دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیستم، شماره ۳، صفحه ۳۰۰ - ۲۸۷ (مرداد و شهریور ۱۳۹۶)

Iran South Med J 2017;20(3): 287-300

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 14:15 +0330 on Monday October 9th 2017

فعالیت فسفولیپازی A2 زهر عروس دریایی واژگون خلیج‌فارس (*Cassiopea andromeda*)

غلامحسین محبی [۱]، حسین وطن‌پور [۲]، امیر وزیری‌زاده [۳]، عمار مریم‌آبادی [۴]، علیرضا حسنی‌نژاد [۴]، صمد اکبرزاده [۱]، مریم فرخ نیا [۱]، افشار بارگاهی [۱]، ایرج نبی‌پور [۱*]

[۱] مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی پزشکی خلیج‌فارس، پژوهشکدهٔ علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
[۲] گروه فارماکولوژی و توکسیکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
[۳] گروه زیست شناسی دریا و شیلات، پژوهشکده خلیج‌فارس، دانشگاه خلیج‌فارس، بوشهر، ایران
[۴] گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۹۵/۱۲/۱۰- پذیرش مقاله: ۹۶/۳/۱۵)

چکیده

زمینه: عروس دریایی زهرآگین کاسیوپیا آندرومدا (***Cassiopea andromeda***) با نماتوسیت‌های خود می‌تواند آسیبها و اثرات توکسیکولوژیک و بیولوژیک مختلفی را ایجاد نماید. آنزیم های فسفولیپاز A2 (**PLA2**) توکسیک بوده و موجب القاء اثرات فارماکولوژیک متنوع شامل نوروتوکسیسیتی، میوتوکسیسیتی و فعالیتهای ضد انعقادی می‌گردند. مطالعه حاضر با هدف بررسی فعالیت فسفولیپاز A2 زهر خام ***C. andromeda*** در شرایط **in vitro** صورت پذیرفت. برای درک بهتر نتایج تجربی، یک مطالعه داکینگ مولکولی نیز انجام گردید.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های زنده با استفاده از تور ترال از خلیج نایبند، جمع‌آوری و جداسازی تانتاکول‌ها، بر اساس روش بلوم و همکاران انجام گردید. فعالیت **PLA2** زهر خام بر اساس روش اسیدیمتری تان و تان مورد بررسی قرار گرفت. زهر لیوفیلیزه، مورد مطالعه کروماتوگرافی گازی / طیف‌سنجی جرمی قرار گرفت و ساختارهای منتج، در مطالعه داکینگ برابر **PLA2** مورد استفاده قرار گرفت. از ایندوکسام نیز به عنوان کنترل استاندارد استفاده شد.

یافته‌ها: فعالیت **PLA2** در زهر عروس دریایی واژگون خلیج فارس، برابر ۰/۰۸±۴۱۳ میکرومول/ دقیقه/ میلی‌گرم بود. آنالیز زهر خام با استفاده از **GC-MS**، هفت ترکیب (**I-VII**)، را شناسایی نمود. داده‌های داکینگ نشانگر وجود فعالیت مهاری **PLA2**، در هر هفت ترکیب بود و بالاترین افینیتی (۶/۷- کیلوکالری/مول) مربوط به ترکیب "پرگن-۵- ان، ۱۱- دیون، ۱۷، ۲۰: ۲۰، ۲۱ بیس [متیلن بیس (اکسی)]-، سیکلیک ۳- (۱، ۲- اتان دیل استات" بود.

نتیجه‌گیری: سطح بالایی از فسفولیپاز **A2** در زهر کاسیوپیا آندرومدا یافت گردید. بین مطالعات **in vitro** و **in silico** همبستگی مطلوبی وجود داشت.

واژگان کلیدی: کاسیوپیا آندرومدا، زهر خام، فسفولیپاز A2، خلیج‌فارس

* بوشهر، مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی پزشکی خلیج‌فارس، پژوهشکدهٔ علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
Email: inabipour@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 14:15 +0330 on Monday October 9th 2017

مقدمه

عروس دریایی متعلق به شاخه سنیداریاها بوده و در حال حاضر از حدود ده هزار گونه سنیداریای شناخته شده، تقریباً ۱۰۰ گونه آن برای انسان، زهری هستند (۱). این جانوران زهرآگین، به طور گسترده‌ای در سراسر جهان توزیع شده و موجب بروز حداقل ۱۵۰ میلیون مسمومیت سالانه در سراسر جهان گشته‌اند (۲ و ۳). تخمین زده شده است که در ایالات متحده، حدود پانصد هزار گزش عروس‌های دریایی در خلیج چساپیک و تا دویست هزار گزش در آب‌های فلوریدا در سال رخ داده شده باشد (۴). انجمن مراکز کنترل مسمومیت آمریکا تعداد ۳۵۴ گزش ناشی از عروس‌های دریایی در سال ۲۰۱۳ را گزارش داده است (۵). از جمله گزش‌های شدید عروس‌های دریایی، بروز عظیمی است که در سواحل شرق استرالیا در سال ۲۰۰۶ روی داد که در آن بیش از سی هزار نفر توسط عروس دریایی آبی نیش زده شده بودند (۸-۶). به تنهایی حداقل ۶۷ مورد مرگ، در منطقه هند و اقیانوس آرام به عروس دریایی جعبه‌ای نسبت داده شده است (۵).

بازوهای عروس دریایی (تانتاکل‌ها)، دارای سلول‌های اپیدرمیک تخصصی، به نام سنیدوسیت هستند که شامل سه گروه از اندامک‌ها به نام سنیدوسیست می‌باشند. نماتوسیست‌ها (یکی از سه گروه سنیدوسیست‌ها)، کپسول‌های خالی حاوی یک فنر بهم پیچیده و پوشش غوطه‌ور در زهر سنیداریان‌ها هستند. تانتاکل‌ها حاوی چند هزار تا چند میلیارد نماتوسیست می‌باشند (۱ و ۶). نماتوسیست‌ها که در کسری از ثانیه تخلیه می‌گردند یکی از سریع‌ترین رویدادهای مکانیکی تخلیه در طبیعت محسوب می‌گردند (۹).

نماتوسیست‌ها حتی می‌توانند در هنگام و یا پس از مرگ ارگانیسم نیز تخلیه گردند، اگر چه سرعت آنها پس از مرگ کاهش می‌یابد (۲ و ۱۰).

حتی گزش عروس‌های دریایی غیر کشنده نیز می‌تواند بسیار دردناک باشد (۱۱). آسیب‌ها عمدتاً موجب واکنش‌های پوستی همچون درد و خارش می‌گردند. با این حال، علائم سیستمیک از جمله اختلالات قلبی و عصبی نیز می‌توانند در اثر ورود زهر به سیستم گردش خون پدید آیند. چنین واکنش‌های جدی که گاهی اوقات می‌تواند مرگبار باشند اغلب می‌توانند پیامدهای گزش توسط عروس‌های دریایی زهرآگینی چون گونه *Chironex fleckeri* استرالیایی باشند. با این حال، اگر چه مرگ نادر است، گزش در برخی گونه‌های اروپایی از جمله *Cyanea capillata* و *Physalia physalis* می‌تواند با پاسخ‌های آلرژیک و یا نگرانی‌های بهداشتی توأم شود (۱، ۳ و ۱۲).

واکنش به زهر می‌تواند به طور مستقیم از طریق عمل زهر و یا به طور غیرمستقیم به‌واسطه یک پاسخ ایمنی هومورال (B-cell) و یا با واسطه سلول‌های تی (T-cell) صورت گیرد (۱، ۳ و ۱۳). ثابت شده است که عواملی نظیر فلزات سنگین بر واکنش تخلیه نماتوسیست‌ها و فعالیت بیولوژیکی زهر خام مؤثر هستند (۱۴). بنابراین، وجود این جانداران در مناطقی با آلودگی‌های خاص، تنوع در شدت زهر آنها را توصیف می‌کند (۳).

کاسیوپیا (*Cassiopeia*) را "عروس دریایی واژگون" گویند چرا که این عروس ساکن آب‌های کم عمق، آرام و روشن نواحی گرمسیری، در سطح شن و ماسه‌های نرم به‌صورت واژگون می‌نشیند. همانند سایر عروس‌های دریایی، کاسیوپیا، سلول‌های زهری یا

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 14:15 +0330 on Monday October 9th 2017

نماتوسیست‌ها (nematocysts) را در اپیدرم‌ها و گاسترودرم‌های خود دارد که آن را جهت محافظت و صید غذا به‌کار می‌برد. یک گزش کاسیوپیا ممکن است تاول‌های پوستی، قرمزی پوست، خارش، تهوع و دردهای اسکلتی، بسته به حساسیت افراد به توکسین‌های نماتوسیست ایجاد نماید (۱۵).

کاسیوپیا آندرومدا (*Cassiopea andromeda*) یک گونه از عروس‌های دریایی واژگون بوده که نماتوسیست‌های آن مورد بررسی قرار گرفته است.

تحقیقات در مورد این گونه بسیار محدود است. زهر خام آن در دوز ۰/۲۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم پروتئین موجب مرگ در موش و ۵۰ میکروگرم پروتئین پس از تزریق به پوست موش، موجب نفوذپذیری رگی و ایجاد نکروز پوستی آن گردیده است. علاوه بر این، نشان داده شده است که زهر خام آن، دارای فعالیت فسفولیپاز A2 و القاء لیز لنفوسیت موشی می‌باشد. دوز یک میکروگرم پروتئین آن، موجب لیز ۵۰ درصد اریتروسیت‌های انسانی گشته است (۱۶).

کاسیوپیا آندرومدا زهر بسیار قوی و سریع‌الاثری را تولید می‌کند که برای انسان بسیار مضر و برای قربانیان خود کشنده می‌باشد (۱۷). حداقل، بخشی از زهر آنها دارای طبیعت پپتیدی و پروتئینی است. پیش از این، نشان داده شده بود که زهرکاسیوپیای مورد مطالعه ما دارای خواص همولیتیک بوده (۱۸) و زهرکاسیوپیای تایلندی دارای خواص همولیتیک و پروتئولیتیک می‌باشد (۱۹).

عروس دریایی زهرآگین کاسیوپیا آندرومدا، بسته به حساسیت قربانیان به زهر، می‌تواند آثار توکسیکولوژیک و بیولوژیکی چون اثرات همولیتیک، درمونکروتیک، نفوذپذیری رگی و فسفولیپاز A2 گردد (۲۰).

تغییرات آب و هوایی، یک فرایند در جریان است که می‌تواند به شدت تهدید کننده تنوع زیستی دریایی باشد. وسعت واقعی اثرات مخرب احتمالی بر اکوسیستم‌های دریایی در حال حاضر نامشخص است (۲۱). با توجه به اولین مدارک مستند از مطالعات سیفوزوان‌های جزیره هاوایی، در صد سال پیش، کاسیوپیایی در این ناحیه به چشم نمی‌خورد لذا پیدا شدن این عروس دریایی در آب‌های سواحل هاوایی، می‌تواند در نتیجه تغییرات اقلیمی باشد (۲۲). کاسیوپیا آندرومدا، از دریای سرخ، اقیانوس هند، اقیانوس آرام تا دریای مدیترانه امتداد لبنان و سواحل فلسطین اشغالی از کانال سوئز توزیع گشته‌اند (۲۳).

گزارشی از حضور عروس دریایی واژگون، تا قبل از سال ۲۰۱۴ از خلیج‌فارس وجود ندارد. از این رو، آنها به‌صورت مهاجم، وارد آب‌های ساحلی خلیج نایبند عسلویه گردیده‌اند (۱۷) به‌طوری که یک جمعیت انبوه از *C. andromeda* توسط محققان مرکز ما، در این منطقه مشاهده گردید (۱۷). این اولین ثبت، از این گونه مهاجم در سواحل ایران است (۱۷).

تا پیش از این، مطالعه‌ای بر روی خصوصیات زهر *C. andromeda* خلیج نایبند صورت نگرفته است. آشنایی با خصوصیات زهری این مهمان‌های ناخوانده اجتناب‌ناپذیر است زیرا محتمل می‌باشد که آسیب با *C. andromeda* بتواند برای بومیان آب‌های ساحلی نایبند ایران تهدید کننده باشد. علاوه بر این، این منطقه حفاظت شده در فصل بهار توسط تعداد زیادی از گردشگران و همچنین در تابستان توسط شناگران مورد بازدید قرار می‌گیرد. فراوانی بالای این گونه در خلیج نایبند، ممکن است که مخاطراتی را برای آبتنی‌کنندگان به‌وجود آورد و اثر سویی بر گردشگری داشته باشد. برخی اثرات هماتولوژیکی زهر خام آنها (۱۷) و نیز برخی اثرات

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 14:15 +0330 on Monday October 9th 2017

سمیت آنها بر ارگان‌های حیاتی نظیر کبد، کلیه، طحال و قلب در مدل‌های حیوانی مورد مطالعه قرار گرفتند (۲۴). از اهداف انجام این مطالعه، بررسی اثرات *in vivo* و *in silico* زهر خام این عروس دریایی، بر فسفولیپاز A2، به‌عنوان بخشی از یک مطالعه جامع در راستای بررسی اثرات بیولوژیکی، توکسینولوژیکی و بیوشیمیایی زهرهای خام و خالص‌سازی شده این جانوران زیبای زهرآگین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد

تمام مواد، حلال‌های شیمیایی و استانداردهای مورد استفاده به ترتیب از شرکت مرک و سیگمای آلمان تهیه گردیدند.

جمع‌آوری نمونه

یک جمعیت از *C. andromeda* توسط گروهی از محققان از مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دریایی خلیج‌فارس تحقیقات، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر- ایران، در خلیج نایبند، نزدیک به عسلویه در شمال (۲۷° ۳۰′S، ۵۲° ۳۵′E)، در بهار ۲۰۱۴ مشاهده گردید. در مشاهدات ما، بلوم، به طور عمده در اعماق ۱/۵-۰/۵ متری کف لاگون، نشسته به واژگون بر کف شن و ماسه‌ای گل آلود رخ داده بود. علاوه بر این، در هر متر مربع حدود ۵-۴ مورد و با قطری حدود بین ۱۵-۶ سانتی‌متر مشاهده گردید (شکل ۱).

شکل ۱) دو تصویر از منطقه مورد مطالعه در خلیج نایبند، نزدیک عسلویه در شمال (۲۷° ۳۰′S، ۵۲° ۳۵′E)

تعداد ۳۰ نمونه زنده *C. andromeda* (شکل ۲)، از محل ذکر شده با استفاده از تور ترال جمع‌آوری شدند. شناسایی این عروس دریایی، توسط زیست‌شناس دریایی مهدی مرادی و پروفسور ایرج نبی‌پور از پژوهشگران مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج‌فارس، گمانه‌زنی شد. سپس، هویت این گونه توسط پروفسور برندن هلاند (Brenden Holland)، از دانشگاه هاوایی تأیید گردید (۱۷).

www.SID.ir

شکل ۲) نمونه زنده عروس دریایی *C. andromeda* در خلیج نایبند، بوشهر- ایران.

استخراج و آماده‌سازی زهر خام عروس دریایی

جداسازی تانتاکول‌ها با توجه به روش بلوم (Bloom) و همکاران با اندکی اصلاحات (شکل ۳) انجام شد (۲۵). به طور خلاصه، پس از گرفتن نمونه‌ها توسط تور ترال، تانتاکول‌ها در اسرع وقت به‌صورت دستی توسط قیچی جراحی برداشته و در ظروف شیشه‌ای کوچک حاوی یک سوم حجم از آب دریا قرار داده شدند و در آن زمان، به کمک کیسه‌های یخی به آزمایشگاه بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج‌فارس دانشگاه علوم پزشکی بوشهر انتقال یافتند. سپس، نمونه‌های تانتاکل، توسط یک هموژنایزر (IKA، آلمان) همگن و به مدت دو روز جهت اتولیز بافت‌ها و آزادسازی توکسین‌ها، در دمای ۴°C نگهداری شدند (۱۱). سپس جهت حذف رسوبات در دور ۱۲/۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴°C سانتریفوژ (اپندورف، آلمان) گردیدند. محلول حاصله لیوفیلیزه شد.

شکل ۳) جداسازی تانتاکول‌ها به‌صورت دستی به روش بلوم (Bloom) و همکاران (۱۹۹۸) (۲۵).

فعالیت PLA2 زهر خام

فسفولیپاز A2، هیدرولیز پیوند استری ۲- آسیل را در موقعیت 3-sn فسفولیپیدها را کاتالیز نموده و تولید لیزوفسفولیپید و اسید آراشیدونیک می‌نماید (۲۶). فعالیت PLA2 زهر خام عروس دریایی، مطابق روش اسیدیمتری تان و تان مورد بررسی قرار گرفت (۲۷). به‌طور خلاصه، مخلوطی از سه قسمت مساوی حاوی زرده تخم مرغ (chicken egg yolk)، کلسیم کلرید ۱۸ میلی‌مولار و سدیم دی اوکسی کولات ۸/۱ میلی‌مولار آماده گردید. سوسپانسیون، پس از تنظیم pH به ۸ با سود یک مولار، همگن گردید. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول زهر خام به ۱۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون برای شروع هیدرولیز اضافه گردید و پس از آن، pH مجدداً اندازه‌گیری شد. یکی واحد کاهش در pH، با ۱۳۳ میکرومول رهاسازی اسید چرب برابری می کند. فعالیت آنزیم با واحد اسید چرب آزاد گشته/ دقیقه بیان گردید.

کروماتوگرافی گازی/ طیف سنجی جرمی (GC-MS) زهر خام

ترکیبات شیمیایی زهر خام لیوفیلیزه شده -یک پودر مایل به آبی آسمانی- توسط کروماتوگرافی گازی/ طیف

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 14:15 +0330 on Monday October 9th 2017
Archive of SID
http://bpums.ac.ir
www.SID.ir

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 14:15 +0330 on Monday October 9th 2017

سنجی جرمی (GC-MS) مدل یانگ لین (South Korea، Gyeonggi-do، YL6900 GC-MS) شناسایی گردیدند. الکترون یونیزاسیون (EI) طیف جرمی (محدوده اسکن، m/z ۵۰۰-۵۰)، با استفاده از انرژی الکترون‌های ۷۰ eV الکترون ولت و با یک نشر فیلامنت ۰/۵ میلی‌آمپر به دست آمدند. جداسازی GC با استفاده از ستون HP-5MS UI (30m*0.25mm i.d., Film thickness 0.5micrometer) انجام پذیرفت. از هلیم با فلوی ۰/۸ میلی‌لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده گردید. دمای آون با برنامه دمایی ۵°C بر دقیقه، در زمان تزریق در ۲۵۰°C حفظ شده بود. پورت تزریق گاز کروماتوگراف، خط انتقال (transfer line) و یون منبع MSD به ترتیب در دماهای ۲۴۰، ۲۵۰ و ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ترکیبات جدا شده با مقایسه با داده‌های کتابخانه (NIST، ۲۰۱۴ MS database) شناسایی و مقدار نسبی (٪) هر یک از مؤلفه‌ها با مقایسه میانگین سطح زیر پیک به کل سطح موجود اندازه‌گیری گردیدند.

داکینگ ملکولی

جهت مطالعه فعالیت‌های فسفولیپازی، داکینگ ترکیبات شناسایی شده توسط GC-MS، انجام گردید. برای تعیین فعالیت PLA2، ساختار لیگاندها توسط برنامه Gaussian09 با استفاده از روش DFT و مجموعه پایه 6-311g/B3LYP بهینه سازی شد (۲۸). ساختار منتج، جهت مطالعه داکینگ برابر PLA2 (PDB code: 3U8D) استفاده شد. از ایندوکسام به عنوان کنترل استاندارد PLA2I استفاده گردید (۲۹).

یافته‌ها

فعالیت آنزیم فسفولیپاز A2

فعالیت آنزیم فسفولیپاز A2 زهر خام، توسط روش تان و تان (Tan & Tan) (۱۹۹۸) برابر ۰/۰۸±۴۱۳ (میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم) تعیین گردید.

آنالیز ترکیبات شیمیایی زهر *C. andromeda*

شناسایی ترکیب شیمیایی مختلف در توکسین‌ها و مقایسه با ترکیبات فعال مشابه در مطالعات قبلی، می‌تواند به پیش‌بینی خواص بیولوژیکی آنها کمک نماید. این گمانه، موجب سهولت مطالعات خواص بیولوژیکی ترکیبات جدید و در نتیجه، سهولت مطالعات اثرات درمانی و دارویی آنها می‌گردد (۳۰).

از آنالیز زهر خام با استفاده از دستگاه GC-MS، هفت ترکیب (i-vii)، به ترتیب زمان‌های بازداری ۷/۱۰، ۹/۸، ۱۰/۸۷، ۱۲/۶۴، ۱۳/۹۱، ۱۴/۱۴ و ۱۶/۵۴ دقیقه، شناسایی گردیدند (جدول ۱).

جدول ۱) هفت ترکیب (i.-vii) به‌دست آمده از آنالیز زهر خام با استفاده از دستگاه GC-MS

ردیف	فرمول ملکولی	نام ترکیب	زمان بازداری (min)	جرم ملکولی
i.	C32H49NO3	3'H-Cycloprop(1,2)-5-cholest-1-en-3-one, 1'-carboethoxy-1'-cyano-1,2-dihydro-	۸/۰۱	۴۹۵
ii.	C25H34O7	Pregn-5-ene-3,11-dione, 17,20:20,21 bis [methylenebis(oxy)]-, cyclic 3-(1,2-ethane diyl acetal)	۹/۷۰	۳۹۴
iii.	C14H22O	2,4-Di-tert-butylphenol	۱۰/۸۷	۲۰۶
iv.	C26H54	Octadecane, 3-ethyl-5-(2-ethylbutyl)-	۱۲/۶۴	۳۶۶
v.	C33H56O4	Acetic acid, 17-(4-hydroxy-5-methoxy-1,5dimethylhexyl)-4,4,10,13,14-penta methyl-2,3,4,5,6,7,10,11,12, 13,14, 15, 16,17-Tetra decahydro cyclo penta[a] phenanthryl ester	۱۳/۹۱	۵۱۶
vi.	C32H48O6	2-(16-Acetoxy-11-hydroxy-4,8,10,14-tetramethyl-3-oxohexadecahydro cyclopenta[a]phenanthren-17-ylidene)-6-methyl-hept-5-enoic acid, methyl ester	۱۴/۱۴	۵۲۸
vii.	C35H46O2	4'-Apo-β,.psi.-carotenoic acid	۱۶/۵۴	۴۹۸

www.SID.ir
Archive of SID

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 14:15 +0330 on Monday October 9th 2017

داکینگ مولکولی ترکیبات حاصل از آنالیز زهر عروس دریایی وارون با استفاده از دستگاه GC-MS

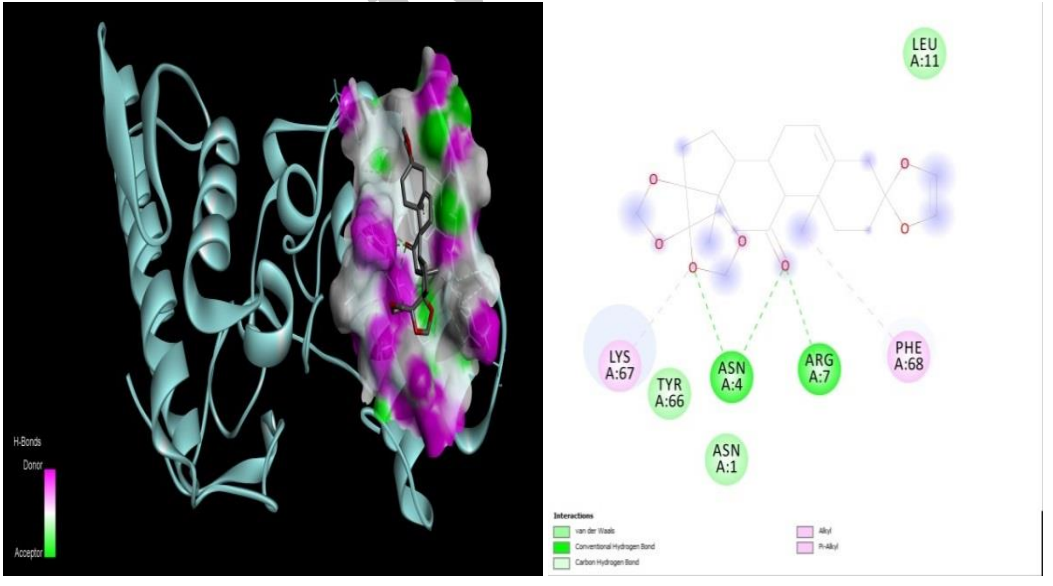
هر دو روش تجربی و محاسباتی نقش‌های کلیدی را در کشف و توسعه داروها ایفاء می‌نمایند. داکینگ مولکول‌های زیستی با ساختارهای شناخته شده، حتی با شواهد تجربی محدود، به سرعت به یک ابزار استاندارد برای توسعه زیست‌شناسی ساختاری و کشف داروها تبدیل شده است (۳۱). از این رو، برای درک بهتر نتایج تجربی، مطالعه داکینگ مولکولی نیز انجام شد. جدول (۲) نتایج ایندوکسام (Indoxam) و هفت ترکیب در برابر PLA2 را نشان می‌دهد. همانطور که در جدول (۲)، مشخص شده است بر اساس افینیتی بدست آمده، بیشترین فعالیت فسفولیپازی با مقدار(۶/۷ kcal/mol-) مربوط به ترکیب (ii) با فرمول ملکولی ($C_{25}H_{34}O_7$) می‌باشد هر چند که بر اساس نتایج افینیتی در مطالعه داکینگ، سایر ترکیبات نیز نشان دهنده این فعالیت بودند.

جدول ۲) نتایج داکینگ مهار کنندگی ایندوکسام و هفت ترکیب به‌دست آمده از آنالیز زهر خام عروس دریایی، با استفاده از GC-MS در برابر فسفولیپاز A2

شماره	ترکیب	افینیتی (kcal/mol)
i.	$C_{32}H_{49}NO_3$	-۶
ii.	$C_{25}H_{34}O_7$	-۶/۷
iii.	$C_{14}H_{22}O$	-۵/۲
iv.	$C_{26}H_{54}$	-۴/۱
v.	$C_{33}H_{56}O_4$	-۶
vi.	$C_{32}H_{48}O_6$	-۶/۲
vii.	$C_{35}H_{46}O_2$	-۵/۲
*	[c]Indoxam	-۵/۶

[a] PLA2I: PLA2 inhibitor

(سه بعدی) (دو بعدی)



شکل ۴) داکینگ دو بعدی (2D) و سه بعدی (3D) ترکیب (ii) در جایگاه‌های فعال PLA2

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 14:15 +0330 on Monday October 9th 2017

بحث

در مطالعه حاضر، فعالیت PLA2 قابل توجهی در زهر خام عروس دریایی واژگون پیدا شد. داده‌های داکینگ نیز نتایج تجربی را تأیید نمودند. با توجه به جدول (۲)، بر اساس مطالعات داکینگ اثرات مهاری ایندوکسام و هفت ترکیب بر PLA2، تمام ترکیبات فعالیت فسفولیپازی نشان دادند. از این میان، بالاترین افینیتی، مربوط به ترکیب (ii) بود. هر چند که ترکیبات (i.، v. و vi) نیز دارای افینیتی بالاتری نسبت به گروه کنترل بودند.

سنیداریاها از راسته گسترده جانوران عمدتاً زهرآگین هستند (۳۲) که تولید یکی از قوی‌ترین ونوم‌های جانوری را می‌نمایند (۲۵).

در سال‌های اخیر، یک افزایش چشمگیری در گزارش‌های بلوم عروس‌های دریایی در سراسر جهان وجود داشته است (۳۳). زهر عروس دریایی مخلوطی از پروتئین‌های مختلف، پپتیدها، آنزیم‌ها و سایر ترکیبات با خصوصیات توکسیک و اثرات بسیار خاص می‌باشد. مکانیسم عمل این ترکیبات هنوز دور از درک ما می‌باشد (۳۳).

همانند دیگر مشکلات مناطق گرمسیری جهان، آسیب با عروس دریایی، به عنوان یک مشکل عمده پزشکی و بهداشت عمومی در آب‌های ساحلی بوشهر در نظر گرفته می‌شود (۳۴). سالانه، آسیب‌های شدید تهدیدکننده زندگی، در مناطق مختلف جغرافیایی جهان، برای بومیان سواحل گرمسیری، گردشگران، ماهیگیران، شناگران و غواصان اتفاق می‌افتد (۳۵). زهر آنها می‌تواند طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های بیولوژیکی و اثرات توکسیکی چون خارش، ادم، دردهای عضلانی، تنگی نفس، افت فشار خون، شوک و حتی مرگ پس از گزش را نشان دهد و از سوی دیگر فعالیت‌های خاص مانند سوزش و التهاب، درد شدید، تورم، خط قرمز، حالت تهوع، دردهای شکمی، تعریق شدید، گرفتگی عضلانی عضلات، ناراحتی‌های تنفسی (۳۶) و همچنین سمیت قلبی- عروقی به عنوان شاخص عمده زهر عروس‌های دریایی و علاوه بر این، پاسخ‌های فشار خون بالا ناشی از نارسایی‌های قلبی (۳۷ و ۳۸) و انقباضات عروقی (۳۹) نیز مشاهده شده‌اند. علاوه بر موارد فوق، طیف وسیعی از دیگر فعالیت‌های بیولوژیکی، همچون اثرات سیتوتوکسیک، درمونکروتیک و سمیت‌های عصبی و همولیتیک گزارش
گردیده‌اند (۴۰).

برخی تظاهرات خاص مرتبط با نوع عروس دریایی، همچون سندروم ایروکنجی (Irukandji syndrome)، از تلقیح زهر عروس‌های کاروکیا بارنسی (*Carukia barnesi*)، آلاتینا نر موردنس (*Alatina nr mordens*) (۳۹) و کاریبدئا آلاتا (*Carybdea alata*)، مالو ماکسیما (*Malo maxima*) و عروس آتشین به وجود می‌آیند (۴۱).

با وجود بیش از ۴۰ سال مطالعات، تا به حال ویژگی‌ها و مکانیسم عمل زهر و توکسین‌های عروس دریایی مختلف مرموز باقی مانده است (۴۲). مشکلات مربوط به مطالعه زهر عروس دریایی همواره همراه با محدودیت‌های زیادی از جمله یافتن حیوانات، حساسیت زهر به دما به دلیل ماهیت پروتئینی‌شان (۲۵)، مشکلات مربوط به حذف دیگر قسمت‌های غیرضروری از نماتوسیست‌ها و مصائب مربوط به جداسازی و خالص‌سازی مؤثر (۴۳) و تمایل چسبیدن توکسین‌های فعال به سایر ترکیبات موجود در ماتریس نمونه بوده است (۴۴).

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 14:15 +0330 on Monday October 9th 2017

خانواده PLA2 یک کلاس آنزیمی هستند که هیدرولیز فسفولیپیدها را در موقعیت SN-2 کاتالیز نموده و موجب رهاسازی اسید چرب مربوطه و لیزوفسفولیپید می‌گردند (۴۵).

ساختار مولکولی، خصوصیات فارماکولوژیکی، توکسیکولوژیکی و نقش PLA2 در اثرات سیستمیک ونوم سنیداریان‌ها ناشناخته است و مانده است تا به روشنی مشخص گردند. از آنجایی که بالاترین فعالیت فسفولیپازی در تانتاکول‌های آنها دیده می‌شود لذا ممکن است که در صید، هضم و دفاع نیز نقش داشته باشند (۲۶).

مطابق مطالعه اندرلوه و ماکک (Anderluh & Macek)، توکسین‌های با وزن ملکولی حدود ۲۰ تا ۴۰ کیلودالتون یکی از کلاس‌های توکسین‌های تشکیل دهنده منفذ (pore-forming toxins) دارای فعالیت PLA2 می‌باشند (۴۶). در مطالعه الکتروفورز SDS-PAGE مطالعه ما، باندهای ۲۸، ۳۴ و ۳۸ کیلو دالتون به چشم می‌خورد که می‌تواند در فعالیت فسفولیپازی زهر خام دخیل باشد. فعالیت فسفولیپازی ونوم عروس دریایی می‌تواند موجب برخی از واکنش‌های التهابی نوعی نظیر درد و تورم ناشی از اسیدهای چرب فعال گردند (۴۵). سطوح بالای آنزیم می‌تواند موجب سوزش‌های پوستی پس از تماس با زهر گردد (۲۶). فعالیت فسفولیپازی ونوم این جانوران، ممکن است مسئول اثرات سمی چون میوتوکسیسیتی یا نروتوکسیسیتی و همچنین، بی‌ثباتی غشای سلولی و تغییر در نفوذپذیری سلولی در ارگانیسم آسیب دیده باشند (۴۵). ما برخی از این اثرات را در مطالعه پیشین خود گزارش کرده‌ایم (۲۴).

هیدرولیز فسفولیپید و تشکیل متابولیت‌های اسید آراشیدونیک، عملکرد پلاکت‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۴۷).

فعالیت PLA2 ونوم عروس دریایی در عصاره تانتاکولی برخی از گونه‌های عروس دریایی دیگر نیز گزارش گردیده است (۲۰ و ۴۸). فعالیت کاتالیتیکی فسفولیپاز A2 در بافت‌های مختلف هموژن برخی از این جانوران در کلاس‌ها و گونه‌های مختلف در جدول (۳) نشان داده شده است.

جدول ۳) فعالیت کاتالیتیکی فسفولیپاز A2 در بافت‌های مختلف هموژن در کلاس‌ها و گونه‌های مختلف ونوم‌های عروس دریایی (U/g)(۴۸).

رده/ گونه	فعالیت PLA2 (U/g), median (range)
Hydrozoa	
Obelia geniculata	۲
Tubularia larynx	۶۳
Millepora sp.	۷۳۵
Scyphozoa	
Aurelia aurita	۴۰(۳۵-۴۴)
Cyanea capillata چتر	۸۱(۸۰-۱۱۸)
Cyanea capillata تانتاکول	۱۱۰(۷۷-۱۹۷)
Cubozoa	
Chironex fleckeri تانتاکول	۱۸۴
Carybdea rastonii تانتاکول	۹۱
Carukia barnesi جانور کامل	۱۳۰

در یک مطالعه قابل قیاس، نوالاینن (Nevalainen) و همکاران، سطوح بالایی از فعالیت نسبی PLA2 عصاره تانتاکولی عروس دریایی بسیار زهراگین *C. fleckeri* و در سطوح پایین‌تر در عروس‌های دریایی کم زهری‌تر *C. rastonii* و *C. barnesi* را گزارش نمودند (۴۸).

سیستم گروه‌بندی فسفولیپاز A2 (PLA2) ریشه در تعریف آنها در ونوم مارهای دنیای قدیم و جدید دارد که به ترتیب منجر به تخصیص آنزیم به گروه‌های I (GI) و II (GII) گردید. پس از آن، گروه III (GIII) شامل PLA2 منحصر به فرد مربوط به زهر زنبور عسل نیز اضافه گردید. بعدها، دو PLA2 انسانی، یکی PLA2

www.SID.ir
Archive of SID

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 14:15 +0330 on Monday October 9th 2017

ترشحی (sPLA2) در سال ۱۹۸۹ و دیگری PLA2 سیتوزولی (cPLA2) در سال ۱۹۹۱ کشف شدند (۴۹). sPLA2 و cPLA2 به ترتیب به فسفولیپازهای GII (و بعدها به GIIA) و GIV (و بعدها به GIVA) مصطلح شدند (۵۰). اخیراً، چند عضو جدید از بالا خانواده PLA2 نیز کشف شده‌اند (۵۱). همانگونه که ذکر گردید آنزیم‌های PLA2 اسیدهای چرب را از موقعیت sn-2 گلیسروفسفولیپیدها (PL) برای تولید اسیدهای چرب آزادی چون آراشیدونیک اسید (AA) و لیزوگلیسروفسفولیپیدها هیدرولیز می‌نمایند. هر دوی این محصولات، پیش‌سازهای پیام‌دهی مولکول‌ها، در اعمال عملکردهای بیولوژیکی هستند. آراشیدونیک اسید می‌تواند از طریق عمل نوعی از پروستاگلاندین سنتازها، لیپواکسیژنازها و پروتئین‌های سیتوکروم P450 به ایکوزانوئیدها تبدیل گردد (۵۲).

ایکوزانوئیدها در یک طیف وسیعی از فرآیندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک مانند تنظیم خواب، پاسخ‌های ایمنی، التهاب و درک درد ایفاء نقش می‌نمایند. آنها از طریق اتصال به گیرنده‌های متصل به G-پروتئین خاص، عمل می‌نمایند (۵۳). لیزوگلیسروفسفولیپیدها می‌توانند به عنوان یک پیش ماده برای واسطه‌های چربی مانند لیزوفسفاتیدیک اسید (LPA) یا فاکتور فعال کننده پلاکت (PAF) انجام وظیفه نمایند (۵۴). PAF به خصوص در فرآیندهای التهابی (۵۵) و LPA در تکثیر، زنده مانی و مهاجرت سلولی درگیر است. LPA و PAF نیز از طریق اتصال به گیرنده‌های متصل به G-پروتئین، عمل می‌نمایند (۵۵). آنزیم‌های sPLA2 در گیاهان، حشرات، نرم‌تنان، خزندگان و پستانداران، قارچ‌های همزیست و یک sPLA2 باکتریایی یافت شده‌اند. آنزیم‌های پستانداران PLA2 نوع GIII دارای جرم مولکولی بزرگ‌تر از حدود ۵۵ کیلو دالتون می‌باشند (۵۱).

به‌نظر می‌رسد که PLA2 سیتوزولی نقش‌های متعددی را در بیماری‌های التهابی بازی کند. PLA2 GIIA در غلظت‌های بالا در مایع سینوویال از بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید موجود است (۵۱). علاوه بر این، به نظر می‌رسد که sPLA2s در سندرم دیسترس تنفسی بزرگسالان (ARDS)، بیماری التهابی روده، پانکراتیت و عفونت نقش داشته باشد (۵۶). آنزیم‌های PLA2 سیتوزولی به دلیل ایفای نقش در هیدرولیز LDL، ممکن است موجب توسعه آترواسکلروز گردند (۵۷). آنها در دگرانولاسیون ماست‌سل‌ها نقش دارند (۵۸). همچنین آنها، نقش مهمی در اگزوسیتوز بازی می‌نمایند. زهر کروتوکسین (crotoxin) مار که متعلق به گروه‌های PLA2s GIIA و PLA2 GIIA سینوویال می‌باشد موجب آزادسازی کاتکول آمین‌ها از سلول‌های فئوکروموسیتوما شده است (۵۹). علاوه بر این نشان داده شده است که PLA2 GIA از ناجا موزامبیکا موزامبیکا (*Naja mossambica mossambica*) موجب تحریک ترشح انسولین از سلول‌های بتا پانکراس گردیده شده است (۶۰).

در کل، این کار به وضوح نشان داد که فعالیت آنزیم فسفولیپاز A2 از عملکردهای عمده زهر عروس دریایی واژگون می‌باشد لذا، مشاهده برخی از آثار بیولوژیک مرتبط با آن دور از ذهن نمی‌باشد و این آگهی می‌تواند به مدیریت درمان آسیب به آنها کمک نماید.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 14:15 +0330 on Monday October 9th 2017

References:

1.Burnett JW, Fenner PJ, Rifkin JF. Venomous and Poisonous Marine Animals: A Medical and Biological Handbook. Sydney: University of New South Wales Press, 1996, 63-306.

2.Haddad Junior V, Silveira FL, Migotto AE. Skin lesions in envenoming by cnidarians (Portuguese man-of-war and jellyfish): etiology and severity of accidents on the Brazilian Coast. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2012; 52(1): 47-50.

3.Montgomery L, Seys J, Mees J. To pee, or not to pee: a review on envenomation and treatment in European jellyfish species. Mar Drugs 2016; 14(7): E127.

4.Purcell JE, Uye S, Lo WT. Anthropogenic causes of jellyfish blooms and their direct consequences for humans: a review. Mar Ecol Prog Ser 2007; 350: 153-74.

5.Mohd Suan MA, Tan WL, Soelar SA, et al. Jellyfish stings on Langkawi Island, Malaysia. Med J Malaysia 2016; 71(4): 161-5.

6.Tibballs J. Australian venomous jellyfish, envenomation syndromes, toxins and therapy. Toxicon 2006; 48(7): 830-59.

7.Cazorla-Perfetti DJ, Loyo J, Lugo L, et al. Epidemiology of the Cnidarian *Physalia physalis* stings attended at a health care center in beaches of Adicora, Venezuela. Travel Med Infect Dis 2012; 10(5-6): 263-6.

8.Thaikruea L, Siriariyaporn P, Wutthanarungsan R, et al. Review of fatal and severe cases of box jellyfish envenomation in Thailand. Asia Pac J Public Health 2015; 27(2): NP1639-51.

9.Tardent P. The cnidarian cnidocyte, a high-tech cellular weaponry. BioEssays 1995; 17(4): 351-62.

10.Lotan A, Fishman L, Zlotkin E. Toxin compartmentation and delivery in the Cnidaria: the nematocyst's tubule as a multiheaded poisonous arrow. J Exp Zool 1996; 275(6): 444-51.

11.Burnett JW, Long KO, Rubinstein HM. Beachside preparation of jellyfish nematocyst venom. Toxicon 1992; 30(7): 794-6.

12.De Donno A, Idolo A, Bagordo F, et al. Impact of Stinging Jellyfish Proliferations along South Italian Coasts: Human Health Hazards,Treatment and Social Costs. Int J Environ Res Public Health 2014; 11(3): 2488-503.

13.Tibballs J, Yanagihara AA, Turner HC, et al. Immunological and Toxicological Responses to Jellyfish Stings. Inflamm Allergy Drug Targets 2011; 10(5): 438-46.

14.Morabito R, Dossena S, la Spada G, et al. Heavy metals affect nematocysts discharge response and biological activity of crude venom in the jellyfish *Pelagia noctiluca* (Cnidaria, Scyphozoa). Cell Physiol Biochem 2014; 34(2): 244-54.

15.Harron H. The classification and distribution of the class Scyphozoa.. BI 375 - Biological Diversity Winter 1999, University of Oregon (Accessed April 30, 2017, at http://gladstone.uoregon.edu/~ghale/pdf/scyphozoa.pdf).

16.Mariottini GL, Pane L. Mediterranean jellyfish venoms: a review on scyphomedusae. Mar Drugs 2010; 8(4): 1122-52.

17.Nabipour I, Moradi M, Mohebbi GH. A first record on population of the alien venomous jellyfish, *Cassiopea andromeda* (Forsskal, 1775) (Cnidaria: Scyphozoa: Rhizostomea) in the Nayband Lagoon from Bushehr-Iran (Persian Gulf). J Chem Pharm Res 2015; 7(3): 1710-3.

18.Nabipour I, Mohebbi GH, Vatanpour H, et al. Hematological parameters on the effect of the jellyfish venom *Cassiopea andromeda* in animal models. Data Brief 2017; 11: 517-21.

19.Pongprayoon U, Bohlin L, Wasuwat S. Neutralization of toxic effects of different crude jellyfish venoms by an extract of Ipomoea pes-caprae (L) R. Br. J Ethnopharmacol 1991; 35(1): 65-9.

20.Radwan FF, Burnett JW, Bloom DA, et al. A comparison of the toxinological characteristics

www.SID.ir
Archive of SID

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 14:15 +0330 on Monday October 9th 2017

of two Cassiopea and Aurelia species. Toxicon 2001; 39(2-3): 245-57.

21.Lejeusne C, Chevaldonné P, Pergent-Martini C, et al. Climate change effects on a miniature ocean: the highly diverse, highly impacted Mediterranean Sea. Trends Ecol Evolut 2010; 25(4): 250-60.

22.Mayer AG. Medusae of the Hawaiian Islands collected by the steamer Albatross in 1902. Bull US Fish Comm 1906; 23(pt 3): 1131-43.

23.Galil BS, Spanier E, Ferguson WW. The scyphomedusae of the Mediterranean coast of Israel, including two Lessepsian migrants new to the Mediterranean. Zoolog Mededel 1990; 64(7): 95-105.

24.Mohebbi GH, Farzadinia P, Vatanpour H, et al. Sub-acute toxicity of the alien *Cassiopea andromeda* (forsskal, 1775) jellyfish venom, in rats. Ent Appl Sci Lett 2016; 3(2): 65-71.

25.Bloom DA, Burnett JW, Alderslade P. Partial purification of box jellyfish (*Chironex fleckeri*) nematocyst venom isolated at the beachside. Toxicon 1998; 36(8): 1075-85.

26.Nevalainen TJ, Peuravuori HJ, Quinn RJ, et al. Phospholipase A2 in Cnidaria. Comparat Biochem Physiol Part B 2004; 139(4): 731-5.

27.Tan NH, Tan CS. Acidimetric assay for phospholipase a using egg yolk suspension as substrate. Anal Biochem 1988; 170(2): 282-8.

28.Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, et al. Gaussian09, R. A.1. Gaussian Inc., Wallingford CT, 2009.

29.Grosdidier A, Zoete V, Michielin O. SwissDock, a protein-small molecule docking web service based on EADock DSS. Nucleic Acids Res 2011; 39(Web Server issue): W270-W277.

30.Mohebbi GH, Nabipour I, Vazirizadeh A. Neurotoxic syndromes in marine poisoning; a Review. Iran South Med J 2014; 17(3): 451-75. (Persian)

31.Kalauni SK, Choudhary MI, Khalid A, et al. New cholinesterase inhibiting steroidal alkaloids from the leaves of Sarcococca coriacea of Nepalese origin. Chem Pharm Bull 2002; 50(11): 1423-6.

32.Ayed Y, Dellai A, Mansour HB, et al. Analgesic and antibutyryl cholinestrasic activities of the venom prepared from the Mediterranean jellyfish Pelagia noctiluca (Forsskal, 1775). Ann Clin Microbiol Antimicrob 2012; 11(1): 11-5.

33.Hyunkyoung L, Eun-Sun J, Changkeun K, et al. Scyphozoan jellyfish venom metalloproteinases and their role in the cytotoxicity. Toxicon 2011; 58(3): 277-84.

34.Taheri N, Mohebbi GH, Vazirizadeh A, et al. Clinical manifestations and managements in jellyfish envenomation; A systematic review. Iran South Med J 2013; 16(5): 338-58. (Persian)

35.Xiao L, He Q, Guo Y, et al. *Cyanea capillata* tentacle-only extract as a potential alternative of nematocyst venom: its cardiovascular toxicity and tolerance to isolation and purification procedures. Toxicon 2009; 53(1): 146-52.

36.Liang X, Beilei W, Ying L, et al. Cardiovascular Effect is independent of hemolytic toxicity of tentacle-only extract from the jellyfish *Cyanea capillata*. PLos One 2012; **7**(8): e43096.

37.Ramasamy S, Isbister GK, Seymour JE, et al. The in vivo cardiovascular effects of the Irukandji jellyfish (*Carukia barnesi*) nematocyst venom and a tentacle extract in rats. Toxicol Lett 2005; 155(1): 135-41.

38.Toom PM, Larsen JB, Chan DS, et al. Cardiac effects of *Stomolophus meleagris* (cabbage head jellyfish) toxin. Toxicon 1975; 13(3): 159-64.

39.Winter KL, Isbister GK, Schneider JJ, et al. An examination of the cardiovascular effects of an 'Irukandji' jellyfish, *Alatina nr mordens*. Toxicol Lett 2008; 179(3): 118-23.

40.Feng J, Yu H, Li C, et al. Isolation and characterization of lethal proteins in nematocyst venom of the jellyfish *Cyanea nozakii Kishinouye*. Toxicon 2010; 55(1): 118-25.

41.Little M, Pereira PL, Carrette T, et al. Jellyfish responsible for Irukandji Syndrome. QJM. 2006; 99(6): 425-7.

42.Chung JJ, Ratnapala LA, Cooke IM, et al. Partial purification and characterization of a

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 14:15 +0330 on Monday October 9th 2017

hemolysin (CAH1) from Hawaiian box jellyfish (*Carybdea alata*) venom. Toxicon 2001; 39(7): 981-90.

43.Endean R, Monks SA, Cameron AM. Toxins from the box-jellyfish *Chironex fleckeri*. Toxicon 1993; 31(4): 397-410.

44.Othman I, Burnett JW. Techniques applicable for purifying Chironex fleckeri (box-jellyfish) venom. Toxicon 1990; 28; 821-35.

45.Anja Z, Heike H, Daniel P, et al. A new enzyme-assay for PLA_2 activity in jellyfish venom based on phosphorus detection using HPLC-CC-ICP-MS. 2007. (Accessed April 23, 2017, at http://www.schulprojekt-klimawandel.de/imperia/md/content/gkss/institut_fuer_kuestenforschung/koc/poster/zimmermann_jellyblooms07_abstract.pdf).

46.Anderluh G, Macek P. Cytolytic peptide and protein toxins from sea anemones (Anthozoa: Actiniaria). Toxicon 2002; 40(2): 111-24.

47.Santos-Filho NA, Silveira LB, Oliveira CZ, et al. A new acidic myotoxic, anti-platelet and prostaglandin I2 inductor phospholipase A2 isolated from *Bothrops moojeni* snake venom. Toxicon 2008; 52(8): 908-17.

48.Nevalainen TJ, Peuravuori HJ, Quinn RJ, et al. Phospholipase A2 in cnidaria. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol 2004; 139(4): 731-5.

49.Dennis EA. Diversity of group types, regulation, and function of phospholipase A2. J Biol Chem 1994; 269(18): 13057-60.

50.Balsinde J, Winstead MV, Dennis EA. Phospholipase A2 regulation of arachidonic acid mobilization. FEBS Lett 2002; 531(1): 2-6.

51.Schaloske RH, Dennis EA. The phospholipase A2 superfamily and its group numbering system. Biochim Biophys Acta 2006; 1761: 1246-59.

52.Funk CD. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. Science 2001; 294(5548): 1871-5.

53.Tsuboi K, Sugimoto Y, Ichikawa A. Prostanoid receptor subtypes. Prostaglandins Other Lipid Mediators 2002; 68: 535-56.

54.Moolenaar WH, van Meeteren LA, Giepmans BNG. The ins and outs of lysophosphatidic acid signaling. BioEssays 2004; 26(8): 870-81.

55.Prescott SM, Zimmerman GA, Stafforini DM, et al. Platelet-activating factor and related lipid mediators. Annu Rev Biochem 2000; 69: 419-45.

56.Nevalainen TJ, Haapamaki MM, Grönroos JM. Roles of secretory phospholipases A(2) in inflammatory diseases and trauma. Biochim Biophys Acta 2000; 1488 (1-2): 83-90.

57.Pruzanski W, Lambeau L, Lazdunsky M, et al. Differential hydrolysis of molecular species of lipoprotein phosphatidylcholine by groups IIA, V and X secretory phospholipases A2. Biochim Biophys Acta 2005; 1736(1): 38-50.

58.Enomoto A, Murakami M, Valentin E, et al. Redundant and segregated functions of granule-associated heparin-binding group II subfamily of secretory phospholipases A2 in the regulation of degranulation and prostaglandin D2 synthesis in mast cells. J Immunol 2000; 165(7): 4007-14.

59.Wei S, Ong WY, Thwin MM, et al. Group IIA secretory phospholipase A2 stimulates exocytosis and neurotransmitter release in pheochromocytoma-12 cells and cultured rat hippocampal neurons. Neuroscience 2003; 121(4): 891-8.

60.Juhl K, Efanov AM, Olsen HL, et al. Secretory phospholipase A2 is released from pancreatic beta-cells and stimulates insulin secretion via inhibition of ATP-dependent K+ channels. Biochem Biophys Res Commun 2003; 310(2): 274-79.

Archive of SID

www.SID.ir

Original Article

Phospholipase A2 activity of the Persian Gulf upside-down jellyfish venom (*Cassiopea andromeda*)

GH. Mohebbi [1], H. Vatanpour [2], A. Vazirizadeh [3], A. Maryamabadi [4], AR. Hasaninejad [4], S. Akbarzadeh [1], M. Farrokhnia [1], A. Bargahi [1], I. Nabipour [1]*

[1] *The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran*

[2] *Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy, Shaheed Beheshti Medical Sciences University, Tehran, Iran*

[3] *The Marine Biology and Fishery Science Department, Persian Gulf Institute, Persian Gulf University, Bushehr, Iran*

[4] *Department of Chemistry, school of Sciences, Persian Gulf University, Bushehr, Iran*

(Received 20 Feb, 2017 Accepted 15 Jun, 2017)

Abstract

Background: The venomous jellyfish *Cassiopea andromeda* can produce envenomation and different toxicological and biological effects by their nematocysts. The phospholipase A2 enzymes (PLA2) are toxic and induce various pharmacological effects including neurotoxicity, myotoxicity and anticoagulant activities. The main aim of the current project was to screen the *in vitro* PLA2 activity of the *C. andromeda* crude venom. To better understand the experimental result; a molecular docking study was also performed.

Materials and methods: The live specimens were collected from Nayband lagoon, by a trawl net, and separation of their tentacles was done according to Bloom 's et al., method. The PLA_2 activity of crude venom was performed according to the acidimetric method of Tan and Tan. The lyophilized venom was subjected to Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy, and the obtained structures were used for docking study against PLA2. The indoxam was considered as standard control.

Results: The PLA2 activity of the jellyfish crude venom was 413 ±0.08 µmol/min/mg. Analysis of the crude venom detected seven compounds (i-vii) using GC-MS. Docking data was also confirmed the experimental results. According to the docking results, the highest affinity (-6.7 (kcal/mol)) was observed in the compound "Pregn-5-ene-3,11-dione, 17,20:20,21 bis [methylenebis(oxy)]-, cyclic 3-(1,2-ethane diyl acetal)".

Conclusions: A high PLA2 level was found in the venom of *C. andromeda*. There was a good correlation between *in vitro* and *in silico* studies.

Key words: *Cassiopea andromeda*, crude venom, Phospholipase A2, Persian Gulf

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as: Mohebbi GH, Vatanpour H, Vazirizadeh A, Maryamabadi A, Hasaninejad AR, Akbarzadeh S, Farrokhnia M, Bargahi A, Nabipour I. Phospholipase A2 activity of the Persian Gulf upside-down jellyfish venom (Cassiopea andromeda). Iran South Med J 2017; 20(3): 287-300

Copyright © 2017 Mohebbi, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

*Address for correspondence: The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran. Email: inabipour@gmail.com

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 14:15 +0330 on Monday October 9th 2017

Archive of SID

www.SID.ir