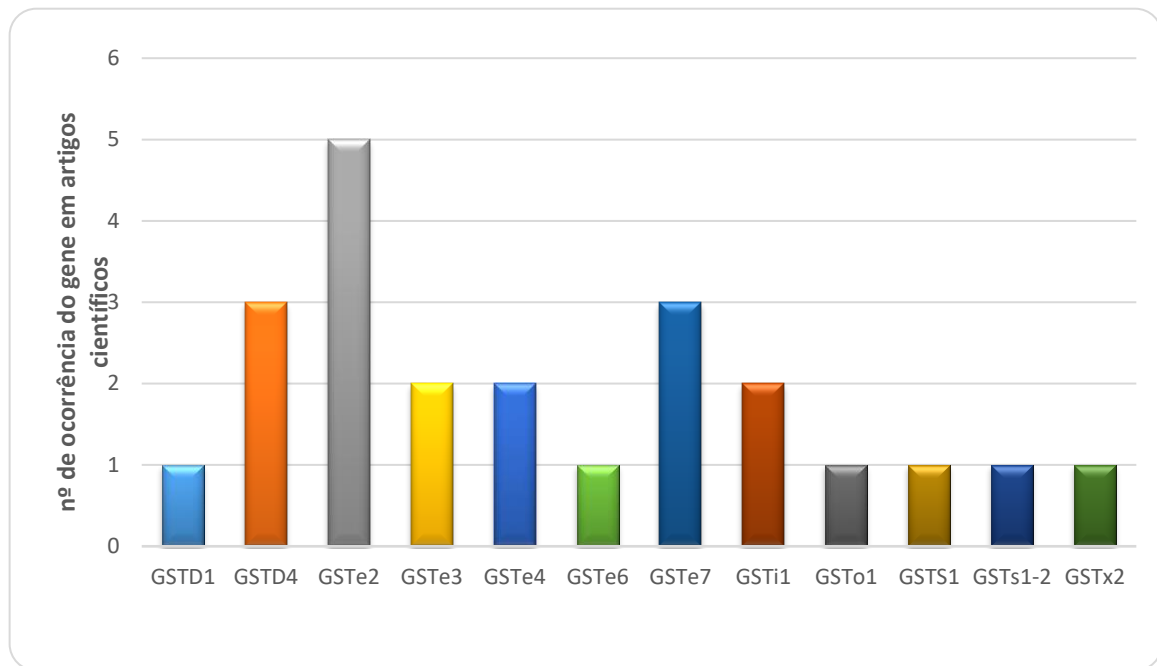
Genes da família das esterases, como *CCEAE3A* e *CCEAE6A*, já são associados entre resistência à *Aedes aegypti* para a molécula de temefós, um inseticida organofosforado. Dessa forma podemos comparar os resultados da Tabela 1, onde é possível perceber que genes dessa família enzimática foram mais associados a superexpressão e resistência metabólica com inseticidas dessa classe. (Grigoraki *et al.*, 2015, 2016; Poupardin *et al.*, 2014).

6.1.3 GLUTATIONA S-TRANSFERASES

Genes de glutathione S-transferase (GST) em *Aedes aegypti* desempenham um papel crucial na resistência a inseticidas (Helvecio, 2014). Identificamos 12 genes relacionados com a superexpressão associados à diferentes classes de

inseticidas (Figura 5). Além disso, como é possível observar na Tabela 1, estes genes estão mais associados nos artigos com a classe dos organofosforados, com um total de 17 associações de diferentes genes com moléculas de inseticidas desta classe. Apesar disso, diversos estudos associaram genes da família das GSTs a inseticidas das classes carbamatos (5 ocorrências), hidrocarbonetos (4 ocorrências), organoclorados (4 ocorrências), e piretróides (8 ocorrências).

Figura 5. Genes superexpressos da família das Glutathione S-transferases.



Fonte: elaborada pela autora

Entre os genes analisados, o *GSTe2* destaca-se como o mais frequentemente superexpresso, sendo mencionado em 5 artigos científicos. Os genes *GSTD4* e *GSTe7* também mostram uma alta prevalência de superexpressão, aparecendo em 3 artigos. Outros 3 genes, como *GSTe3*, *GSTe4* e *GSTi1* obtiveram 2 ocorrências cada um em artigos científicos. Diversos outros genes aparecem com menor frequência, sendo mencionados em apenas 1 artigo, sendo estes: *GSTD1*; *GSTe6*; *GSTo1*; *GSTs1*; *GSTs1-2*; *GSTx-2*. É possível perceber uma maior relação de associação da superexpressão desses genes com a classe de inseticidas organofosforados (Apêndice B e Tabela 1). Entretanto, pesquisas demonstram que *GSTe2* é especialmente eficaz na metabolização do DDT, contribuindo significativamente para a resistência observada. Além disso, *GSTD1* e *GSTD4* foram identificados como influentes na resistência a organofosforados e piretróides,

destacando a diversidade funcional das GSTs nesse contexto. Esses achados são consistentes com estudos que utilizam tecnologias avançadas como microarranjos e análises genômicas para mapear e entender os mecanismos moleculares subjacentes à resistência a inseticidas em mosquitos vetores de doenças como *Aedes aegypti* (David *et al.*, 2005; Lumjuan *et al.*, 2011; Riveron *et al.*, 2014).

A compreensão dos mecanismos de resistência pode orientar o desenvolvimento de novos inseticidas que visem diferentes vias metabólicas ou que sejam menos suscetíveis à detoxificação pelas enzimas superexpressas. Por exemplo, inseticidas que não são metabolizados pelas Citocromo P450 ou pelas Esterases poderiam ser mais eficazes contra populações resistentes (Bisset *et al.*, 2011). A variabilidade na superexpressão gênica pode refletir a diversidade genética das populações de mosquitos estudadas. Estudos de genética populacional poderiam revelar se a resistência está associada a mutações específicas ou a variações genéticas preexistentes que conferem uma vantagem seletiva em ambientes tratados com inseticidas (Liu, 2015).

Esta revisão evidencia a complexidade das interações entre mosquitos e inseticidas, demonstrando que a superexpressão de genes das famílias enzimáticas Glutathione S-Transferases, Esterases e Citocromos P450 é um fenômeno comum e adaptativo. A grande recorrência da superexpressão de genes em artigos, principalmente da família das Citocromo P450 relacionadas à resistência a inseticidas piretróides, indica o uso intensivo desse grupo de inseticidas. O *Aedes aegypti* desenvolve resistência por meio de mutações genéticas que levam à superexpressão de genes que codificam enzimas que atuam em diferentes etapas do metabolismo de xenobióticos, e tais alterações podem ser transmitidas aos seus descendentes, permitindo que a resistência se perpetue ao longo do tempo e até mesmo que ela se espalhe para diferentes populações do vetor. Esse cenário impõe a necessidade de entendimento desse e de outros mecanismos que causam resistência à inseticidas, inclusive resistência cruzada a compostos de diferentes classes, pois tais informações podem ser usadas para o desenvolvimento de estratégias mais eficazes de controle de mosquitos e manejo da resistência (Hemingway e Ranson, 2000; Vargas *et al.*, 2022).

7 CONCLUSÃO

Diferentes populações e linhagens desse vetor apresentam mecanismos de resistência metabólica a diferentes classes de compostos químicos utilizados como inseticidas. E como anteriormente levantado pela hipótese deste trabalho foi possível perceber e confirmar com a análise dos artigos científicos a superexpressão de genes principalmente das Citocromo P450, mas também a família das Glutathione S-transferases e as Esterases estão associados ao fenótipo de resistência a moléculas de diferentes classes de inseticidas. Genes dessas famílias enzimáticas, inclusive são capazes de conferir um fenótipo de resistência cruzada, ou seja, resistência a compostos de diferentes classes de inseticidas.

REFERÊNCIAS

- ABAD-FRANCH, F.; ZAMORA-PEREA, E.; FERRAZ, G.; PADILLA-TORRES, S. D.; LUZ, S. L. B. **Mosquito-disseminated piriproxifeno yields high breeding-site coverage and boosts juvenile mosquito mortality at the neighborhood scale.** PLoS Neglected Tropical Diseases, v. 9, n. 4, p. e0003702, 2015. doi.org/10.1371/journal.pntd.0003702.
- AL-KURAI SHY HM, AL-GAREEB AI, RAUF A, ALHUMAYDHI FA, KUJAWSKA M, EL-SABER BATIHA G. **Mechanistic Insight and Possible Mechanism of Seizure in Covid-19: The Nuances and Focal Points.** CNS Neurol Disord Drug Targets.: 2023;22(6):875-883. doi: 10.2174/1871527321666220517115227. PMID: 35585806.
- ARRESE, E. L., & SOULAGES, J. L. **Insect Fat Body: Energy, Metabolism, And Regulation.** Annual Review Of Entomology, 55(1), 207–225. 2010. doi:10.1146/annurev-ento-112408-085356
- BARIAMI, V., JONES, C. M., POUPARDIN, R., VONTAS, J., RANSON H. **Gene Amplification, ABC Transporters and Cytochrome P450s: Unraveling the Molecular Basis of Pyrethroid Resistance in the Dengue Vector, *Aedes aegypti*.** PLOS Neglected Tropical Diseases 6(6): e1692. 2012. doi.org/10.1371/journal.pntd.0001692
- BAXTER, S. W., BADENES-PÉREZ, F. R., MORRISON, A., VOGEL, H., CRICKMORE, N., KAIN, W., ... JIGGINS, C. D. (2011). **Parallel Evolution of *Bacillus thuringiensis* Toxin Resistance in Lepidoptera.** Genetics, 189(2), 675–679. 2011. doi:10.1534/genetics.111.130971
- BISSET J. A., RODRÍGUEZ M. M., RICARDO Y., RANSON H., PÉREZ O., MOYA M., VÁZQUEZ A. **Temephos resistance and esterase activity in the mosquito *Aedes aegypti* in Havana, Cuba increased dramatically between 2006 and 2008.** *Journal of Medical Entomology*. 2011 Sep;25(3):233-9. doi: 10.1111/j.1365-2915.2011.00959.x. Epub 2011 Apr 18. PMID: 21501201.
- BLACK, W. C.; BENNETT, K. E.; GORROCHÓTEGUI-ESCALANTE, N.; BARILLAS-MURY, C. V.; FERNÁNDEZ-SALAS, I.; MUÑOZ, M. L.. BEATY, B. J. **Flavivirus Susceptibility in *Aedes aegypti*.** Archives of Medical Research, 33(4):379-88. 2002. doi: 10.1016/s0188-4409(02)00373-9. PMID: 12234528.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D.. ***Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência.** Epidemiologia e Serviços de Saúde, Brasília, v. 16, n. 4, p. 179-293, 2007. doi.org/10.5123/S1679-49742007000400006.
- BUCKINGHAM SD, BIGGIN PC, SATTELLE BM, BROWN LA, SATTELLE DB. **Insect GABA receptors: splicing, editing, and targeting by antiparasitics and insecticides.** Mol Pharmacol. 2005 Oct;68(4):942-51. doi: 10.1124/mol.105.015313. Epub 2005 Jul 18. PMID: 16027231.

- CAMPOS, G. S.; BANDEIRA, A. C.; SARDI, S. I. **Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil.** *Emerging Infectious Diseases.* (10):1885-6. 2015. doi: 10.3201/eid2110.150847. PMID: 26401719; PMCID: PMC4593454.
- CAROLINO, A.T., PAULA, A.R., SILVA, C.P. *et al.* **Monitoring persistence of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* under simulated field conditions with the aim of controlling adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae).** *Parasites Vectors* **7**, 198 (2014). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-19>
- CHAVASSE D. C., YAP H. H. **Chemical methods for the control of vectors and pests of public health importance.** Geneva: WHO; 1997. WHO/CTD/WHOPES/97.2.
- CHEN A, ROGAN WJ. **Nonmalaria infant deaths and DDT use for malaria control.** *Emerging Infectious Diseases* 2003;9(8):960-964.
- CONSOLI, R.A.G.B.; OLIVEIRA, R. L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil.** Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1994. 228p.
- CORBEL V., N'GUESSAN R., BRENGUES C., CHANDRE F., DJOGBENOU L., MARTIN T., AKOGBÉTO M., HOUGARD J. M., ROWLAND M.. **Multiple insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* from Benin, West Africa.** *Acta Tropica.* 2007 Mar;101(3):207-16. doi: 10.1016/j.actatropica.2007.01.005. Epub 2007 Feb 12. PMID: 17359927.
- CORNMAN, R. S., & TREWITT, P. M. **Chitin synthase in the integument of the American cockroach, *Periplaneta americana*: RNAi-mediated gene silencing and inhibition by chitin synthase inhibitors.** *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 88, 68-79. 2017. doi:10.1016/j.ibmb.2017.07.008
- DAVID J. P., BOYER S., MESNEAU A., BALL A., RANSON H., DAUPHIN-VILLEMANT C. **Involvement of cytochrome P450 monooxygenases in the response of mosquito larvae to dietary plant xenobiotics.** *Insect Biochemistry and Molecular Biology.* 2006 May;36(5):410-20. doi: 10.1016/j.ibmb.2006.02.004. Epub 2006 Mar 6. PMID: 16651188.
- DAVID J. P., STRODE C., VONTAS J., NIKOU D., VAUGHAN A., PIGNATELLI P.M., LOUIS C., HEMINGWAY J., RANSON H. **The *Anopheles gambiae* detoxification chip: a highly specific microarray to study metabolic-based insecticide resistance in malaria vectors.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005 Mar 15;102(11):4080-4. doi: 10.1073/pnas.0409348102. Epub 2005 Mar 7. PMID: 15753317; PMCID: PMC554807.
- DAVIES T. G., FIELD L.M., USHERWOOD P.N., WILLIAMSON M.S. **DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels.** *IUBMB Life.* 2007 Mar;59(3):151-62. doi: 10.1080/15216540701352042. PMID: 17487686.
- DEVINE, G. J.; PEREA, Z. E.; KILLEEN, G. F.; STANCIL, J. D.; CLARK, S. J.; MORRISON, A. C. **Using adult mosquitoes to transfer insecticides to *Aedes aegypti* larval habitats.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*,

Washington, 2009 Jul 14;106(28):11530-4. doi: 10.1073/pnas.0901369106. Epub 2009 Jun 26. PMID: 19561295; PMCID: PMC2702255.

DIEL, C.; FACCHINI, L. A.; e DALL'AGNOL, M. M. **Inseticidas domésticos: padrão de uso segundo a renda per capita.** Revista de Saúde Pública; 37. 2003.

DONG K. **Insect sodium channels and insecticide resistance.** Invertebrate Neuroscience. 2007 Mar;7(1):17-30. doi: 10.1007/s10158-006-0036-9. Epub 2007 Jan 6. PMID: 17206406; PMCID: PMC3052376.

DONNELLY M. J., ISAACS A. T., WEETMAN D. **Identification, Validation, and Application of Molecular Diagnostics for Insecticide Resistance in Malaria Vectors.** Trends in Parasitology. 2016 Mar;32(3):197-206. doi: 10.1016/j.pt.2015.12.001. Epub 2015 Dec 29. PMID: 26750864; PMCID: PMC4767538.

FERRER A. **Pesticide poisoning.** Anales del Sistema Sanitario de Navarra 2003;26(1):155-171.

FEYEREISEN R. **Insect P450 inhibitors and insecticides: challenges and opportunities.** *Pest Management Science* 2015 Jun;71(6):793-800. doi: 10.1002/ps.3895. Epub 2014 Nov 17. PMID: 25404103.

GARSKE T., VAN KERKHOVE M. D., YACTAYO S., RONVEAUX O., LEWIS R.F., STAPLES J.E., PEREA W., FERGUSON N. M.; **Yellow Fever in Africa: estimating the burden of disease and impact of mass vaccination from outbreak and serological data.** PLoS Medicine. 2014 May 6;11(5):e1001638. doi: 10.1371/journal.pmed.1001638. PMID: 24800812; PMCID: PMC4011853.

GRIGORAKI L., BALABANIDOU V., MERISTOUDIS C., MYRIDAKIS A., RANSON H., SWEVERS L., VONTAS J. **Functional and immunohistochemical characterization of CCEae3a, a carboxylesterase associated with temephos resistance in the major arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*.** Insect Biochem Mol Biol. 2017 Jun;85:32. doi: 10.1016/j.ibmb.2017.05.003. Miridakis, Antonis [corrected to Myridakis, Antonis]. PMID: 27180726.

GRIGORAKI L., LAGNEL J., KIOULOS I., KAMPOURAKI A., MOROU E., LABBÉ P., WEILL M., VONTAS J. **Transcriptome Profiling and Genetic Study Reveal Amplified Carboxylesterase Genes Implicated in Temephos Resistance, in the Asian Tiger Mosquito *Aedes albopictus*.** PLoS Negl Trop Dis. 2015 May 22;9(5):e0003771. doi: 10.1371/journal.pntd.0003771. PMID: 26000638; PMCID: PMC4441504.

GUENGERICH F. P. **Cytochrome P450 and chemical toxicology.** Chemical Research in Toxicology. 2008 Jan;21(1):70-83. doi: 10.1021/tx700079z. Epub 2007 Dec 6. PMID: 18052394.

HAYES J. D., FLANAGAN J. U., JOWSEY I. R. **Glutathione transferases.** Annual Review of Pharmacology and Toxicology. 2005;45:51-88. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095857. PMID: 15822171.

HELVECIO, Elisama. **Caracterização funcional do gene da Glutathione-S-Transferase Epsilon 2 (GSTE2) em *Aedes aegypti***. 2014. 74 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Biociências e Biotecnologia em Saúde) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2014.

HEMINGWAY, J.; RANSON, H. **Insecticide resistance in insect vectors of human disease**. Annual Review of Entomology; 45:371-391. 2000.

HONKAKOSKI P, NEGISHI M. **Regulation of cytochrome P450 (CYP) genes by nuclear receptors**. Biochemical Journal. 2000 Apr 15;347(Pt 2):321-37. doi: 10.1042/0264-6021:3470321. PMID: 10749660; PMCID: PMC1220963.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; FÁTIMA, Â. **Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos**. Química Nova, v. 31, n. 5, 2008.

KANGSHENG, M.; QIULING, T.; PINGZHUO, L.; JIANHONG, L.; XIWU, G. **UDP-Glycosyltransferases from the UGT344 Family Are Involved in Sulfoxaflor Resistance in *Aphis gossypii*** Glover. *Insects* v. 12 (4): 356, 2021; <https://doi.org/10.3390/insects12040356>

KASAI S., KOMAGATA O., ITOKAWA K., SHONO T., NG L.C., KOBAYASHI M., TOMITA T. **Mechanisms of pyrethroid resistance in the dengue mosquito vector, *Aedes aegypti*: target site insensitivity, penetration, and metabolism**. PLoS Negl Trop Dis. 2014 Jun 19;8(6):e2948. doi: 10.1371/journal.pntd.0002948. PMID: 24945250; PMCID: PMC4063723.

LI X, SCHULER MA, BERENBAUM MR. **Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics**. Annu Rev Entomol. 2007;52:231-53. doi: 10.1146/annurev.ento.51.110104.151104. PMID: 16925478.

LI, T., & CHIANG, J. Y. L. **Mechanism of rifampicin and pregnane X receptor inhibition of human cholesterol 7 α -hydroxylase gene transcription**. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 2006. 291(3), G414-G418.

LIU, Nannan.. **Insecticide resistance in mosquitoes: impact, mechanisms and research directions**. Annual Review of Entomology, 60: 537-559, 2015.

LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, Ricardo. **Rio de Janeiro against *Aedes aegypti*: yellow fever in 1908 and dengue in 2008** - Editorial. Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz, 103(7), 627–628, 2008.

LUMJUAN, N., RAJATILEKA, S., CHANGSOM, D., WICHEER, J., LEELAPAT, P., PRAPANTHADARA, L. A., SOMBOON, P., RANSON, H., & OAKESHOTT, J. G. **The role of the *Aedes aegypti* epsilon glutathione transferases in conferring resistance to DDT and pyrethroid insecticides**. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2011. 41(3), 203-209. DOI: 10.1016/j.ibmb.2010.12.005

MUSTAFA M. S., RASOTGI V., JAIN S., GUPTA V. **Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control.** Med J Armed Forces India. 2015 Jan;71(1):67-70. doi: 10.1016/j.mjafi.2014.09.011. Epub 2014 Nov 24. PMID: 25609867; PMCID: PMC4297835

MCBRIDE, C. S., BAIER, F., OMONDI, A. B., SPITZER, S. A., LUTOMIAH, J., SANG, R., Vosshall, L. B. (2014). **Evolution of mosquito preference for humans linked to an odorant receptor.** Nature, 515(7526), 222–227, 2014

MELNIKOV, N. N. **Chemistry of Pesticides.** Berlin: Springer, 1971.

NEBERT DW, RUSSELL DW. **Clinical importance of the cytochromes P450.** Lancet. 2002 Oct 12;360(9340):1155-62. doi: 10.1016/S0140-6736(02)11203-7. PMID: 12387968.

RATRA GS, CASIDA JE. **GABA receptor subunit composition relative to insecticide potency and selectivity.** Toxicol Lett. 2001 Jul 6;122(3):215-22. doi: 10.1016/s0378-4274(01)00366-6. PMID: 11489356.

VARGAS, L. D. L., FERREIRA, S. M. B., SOUZA, M. D., SILVA, C. A. L. DA, & SHIMOYA-BITTENCOURT, W. **Resistência das populações de Aedes (Stegomyia) aegypti (Linnaeus, 1762) (Insecta, Diptera, Culicidae) aos inseticidas utilizados para o controle: estado da arte do conhecimento.** Revista De Ciências Médicas E Biológicas, 2022. 21(1), 98–116. <https://doi.org/10.9771/cmbio.v21i1.44458>

VOSGERAU, Dilmeire Sant'anna Ramos; ROMANOWSKI, Joana Paulin. **Estudos de revisão: implicações conceituais e metodológicas.** Revista Diálogo Educacional, v. 14, n. 474, 2014.

WALISZEWSKI S. M., GOMEZ-ARROYO S., INFANZON R. M., VILLALOBOS-PIETRINI R., HART M.M. **Comparison of organochlorine pesticide levels between abdominal and breast adipose tissue.** Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 2003 Jul;71(1):156-62. doi: 10.1007/s00128-003-0143-9. PMID: 12945856.

WAXMAN D. J. **P450 gene induction by structurally diverse xenochemicals: central role of nuclear receptors CAR, PXR, and PPAR.** Archives of Biochemistry and Biophysics. 1999 Sep 1;369(1):11-23. doi: 10.1006/abbi.1999.1351. PMID: 10462436.

WERCK-REICHHART, D., FEYEREISEN, R. **Cytochromes P450: a success story.** Genome Biol 1, reviews3003.1 2000. doi.org/10.1186/gb-2000-1-6-reviews3003

WERMELINGER E. D., FERREIRA A. P., CARVALHO R. W. de, SILVA A. A. da, BENIGNO C. V. **Aedes aegypti eggs oviposited on water surface collected from field ovitraps in Nova Iguaçu City, Brazil.** Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical, 2015 Nov;48 (6):770–2.

World Health Organization (19 July 2023). Disease Outbreak News; Dengue in the Region of the Americas

World Health Organization. Expert Committee on Insecticides & World Health Organization. **Resistencia a los insecticidas y lucha contra los vectores: 17 informe del Comité de Expertos de la OMS en Insecticidas.** 1970.

World Health Organization. Vector Control for Malaria and other Mosquito-Borne Diseases Report of a WHO Study Group. Geneva: WHO; 1995. WHO TRS no 857.

YIN, X.-H., WU, Q.-J., ZHANG, Y.-J., LONG, Y.-H., WU, X.-M., LI, R.-Y., JIAO, X.-G. **Analysis of persistent changes to γ -aminobutyric acid receptor gene expression in *Plutella xylostella* subjected to sublethal amounts of spinosad.** Genetics and Molecular Research, 15(3). 2016. doi:10.4238/gmr.15038782

APÊNDICE A – TÍTULOS E AUTORES DOS ARTIGOS QUE FORAM LIDOS NA ÍNTEGRA PARA A COLETA DE DADOS

Numeração	Título do artigo	Autor/ano
1	Allelic variants of cytochrome P450 monooxygenases: Constitutive and insecticide-mediated expression in a Malaysian strain of the dengue vector, <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae)	El-Garj <i>et al.</i> 2016
2	Assessing cross-resistance within the pyrethroids in terms of their interactions with key cytochrome P450 enzymes and resistance in vector populations	Moyes <i>et al.</i> 2021
3	Association of age, sex, and pyrethroid resistance status on survival and cytochrome P450 gene expression in <i>Aedes aegypti</i> (L.)	Rault <i>et al.</i> 2019
4	Cross-induction of detoxification genes by environmental xenobiotics and insecticides in the mosquito <i>Aedes aegypti</i> : Impact on larval tolerance to chemical insecticides	Poupardin <i>et al.</i> , 2008
5	CYP-mediated permethrin resistance in <i>Aedes aegypti</i> and evidence for trans-regulation	Smith <i>et al.</i> 2018
6	Elevated activity of an Epsilon class glutathione transferase confers DDT resistance in the dengue vector, <i>Aedes aegypti</i>	Lumjuan <i>et al.</i> 2005
7	Xenobiotic-induced expression of detoxification genes, CYP4H28v2 and CYP4H31v2 in the dengue mosquito <i>Aedes aegypti</i>	El-Garj <i>et al.</i> 2016
8	Transcription profiling of eleven cytochrome P450s potentially involved in xenobiotic metabolism in the mosquito <i>Aedes aegypti</i>	Poupardin <i>et al.</i> 2010
9	Temephos Resistance in <i>Aedes aegypti</i> in Colombia Compromises Dengue Vector Control	Grisales <i>et al.</i> 2013
10	Resistance Status and Resistance Mechanisms in a Strain of <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) From Puerto Rico	Estep <i>et al.</i> 2017
11	Deltamethrin Resistance Mechanisms in <i>Aedes aegypti</i> Populations from Three French Overseas Territories Worldwide	Dusfour <i>et al.</i> 2015
12	Pyrethroid Resistance in Malaysian Populations of Dengue Vector <i>Aedes aegypti</i> Is Mediated by CYP9 Family of Cytochrome P450 Genes	Ishak <i>et al.</i> 2017
13	Molecular mechanisms associated with increased tolerance to the neonicotinoid insecticide imidacloprid in the dengue vector <i>Aedes aegypti</i>	Riaz <i>et al.</i> 2013
14	Differential transcription profiles in <i>Aedes aegypti</i> detoxification genes after temephos selection.	Saavedra-Rodriguez <i>et al.</i> 2014
15	Distribution of insecticide resistance and mechanisms involved in the arbovirus vector <i>Aedes aegypti</i> in Laos and implication for vector control.	Marcombe <i>et al.</i> 2019

Numeração	Título do artigo	Autor/ano
16	Exploring the molecular basis of insecticide resistance in the dengue vector <i>Aedes aegypti</i> : a case study in Martinique Island (French West Indies).	Marcombe <i>et al.</i> 2009
17	Expression profile of genes during resistance reversal in a temephos selected strain of the dengue vector, <i>Aedes aegypti</i> .	Strode <i>et al.</i> 2012
18	Gene amplification, ABC transporters and cytochrome P450s: unraveling the molecular basis of pyrethroid resistance in the dengue vector, <i>Aedes aegypti</i> .	Bariami <i>et al.</i> 2012
19	Identification of carboxylesterase genes implicated in temephos resistance in the dengue vector <i>Aedes aegypti</i> .	Poupardin <i>et al.</i> 2014
20	Insecticide resistance and underlying targets-site and metabolic mechanisms in <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> from Lahore, Pakistan.	Rahman <i>et al.</i> 2021
21	Insecticide resistance is mediated by multiple mechanisms in recently introduced <i>Aedes aegypti</i> from Madeira Island (Portugal).	Seixas <i>et al.</i> 2017
22	Analyses of insecticide resistance genes in <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> mosquito populations from Cameroon	Djiappi-Tchamen <i>et al.</i> 2021
23	Deltamethrin Resistance Mechanisms in <i>Aedes aegypti</i> Populations from Three French Overseas Territories Worldwide	Dusfour <i>et al.</i> 2015
24	Spatial distribution of insecticide resistant populations of <i>Aedes aegypti</i> and <i>Ae. albopictus</i> and first detection of V410L mutation in <i>Ae. aegypti</i> from Cameroon	Montgomery <i>et al.</i> 2022
25	Insecticide resistance levels and mechanisms in <i>Aedes aegypti</i> populations in and around Ouagadougou, Burkina Faso.	Badolo <i>et al.</i> 2019
26	Insecticide resistance status and mechanisms in <i>Aedes aegypti</i> populations from senegal	Sene <i>et al.</i> 2021
27	Levels of insecticide resistance to deltamethrin, malathion, and temephos, and associated mechanisms in <i>Aedes aegypti</i> mosquitoes from the Guadeloupe and Saint Martin islands (French West Indies)	Goindin <i>et al.</i> 2017
28	Mechanisms of Pyrethroid Resistance in the Dengue Mosquito Vector, <i>Aedes aegypti</i> : Target Site Insensitivity, Penetration, and Metabolism	Kasai <i>et al.</i> 2014
29	Molecular bases of P450-mediated resistance to the neonicotinoid insecticide imidacloprid in the mosquito <i>Ae. Aegypti</i>	Zoh <i>et al.</i> 2021
30	Impact of glyphosate and benzo[a]pyrene on the tolerance of mosquito larvae to chemical insecticides. Role of detoxification genes in response to xenobiotics.	Riaz <i>et al.</i> 2009

APÊNDICE B – DADOS QUE FORAM EXTRAÍDOS DOS ARTIGOS SELECIONADOS

Número de referência ao artigo no qual foram extraídos os dados	Nome do gene superexpresso	Família enzimática	Molécula de inseticida	Classe a qual pertence o inseticida
1	CYP4H28v2, CYP4H31v2	Citocromo P450	Deltametrina, Permetrina, DDT	Piretróides, Organoclorados
2	CYP9J28, CYP9M9, CYP9J32, CYP6BB2	Citocromo P450	Deltametrina e Permetrina	Piretróides
3	CYP9J10, CYP9J19, CYP9J28	Citocromo P450	Deltametrina e Permetrina	Piretróides
4	CYP6M11, CYP6Z6, CYP6P12, CYP6BB2, CYP9J28, CYP9M5, GSTX2, CCEae3A	Citocromo P450, Glutaciona S-transferase, Esterase	Permetrina, Temefós, Atrazine, Fluoranteno, Cobre	Piretróides, Organofosforados, Triazina, Hidrocarbonetos, metal
5	CYP9J32, CYP9J24, CYP9J28, CYP9J26	Citocromo P450	Permetrina	Piretróides
6	GSTe2	Glutaciona S-transferase	DDT, Permetrina	Organoclorados, Piretróides
7	CYP4H28v2, CYP4H31v2	Citocromo P450	Permetrina, DDT, Malatião	Piretróides, Organoclorados
8	CYP6M11, CYP6N12, CYP6AL1, CYP6Z8, CYP6Z9, CYP6M6, CYP9M9	Citocromo P450	Permetrina	Piretróides
9	CYP6M11, CYP6N12, CYP6F3	Citocromo P450	Temefós	Organofosforados
10	CYP4G35, CYP4J15v1, CYP6CA1, CYP6CB1, CYP6N12, CYP9J23, CYP9J27, CYP9J9, CYP12F6, CYP15B1	Citocromo P450	Permetrina	Piretróides
11	CYP12F7, CYP9J10, CYP9J27, CYP6BB2, CYP9J28	Citocromo P450	Deltametrina	Piretróides
12	CYP9M7, CYP9J28, CYP18A1, CYP9M6	Citocromo P450	Permetrina, Deltametrina, DDT, Bendiocarbe, malatião, dieldrin	Piretróides, Organofosforados, Organoclorados e Carbamatos
	CCEA1B	Esterase		
	GSTS1, GSTe2	glutaciona S-transferases		

Número de referência ao artigo no qual foram extraídos os dados	Nome do gene superexpresso	Família enzimática	Molécula de inseticida	Classe a qual pertence o inseticida
13	CYP4D24, CYP6Z8, CYP325S3, CYP6N9, CYP6BB2, CYP9M9	Citocromo P450	Imidacloprida	Neonicotinóides
14	CYP9M9, CYP9J32	Citocromo P450	Temefós	Organofosforados
	GSTe2, GSTe3, GSTe4, GSTe6, GSTe7	glutaciona S-transferases	Temefós	Organofosforados
15	CCEAE3A	Esterase	Malatão	Organofosforados
	CYP6BB2 e CYP6P12	Citocromo P450	Permetrina, Deltametrina	Piretróides
16	CCEae3A	Esterase	Temefós	Organofosforados
	CYP6Z6, CYP6M11, CYP6M6, CYP9J22 e CYP9J23	Citocromo P450	Deltametrina	Piretróides
	GSTe7	glutaciona S-transferases		
17	CYP6N12, CYP9J32, CYP9J24, CYP9J10	Citocromo P450	Temefós	Organofosforados
	GSTe2, GSTe3, GSTi1, GSTo1, GSTx2,	glutaciona S-transferases		
	CCEae3A	Esterase		
18	CYP6BB2, CYP9J19, CYP9J10, CYP9J26, CYP9J27, CYP9J28	Citocromo P450	Permetrina, Deltametrina, Ciflutrina	Piretróides
19	CCEae3a, CCEae6a	Esterase	Temefós	Organofosforados
20	CCEAe3a	Esterase	Temefós	Organofosforados
	CYP9J28, CYP9M6, CYP9J10, CYP6BB2	Citocromo P450	Permetrina e Deltametrina	Piretróides
21	GSTd4, GSTd1	glutaciona S-transferases	Bendiocarbe, Ciflutrina, Permetrina, Fenitrotiona	Carbamatos, Piretróides, Organofosforado
	CCEae3a,	Esterase		
	Cyp9J32, Cyp9J28, Cyp6BB2, Cyp9J27, Cyp9M5, Cyp9M6, Cyp6N12, Cyp6M9	Citocromo P450		

Número de referência ao artigo no qual foram extraídos os dados	Nome do gene superexpresso	Família enzimática	Molécula de inseticida	Classe a qual pertence o inseticida
22	GSTD4	glutaciona S-transferases	Permetrina, Deltametrina, Bendiocarbe e DDT	Piretróides, Carbamatos, Organofosforados
	Cyp9J28, Cyp9M6, Cyp9J32	Citocromo P450		
23	CYP6BB2, CYP6M11, CYP6N12, CYP9J9v1, CYP9J9v2, CYP9J10, CYP305A6, CYP9J7	Citocromo P450	Deltametrina	Piretróides
	CCE3	Esterase		
24	Cyp9M6F88, Cyp9M6F87 e Cyp9J10	Citocromo P450	Permetrina, Deltametrina	Piretróides
	Cyp6P12		Deltametrina	
25	Cyp9J10, Cyp9J28, Cyp9M6, Cyp9J32, Cyp9J26, Cyp6BB2, Cyp6Z8	Citocromo P450	Permetrina, Deltametrina, Bendiocarbe	Piretróides, Carbamatos
26	CYP6BB2, CYP9J32, CYP9J26, CYP9J28, CYP9M6	Citocromo P450	alfa-cipermetrina, lambda-cialotrina, Permetrina, Deltametrina,	Piretróides
	CCEae3a	Esterase	Propoxur, malatião, Bendiocarbe, Pirimifós Metílico, fenitrotiona	organofosfatos e Carbamatos
	GSTD4	glutaciona S-transferases	Permetrina, Deltametrina	Piretróides, Organoclorados
27	GSTE2	glutaciona S-transferases	Malatião, Temefós	Organofosforados
	CYP9J23, CYP6M11, CYP6BB2	Citocromo P450		
	CCEAE3A	Esterase		
28	CYP9M5, CYP6Z8, CYP6M6, CYP6BB2, CYP6F3, CYP6N12, CYP9J28, CYP9J26, CYP9J27v2, CYP927v1, CYP6Z6, CYP9J10v2	Citocromo P450	Permetrina	Piretróides
29	CYP6BB2, CYP6M11, CYP9M9, CYP4C52v1, CYP4D42v2, CYP9M5, CYP9M6, CYP9J20, CYP9J23, CYP9J26, CYP9J27, CYP325A1 e CYP306A1.	Citocromo P450	imidacloprida	neonicotinóides
	CEae1a, CCEae3a	Esterase		

Número de referência ao artigo no qual foram extraídos os dados	Nome do gene superexpresso	Família enzimática	Molécula de inseticida	Classe a qual pertence o inseticida
30	CYP6N11, CYP6N12, CYP6Z6, CYP6AG7, CYP325AA1	Citocromo P450	Glifosato	Organofosforados
	CYP6Z6, CYP6Z8, CYP9M5		Benzo[a]pireno	Hidrocarbonetos
	GSTi1, GSTs1-2	glutathione S-transferase	Glifosato	Organofosforados
	GSTe4, AaGSTe7, GSTi1, GSTs1-2			