



## توکسینولوژی مارهای دریایی، یک مطالعه مروری نظاممند

غلامحسین محبی<sup>۱</sup>، رامین سیدیان<sup>۱</sup>، ایرج نبی‌پور<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۹۵/۵/۶ - پذیرش مقاله: ۹۵/۶/۳)

چکیده

زمینه: مارهای دریایی متعلق به خانواده هیدروفیده، عمدها در آبهای گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان از جمله آبهای خلیج فارس یافت می‌شوند. زهر بسیار کشنده آنها، قوی‌تر از مارهای با منشاء زمینی بوده و شامل مخلوط‌های پیچیده‌ای از مواد فعال زیستی آلوی و غیر آلوی نظیر آنزیم و پروتئین‌های غیرآنزیمی هستند. مطالعات محدودی روی نوم و توکسین‌های مارهای دریایی وجود دارد. لذا هدف از این مطالعه سیستماتیک، بررسی ابعاد توکسینولوژی مارهای دریایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: به منظور بررسی توکسین‌های مارهای دریایی، در تاریخ ۲۰۱۶/۸/۱۰ در وبگاه "pubmed"، واژگان "هیدروفیس شیستوس توکسین، هیدروفیس سیانوسینکتوس توکسین، هیدروفیس لاپموئیدس توکسین، هیدروفیس اسپیرالیس توکسین، لاپمیس کورتوس توکسین"، به صورت مجزا، جستجو گردیدند که به ترتیب ۳۲، ۲، ۹ و ۴ نتیجه در بر داشتند. جستجوی واژه "هیدروفیس گراسیلیس توکسین"، نتیجه‌ای در بر نداشت. جستجو برای اصطلاح "Hydrophis gracilis" دو مطالعه به دست آمد. اولین مربوط به مشخصات فیلوجنتیک مارهای دریایی و دومین نیز که دارای ارتباط با موضوع بود، با نتایج جستجوهای دیگر مشترک بود. برخی از مقالات در جستجوهای مختلف، مشترک بودند. از این میان، مطالعاتی که دارای ارتباط مستقیم به موضوع بودند، انتخاب و مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: توکسین‌های اصلی جدا شده از زهر مارهای دریایی مختلف شامل توکسین سه انگشتی (3FTx) (ایزوفرم‌های نوروتوکسین کوتاه زنجیر: AAL54893، AAL54892، AAL548906، AAL54892، AAL54895، AAL54894؛ بلند زنجیر: ABN54805، P68416، AAL54895، AAL54894)، پلامیتوکسین (P62388)، فسفولیپاز A2 (هر دو PLA2 بازی و اسیدی)، دو آنزیم فسفولیپاز A2 (H1 و H2)، پروتئین ترشحی غنی از سیستین (CRISP)، متالوپروتئیناز زهر مار (SVMP)، L-آمینواسید اکسیداز (LAAO)، ۵-نوکلوتیداز، هیدروفیتوکسین‌های A، B و C، هیدروفیس اورانتوس A، هیدروفیس لاپموئیدس A، فاکتور رشد پلاکتی (PDGF) و α-نوروتوکسین‌های rSN285، rSN316، rSN311، rSN310، هیدروفیس اورانتوس A، هیدروفیس لاپموئیدس A، فاکتور رشد پلاکتی (PDGF) و α-نوروتوکسین‌های (Zlatanitazی و کازئینازی) از خود بودند. هر توکسین و خانواده پروتئینی، طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های فارماکولوژیکی را ارائه می‌دهند. برخی از این نوروتوکسین‌ها به گیرنده‌های استیل کولینی اتصالات عصبی-عضلانی پیوند می‌یابند. این توکسین‌ها، فعالیت‌های پروتئازی (Zlatanitazی و کازئینازی) از خود نشان داده و / یا سبب القای میونکروزیس و تغییرات بیوشیمیایی و هیستوپاتولوژیکی می‌گردند.

نتیجه‌گیری: تنوع بسیار کمی در ترکیب نوم در گونه‌های مشابه و متفاوت مارهای دریایی وجود دارد. مطالعه ما نشان می‌دهد يك پروفایل نوم نسبتاً ساده با میل به سمت ترکیبات مهلهک قابل ملاحظه‌ای از نوروتوکسین‌ها و PLA2s و مقدار کمتری از توکسین‌های چون LAAO، SVMP، CRISP وجود دارد.

واژگان کلیدی: مار دریایی، نوم، توکسین، خلیج فارس

\* بوشهر، مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

Email: mohebbihsn@yahoo.com

\* این پژوهه با حمایت‌های کرسی پژوهشی پزشکی دریایی، (مصطفوی حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور) معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری به انجام رسید.

## مقدمه

آنها از رده سوسناریان (*Sauropsid*), زیررده دوکاوان (Diapsida), فرو رده پولک سوسنارشکلان (Lepidosauromorpha), بالاراسته پولکسوسناران (Squamata), راسته پولکداران (Lepidosauria) زیرراسته ماران (Serpentes) هستند (۵).

مارها خزنده‌گانی فلسفه دار و مهره دار هستند که تقریباً حدود ۱۰ درصد از ۳۵۰۰ گونه آنها در سراسر جهان، به طور بالقوه برای انسان خطرناک هستند (۶). آنها موجوداتی مرموز هستند که اغلب مردم از آنها وحشت دارند.

این مطالعه، شامل ویژگی‌های عمومی مارها، مشتمل بر اطلاعات عمومی در زمینه انواع مارها، طبقه‌بندی و خصوصیات آنها بر اساس الگوهای مختلف، با محوریت مارهای دریایی و به ویژه مارهای دریایی خلیج فارس، همراه با خصوصیات آناتومی، دستگاه زهری و پراکنده‌گی جغرافیایی آنها و همچنین در یک قسمت اختصاصی که هدف اصلی این مطالعه می‌باشد، به بررسی توکسینولوژی مارهای دریایی و به ویژه مارهای دریایی خلیج فارس، در یک مطالعه مروری نظام مند پرداخته می‌شود

### طبقه‌بندی مارها از نظر سمیت‌زنی

مارها از نظر وجود سمیت، به انواع غیرسمی، نیمه سمی و سمی طبقه‌بندی می‌شوند (شکل ۱) (۷).

### الف- مارهای غیرسمی (*Aglypha*)

مارهای غیرسمی دارای دندان‌های ساده بوده که راهی به غده سمی نداشته و شکل پولک‌های سر آنها با بدن کاملاً متفاوت است. پولک‌های سطح شکم صاف و بزرگ‌تر از پولک‌های ناحیه پشتی هستند. مردمک آنها اغلب گرد و دم آنها معمولاً گرد و دراز بوده و در حرکت سریع تر

مارها در گذشته به عنوان قدرتی ماوراء طبیعت مورد پرستش بوده‌اند. تقدیس مار را "افیولاتری" می‌نامند. هنوز، هندو مذهبان بنگال، "مانازا"، مظہر مارها را مقدس می‌شمارند. در ادبیات مذهبی هندی‌ها "سشا"، مار بزرگ هفت سر مراقب و سایبانی برای خدای "ویشنو" است. پیکره "شیوا" خدای مخرب هندوها را مارها احاطه نموده‌اند و او حلقه‌ای از مار بر سر دارد. در پالمیر، چشم مقدسی هست به نام "اووه آ"، محافظ این چشم را یک مار ماده می‌دانند و معتقدند هنگامی که مار خشمگین شود، مانع جریان آب می‌گردد. یونانی‌های قدیم و روم باستان، اعتقاد داشته‌اند که قهرمانان افسانه‌ای سرزمین کهن ایشان، قدرت خود را از این جانور مورد احترام و ستایش، کسب می‌کرده‌اند. در ادبیات مذهبی یونان آمده است که در زمان جنگ بین کشور ایران و یونان، مار معبد "اسکلپیوس"، غذای خود را نخورد، مردم یونان آن را نشانه‌ای از این گرفتند که خدایان یونان، مقایل حمله ایرانی‌ها آنها را حفظ نخواهند نمود و در نتیجه شهرها را تخلیه کردند (۱).

خزنده‌گان مهره‌دارانی با بیش از ۷۰۰۰ گونه و قدمت بیش از ۱۶۰ میلیون سال هستند که امروزه چهارگروه از آنها باقی مانده‌اند که شامل ۱- کروکودیلیا (Crocodilia): کروکودیل‌ها، تماساح‌ها و کایمن‌ها - ۲- اسفنودونتیا (Sphenodontia): سوسناران دارای چشم سوم، مثل توآتارا، ۳- تستودین‌ها (Testudines): لاک پستان دریایی، خشکی - آبی و خشکی‌زی مطلق و ۴- اسکواماتا (Squamata): سوسناران، مارها و کرم سوسنارها می‌باشند (۲ و ۳). مارها احتمالاً در کرتاسه دور، با قدمتی بین ۱۰۰-۱۲۰ میلیون سال بیش، به وجود آمده‌اند (۴).

### ج- مارهای سمی (*Proteroglyphous*)

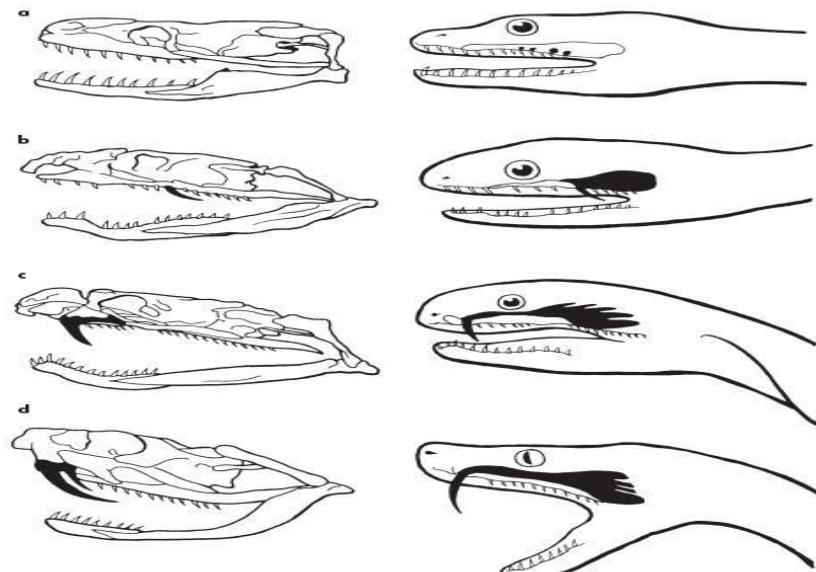
مارهای سمی، دارای سر مثلثی شکل و پهن‌تر از گردن می‌باشند. یک حفره (Facial pit) بین چشم‌ها و بینی آنها وجود دارد که گیرنده حرارت و ارتعاش می‌باشد، مردمک آنها عمودی و یا بیضی بوده و در فک فوقانی دارای ۲ عدد دندان زهری (نیش یا فنگ) غیرمتحرك و بعضًا متحرك می‌باشند (۸ و ۹).

پولک‌های انتهایی مارهای سمی یک ردیف در عرض بدن ولی در انواع غیر سمی دو ردیف هستند. مارهای سمی در فک فوقانی دارای دو عدد نیش غیرمتتحرك هستند، البته در بعضی از آنها متتحرك هستند. طول بدن مارهای سمی به دو متر می‌رسد و بعضی از آنها ۲۴ سال عمر می‌کنند. محل گزش مارهای سمی به صورت یک تا سه سوراخ می‌باشد، ولی محل گزش‌های غیر متتحرك مارهای غیر سمی به شکل دو ردیف سوراخ هلالی مشخص می‌شود.

هستند. از جمله این مارها را می‌توان خانواده تیفلوئیده (نظیر مار کرمی شکل)، لپتوتیفلوئیده (مار خاکی)، خانواده بوئیده یا بوآ (انواع کورمارها)، خانواده کلوبریده (مار آبی و کوتوله مارها) را نام برد (۸).

### ب- مارهای نیمه سمی (*Opisthoglypha*)

مارهای نیمه سمی ظاهری کم و بیش شیوه مارهای سمی دارند و یکی از وجوده تمایز آنها وجود دندان نیش خلفی شیاردار است که به غله سمی مار متصل است. مردمک چشم آنها ممکن است عمودی یا گرد باشد. از جمله این مارهای تاربوفیس چون سوسن مار، بویگا چون آلوسر، مالپولون چون طلحه مار و طلحه مار و پساموفیس چون تیرمار را می‌توان نام برد (۴ و ۸).



شکل ۱) انواع دستگاه زهری و دندان‌های نیش (فنگ) در مارها: a: آگلیفوس (Opisthoglypha)، b: اپیستوگلیفوس (Aglyphous)، c: پروتروگلیفوس (Solenoglyphous)، d: سولنوجلیفوس (Proteroglyphous)

خانواده کلوبریده (Colubridae) یا قمچه‌ماران شامل بومسلنگ (boomslang) و مارهای پرنده می‌باشند (۸). این خانواده از بزرگ‌ترین خانواده‌ها بوده و در تمام نقاط جهان (به جز برای استرالیا) یافت می‌شوند. اغلب مارها در این خانواده بی‌ضرر هستند اما برخی‌ها سمی هستند. برخی از کلوبریده‌ها بسیار سمی و خطرناک هستند. واضح‌ترین این مثال بومسلنگ برخی خانواده کروتالیده (Crotalidae)، افعی‌های منفذدار (pit viper)، را از زیر خانواده گرزه‌ماران در نظر می‌گیرند. آنها در تمام جهات شبیه به خانواده گرزه‌ماران هستند، به جز این‌دارای حفره حرارتی حساس، واقع در طرفین سر، بین سوراخ بینی و چشم دارا می‌باشند. حفره سنجش حرارتی اجازه می‌دهد که جانورانی که تنها دمای ۲/۱ درجه سانتی‌گراد بالاتر از دمای محیط داشته باشند را از فاصله ۱۲-۲۴ متری تشخیص دهند. این مرکز برای شکار طعمه خونگرم در شب استفاده می‌شود. خانواده کروتالیده معمولاً مارهای دنیای جدید هستند (۴). این خانواده شامل مارهای زنگی، دهان کتانی و سرمه‌ی سرمه‌ی نیش این مارها دراز و لولایی شکل بوده و هنگام بسته شدن دهان به طرف عقب، خم می‌شود. اعضاء این خانواده سر خود را همیشه به طرف جلو نگه داشته و ناگهان به قربانی خود حمله‌ور می‌شوند (۸).

### طبقه‌بندی مارهای سمی

بطور سیستماتیک، مارهای سمی عموماً در ۵ خانواده الاپیده (Elapidae)، ویپریده (Viperidae)، کلوبریده (Crotalidae)، کروتالیده (Colubridae) و هیدروفیده (Hydrophiidae) طبقه‌بندی می‌شوند (جدول ۱) (۴).

همه اعضای خانواده الاپیده (کفچه‌ماران) سمی هستند، اگر چه همه آنها برای انسان خطرناک نیستند (۴). مارهای این خانواده که تخم‌گذار هستند و در تمام دنیا به‌جز اروپا یافت می‌شوند شامل انواعی چون مارهای کبرا، کفچه مار، مارهای مرجانی هستند که سستی، خواب آلدگی، فلچ گلو و اصولاً عوارض عصبی و خونریزی از علایم مهم شایع گزش با آنها به شمار می‌آیند. مارهای این خانواده تخم‌گذار هستند.

خانواده ویپریده (Viperidae) یا افعی‌ها که در تمام دنیا به‌جز امریکا یافت می‌شوند شامل ده گونه خطرناک می‌باشند. این مارها که زنده‌زا هستند هنگام گزش بدون نیاز به گاز گرفتن، با فرو بردن نیش، زهر خود را وارد بدن قربانی می‌نمایند. پس از گزش، ابتدا هموگلوبینوری و سپس در اکثر آنها عدم انعقاد خون به وجود می‌آید. تورم، خونریزی موضعی، بروز دانه‌های قرمز رنگ در یکی دو ساعت اولیه، تعریق، سرگیجه، سیاهی رفتن چشم‌ها، لرز، کرختی اندام‌ها، نیستاگموس، تاکی پنه، تاکی کاردی، آنوری، کما، تشنج و آریتمی از تظاهرات گزش با آنها می‌باشند (۸).

جدول ۱) طبقه‌بندی مارهای سمی در ۵ خانواده الاپیده (Elapidae)، ویپریده (Viperidae)، کلوبریده (Crotalidae)، کروتالیده (Colubridae) و هیدروفیده (Hydrophiidae) و هیدروفیله آنها

مارهای	مثال‌ها	خانواده
الاپیده	کراپت‌ها، کبراها، مامباها، مارهای مرجانی	الاپیده
افعی‌ها	آمریکا، آفریقا، آسیا، استرالیا اروپا، آفریقا، آسیا، آمریکا	ویپریده
مارهای زنگی	آمریکا و قسمت‌هایی از جنوب آسیا	کروتالیده
مارهای درختی	همه دنیا بجز استرالیا، نیوزلند، ماداگاسکار، ایرلند، گرینلند، قطب جنوب و جزایر قناری	کلوبریده
مارهای دریایی	سواحل آسیا و استرالیا، اقیانوس آرام تا کرانه دریاهای آمریکای مرکزی و جنوبی	هیدروفیله

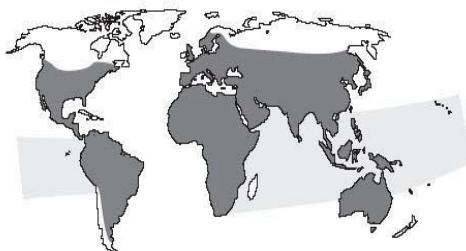
این مارها از خلیج فارس تا جنوب ژاپن و در سواحل دریاهای هند و استرالیا و سواحل جنوبی اقیانوس کیبر پیدا می‌شوند. نوعی از مار دریایی بنام پلامیس پلاتوروس (*Plamis Platurus*)، انتشار و پراکنده‌گی وسیع‌تری دارد. این مار را می‌توان تا صدها کیلومتر دورتر از سواحل پیدا کرد. در حالی که سایر انواع مارهای دریایی در آبهای کم عمق و نزدیک ساحل به زندگی خود ادامه می‌دهند. مارهای دریایی در آبهای کم عمق و نزدیک ساحل زندگی خود می‌کنند. مارهای دریایی از ماهی‌ها تغذیه می‌کنند. سر این مارها عموماً کوچک و دارای بدنه استوانه‌ای شکل و کشیده و دمی پهن می‌باشند. تمام مارهای دریایی سمی و زنده‌زا هستند. حداکثر طول مار دریایی را تا ۲۵۷ سانتی‌متر گزارش کرده‌اند (۹ و ۱۴).

بیشتر نواحی خطرناک برای شناکردن، دهانه رودخانه‌هast است چون در آن نواحی، تعداد مارهای دریایی بیشتر و آب هم گل آلود است. مارهای دریایی، از مارهای واقعی و بندهند هستند. آنها معمولاً کنجکاو بوده و اغلب به طرف غواص‌ها جذب می‌شوند. ولی به جز در فصل جفتگیری، معمولاً مهاجم نیستند (۱۴).

**طبقه‌بندی مارهای دریایی بر اساس الگوی تغذیه‌ای**  
مارهای دریایی شامل ۸۷ گونه هستند. آنها بر اساس الگوی تغذیه‌ای به دو گروه عمده تغذیه کننده‌های کفرو و گونه‌های شناور تقسیم می‌شوند.

**تغذیه کننده‌های کفرو**  
تغذیه کننده‌های کفرو تا ژرفای بیش از ۱۰۰ متر در آب فرو می‌روند. جنس لاتیکاودا (*Laticauda*) یا مارهای نواری از نمونه‌های بارز این تیپ است. آنها

شکل (۲)، توزیع جهانی مارهای سمی و مارهای دریایی را نشان می‌دهد.



شکل (۲) توزیع جهانی مارهای سمی. بخش خاکستری روش نشان دهنده محدوده تقریبی مکان مارهای دریایی است مناطق سفید سرزمین‌هایی است که تخمین زده می‌شود عاری از مارهای سمی باشد (۱۰).

### مارهای خانواده هیدروفیده (Hydrophidae)

مارهای دریایی گروه هیدروفیس (Hydrophidae) با اجداد مشترک خود، حدود ۵-۸ میلیون سال قدمت دارند. آنها از نظر اکومورفولوژیکی دارای تنوع بسیار زیادی می‌باشند (۱۱). خانواده دریاماران که شامل مارهای دریایی می‌باشند، توسط برخی به عنوان یک زیر خانواده از خانواده کفچه‌ماران تلقی می‌گردند. در شکل کلی، مارهای دریایی به الایپیده‌ها مشابه‌ت دارند، جز آنکه در آنها ویژگی‌های خاصی طراحی شده است که به آنها اجازه زندگی در محیط‌های دریایی را می‌دهد (۴). با وجود فقدان یک چارچوب فیلوزنیک و موانع زیاد در ارزیابی این گونه‌ها، آنها را بین ۱۰-۱۶ جنس، طبقه‌بندی نموده‌اند (۱۲ و ۱۳).

مار دریایی، خزنده‌ای با تنفس ششی است که با محیط آبی، با وجود دم پارویی مانند توسعه یافته‌اش، سازش پیدا کرده است. مارهای دریایی ساکن مناطقی از اقیانوس آرام، هند و دریای سرخ هستند و تا مساحت ۱۱۳ مایلی در آن سرزمین دیده می‌شوند (۱۴).

مانند و پهن هستند که هیچ مار خشکی‌زی، این نوع دم را ندارد (۱۵).

### مارهای دریایی خلیج فارس

خانواده مارهای دریایی دارای پنج گونه سمی هستند که در ایران فقط در خلیج فارس صید و یا شناسایی شده اند (۸).

**مار دریایی پوزه‌دار (*Enhydrina schistose*)** مارهای دریایی پوزه‌دار (Beaked sea Snake) یا منقار عقابی (hook-nosed)، از جنس انھیدرینا (Enhydrina)، در میان مارهای دریایی بچه‌زار، مشخص‌ترین بوده و به طور گسترده‌ای توزیع شده اند. آنها از مارهای دریایی دیگر، توسط پوزه بلند و باریک خود، متمایز می‌گردند (۱۳). طبقه‌بندی علمی مارهای دریایی پوزه‌دار در جدول (۲)، آورده شده است.

به سواحل و آب‌های نسبتاً کم ژرف محدود شده‌اند و محل پرورش و تخم‌گذاری آنها اغلب در سواحل، در درون غارها یا شکاف‌ها است و می‌توانند برای مدت طولانی در خارج از آب زندگی کنند.

### گونه‌های شناور (پلازیک)

گروه دوم، گونه‌های شناور (پلازیک) هستند که نمونه آن مار دریایی شکم بزرگ زرد (Pelamis platurus) است. این مارها در سطح، تغذیه می‌کنند. جفت‌گیری در دریا انجام می‌شود و مارها در آب، زنده هستند و چنانچه به ساحل یا خشکی پرتاپ شوند می‌برند. برای این مارها، گرمای زیاد کشته است و برای گریز از گرما، به آب‌های خنک ژرف پناه می‌برند. ولی در فصل باران و روزهای ابری، روی سطح دیده می‌شوند. مارهای خشکی‌زی نیز ممکن است وارد آب شوند و گاهی افتراق دشوار می‌شود. هر چند که مارهای دریایی، دارای دم پارو

جدول (۲) طبقه‌بندی علمی مارهای دریایی پوزه‌دار (*Enhydrina schistose*)

مار دریایی پوزه‌دار	
سرپیتس	زیر راسته
الاپیده	خانواده
ھیدروفیناھ	زیرخانواده
انھیدرینا	جنس
E. schistosa	گونه
آنیمالیا	
فرمانرو	آنیمالیا
شاخه	کروداتا
زیر شاخه	ورتبراتا
رده	ریتیلیا
راسه	اسکواماتا

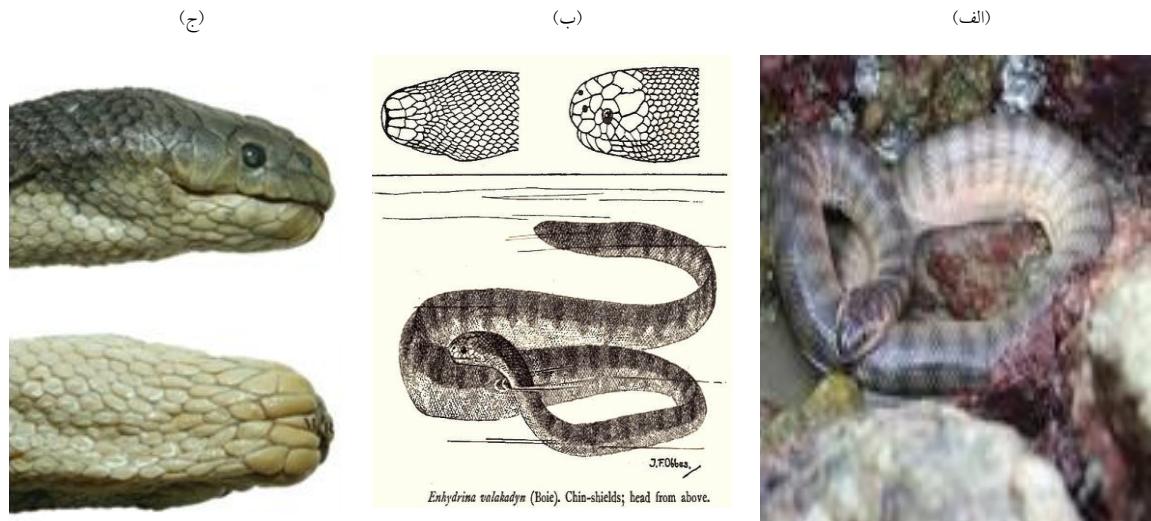
در مار بالغ، این خطوط کمی نامشخص و در بعضی نمونه‌ها بدن به رنگ خاکستری متمایل به سیاه و یکنواخت می‌باشد. سطح جانبی و شکمی آنها به رنگ روشن دیده می‌شود. حداکثر طول آنها ۱۳۰ سانتی‌متر و دم ۱۹ سانتی‌متر است (۹).

مار دریایی پوزه‌دار (شکل ۳)، در سواحل دریاها از خلیج فارس تا سریلانکا، آسیای جنوب شرقی، استرالیا و گینه نو دیده شده است (۱۳ و ۱۶). این گونه در درجه اول ساکن مناطق ساحلی بوده و به مقدار فراوان

از مشخصه آنها، ارتفاع پولک رستارال بیش از پهنهای آن است، پولک پیشانی کوچک (طويل و کوتاه‌تر از پولک آهیانه)، دارای یک پولک جلو چشمی و یک یا دو پولک عقب چشمی، معمولاً دارای یک پولک گیجگاهی، پولک‌های چین کوچک یا نامشخص، پولک‌های سطح پشتی دارای برآمدگی و کمی تیغه دار و در ۵۰ تا ۷۰ ردیف، پولک‌های سطح شکمی ۲۳۰ تا ۳۱۴ عدد می‌باشند. سطح پشتی آنها زیتونی یا خاکستری با خطوط عرضی سیاه رنگ بوده که معمولاً

دست می‌زنند ایجاد می‌نمایند (۱۰).

در مصب‌ها و تالاب‌ها دیده می‌شود و در آنجا خطرات قابل توجهی برای ماهیگیرانی که به تورها



شکل ۳) مار دریایی پوزه‌دار (Beaked sea Snake) (الف). شکل‌های شماتیک (ب) و تصویر سر و پوزه این مار دریایی (ج).

خطوط طولی سیاه رنگ و گاهی در قسمت گردن منقطع و به شکل خال دیده می‌شوند (۹ و ۱۷). همچنین، طول آنها به حدود ۲۷۵ سانتی‌متر می‌رسد (شکل ۴) (۱۷).

این مارها در اقیانوس هند (از خلیج فارس، پاکستان، هند، سریلانکا، بنگلادش، میانمار، تایلند، مالزی، فیلیپین: دریای ویسایان، پانای، و غیره) و آب‌های دریاهای اطراف کره، ژاپن، جزایر سلیمان، دریای چین جنوبی (از جمله هاینان)، شرق دریای چین (از جمله تایوان)، مناطق ساحلی شاندونگ و لیائونینگ (چین) و سواحل ایرانی خلیج فارس، عمان، امارات متحده عربی، در شرق از طریق آسیای جنوبی تا گینه نو. یافت گردیده‌اند (شکل ۴) (۱۸).

طبقه‌بندی علمی این مارها در جدول (۳)، آورده شده است.

**مار دریایی حلقه‌دار (Hydrophis cyanocinctus)** مار دریایی حلقه‌دار (Annulated Sea Snake)، دارای یک سر متوسط، بدن کشیده، پهنه‌ای پولک رسترال بیش از ارتفاع آن، پولک بینی کوتاه‌تر از پولک پیشانی، طول پولک پیشانی بیش از عرض آن و کوتاه‌تر از پولک آهیانه می‌باشد. این مار دارای یک پولک جلو چشمی و یک یا دو پولک عقب چشمی هستند. لب بالای آنها دارای ۷ تا ۸ پولک، دو پولک گیجگاهی، دو پولک چین خلفی جدا از هم است. پولک‌های و دو پولک چین قدامی برابر و به هم متصل سطح پشتی آنها بر جسته یا کمی تیغه دار و در ۳۹ تا ۴۵ ردیف، به علاوه ۲۸۱ تا ۳۸۵ پولک سطح شکمی می‌باشند. بدن آنها معمولاً به رنگ سبز زیتونی با خطوط عرضی زیتونی تیره، سیاه و گاهی زرد یا قهوه‌ای هستند. این خطوط در قسمت گردن پهن‌تر و در سطح زیرین بدن حلقه‌ای و در سطح پشتی با



شکل ۴) مار دریایی حلقه‌دار (*Hydrophis cyanocinctus*) و پراکندگی جغرافیایی آنها (۱۷).

مار دریایی خلیج فارس (*Hydrophis lapemoides*)  
دریایی خلیج فارس (Persian Gulf Sea Snake)  
مارهای خلیج فارس)، در ضخیم‌ترین ناحیه بدن خود، دارای پولک‌های سطح پشتی کم و بیش شش گوش با به شکل مربع می‌باشد که غالباً پولک‌ها به صورت بر جسته یا پهلوی هم قرار می‌گیرند. در فک

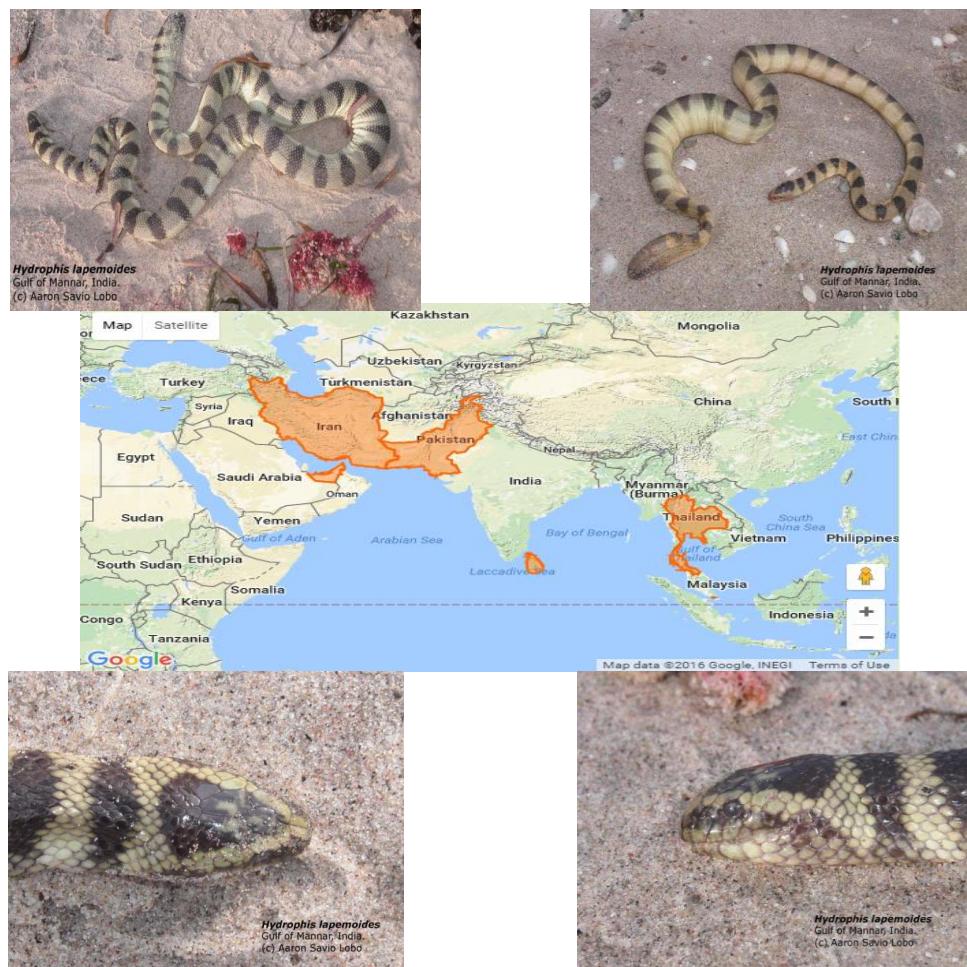
جدول ۳) طبقه‌بندی علمی مار دریایی حلقه‌دار

**(*Hydrophis cyanocinctus*)**

مار دریایی حلقه‌دار			
سرپرنس	زیر راسته	آنیمالیا	فرمانرو
الاپیده	خانواده	کروماتا	شاخه
هیدروفینائه	زیرخانواده	وربراتا	زیر شاخه
هیدروفیس	جنس	رتیلیا	رده
<i>H. cyanocinctus</i>	گونه	اسکواماتا	راسته

و پولک‌های سطح شکمی از ۳۰۰ تا ۴۰۴ عدد می‌رسند (۹ و ۱۹). بدن آنها به رنگ خاکستری کم رنگ و در سطوح جانبی و شکمی متمایل به سفید روشن می‌باشند. گاهی رنگ بدن زرد روشن متمایل به سفید دیده می‌شوند. به علاوه، بدن دارای ۳۳ تا ۴۵ عدد باند تاریک بوده که در سطح پشتی پهن‌تر و در سطح جانبی باریک به نظر می‌رسند. گاهی رنگ بدن در بالغین، سبز تیره و در نوزادان سیاه‌رنگ هستند (۹ و ۲۰).

بالایی پشت فنگ‌ها تعداد ۸ تا ۱۳ دندان، یک پولک جلو چشمی، دو یا سه پولک عقب چشمی، دو یا سه پولک گیجگاهی خلفی قرار دارند. لب بالایی با ۷ یا ۸ پولک (سومین و چهارمین یا سومین و چهارمین و پنجمین پولک لب بالا متصل به چشم) و لب پائین دارای ۸ پولک هستند. پولک‌های سطح پشتی در ناحیه گردن کمی برجسته یا تیغ‌دار و در قسمت خلفی بدن به شکل چند ضلعی و پهلو هم قرار دارند. مرکز هر پولک برجسته بوده و پولک‌های پشتی ۴۰ تا ۵۱ عدد



شکل ۵) مار دریایی خلیج‌فارس (*Hydrophis lapemoides*) و پراکنده‌گی جغرافیایی آنها.  
منابع: <http://reptile-database.reptarium.cz/species?genus=Hydrophis&species=lapemoides>  
<http://www.iucnredlist.org/details/176741/0>

### مار دریایی زرد (*Hydrophis spiralis*)

مار دریایی زرد، دارای سری تقریباً کوچک و بدن کمی کشیده می‌باشدند (شکل ۶). پهناهی پولک رسترا از آنها، بیش از ارتفاع آن، طول پولک پیشانی بیش از عرض آن و پولک پیشانی کوتاه‌تر از پولک آهیانه می‌باشد. آنها یک پولک جلو چشمی و یک پولک عقب چشمی، یک پولک گیجگاهی، لب بالا با ۷ تا ۹ پولک، دو جفت پولک چین متصل به هم، پولک‌های سطح پشتی ۲۹ تا ۳۹ ردیف، پولک‌های سطح شکمی نسبتاً بزرگ و ۲۸۲ تا ۳۷۳ عدد دارا می‌باشد. در نوزادان پولک‌های سطح پشتی به هم پیوسته، صاف یا (فاقد تیغه) و در مارهای بالغ قسمت میانی پولک بر جسته، بدن در سطح پشتی زیتونی و در سطح شکمی زرد رنگ، همراه با حلقه‌های سیاه رنگ و ممتد در سطح شکمی، سطح پشتی با چند سری خال سیاه در فواصل حلقه‌ها، سطح بالای سر سیاه با شکل نعل اسپی زرد رنگ و ممتد تا قسمت پولک‌های جلو پیشانی و انتهای دم سیاه دیده می‌شوند. حداکثر طول آنها ۱۸۰ سانتی‌متر و دم نیز ۱۴ سانتی‌متر می‌باشد (۹).

ناحیه دم آنها دارای ۶ تا ۷ خط بوده و سر به رنگ زیتونی تیره با خط زرد هلالی شکل بین نوک سوراخ‌های بینی که در نوزادان مشخص و در بالغین نامشخص یا فاقد آن هستند. ناحیه گلوی آنها به رنگ سفید کدر دیده می‌شوند. حداکثر طول آنها به ۹۶ سانتی‌متر می‌رسد (۲۱). مار دریایی خلیج فارس، در آبهای گرم کم عمق نزدیک ساحل، در میان صخره‌ها، شن‌ها و علف‌های دریایی به چشم می‌خورند. همان‌گونه که از نام آنها پیداست در خلیج فارس یافت می‌شوند. وجود آنها همچنین در سواحل سریلانکا، هند، سنگاپور، تایلند و جزایر مالزیایی پنانگ نیز به ثبت رسیده‌اند (شکل ۵) (۲۲ و ۲۳). حضور آنها در اعماق پایین تراز ۳۰ متر، با محدودیت توأم است. طبقه‌بندی علمی این مارها در جدول (۴) آورده شده است.

جدول (۴) طبقه‌بندی علمی مار دریایی خلیج فارس (*Gray, 1849*) (*Hydrophis lapemoides*)

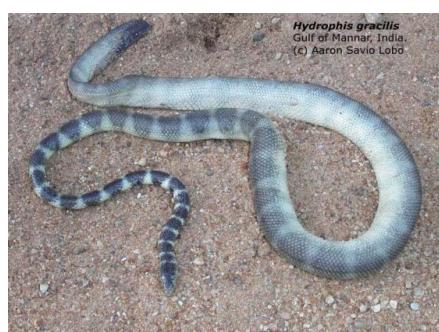
مار دریایی خلیج فارس	
فرماترو	آئیمالیا
سرپیتس	زیر راسته
شاخه	کرو داتا
الایده	خانواده
زیر شاخه	ورتبراتا
هیدروفینانه	زیرخانواده
رد	جنس
هیدروفیس	ریتیلیا
<i>H. lapemoides</i>	گونه
	اسکواماتا
	راسته



شکل ۶) مار دریایی زرد (*Hydrophis spiralis*). منبع: <http://www.irandeserts.com/content/>

مار دریایی سر کوچک (Seasnake) (Hydrophis gracilis) بسیار کوچک، باریک و سطح فوقانی آن محدب می‌باشد (شکل ۷).

مار دریایی سر کوچک (Hydrophis gracilis) (Graceful Small Headed) سر این مار دریایی



شکل ۷) مار دریایی سر کوچک (*Hydrophis gracilis*) (تصاویر بالا و پایین) و پراکندگی جغرافیایی آنها (تصویر وسط). منبع:  
<http://reptile-database.reptarium.cz/species?genus=Hydrophis&species=gracilis>

### مار دریایی شاو (*Lapemis curtus*)

مارهای دریایی شاو (Shaw's Sea Snake)، دارای بدن و پوزه کوتاه و ناحیه سر پهنی می‌باشند (شکل ۸). آنها تعداد ۱۴۰ تا ۲۱۹ پولک سطح شکمی کوچک و مشخص دارند و در نرها در قسمت قدامی بدن، دارای بر جستگی هستند. در فک بالای آنها به فاصله‌ای از فنگ‌ها دارای ۳ تا ۵ دندان وجود دارد. پولک‌های جلو چشمی و عقب چشمی منفرد، دو پولک گیجگاهی قدامی و سه یا چهار پولک گیجگاهی خلفی، چند پولک آهیانه نامنظم منقسم از مشخصات آنهاست. لب بالای آنها دارای شش یا هفت پولک (چهارمین پولک آن به چشم متصل) و لب پائینی دارای نه پولک می‌باشند. پولک‌های چین قدامی، کوچک و از هم مجزا ولی فاقد پولک‌های چین خلفی هستند. سطوح جانبی بهم فشرده و پولک‌های سطح پشتی ۳۳ تا ۴۳ عدد بوده که به شکل صاف یا مرکز هر پولک به خصوص در ردیف‌های تحتانی، بر جسته به نظر می‌رسند. سطح بالای بدن آنها به رنگ زرد، زیتونی یا خاکستری و سطح زیرین آنها سفید رنگ و دارای ۴۵ تا ۵۵ خال باریک عرضی به رنگ خاکستری تیره یا سیاه هستند که در سطوح جانبی خال‌ها باریک‌تر می‌شود. در نوزادان، ناحیه سر سیاه رنگ و در بالغین به رنگ زیتونی خاکستری با علائم یا بدون علائم هالی شکل دیده می‌شوند. حداکثر طول آنها ۸۵ سانتی‌متر و دم به ۸ سانتی‌متر می‌رسد (۹).

آنها در مناطق خلیج فارس (عمان، امارات متحده عربی و ایران)، اقیانوس هند (پاکستان، سریلانکا، هند و کرالا)، ویتنام، شمال دریای چین شمالی تا سواحل فوجیان و شاندونگ شانه تایوان، ساحل شمالی استرالیا (تریتوری شمالی، کوئینزلند، غرب استرالیا)،

بدن آن کشیده و در قسمت قدامی آن استوانه‌ای شکل، گردن نامشخص، پولک‌های سر بزرگ و سوراخ بینی به سمت بالا متمایل است. پولک‌های بینی بهم متصل، پولک رسترال بزرگ و ارتفاع آن کمی بیش از پهنای آن است. پولک پیشانی از سومین پولک لب بالا مجزا، پولک‌های جلو چشمی، عقب چشمی و گیجگاهی منفرد و لب بالای دارای ۵ یا ۶ پولک (سومین و چهارمین پولک آن به چشم متصل) هستند. دومین پولک لب بالای به پولک جلو پیشانی متصل و لب پایین دارای ۶ تا ۷ پولک می‌باشند. چین قدامی و چین خلفی کوتاه و برابر، ناحیه گردن استوانه‌ای شکل، پوزه و سطوح جانبی بهم فشرده‌اند. پولک‌های سطح پشتی در ناحیه گردن ۱۷ تا ۱۹ ردیف و در ضخیم‌ترین قسمت بدن ۳۰ تا ۳۶ ردیف به طور طولی و چند ضلعی قرار دارند. پولک‌های سطح شکمی ۲۰ تا ۲۸۶ ردیف در قسمت قدامی بدن منفرد و در قسمت خلفی منقسم هستند. پولک‌های سطح پشتی در قسمت قدام بدن صاف، بلند و کمی بر جسته و در قسمت خلفی بدن چند ضلعی و پهلوی هم قرار دارند و هر پولک دارای مرکزی بر جسته است. قسمت قدامی بدن شامل تمام ناحیه سر و گلو به رنگ سیاه یا زیتونی تیره و در دو طرف گردن با خال‌های سفید یا زرد رنگ پریده یا با خال‌های عرضی روشن دیده می‌شوند. قسمت خلفی بدن زرد متمایل به سبز با خال‌های سفید یا خاکستری، گاهی سطح پشتی خاکستری یکنواخت و سطح جانبی و شکمی روشن دیده می‌شوند. نوزادان آنها دارای رنگی تیره با خال‌های روشن می‌باشند. حداکثر طول آنها ۱۰۲ سانتی‌متر و دم آنها ۹ سانتی‌متر بوده است (۹). آنها در خلیج فارس، سواحل هندوستان، چین، هنگ‌کنگ و احتمالاً سواحل استرالیا پراکنده‌اند (شکل ۷).

اندونزی، چین، ژاپن، گینه نو) و مالزی پراکنده شده‌اند فیلیپین (پانای)، اقیانوس آرام (میانمار، تایلند،



شکل ۸) مار دریایی شاو (*Lapemis curtus*) (تصویر بالا) و پراکنده‌گی جغرافیایی آنها (تصویر پایین).

[منع:](http://reptile-database.reptarium.cz/species?genus=Hydrophis&species=curtus)

## مواد و روش‌ها

این مطالعه که شامل دو بخش واضح، بخش اول: عمومی مشتمل بر اطلاعات عمومی در زمینه انواع مارها، طبقه‌بندی و خصوصیات آنها بر اساس الگوهای مختلف، با محوریت مارهای دریایی و بهویژه مارهای دریایی خلیج فارس، همراه با خصوصیات آناتومی، دستگاه زهری و پراکنده‌گی جغرافیایی آنها می‌باشد که برای این منظور با جستجو در موتور جستجوی گوگل (google)، از منابع مقالات لاتین، وبگاه‌های

از دیگر نام‌های این مارهای دریایی را می‌توان هیدروفیس هاردویکی (*Hydrophis hardwickii*) (Gray, ۱۸۳۴)، هیدروس کورتوس شاو (*Hydrus curtus* Shaw, ۱۸۰۲)، هیپسیرینا هاردویکی (*Hypsirhina hardwickii* (Gray, ۱۸۳۴) و *Lapemis hardwickii* (Gray, ۱۸۳۴) اشاره نمود.

"*Hydrophis gracilis* toxin" نتیجه‌ای در بر نداشت که با جستجوی تنها واژه "*Hydrophis gracilis*", دو مطالعه که اولی در خصوص مشخصات فیلوزنیک مارهای دریایی و دومین نیز که دارای ارتباط با موضوع بود، با نتایج جستجوهای دیگر مشترک بود. برخی از مقالات در جستجوهای مختلف، مشترک بودند. از این میان، مطالعه‌ی که دارای ارتباط مستقیم به موضوع بودند، انتخاب و مورد بررسی قرار گرفتند.

### بحث

زهر مار، یک منبع غنی و متنوع از پروتئین فعال دارویی و اجزای پپتیدی هستند (۲۴). برخی از این اجزاء، آنزیم و برخی نیز پروتئین‌های غیر آنزیمی یا پلی‌پپتیدی هستند. بسیاری از آنها همچون سلاح‌های تهاجمی، برای صید شکار به کار برده می‌شوند. تزریق زهر به طعمه، منجر به بی‌حرکتی، مرگ و پس از آن کمک به هضم غذا می‌گردد (۲۵). زهر، همچنین ممکن است برای مقاصد دفاعی، برای حفظ جانور از شکارچیان، استفاده شود (۲۶).

مارهای دریایی در آب شور زندگی می‌کنند و زهر آنها ممکن است از مارهای زمینی متفاوت باشد. به دلیل مشکلات در به دست آوردن زهر مار دریایی، اطلاعات، در مورد مارها دریایی کاملاً ناقص است (۲۷).

### توکسین‌های زهر مار دریایی پوزه‌دار (*Hydrophis schistosus*)

توکسین‌های سه انگشتی (3FTx)، فسفولیپاز A2 کریسپ (CRISP)، متالوپروتئاز زهر مار (SVMP) و L-آمینو اسید اکسیداز (LAAO) در سال ۲۰۱۵، پروتئوم زهر مار دریایی پوزه‌دار *Hydrophis schistosus* صید شده در آبهای مالزی، با استفاده از HPLC فاز معکوس، SDS-PAGE و

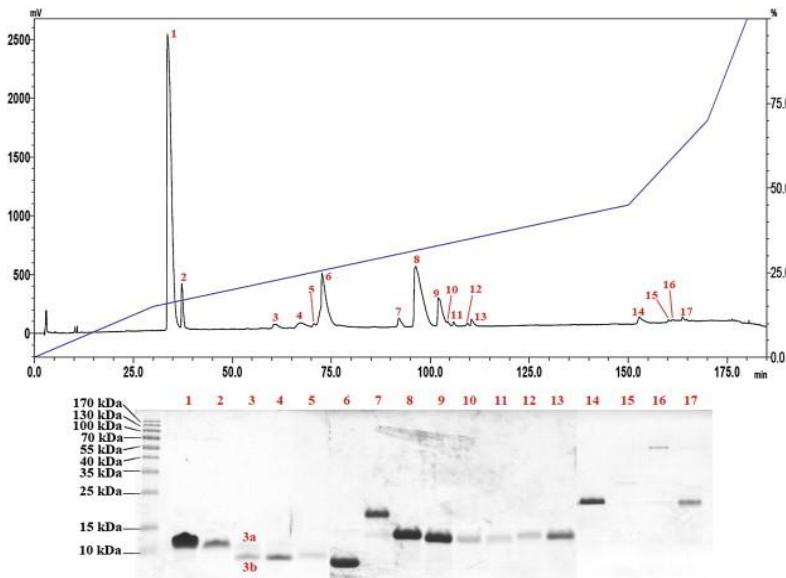
reptile-database نظری و database.reptarium.cz iucnredlist (به ویژه جهت تصاویر و پراکندگی جغرافیایی آنها) و همچنین کتب فارسی معتبر و محدود موجود، استفاده گردید. در بخش اختصاصی، به منظور بررسی توکسین‌های مارهای دریایی، در تاریخ ۲۰۱۶/۸/۱۰ در وبگاه "pubmed"، واژگان هیدروفیس شیستوس توکسین "Hydrophis schistosus toxin" هیدروفیس سیانوسینکتوس توکسین "Hydrophis cyanocinctus toxin" لاموئیدس توکسین "Hydrophis lapemoides toxin" هیدروفیس اسپرالیس توکسین "Hydrophis spiralis toxin" توکسین "Lapemis curtus toxin" و همچنین واژه هیدروفیس گراسیلیس توکسین "Hydrophis gracilis toxin" به صورت مجزا، جستجو گردیدند و متن مقالات آن، از نظر ارتباط با موضوع و انتخاب مقالات مورد نظر، مورد بررسی قرار گرفتند.

### یافته‌ها

جستجوی واژگان هیدروفیس شیستوس توکسین "Hydrophis schistosus toxin" سیانوسینکتوس توکسین "Hydrophis cyanocinctus toxin" لاموئیدس توکسین "Hydrophis lapemoides toxin" هیدروفیس اسپرالیس توکسین "Hydrophis spiralis toxin" و همچنین، لامیس کورتوس توکسین "Lapemis curtus toxin" به ترتیب کورتوس توکسین "toxin" به ترتیب "toxin" به ترتیب ۳۲، ۹، ۲، ۲ و ۴ نتیجه در بر داشتند. جستجوی واژه هیدروفیس گراسیلیس توکسین

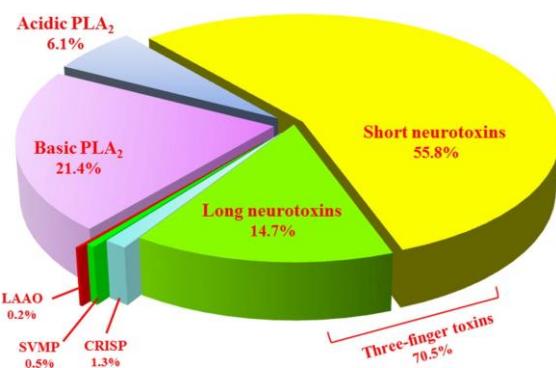
آنالیز HPLC فاز معکوس، از زهر این مار دریایی، ۱۷ پیک را به همراه داشت. جرم‌های ملکولی آن، توسط SDS-PAGE با ژل ۱۵ درصد، ارزیابی گردیدند (شکل ۹).

کروماتوگرافی مایع طیف سنجی (high-resolution liquid chromatography-)، توسط Tan (tandem mass Spectrometry) و همکاران مورد بررسی قرار گرفت (۲۸).



شکل ۹) HPLC فاز معکوس با ستون C<sub>18</sub> در ۲۱۵ نانومتر (پانل بالای صفحه) و SDS-PAGE در ۱۵ درصد ژل پس جمع‌آوری فراکشن‌های زهر (پانل پایین).

ایزوفرم بازی (۲۱/۴ درصد) و سه اسیدی (۶/۱ درصد) تشکیل یافته بودند. پروتئین‌های جزئی شامل یک کریسپ (۱/۳ درصد)، دو متالوپروتئاز زهر مار (۰/۵ درصد) و یک LAAO (۰/۲ درصد) بودند (۲۸).



شکل ۱۰) توکسین‌های سه انگشتی (3FTx)، فسفولیپاز A<sub>2</sub>، کریسپ، متالوپروتئاز زهر مار (CRISP) و L-آمینو اسید اکسیداز (SVMP)، مربوط به زهر مار دریایی پوزه‌دار (LAAO) و سهم هر کدام در زهر.

پروتئین‌های مشاهده شده در باندهای SDS-PAGE نیز با استفاده از طیف سنجی جرمی با وضوح بالا شناسایی گردیدند. این یافته‌ها حضور ۱۸ پروتئین ونوم را نشان داد. این پروتئین‌ها متعلق به پنج خانواده توکسین‌ها، شامل توکسین سه انگشتی (3FTx)، فسفولیپاز A<sub>2</sub> (toxin)، سیستئین کریسپ (CRISP) از سیستئین، متالوپروتئاز زهر مار (LAAO) و L-آمینو اسید اکسیداز (SVMP) بودند (شکل ۱۰) (۲۸).

توکسین سه انگشتی، حدود ۷۰/۵ درصد از کل پروتئین زهر را تشکیل داده بود که آن هم خود شامل سه نوروتوكسین کوتاه (۵۵/۸ درصد) و چهار نوروتوكسین بلند (۱۴/۷ درصد) بود. خانواده PLA<sub>2</sub> از چهار

بررسی مرگ و میر آنها تا ۴۸ ساعت پس از تزریق را نشان می‌دهد.

جدول (۵)، دوز متوسط کشته (LD<sub>50</sub>) توکسین‌های *Hydrophis schistosus* عمده موجود در زهر تجویز شده از راههای داخل وریدی و زیرجلدی و

جدول (۵) دوز متوسط کشته (LD<sub>50</sub>) توکسین‌های عمده زهر *Hydrophis schistosus* تجویز شده از مسیرهای داخل وریدی و زیرجلدی (۴۸ ساعت از تزریق) (میکروگرم بر گرم)

فراکشن	توکسین	LD <sub>50</sub> تزریق زیرجلدی	LD <sub>50</sub> تزریق وریدی	LD <sub>50</sub>
۱F	نروتوکسین کوتاه	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۷
۲F	نروتوکسین کوتاه	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۹
۶F	نروتوکسین بلند	۰/۲۸	۰/۱۸	۰/۲۸
۸F	فسفولیپاز A2 بازی	۰/۶۳	۰/۰۸	۰/۰۸
۹F	فسفولیپاز A2 اسیدی	کمتر از ۱/۲۰	کمتر از ۱/۲۰	کمتر از ۱/۲۰

می‌شود) و مار دریایی شاو (*Lapemis curtus*) مالزی و سپس مقایسه آن با زهر کالوسلاما رودستوما (*Naja* و *Calloselasma rhodostoma*) و ناجا کاوتیا (*kaouthia*) و بررسی اثر بالقوه خشی‌سازی آتنی و نوم‌های ضد مار کبری در برابر زهر مارهای دریایی *H. curtus* و *H. schistosus* مالزیایی پرداختند. نتایج مطالعه آنها نشان داد که هر چهار مار دریایی دارای قدرت مرگ‌آوری بسیار قوی در موش‌ها ایجاد نمودند (جدول (۶)).

جدول (۶) مقایسه دوز مهلک میانی (LD<sub>50</sub>) به دست آمده از راههای تجویز مختلف در موش، مربوط به چهار مار دریایی

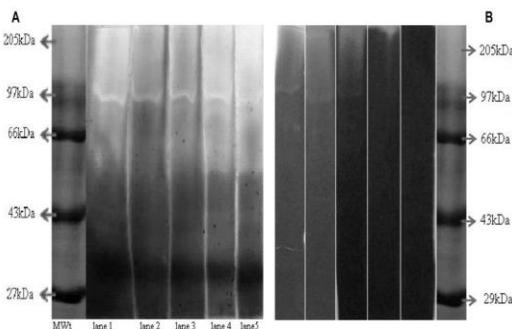
LD <sub>50</sub> s.c.	LD <sub>50</sub> i.m.	LD <sub>50</sub> L.V.	نوم (میکروگرم بر گرم)
۰/۰۹	۰/۱۰	۰/۰۷	<i>Hydrophis schistosus</i> مالزیایی
۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۱۱	<i>Hydrophis curtus</i> مالزیایی
-	-	۰/۱۰	<i>Laticauda laticaudata</i>
-	-	۰/۲۲	<i>Laticauda semifasciata</i>

فعالیت‌های ژلاتینازی و کازئینازی زهر *E. schistosa* داموثران (Damotharan) و همکاران، در سال ۲۰۱۵ (۳۴)، به جداسازی و شناسایی پروتئین زهر فعال بیولوژیکی و بیوشیمیایی از مار دریایی

گزارش پروتئوم نوم مار دریایی شکم زرد (Lomonte *P. platura*) و همکاران در سال ۲۰۱۴، مبنی بر پیچیدگی بیشتر پروتئوم گزارش شده نسبت به این مطالعه بود. زهر *P. platura* دارای مقدار بیشتر کریپ (۱/۳ درصد) در مقایسه با مقدار آن در مطالعه تان و همکاران (۱/۳ درصد) بود. علاوه بر این، مقداری ۵'-نوكلئوتیداز (5'-nucleotidase) و همچنین برخی پروتئین‌های غیرتوکسینی (۲/۱۰/۸ درصد) و ناشناس در پروتئوم زهر *P. platura* وجود داشتند که در زهر *H. schistosus* شناسایی نشد (۲۹). در آنالیز این نوم، هیچ ترکیب سیتوتوکسیک یا کاردیوتوكسیکی در پروتئوم زهر دیده نشد. عدم مشاهده کلون سیتوتوکسین در زهر غده مربوط به *Aipysurus eydouxii* دیگر مارهای دریایی چون نیز صدق می‌کند (۳۰-۳۲).

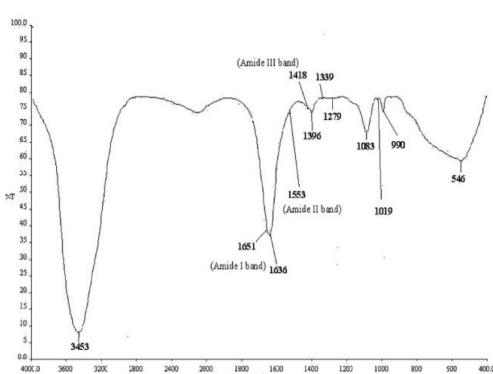
قدرت سمیت نوم‌های چند مار دریایی مالزیایی تان و همکاران (۳۳)، به بررسی برخی خصوصیات نوم‌های مار دریایی پوزه‌دار (*Hydrophis schistosus*) که در مالزی، به نام مار دریایی نوک نهنگی شناخته

پروتئین زهر خالص سازی شده، با یک LC50 برابر ۲/۰ میکروگرم بر میلی لیتر، فعالیت‌های آنزیمی و هیدرولیز ژلاتین (در pH بهینه ۵-۹) و کازئین را از خود نشان داد. (شکل ۱۳).



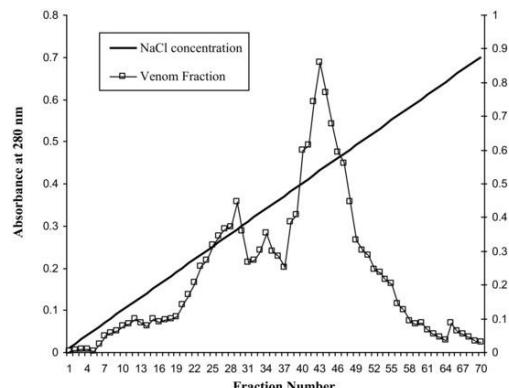
شکل ۱۳) فعالیت‌های ژلاتینولیتیکی (A) و کازئینولیتیکی (B) زهر *E. schistose*

به نقل از نویسنده‌گان این مطالعه، این بخش کم وزن مولکولی پروتئین زهر می‌تواند بالقوه در خدمت جنبه‌های بیولوژیکی و دارویی، قرار گیرد. شکل ۱۴) طیف FT-IR زهر خالص سازی شده و وجود سه باند آمیدی را در طیف مربوطه، نشان می‌دهد (۳۴).



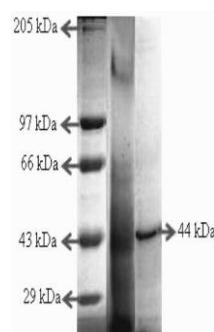
شکل ۱۴) طیف FT-IR زهر خالص سازی شده *E. schistose*

*Enhydrina schistose* پرداختند. خالص سازی زهر در ستون DEAE-Sلولز در تعادل با بافر فسفات ۰/۰۱ مolar انجام پذیرفت و جذب فراکشن‌های زهر خام جمع‌آوری شده و غلظت پروتئین آنها در طول موج ۲۸۰ نانومتر به دست آمد. بلندترین پیک خالص سازی شده توسط کروماتوگرافی تبادل یونی، مربوط به فراکشن‌های ۳۹-۴۹ بود (شکل ۱۱) (۳۴).



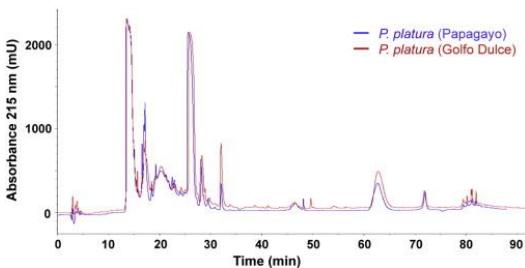
شکل ۱۱) خالص سازی زهر *E. schistosa* در ستون DEAE-Sلولز. زهر خام در ستون (۱۶×۱/۵ سانتی متری) در تعادل با بافر فسفات ۰/۰۱ M NaCl و یک گرادیان خطی از ۰/۵-۰/۰۱ Molar pH ۶/۴ استفاده شد. چهار میلی لیتر به میزان مساوی (حجم کل ۳۰۰ میلی لیتر) استفاده شد. چهار میلی لیتر به میزان مساوی جمع‌آوری شدند. خطوط کامل و شکسته، به ترتیب جذب مربوط به این فراکشن‌ها و پروتئین را در طول موج ۲۸۰ نانومتر نشان می‌دهد.

در مرحله نهایی خالص سازی، در هشتاد درصد خلوص، یک تک باند پروتئینی در حدود ۴۴ کیلو دالتون، تحت شرایط کاهشی بر روی ژل SDS-پلی‌آکریل آمید، مشاهده شد (شکل ۱۲).



شکل ۱۲) آنالیز SDS-PAGE زهر *E. schistosa* (لاین ۱: نشانگر وزن مولکولی؛ لاین ۲: زهر خام؛ و لاین ۳: زهر خالص).

جمعیت، تفاوت قابل توجهی در بیان پروتئین زهر،  
دیده نشد (۲۹)،

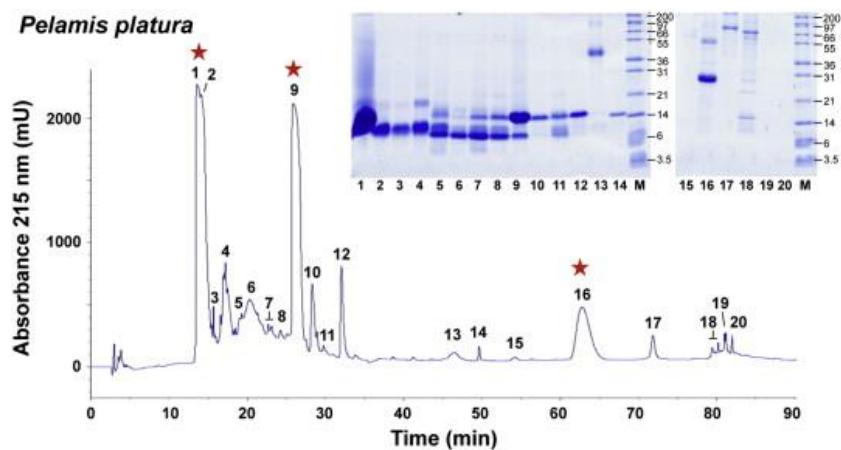


شکل (۱۵) مقایسه کروماتوگرامهای مربوط به نمونهای پروتئینی نمونهای جمع آوری شده مار دریایی شکم زرد (*Pelamis platura*) در دو منطقه کاستاریکا (خليج پاپاگایو و خليج دولک)، با فاز HPLC C<sub>18</sub> معکوس در یک ستون

SDS-PAGE به علاوه، فرآشن‌های زهر، توسط مورد بررسی قرار گرفت و پروتئین‌های هضم تریپسینی شده، توسط nESI-MS/MS یا MALDI-TOF-TOF مشخص گردیدند (شکل (۱۶)).

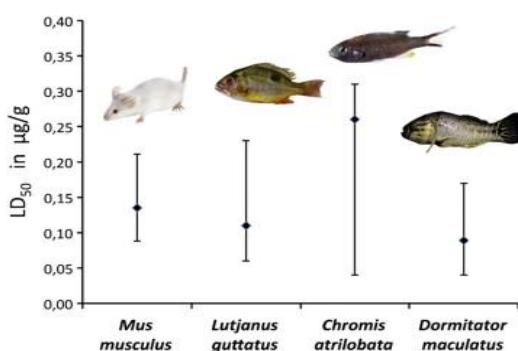
### پلامیتوکسین و دیگر اجزاء اصلی زهر مار دریایی شکم زرد (*P. platura*)

مار دریایی شکم زرد (*Pelamis platura*)، از نظر جغرافیایی دارای توزیع گسترده‌ای است. با وجود اینکه دارای یک نوم بسیار کشنده است، آنالیز پروتئوم ترکیب توکسین آن تا قبل از مطالعه لومونت و همکاران در دسترس نبوده است. در مطالعه لومونت و همکاران در سال ۲۰۱۴ (۲۹)، نمونهای نمونهای جمع‌آوری شده مار دریایی شکم زرد (*Pelamis platura*)، در دو منطقه کاستاریکا (خليج پاپاگایو و خليج دولک) با شکل و رنگ متمایز، از نظر کروماتوگرافی مورد مقایسه و بررسی قرار گرفته شدند. آنالیز RP-HPLC پروفایل زهر پروتئین هر دو جانور، با وجود فنوتیپ رنگ متفاوت دارای شباهت زیادی بودند. همان‌طور که در شکل (۱۵) نشان داده شده است، مقایسه پروفایل RP-HPLC فنوتیپ خود را حفظ نموده و تغییر الگوی رنگ متمایز بین این دو



شکل (۱۶) پروفایل شویشی پروتئین نونوم مار دریایی شکم زرد (*Pelamis platura*) به روش HPLC (خليج Dulce) فاز معکوس بر روی یک ستون C<sub>18</sub> (۲۵×۴/۶ میلی‌متر) شستشو با یک گرادیان استونیتریل حاوی ۱٪ درصد تری‌فلورواستیک اسید. فرآشن‌های زهر روش SDS-PAGE در ۱۲ درصد و رنگ‌آمیزی با کوماسی بلو R-۲۵۰ مورد بررسی قرار گرفت (بالای شکل). نشانگر وزن مولکولی (M)، در سمت راست. پروتئین‌های هضم تریپسینی شده، توسط nESI-MS/MS یا MALDI-TOF-TOF مشخص شد. سه پیک زهر، با فراوان‌ترین مقدار، با ستاره نشان داده شده است.

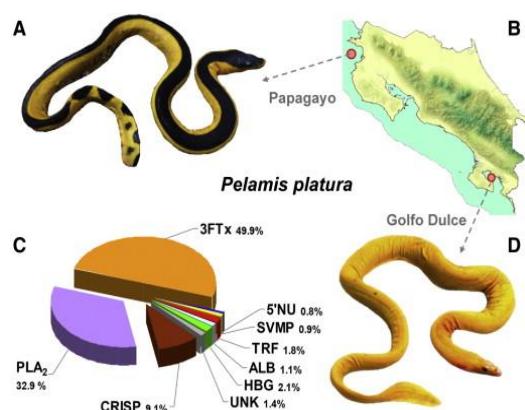
مشخصات کروماتوگرافی زهر *Pelamis platura* ساده در نظر می‌رسد (شکل ۱۷) و شباهت زیادی به زهر الپیده‌های زمینی مانند کبرای آفریقایی (۳۵) و برخی مار مرجانی نظیر میکروروس آلتیروستریس (*Micrurus altirostris*) و میکروروس کورالینس (*M. corallines*) (۳۶) و میکروروس میپارتیتوس (*M. mipartitus*) (۳۷) و یا الپیده دریایی سیانوسیکتوس هیدروفیس (*Hydrophis cyanocinctus*) (۳۸) دارد. از نظر قدرت مرگ‌آوری، با وجودی که پلامیتوکسین، در موش، بسیار مهلك بود، هیچ کدام از فراکشن‌های PLA2 و CRISP موجب مرگ نگردیدند. آنزیم PLA2 پس از تزریق عضلانی به سرعت موجب افزایش فعالیت کراتین کیناز پلاسمما و فعالیت میوتوكسیک آن گردید. فعالیت میوتوكسیک PLA2 در آنها متفاوت از مکانیزم عمل PLA2 ویپریدها است. دوزهای کشنده میانی (LD<sub>50</sub>) زهر خام برای *P. platura* معنی‌داری نداشتند (شکل ۱۸).



شکل ۱۸) دوزهای کشنده میانی (LD<sub>50</sub>) زهر خام برای *P. platura* در موش و در سه گونه ماهی.

جرم‌های مولکولی متوسط سه جزء اصلی زهر مار دریایی شکم زرد (A: پیک‌های ۲-۱، ۳FTx: پیک ۹،

همچون روند مشاهده شده در زهر دیگر مارهای دریایی، *P. platura* نسبتاً ساده بوده و از پروتئین‌های توکسین سه انگشتی (3FTx)، فسفولیپاز (PLA2)، پروتئین ترشحی غنی از سیستئین (کریپ)،<sup>۵</sup> نوکلتوتیداز و خانواده متالوپروتئیناز تشکیل شده بود. سه گروه اول مذکور به ترتیب، دارای مقادیر ۹/۱، ۳۲/۹، ۴۹/۹ درصد از پروتئین زهر کل بودند. فراوانترین جزء آنها (~ ۲۶ درصد) مربوط به پلامیتوکسین (pelamitoxin (P62388)، یک ۳FTx کوتاه زنجیر و یک PLA2 بازی (~ ۲۰ درصد) و یک گروه از سه ایزوفرم کریپس (~ ۹ درصد) بودند (شکل ۱۷). پلامیتوکسین با اتصال به گیرنده‌های استیل کولینی نیکوتینی عضله (nAChR) و جلوگیری از اتصال استیل کولین به گیرنده، موجب اختلال در انتقال عصبی- عضلانی می‌گردد (۲۹).



شکل ۱۷) دو واژگ رنگ (A) *Pelamis platura* از ریشه‌های جغرافیایی مختلف در کاستاریکا (خلیج پاپاگایو و خلیج دولک) (B)، تفاوت چندانی در پروفایل پروتئین زهر دیده نمی‌شود. فراوانی نسبی پروتئین زهر به عنوان درصدی از کل محتوای پروتئین در (C) نشان داده شده است. توکسین‌های سه انگشتی، 3FTx، CRISP، PLA2، پروتئین ترشحی غنی از سیستئین: ۵'-NU: نوکلتوتیداز؛ SVMP: متالوپروتئینازهای زهر مار؛ TRF: ترانسفرین؛ ALB: آلبومین؛ HBG: هموگلوبین؛ UNK: ناشناخته.

## میوپاتی و رابدمیولیز ناشی از تلکیح زهر *E. schistosa*

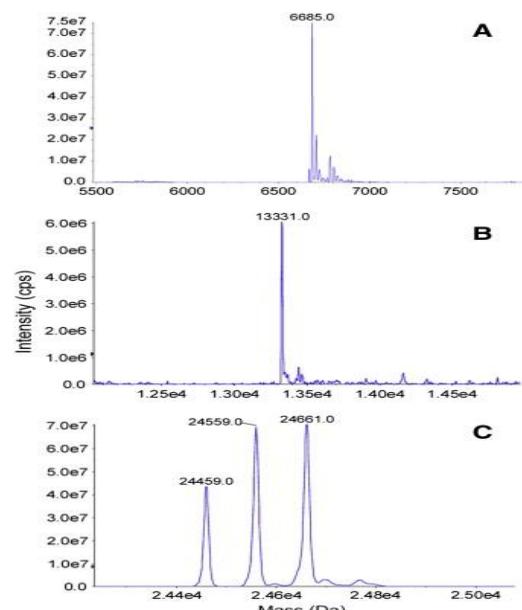
مارهای دریایی ساکن آب‌های گرمسیری اقیانوس هند و اقیانوس آرام، بسیار سمی هستند. گونه‌های مار دریایی *Enhydrina schistosa* در آب‌های ساحلی، تالاب‌ها، دهانه رودخانه و مصب خلیج فارس از طریق سریلانکا و تا جنوب شرقی آسیا زندگی می‌کنند. این مار به عنوان یکی از مهاجم‌ترین مارهای دریایی در سریلانکا است که ماهیگیران و مردم را در معرض خطر قرار می‌دهد. در سه مورد گزارش مختلف به ثبت رسیده توسط کولاراتنه (Kularatne) و همکاران در سال ۲۰۱۴ (۳۹)، سه قربانی با درجات مختلفی از شدت تلکیح زهر *E. schistosa* به دو بیمارستان در ساحل غرب سریلانکا مراجعه نمودند. اولین بیمار، یک ماهیگیر ۲۶ ساله بود که درد عضلانی شدید با سطح کراتین کیناز بسیار بالا (CK) بود. بیمار دوم یک ماهیگیر ۳۲ ساله با میوگلوبینوری، سطح CK بالا و هایپرکالمی داشت. هر دو بیمار بهبود یافته، در ثبت الکترومیوگرافی خود ویژگی‌های میوپاتی را نشان دادند (شکل ۲۰) (۳۹).

شکل (۲۱)، الکترومیوگرافی (EMG) فرد میوپاتیک مذکور را نشان می‌دهد.



(ب)

C: پیک ۱۶، PLA2 با تزریق مستقیم به nESI-MS به دست آمدند (شکل ۱۹) (۲۹).

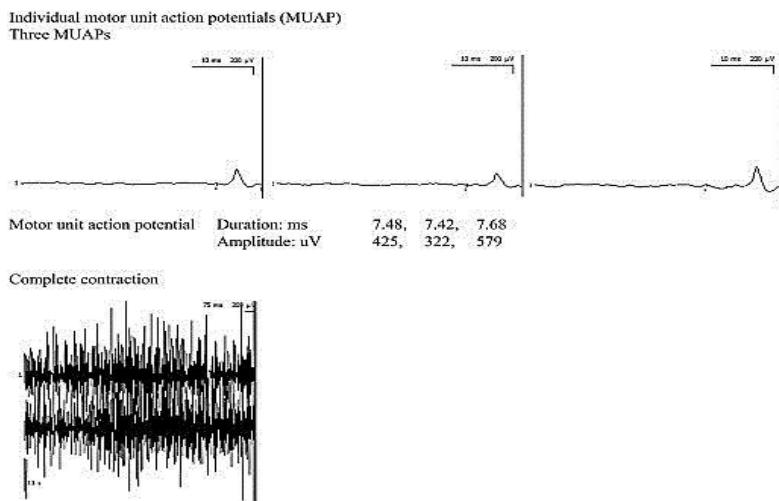


شکل ۱۹) جرم‌های مولکولی متوسط از سه جزء اصلی زهر مار دریایی شکم‌زرد (A: پیک‌های ۲-۱، B: ۳FTx، C: PLA2، ۱۶، پیک CRISP)، با تزریق مستقیم به nESI-MS در یک نرمافزار ABSciex QTrap3200 به دست آمدند



(الف)

شکل ۲۰) الف: فک باز در قربانی ناشی از تلکیح زهر *E. schistosa* با خصوصیات میوپاتیک ب: ادرار قرمز تیره ناشی از شدت تلکیح زهر *E. schistosa* در ماهیگیر ۳۲ ساله سریلانکایی.



شکل ۲۱) ثبت الکتروموگرافی نشان دهنده کوتاه مدت دامنه کم با الگوی اولیه سازگار با اختلال میوپاتیک، ناشی از شدت تلخی زهر *E. schistose*

بیمار سوم، یک مرد ۴۱ ساله بود که توسط یک مار دریایی در دهانه رودخانه گام مورد گزش قرار گرفت. درد شدید عضلانی، هفت ساعت پس از گزش و پس از آن رابdomیولیز شدید دیده شد و قربانی پس از سه روز، به علت ضایعه‌های قلبی درگذشت. این مشاهدات، مؤید این است که *E. schistosa* یک مار دریایی کشنده بوده و گزش با آن موجب رابdomیولیز شدید می‌گردد (۳۹). در یک مطالعه، دو پروتئین به وجود آورنده میوگلوبینریا در موش، از زهر مار الپیده استرالیایی *Pseudechis colletti* نظر ترکیب‌های اسید آمینه، شباهت بسیار زیادی با آنزیم‌های فسفولیپاز A و با عمل مشابه به ونوم مار دریایی پوزه‌دار (*Enhydrina schistosa*) از خود نشان دادند (۴۰).

**زرهای نروتوکسیک چند مار دریایی و پاسخ‌های انقباضی آنها به استیل کولین**

چتی (Chetty) و همکاران در ۲۰۰۴ (۴۱)، نروتوکسیستی زهر چند مار دریایی انھیدرینا شیستوسوس (*Enhydrina schistose*) لامیس کورتوس

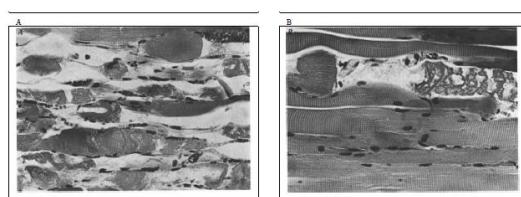
لایکودا (*Lapemis curtus*) کلوبرینا، آپیسوروس لایویس (*Laticauda colubrina*)، آپیسوروس فوسکوس (*Aipysurus laevis*)، آپیسوروس فولیوسکواماتوس (*Aipysurus fuscus*) و آپیسوروس (*Aipysurus foliosquamatus*) را در محدوده‌های جغرافیایی ویپا و مالزی مورد بررسی قرار دادند. زهر مار ببری زمینی نوتکس (*Notechis scutatus*) نیز به عنوان مرجع در نظر گرفته شد. زهر تمام این مارها در دوزهای ۱ و ۳ میکروگرم بر میلی‌گرم، موجب مهار انقباض غیرمستقیم عضله بیونتر سرویسیس (*biventer cervicis*) جوجه گردیدند. بدین منظور، مدت زمان ایجاد نود درصد مهار طول تؤیچینگ عضله محاسبه گردیدند. زهر همه مارهای دریایی، در غلظت یک میکروگرم / میلی‌لیتر، به طور قابل توجهی قوی‌تر از زهر *N. scutatus* بودند. پاسخ‌های انقباضی به استیل کولین و کارباکول (CCh) و نه به KCL اگزوژن، به طور قابل توجهی توسط ونوم همه مارهای دریایی و همچنین *N. scutatus* مهار گردیدند (شکل ۲۲).

این داده‌ها، فعالیت عصبی پس سیناپسی قوی زهر مار دریایی را تأیید می‌نماید. در واقع، این توکسین‌ها، حتی بر روی اتصالات عصبی عضلانی اسکلتی، بسیار قوی‌تر از مارهای زمینی هستند.

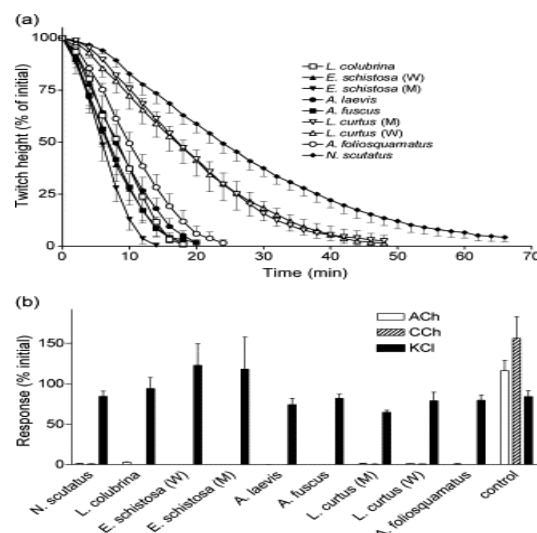
### سمیت‌های عصبی و عضلانی زهر مار دریایی (*Enhydrina schistosa*) پوزهدار

فعالیت‌های فسفولیپازی A2 زهر مار دریایی پوزهدار (*Enhydrina schistosa*) به صورت داخل وریدی و یا داخل عضلانی به موش و اثرات آن بر پاسخ‌های انقباضی و انتقالات عصبی - عضلانی در عضله سولئوس (عضله کند انقباضی) و لونگوس اکستانسور انگشتان (e.d.l: عضله تن انقباضی)، خصوصیات مورفولوژیکی عضلات و نیز هیستوشیمی آنریم، توسط بروک (Brook) و همکاران، مورد مطالعه قرار گرفتند (۴۲).

تلقیح زهر، یک کاهش سریع و غیر قابل برگشت در پتانسیل استراحت غشاء فیبرهای عضلانی عضلات سولئوس و با تأثیر بسیار کمتری بر e.d.l، پس از پاسخ به تحريك مستقیم یا غیرمستقیم به وجود آوردن. رهاسازی خود به خودی و برانگیختگی قابل ملاحظه ناقل، تقریباً در تمام پایانه صفحات (end-plates)، دیده شدند. هیچ کاهش آشکاری در حساسیت غشاء پس سیناپسی مشاهده نگردید. بیشتر فیبرهای عضلانی عضلات سولئوس و حدود ۵۰ درصد از e.d.l نکروزه شدند (شکل ۲۳).



شکل ۲۳) تصویر بخش‌هایی از سولئوس (A) و (B) e.d.l. در ۲۴ ساعت پس از تزریق i.v. A2. در سولئوس همه فیبرها نکروزه شده‌اند در e.d.l. فقط یک فیبر نکروزه دیده می‌شود.

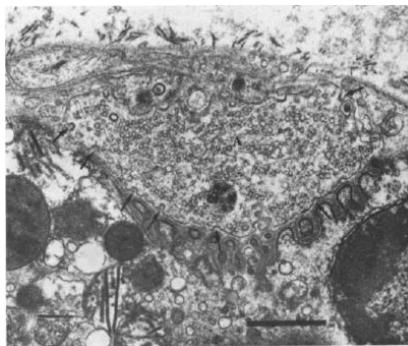


شکل ۲۲) اثر وnom‌ها (۳ میکروگرم بر لیتر) روی (a): تؤییج‌های واسطه‌ای غیرمستقیم در نمونه‌های عصب- عضله بیونتر سرویسیس (biventer cervicis) (جوچه و (b): پاسخ‌ها به استیل کولین (ACh)، کارباقول (CCh) و پتاسیم کلرید (KCl)). مهار قابل توجه پاسخ‌های انقباضی به استیل کولین و کارباقول (و نه به پتاسیم کلرید اگرچه)، به طور توسط وnom همه مارهای دریایی و مار *N. scutatus*.

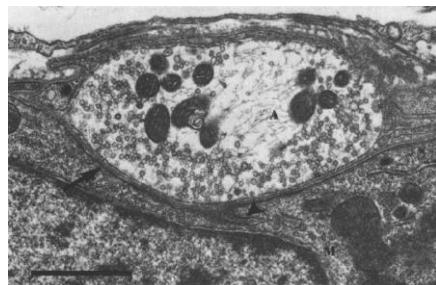
در غلظت‌های یک میلی‌مولار و ۲۰ میکرو مولار، به ترتیب پاسخ قابل توجهی به مهار استیل کولین و کارباقول (CCh) نشان دادند که نشان دهنده حضور پس سیناپسی توکسین‌ها بود (جدول ۷).

جدول ۷) مقادیر  $T_{90}$  (دقیقه) وnom‌های مارهای دریایی.  
اختلاف‌ها نسبت به مقدار مار زمینی *N. scutatus* مقایسه  
گردیده است ( $P < 0.05$ )

زهر مار	
۳	۱
۱۰/۵	۲۱/۲ (مالزی)
۱۳	۳۳/۱ ( <i>E. schistosa</i> )
۱۳/۱	۳۹/۹ ( <i>E. schistosa</i> )
۱۴/۶	۴۴/۵ ( <i>L. colubrina</i> )
۱۵/۵	۴۴ ( <i>A. laevis</i> )
۱۸	۲۷/۵ ( <i>A. foliosquamatus</i> )
۳۳/۵	۶۴/۹ ( <i>L. curtus</i> )
۳۶/۵	۴۵/۴ ( <i>L. curtus</i> )
۵۳/۲	۱۴۴/۳ ( <i>N. scutatus</i> )



شکل (۲۵) تصویر یک پایانه آکسونی توسط میکروگراف الکترون (A) در سولتوس ۳ ساعت پس از پس از تزریق v. A. فسفولیپاز ۲، تعدادی آنگا شکل در غشای آکسولما دیده می‌شوند. فیر عضله به شدت بهم ریخته است.

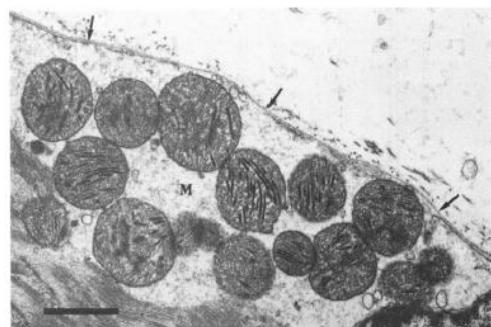


شکل (۲۶) اتصالات عصبی عضلانی در سولتوس یک ماه پس از تزریق داخل عضلانی فسفولیپاز ۲. پایانه آکسونی (A) نرمال و فیر عضله (M) ترمیم یافته بود. غشای پس سیناپسی (فشن) غیر معمولی بود و فقط یک تک چین‌های کوتاه دیده شدند. (نوك پیکان).

### فسفولیپازهای اسیدی زهر مار دریابی (*Enhydrina schistosa*)

دو آنزیم فسفولیپاز اسیدی از زهر مار دریابی (*Enhydrina schistosa*) با استفاده از ژل‌های کروماتوگرافی در سفادکس G-۷۵ و تبادل یونی Bio-Rex 70 و سپس تکرار با کروماتوگرافی تبادل یونی DEAE-A-25، خالص‌سازی شده و دو ترکیب همگن به دست آمده با الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید و کروماتوگرافی تبادل یونی نشان داده شدند. مشخص گردید که آنزیم باید برای دو موقعیت لسیتین زرده تخم مرغ، اختصاصی باشد. وزن مولکولی هر دو آنزیم تعیین شده توسط کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون و الکتروفورز ژل SDS-پلی آکریلامید،

همچنین، هیستوشیمی فیرهای نوع ۱ و ۲ تحت تأثیر قرار گرفتند. مشاهدات میکروسکوپی الکترونی نشان داد که در فاز حاد (تا ۲۴ ساعت)، ضایعات پلاسمالامایی و بهم ریختگی شدید ساختار داخلی فیرهای عضلانی وجود دارد (شکل ۲۴).



شکل (۲۴) میکروگراف الکترون فیرهای عضله سولتوس ۳۰-۱۵ دقیقه پس از تزریق v. A. فسفولیپاز ۲. فیر عضله (M) به شدت بهم ریخته است و میتوکندری آن متاهب و نرم و همچنین ضایعات پلاسمالامایی (فشن) دیده می‌شوند.

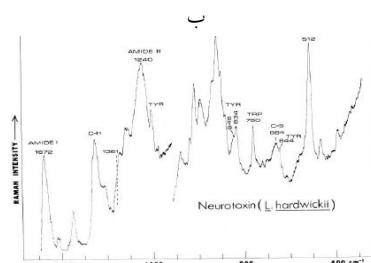
در مقابل، پایانه‌های عصبی موتور چون آکسون‌های میلین‌دار در اعصاب عضلانی دست نخورده باقی مانده بودند. یک افزایش گذرا در تعداد پروفایل‌های امگا شکل در آکسولما و وزیکول پوشش داده شده در پایانه‌های عصبی در طی ۳-۱ ساعت دیده شد، اما پس از ۲۴ ساعت، پایانه‌های عصبی موتور، به صورت طبیعی، ظاهر شدند. چین‌های پس سیناپسی در پایانه‌های عصبی موتور، در عضله بازسازی شده، از نظر عمق و تعداد، کاهش قابل توجهی نشان دادند (شکل ۲۵).

در بسیاری از اتصالات عصبی عضلانی مورد مطالعه، در طول یک تا چهار ماه پس از دژنرasiون عضلانی ناشی از PLA2 موضعی، چین‌های پس سیناپسی غشای سارکولمایی از نظر تعداد و عمق در مقابل پایانه‌های طبیعی، کاهش یافته بودند (شکل ۲۶).

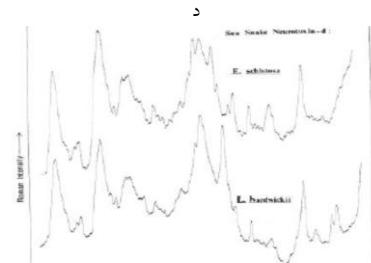
انهیدروتوکسین a، مشابه به مقادیر گزارش شده پیشین، مربوط به توکسین‌های انهیدرا (*Enhydrina*) می‌باشد (۴۴).

### نوروتوكسین‌های زهر مارهای دریایی *Enhydrina schistosa* و *Lapemis hardwickii*

نونهای خانواده هیدروفیده حاوی نوروتوكسین‌های قوی هستند که در اتصالات عصب-عضله، با گیرنده استیل کولین پیوند برقرار می‌کنند. توکسین عمدۀ زهر مارهای دریایی *Enhydrina hardwickii* و *Lapemis hardwickii* *schistosa* قبلًا جداسازی و گزارش گردیده بود. این توکسین‌های خالص، توسط طیف سنجی رaman لیزر، جهت روشن شدن ارتباط ساختاری و عملکردی نوروتوكسین، مورد مطالعه قرار گرفتند. طیف‌های مربوط به پودر، محلول آبی، و مشتقات دوتریومی هر توکسین به دست آمدند (شکل ۲۷) (۴۵).



طیف رامان نوروتوكسین خالص جدا شده از زهر پودری *Lapemis hardwickii*



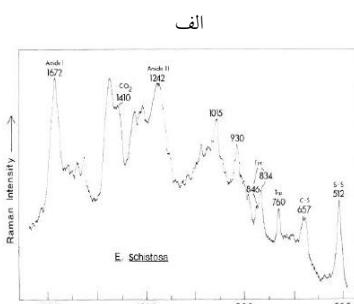
طیف رامان توکسین‌ها پس از تغییر دوتریوم (نمونه پودری در DzO صد درصد).

حدود ۱۴۰۰۰ بود. داده‌های ترکیب آمینواسیدی، نشان دهنده محتوای بالایی از اسپارتیک اسید، گلیسین و آلانین در هر دو آنزیم بود (۴۳).

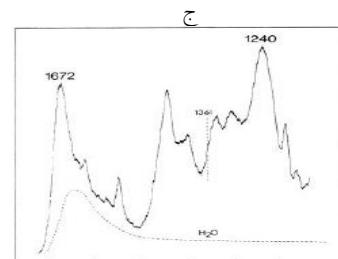
### انهیدروتوکسین‌های (enhydrotoxins) نون مار دریایی *Enhydrina schistosa*

گوید و گایتوند (Gawade & Gaitonde)، سه ترکیب نروتوکسیک، معروف به انیدروتوکسین‌های A، B و C را از نون مار دریایی *Enhydrina schistosa* جداسازی نمودند (۴۴). دوز میانی مهلك داخل وریدی آنها (LD<sub>50</sub> i.v)، در موش به ترتیب ۰/۰۴۲، ۰/۰۴۵ و ۰/۰۵۲ میلی‌گرم/کیلوگرم بود.

هر سه توکسین، به صورت برگشت‌ناپذیر، موجب مهار انتقال عصبی- عضلانی شدند. لغو پاسخ به استیل کولین، نشان دهنده یک جایگاه عمل پس‌سیناپسی این توکسین‌ها است. وزن مولکولی و ترکیب اسید آmine



طیف رامان نوروتوكسین خالص جدا شده از زهر پودری *Enhydrina schistosa*



طیف رامان نوروتوكسین خالص جدا شده از زهر *Lapemis hardwickii* در محلول آبی در pH 7

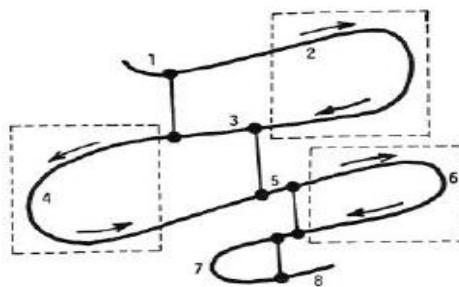
شکل ۲۷) طیف رامان نوروتوكسین خالص جدا شده از زهرهای پودری الف: *Enhydrina schistose* ب: *Lapemis hardwickii* ج: طیف رامان نوروتوكسین خالص جدا شده از زهر *Lapemis hardwickii* در محلول آبی در pH 7 در DzO صد درصد.

C-C-S-S-C-C تقریباً برای هر چهار پیوند دی سولفید در مولکول است. در طیف رامان لیزر و آنالیز اسید آمینه عدم وجود فنیل آلانین، به دلیل فقدان پیک آن مشخص گردید. آمینواسیدهای موجود در زهراها شامل لیزین، هیستیدین، آرژینین، اسپارتیک اسید، ترئوین، سرین، گلوتامیک اسید، پرولین، گلیسین، آلانین، والین، متیونین، ایزولوسین، لوسین، تیروزین، نیمه سیستین و تریپتوфан، ولی با مقادیر متفاوت در برخی از امینواسیدها بودند (۴۵).

### *Zehr Marhahay Drayabihi Khelij Faras*

کالوت (Calvete) و همکاران در سال ۲۰۱۲ به بررسی توکسینولوژی مار زمینی *Toxicocalamus longissimus* و مارهای دریابی *Hydrophis cyanocinctus* زمینی *Toxicocalamus longissimus* در جزیره وودلارک (Woodlark) (دایره قرمز)، در شمال مجمع الجزایر لئوپارساد، در نوک شرقی خلیج میلن (Milne)، استان پاپوا گینه نو و مارهای دریابی *Hydrophis cyanocinctus* دریابی حرا در شمال خلیج فارس جمع‌آوری شدند. مارهای دریابی مار حلقه‌دار، *H. cyanocinctus* در واقع از تورهای ماهیگیری صیادان میگویی محلی در طول ماه اکتبر تا دسامبر سال ۲۰۱۰ در منطقه حفاظت شده دریابی ایران جمع‌آوری شده بودند و زهر نیش آنها با استفاده از نوک پیپت، آسپیره و سپس آزاد شدند (شکل ۲۹). زهر مخلوط، در نیتروژن مایع ذخیره و پس از لیوفلیزه شدن تا زمان آنالیز در ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده بودند.

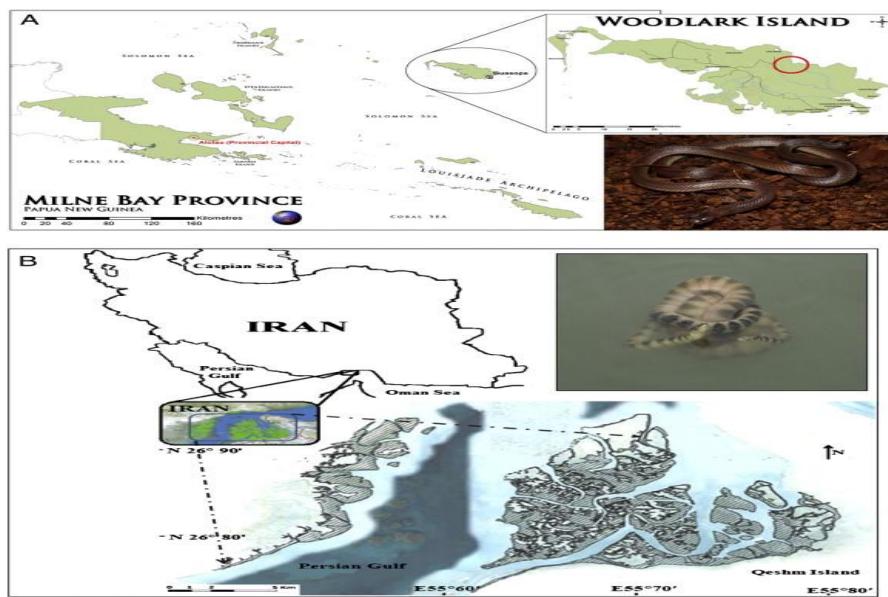
به نظر می‌رسد که ترکیب ساختاری پیتید این نوروتوكسین‌ها، به صورت "پیکربندی بتا غیرموازی"، به صورت باندهای آمیدی مجزای I و III، به ترتیب در طول موج‌های ۱۶۷۲ و ۱۲۴۰ ( $\text{cm}^{-1}$ )، ظاهر گردند (شکل ۲۸).



شکل ۲۸) ساختار دو بعدی نوروتوكسین تیپ یک، نشان دهنده یک پیکربندی غیرموازی پیتید.

هیچ نشانه‌ای از ساختار مارپیچی آلفا در نوروتوكسین، در باندهای آمیدی I و III مشاهده نگردید. پیک‌ها به دلیل یک باقی مانده تیروزین در ( $\text{cm}^{-1}$ ) ۸۳۴، ۶۴۴ و ۸۴۶ ظاهر شدند. نسبت‌های شدت توکسین زهر، *L. hardwickii*، در این طول موج‌ها به ترتیب ۰/۹۲، ۰/۱۰، ۰/۸۴ بودند. این مانده تیروزین است که در برخی از فعل و انفعالات درون مولکولی غیر معمول درگیربوده و به راحتی برای مولکول‌های آب، در دسترس نیست. همین نتیجه، برای توکسین دسترس نیست. همین نتیجه، برای توکسین *Enhydrina schistosa* است که تنها ۵۰ درصد از مولکول تیروزین اصلاح شده توسط نیتراسیون، در توافق کامل با نتیجه لیزر رامان می‌باشد. فقدان یک خط رامان تیز در  $\text{cm}^{-1}$  ۱۳۶۱، ممکن است نشان دهنده بقایای تنها تریپتوfan، در معرض قرار گرفته باشد.

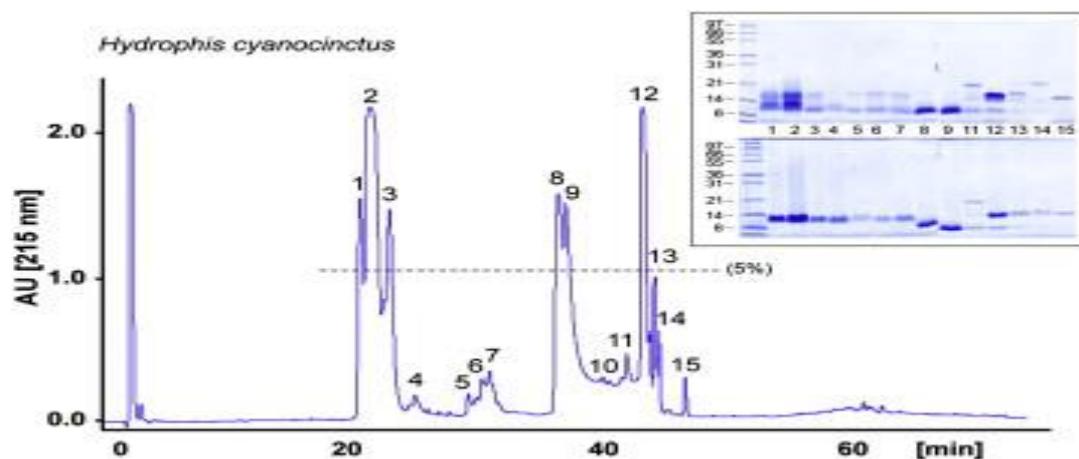
یک پیک دی سولفیدی نسبتاً متقاضان در ۵۱۲ ( $\text{cm}^{-1}$ )، نشان دهنده یکسان بودن رابطه هندسی



شکل ۲۹ (الف) مار زمینی *Toxicocalamus longissimus* در جزیره وودلارک (Woodlark) (دایره قرمز)، در شمال مجتمع الجزایر لوثیسیاد، در نوک شرقی خلیج میلن (Milne)، استان پاپوا گینه نو و (ب) مارهای دریایی *Hydrophis cyanocinctus* از منطقه حفاظت شده دریایی حرفا در شمال خلیج فارس جمع‌آوری شدند.

جمع‌آوری و تحت شرایط کاهشی، جهت آنالیز SDS-PAGE استفاده گردیدند (شکل ۳۰).

هدفه پروتئین (پنج PLA2 نوع I و دوازده 3FTx)، در ۱۵ فراکشن زهر *H. cyanocinctus* از هم جدا شدند. همچنین فراکشن‌ها، به صورت دستی



شکل ۳۰ بروتون ۲ میلی‌گرم زهر خام *Hydrophis cyanocinctus* بر روی یک ستون C<sub>18</sub> HPLC توسط ESI-MS مورد آنالیز قرار گرفتند. SDS-PAGE تحت شرایط کاهشی جهت تعیین جرم ملکولی استفاده شدند. همچنین، فراکشن‌های SDS-PAGE

مولکول PLA2، یک فراوانی نسبی بیش از ۵ درصد را دارا بودند. همان طور که از فراوانی نوروتوکسین انتظار می‌رود، LD50 زهر *H. cyanocinctus* برای موش، نسبتاً کم و در تزریق‌های داخل وریدی و داخل صفاقی به ترتیب ۰/۱۳۲ و ۰/۱۷۲ میکروگرم/ گرم بودند. چنین توکسیستی بالا (LD50 بین ۰/۰۴ تا کمتر از ۱ میکروگرم/ گرم)، از خصوصیات زهرهای نوروتوکسیک پس‌سیناپسی مارهای دریایی است (۳۱)، ۴۱، ۴۶–۴۹. سرعت عمل نوروتوکسین‌های پس سیناپسی، ممکن است تحت فشار انتخابی برای بی‌حرکت نمودن سریع و کشنن سریع طعمه در حال حرکت در یک محیط آبی به وجود آمده باشد.

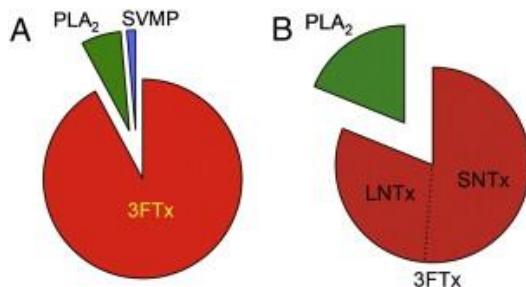
**rSN311** - نوروتوکسین *Hydrophis cyanocinctus* Daudin  
**rSN285** و **rSN316** مار دریایی  
 سه ژن مختلف، به نام‌های sn311، sn285 و sn16 توسط تعیین توالی تصادفی بزرگ مقیاس کتابخانه cDNA کیفیت بالای مربوط به غدد ونوم از مار دریایی *Hydrophis cyanocinctus* Daudin در سال ۲۰۰۳ کشف پنگ (Peng) و همکاران در سال ۲۰۰۳ کشف گردیدند (۵۰). آنالیز توالی نشان داد که این سه ژن، سه زنجیره مختلف کوتاه آلفا نوروتوکسین از ۸۱ اسید آمینه، مشتمل بر یک پیتید سیگناال ۲۱ اسید آمینه‌ای و سپس یک پیتید بالغ ۶۰ اسید آمینه‌ای را کدگذاری می‌کند. مقایسه اسید آمینه‌ها نشان داد که پیتیدهای بالغ می‌کند. مقایسه اسید آمینه‌ها نشان داد که پیتیدهای بالغ sn311 و sn316 بسیار همسان بوده و تنها در موقعیت ۴۶، محل Lys46 و Ser46، دارای اختلاف هستند. پیتید بالغ sn285 فاقد اسیدهای آمینه حفاظت شده در زنجیره کوتاه آلفا نوروتوکسین‌ها، Asp31 و Arg33 می‌باشد.

توکسین‌های سه انگشتی و پروتئین PLA2 نوع I، به ترتیب، ۸۱ و ۱۹ درصد از پروتئوم زهر را تشکیل می‌دادند. توکسین‌های سه انگشتی، با توجه به تشابه توالی N ترمینال و جرم مولکولی، به نوروتوکسین‌های کوتاه زنجیر و بلند زنجیر طبقه‌بندی شدند (جدول ۸ و شکل ۳۱).

جدول ۸) درصد از خانواده‌های مختلف توکسینی در زهر *H. cyanocinctus* و *T. longissimus*

		خانواده پروتئین
Hc	Tl	پروتئین‌های زهری تام (%)
۸۱/۱	۹۲/۱	توکسین سه انگشتی
۵۱/۱	-	نوروتوکسینهای کوتاه زنجیر
۲۹/۴	-	نوروتوکسینهای بلند زنجیر
۱۸/۹	۶/۵	I-PLA2 نوع A2
-	۱/۴	متالوپروتئیناز ونوم مار

پروتئوم زهرهای تام گونه‌های مارهای زمینی و دریایی در شکل (۳۱)، مورد مقایسه قرار گرفته‌اند.



شکل (۳۱) مقایسه پروتئوم زهر تام گونه‌های مارهای زمینی و دریایی. نسبت پروتئین‌ها از خانواده مختلف توکسین در زهر *Hydrophis cyanocinctus* (پانل A) و *T. longissimus* (پانل B). PLA2: توکسین سه انگشتی، 3FTx: نوروتوکسین کوتاه، LNTx: نوروتوکسین بلند، SNTx: متالوپروتئیناز ونوم مار، SVMP: فسفولیپاز A2 نوع I-

садگی پروتئوم ونوم *H. cyanocinctus* حاکی این واقعیت است که تنها ۶ جزء زهر (سه نوروتوکسین با زنجیره کوتاه، دو نوروتوکسین با زنجیره بلند، و یک

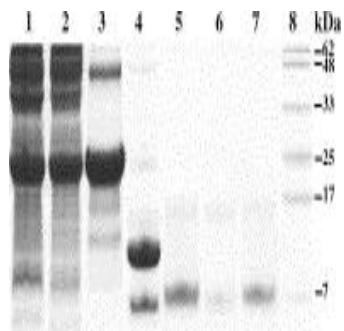
کمی بالاتر از دو مورد دیگر بود. مقادیر LD<sub>50</sub> مربوط به  $\alpha$ -نورو توکسین، قابل مقایسه با مطالعات قبلی بود (۵۱).

مطالعات بر روی اثرات این پروتئین‌های نوترکیب روی انتقال عصبی- عضلانی نشان داد که همه آنها می‌توانند تولید مهار سریع انتقال عصبی- عضلانی گردند. این نورو توکسین‌های پس‌یناپسی، می‌توانند انتقال عصبی را توسط اتصال به گیرنده‌های نیکوتینیک استیل کولینی (nAChRs) مهار نمایند. اتصال به گیرنده‌ها موجب بازشدن کانال‌های یونی نمی‌گردد، بنابراین انقباض عضله را نمی‌توان در طول فرایند مهار، مشاهده نمود. سه پروتئین خالص rSN311 و rSN316 و rSN285 موجب مهار سریع انتقال عصبی- عضلانی در عرض یک ساعت گردیدند.

### فسفولیپاز A2 (PLA2-H1) زهر مار دریایی *Hydrophis cyanocinctus*

علی و همکاران (۲۰۰۰)، توانایی یک فسفولیپاز A2 توکسیک (PLA2-H1) جدا شده از زهر مار دریایی *Hydrophis cyanocinctus* میونکروزیس و تغییرات هیستوپاتولوژیک در موش و موش صحرایی را مورد مطالعه قرار دادند (۵۲). آنزیم PLA2-H1 خالص شده، بسیار سمی بوده و LD<sub>50</sub> داخل صفاقی آن در موش‌ای صحرایی و سوری به ترتیب برابر ۰/۰۴۵ و ۰/۰۳۶ میلی‌گرم/کیلوگرم بود. خالص سازی، منجر به افزایش بیش از ۱۸ برابری در سمیت زهر خام LD<sub>50</sub> داخل صفاقی برابر ۰/۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، در رت و ۰/۷۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در موش) گردید. القای میونکروزیس، با رهاسازی کراتین کیناز (CK) از الیاف عضلات آسیب دیده، نشان داده شد. میونکروز شدید PLA2-H1 با تغییراتی چون، نکروز و ظهور

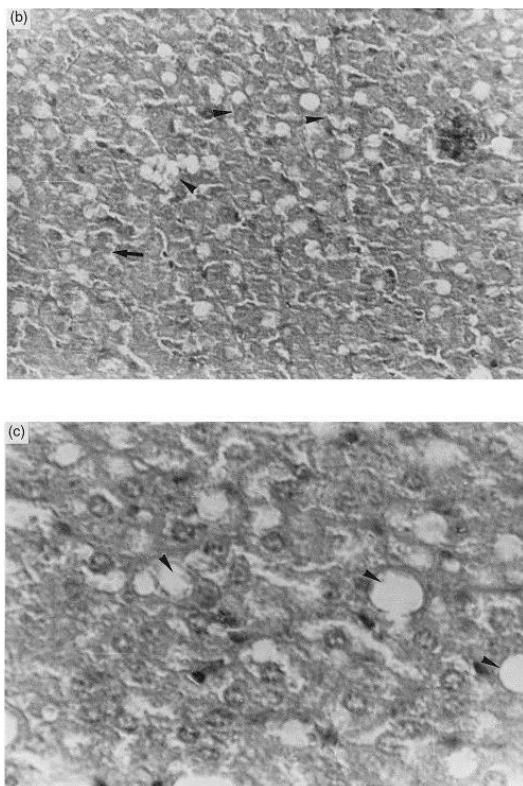
توالی کدگذاری سه نورو توکسین، به یک وکتور بیانی فیوژن تیوردوکسین (pTRX) کلون و به عنوان پروتئین‌های نوترکیب محلول در *E. coli* بیان شدند. پس از خالص سازی بیشتر با استفاده از یک ستون CM سفاروز و سپس یک ستون سفادکس G-50 حدود ۱۰ میلی‌گرم/ لیتر از این پروتئین‌های نوترکیب با خلوص بالای ۹۵ درصد به دست آمدند. سه پروتئین خالص شده به عنوان rSN311، rSN316 و rSN285 در نظر گرفته شدند (شکل ۳۲) (۵۰).



شکل ۳۲ آنالیز SDS-PAGE تریس / تریسین rSN316، rSN311 و rSN285 لاین ۱: پروتئین‌های محلول تام از BL21(DE3)؛ لاین ۲: پروتئین‌های محلول تام از BL21 (DE3)-pETTRX-rSN285؛ لاین ۳: پروتئین فیوژن خالص rSN285؛ لاین ۴: محصولات پروتئین ترکیبی-TRX-rSN285 هضم شده توسط پروتاز ۳C؛ لاین ۵: نورو توکسین خالص نوترکیب زنجیره کوتاه rSN285؛ لاین ۶: نورو توکسین خالص نوترکیب زنجیره کوتاه rSN311؛ لاین ۷: نورو توکسین خالص نوترکیب زنجیره کوتاه rSN316؛ لاین ۸ نشانگر پروتئین

این سه پروتئین نوترکیب، به ترتیب با وزن مولکولی ۶/۹۶۳، ۶/۹۲۰ و ۶/۷۵۶ کیلو Dalton، شیبیه به توالی اسید آمینه پیش‌بینی شده طراحی گردیدند. مقادیر LD<sub>50</sub> آنها به ترتیب ۰/۰۸۲۷، ۰/۰۹۵ و ۰/۰۶۴۷ میلی‌گرم/کیلوگرم برای موش بود. سه  $\alpha$ -نورو توکسین نوترکیب، سمیت کشنده‌گی مشابهی rSN285 (LD<sub>50</sub>)، برای موش داشتند، اما سمیت

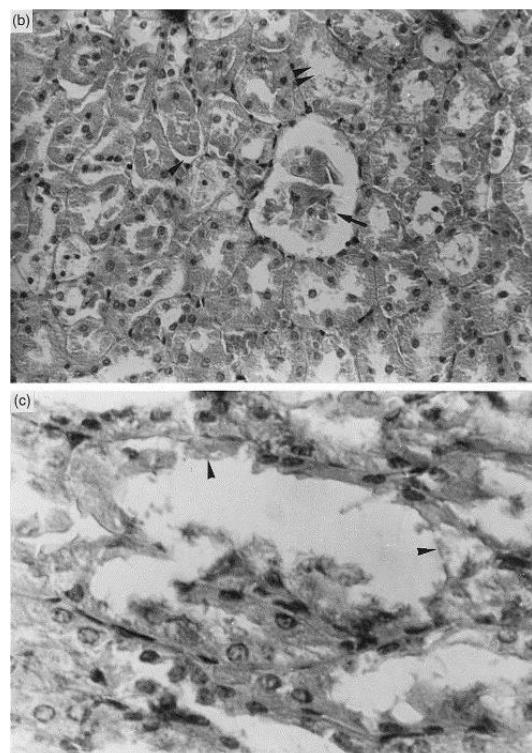
کبدی متراکم و پس از ۴۸ ساعت، واکوئله شدن چربی پارانشیم در یک الگوی کلی را نشان داد (شکل ۳۴).



شکل (۳۴) (A). میکروگراف نوری کبد در گروه کنترل با دریافت ۱۰۰ میکرولیتر از محلول نرمал سالین (i.p.). بخش سلول‌های کبدی نرمال (پیکان) و پارانشیم یکنواخت، (B) فوتومیکروگراف گروه آزمون پس از دریافت ۶۰ میکروگرم PLA<sub>2</sub>-H1 (i.p.) و تشریح بعد از ۲۴ ساعت. انفیلتراسیون چربی در پارانشیم (نوك پیکان) و سلول‌های کبدی متراکم (فلش). (C) فوتومیکروگراف گروه آزمون پس از دریافت ۶۰ میکروگرم PLA<sub>2</sub>-H1 (i.p.) و تشریح بعد از ۲۴ ساعت. واکوئله شدن چربی پارانشیم (نوك پیکان).

همچنین در بخش‌های ریه، اتساع برونش و انفلتراسیون مشخص از سلول‌های التهابی در آلوئول مشاهده شدند (شکل ۳۵).

ادم با ارتضاح سلولی، واکوئله شدن و دژنراسیون سلول‌های عضلانی با ضایعات دلتا و ادم شدید بین سلولی، بدون میوگلوبینوری در حیوانات، عجین شده بود. بررسی میکروسکوپ نوری بخش‌های کلیه، یک نکروز توبولی کانونی، دیسکواماسیون کامل پوشش اپیتلیال و دژنراسیون اپیتلیال توبول‌ها را نشان داد (شکل ۳۳).



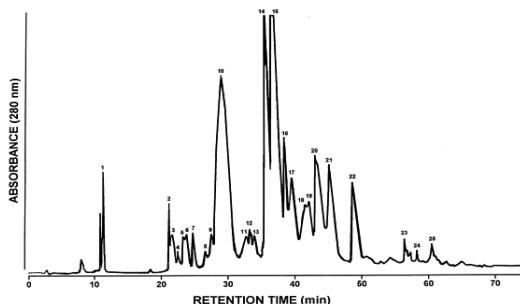
شکل (۳۳) (A) میکروگراف نوری کلیه در گروه کنترل با دریافت ۱۰۰ میکرولیتر از محلول نرمال سالین (i.p.). بخش توبول‌های کلیوی نرمال با اپیتلیال سالم دست نخورده (سر فلش). (B) فوتومیکروگراف گروه آزمون پس از دریافت ۶۰ میکروگرم PLA<sub>2</sub>-H1 (i.p.) نکروز توبولی کانونی (سر فلش)، دیسکواماسیون کامل پوشش اپیتلیال (فلش‌ها) و انحطاط اپیتلیال توبول‌ها (سرهای دو پیکانی). (C) فوتومیکروگراف از گروه آزمون با دریافت ۶۰ میکروگرم PLA<sub>2</sub>-H1 (i.p.) نشان دهنده دژنراسیون مشخص اپیتلیال شده توبول‌ها (سر پیکان).

میکروگراف نوری از بخش‌های کبد ۲۴ ساعت پس از تزریق، انفلتراسیون چربی در پارانشیم و سلول‌های

## فسفولیپازهای A2 و H2 (H1) زهر مار دریایی

### *Hydrophis cyanocinctus*

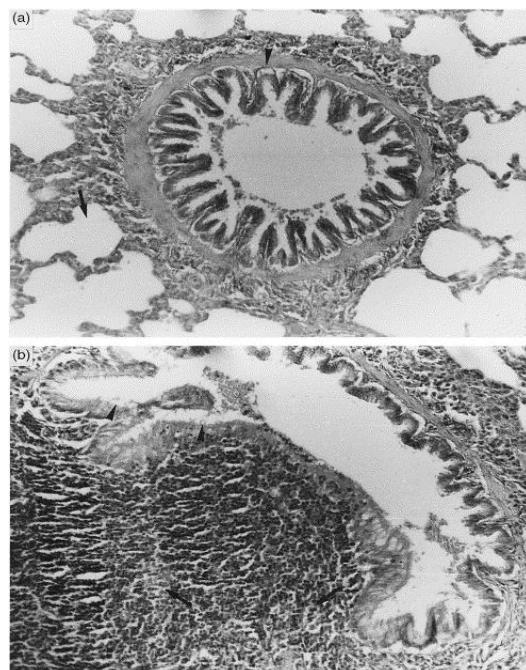
دو آنزیم فسفولیپاز A2 و H2 (H1) از زهر مار دریایی *Hydrophis cyanocinctus* با استفاده از RP-HPLC بر روی یک ستون C18 نوکلئوسیل، جداسازی شدند (۵۳). جداسازی اجزای مختلف پروتئین و پپتید زهر خام این مار دریایی، منجر به جداسازی بیش از ۲۵ فراکشن گردید (شکل ۳۶).



شکل ۳۶) جداسازی اجزای مختلف پروتئین و پپتید زهر خام زهر مار دریایی *Hydrophis cyanocinctus* با استفاده از RP-HPLC بر روی یک ستون C<sub>18</sub> نوکلئوسیل، در طول موج ۲۸۰ نانومتر.

طیف سنجی جرمی در خلوص و برآورد جرم مولکولی هر فراکشن، فقط یک ترکیب را در بسیاری از فراکشن‌ها نشان داد. پیک‌های ۱۴ و ۱۶ که بالاترین فعالیت فسفولیپازی A2 نشان می‌دادند را به ترتیب، H1 و H2 نامیدند. فعالیت‌های کاتالیتیکی این فسفولیپازهای خالص، به ترتیب حدود ۱۹ و ۱۳ درصد از کل فعالیت فسفولیپازهای زهر بود.

جمله مولکولی هر دو PLA2، توسط MALDI MS مورد آنالیز قرار گرفت. یون مولکول‌های پروتونه [MH<sup>+</sup>] در  $m/z$  ۱۳۵۸۹/۱ و ۱۳۲۴۸/۲ دالتون، به ترتیب نشان دهنده وزن مولکولی ۱۳۵۸۸/۱ و ۱۳۲۴۷/۲ دالتون برای PLA2 H1 و PLA2 H2 هستند (شکل ۳۷a). پیک ۲۲ (شکل ۳۷b) که دارای فعالیت فسفولیپاز

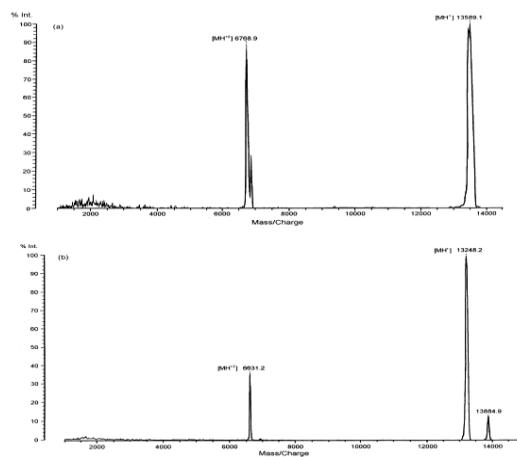


شکل (۳۵) (A) میکروگراف نوری ریه در گروه کنترل با دریافت ۱۰۰ میکرولیتر از محلول نرمال سالین (i.p.).. بخش برونش نرمال (نوک پیکان) و آلوئول دست نخورده (فلش) را نشان می‌دهد. (B) فوتومیکروگراف گروه آزمون پس از دریافت ۶/۰ میکروگرم PLA2-H1 (i.p.) و تشریح بعد از ۴۸ ساعت. برونش متسع (نوک پیکان) و انفیلتراسیون مشخص سلول‌های التهابی در آلوئول (فلش‌ها).

در کل، آنزیم PLA2-H1 موجب القای میوتوكسیسیتی متوسط در عضلات و تغییرات هیستوپاتولوژیک خفیف در اندام‌های حیاتی، بدون وجود میوگلوبینوری گردیده بود. پس از تزریق i.p. PLA2-H1 به حیوانات آزمایشگاهی، کاهش تحرك در عرض چند ساعت و فلنج کامل پس از ۱۰-۱۲ ساعت در موش صحرابی و ۵-۶ ساعت در موش ظاهر شد. بررسی ماکروسکوپی اندام‌های هر دو موش، تورم ریه، کبد و کلیه‌ها را نشان داد. تغییرات در کلیه‌های آسیب دیده کمی بالاتر از گروه شاهد بود. کبد به خصوص در حیواناتی که تا ۴۰ ساعت زنده مانده بودند، کمی متورم و دارای تغییر رنگ شده بود (۵۲).

حضور بیش از یک ایزوآنزیم PLA2 در زهر مار دریایی *H. cyanocinctus* گویای تنوع ساختاری و عملکردی در این کلاس از پروتئین‌ها می‌باشد. معمولاً چندین گونه PLA2 در یک منبع زهر نظری X TFLV PL-Ia, b از *Oxyuranus scutellatus* گاما از موسمیکا ناجا در CM-I-III DEI-III یا (Naja mossambica) ملانولوکا (Naja melanoleuca) وجود دارد. این ایزوژیم‌ها، خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و فارماکولوژیکی بسیار گسترده‌ای دارند (۵۴ و ۵۵). مقایسه خواص بیولوژیکی مختلف زهر خام مار دریایی *Hydrophis cyanocinctus* با فسفولیپازهای A2 خالص در جدول (۹)، دیده می‌شود.

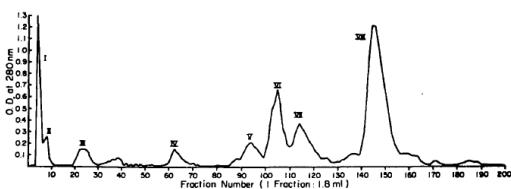
A2 کمی بود دارای جرم مولکولی مشابه H1 و H2 و برابر ( $MH^+ = 13742/8$  Da) بود.



شکل ۳۷ طیف MALDI MS فسفولیپازهای A2 خالص H1 (a) و (b) زهر مار دریایی *Hydrophis cyanocinctus* جمع‌آوری شده از فراکشن‌های خالص RP-HPLC

جدول ۹ خصوصیات بیولوژیکی مختلف زهرهای خام و تخلیص شده فسفولیپازهای A2 (H1) و H2 (M) مار دریایی *Hydrophis cyanocinctus*

PLA <sub>2</sub> -H2	PLA <sub>2</sub> -H1	ونوم تام	خصوصیات
۲۴۰±۵/۱۰	۴۵۷/۷۵	۱۶۲±۱۰/۵۰۳	( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ ) PLA <sub>2</sub>
-	۰/۰۴۵±۰/۰۹	۰/۸۰۵±۰/۱۲۰	(i.p. mg/kg, b.w.) LD <sub>50</sub>
-	-	-	فعالیت همولیتیک (مستقیم)
۰/۴۸±۰/۰۲۱	۰/۶±۰/۰۳۳	۰/۸۷۲±۰/۰۰۹	فعالیت همولیتیک (غیرمستقیم)
۰/۰۶۲±۰/۰۰۳	۰/۰۴۶±۰/۰۰۲	۴/۶۱±۰/۰۸۶	مینیمم دوز القاء کننده ادم (MED) در موش (μg/paw)
۱۴۰/۶۰±۱۰/۱۰۴	۱۸۰/۷۵±۷/۰۴۱	۱۲۲±۱۰/۱۷۰	نسبت ادم (در دوزهای ۴/۶۱، ۰/۰۶۲، ۰/۰۴۶ و ۰/۰۶۱ میکروگرم)
-	-	-	فعالیت همولیتیک

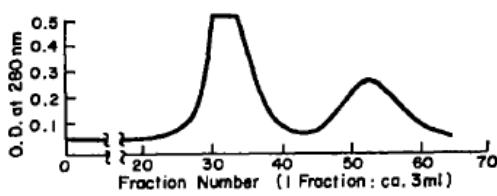


شکل ۳۸ جداسازی زهر خام مار دریایی *Hydrophis cyanocinctus* را توسط کروماتوگرافی ستونی کربوکسی متیل سلولز، جداسازی نمودند. در ابتدا، هشت پیک اصلی از این کروماتوگرافی جداسازی شد (شکل ۳۸) (۵۶).

## 206 (Hydrophitoxin a) a

لیو (Liu) و همکاران در سال ۱۹۷۳ اجزاء سمی زهر خام مار دریایی *Hydrophis cyanocinctus* را توسط کروماتوگرافی ستونی کربوکسی متیل سلولز، جداسازی نمودند. در ابتدا، هشت پیک اصلی از این کروماتوگرافی جداسازی شد (شکل ۳۸) (۵۶).

نام گذاشتند (۵۹). آنها دو فراکشن VI و VII جمع‌آوری شده در جداسازی کروماتوگرافی مطالعه پیشین را، مورد بررسی قرار دادند. هیدروفیتوکسین b (hydrophitoxin b) خالص از جزء VI، توسط ستون کروماتوگرافی با کربوکسی متیل سلولز (CM-52)، با استفاده از یک گرادیان خطی بافر آمونیوم استات در pH ۶/۵ به دست آمد و از جزء VII جدا گردید. آنها هیدروفیتوکسین b را از پیک اول به دست آوردند (شکل ۴۰).



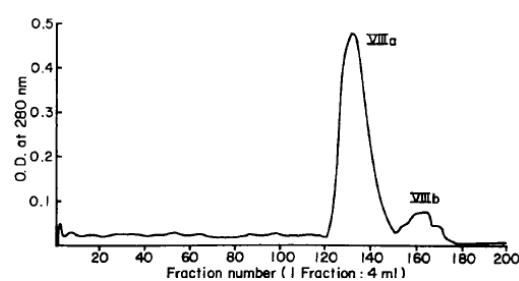
شکل ۴۰) خالص‌سازی بیشتر توکسین از زهر مار دریایی *Hydrophis cyanocinctus* با کروماتوگرافی ستونی کربوکسی متیل سلولز با گرادیان آمونیوم استات و به دست آمدن هیدروفیتوکسین b از پیک اول.

همچنین، ترکیب پیک دوم (شکل ۴۰) مربوط به فراکشن VII از کروماتوگرافی اصلی که دارای مقدار کمی هم برای انجام مطالعات بود هیدروفیتوکسین c (hydrophitoxin c) نامیده شد.

### نوروتوكسین‌های هیدروفیس اورانتوس a و هیدروفیس لاپمئید a

ترکیبات نوروتوكسیک اصلی، به نام‌های هیدروفیس اورانتوس a و هیدروفیس لاپمئید a، به ترتیب از ونوم مارهای دریایی *Hydrophis ornatus* به دست آمده از فیلیپین و خلیج مک‌کلوئر (McCluer) و مار دریایی *Hydrophis lapemoides* فیلیپینی جداسازی شده‌اند (۶۰).

مطالعات سمیت اولیه مربوط به هر یک از هشت فراکشن انجام و مشخص گردید که فراکشن‌های VI، VII و VIII دارای بیشترین فعالیت نوروتوكسیسیتی هستند. فراکشن VIII که دارای بیشترین ماده سمی بود پس از لیوفیلیزاسیون مجدد، توسط سفادکس G-15 خالص‌سازی گردید که خود شامل دو پیک، یکی عمده و دیگری یک پیک کوچک‌تر بود (شکل ۳۹).

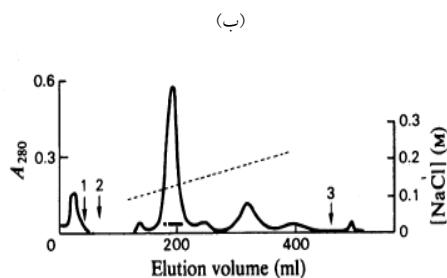


شکل ۳۹) خالص‌سازی بیشتر ترکیبات سمی اصلی از فراکشن VIII زهر مار دریایی *Hydrophis cyanocinctus* با کروماتوگرافی ستونی کربوکسی متیل سلولز با گرادیان آمونیوم استات.

فراوان‌ترین جزء هیدروفیتوکسین a (Hydrophitoxin a) نام گرفت، برای ترکیب اسید آمینه مورد مطالعه قرار گرفت که شامل ۱۹ اسیدهای آمینه (از جمله آسپاراژین و گلوتامین و بدون فنیل آلانین) بود. هیدروفیتوکسین a از نظر اندازه مولکولی و مشابهت ساختار، همانند سایر مارهای دریایی و زمینی که قبلاً گزارش شده‌اند، می‌باشد (۵۷ و ۵۸)، که بیشترین مشابهت را با *Lapemis hardwickii* دارا می‌باشد (۵۷).

**هیدروفیتوکسین b (hydrophitoxin b)** لیو و همکاران، ۱۹۷۳، فراوان‌ترین توکسین، از سه جزء توکسیک جداسازی شده از زهر مار دریایی *Hydrophis cyanocinctus* را هیدروفیتوکسین (a hydrophitoxin) a و دومین را هیدروفیتوکسین

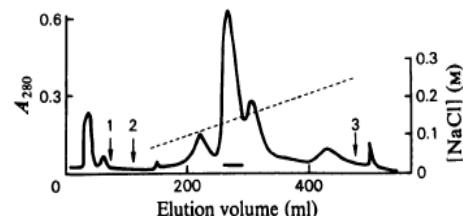
ستون سفادکس G-50 خالص‌سازی گردید. این توکسین که ۴۲ درصد از کل پروتئین و ۷۰ درصد سمیت زهر خام را داشت، هیدروفیس اورانتوس a (Hydrophis ornatus a) نام گرفت.



(ب)

ونوم‌های خام مارهای دریایی *Hydrophis ornatus* خلیج مک کلوئر توسط یک CM-سلولز خالص‌سازی گردید (شکل ۴۱). یک فراکشن با فعالیت کشنده‌گی زیاد در موش پس از جمع‌آوری و لیوفیلیزاسیون، با یک

(الف)



شکل ۴۱) کروماتوگرافی ستونی CM-سلولز از نوم خام مار دریایی *Hydrophis ornatus* خلیج مک کلوئر (الف). کروماتوگرافی ستونی CM-سلولز از نوم خام مار دریایی *Hydrophis ornatus* فیلیپینی (ب).

مقدار LD<sub>50</sub> این توکسین در تزریق عضلانی به موش سوری برابر ۰/۰۹ میکروگرم/گرم وزن بدن بود. هر توکسین از ۶۰ باقی مانده اسید آمینه تشکیل شده بود. ترکیب توکسین مارهای دریایی *Hydrophis ornatus* دارای مشابهت با *Astrotia stokesii* مار است.

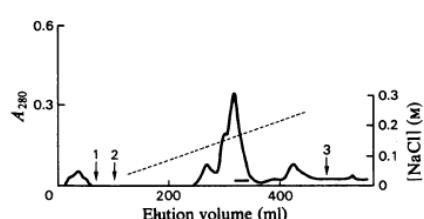
اثرات بیوشیمیایی و مورفو‌لوجیکی زهر مارهای دریایی،

#### *H. Cyanocinctus* *Hydrophis spiralis* *Lapemis curtus* و *H. Lapemoides*

سطوح سرمی برخی آنزیم‌ها و ترکیبات شیمیایی از قبیل کراتین فسفوکیناز (CPK)، لاکتات دهیدروژنаз (LDH)، آلفا- گلوتامیل ترانس‌پتیداز (GGT)، گلوتامات اگزالواستات ترانس آمیناز (GOT)، گلوتامات-پیروات ترانس آمیناز (GPT)، آalkaline فسفاتاز (ALP) و ۳-آمیلاز (AMY) و همچنین ترکیبات شیمیایی سرم شامل گلوکز، کراتینین، بیلی‌روبین تام و مستقیم، آلبومین، نیتروژن اوره خون، کلسترول، تری گلیسرید، چربی کل و پروتئین تام، پس از تلقیح آزمایشگاهی زهر چند جانور دریایی از

تخلیص نیز به همین منوال *Hydrophis ornatus* صورت گرفت. هر چند که خالص‌سازی فراکشن با یک دیسک-ژل الکتروفورز انجام گردید. این توکسین که ۵۸ درصد از پروتئین از کل زهر خام را داشت تحت عنوان هیدروفیس اورانتوس a فیلیپینی (Hydrophis ornatus a) شناخته شد (شکل ۴۱-ب).

ونوم خام مار دریایی *Hydrophis lapemoides* همچون مورد مار دریایی خلیج مک کلوئر خالص‌سازی گردید. این توکسین که ۴۴ درصد از پروتئین از کل زهر خام را دارا بود به عنوان هیدروفیس لاموئید a (Hydrophis lapemoides a) شناخته شد (شکل ۴۲).



شکل ۴۲) کروماتوگرافی ستونی CM-52 از نوم خام *Hydrophis lapemoides* مار دریایی

### برخی آثار گزش با مار دریایی زرد *Hydrophis spiralis*

در یک مورد نادر از گزش با مار دریایی زرد *Hydrophis spiralis* در سریلانکا، برخی از تظاهرات غیرمعمول در بیمار، نظیر وقوع درد در محل گزش، بزرگ شدن گرهای لنفاوی منطقه‌ای و میالزی شدید، عضله حساس به لمس و علایم عصبی، مشاهده گردید. جای نیش در محل گزش گزارش گردید. این اولین مورد گزش، با مار دریایی در سریلانکا بود (۶۴).

### توکسین مار دریایی *Hydrophis gracilis*

در جستجوی pubmed در مورد توکسین مار دریایی *Hydrophis gracilis*، تنها دو مطالعه که اولی در خصوص مشخصات فیلوجنیک مارهای دریایی (۶۵)، است و دومین، مربوط به مطالعه عالم و همکاران (۶۳)، در خصوص اثرات بیوشیمیایی چند زهر مار دریایی که در مطالعه حاضر مورد بررسی قرار گرفت، به چشم می‌خورد.

### زهر مار دریایی (*Lapemis curtus*)

در مطالعه کارتیکیان (Karthikeyan) و همکاران در سال ۲۰۰۸، فعالیت ضد توموری زهر مار دریایی (*Lapemis curtus*) در برابر کارسینومای سرطان آسیت‌های ارلیش (EAC)، در موش سوئیسی نژاد آلبینو و نیز کشت سلولی تومور HeLa و Hep2 مورد بررسی قرار گرفت (۶۶).

قبل از آن، در مطالعه جدایگانه‌ای، مار دریایی *L. curtus* از سواحل کالیپاکام کوروماندل هند جمع‌آوری و زهر آن از مار زنده، به صورت دستی با فشار، گرفته شد و بلافاصله پس از لیوفیلیزه، در ۴°C - ذخیره گردید (۶۷). مطابق مطالعه پیشین کارتیکیان (Karthikeyan) و همکاران در سال

جمله چهار مار دریایی *Hydrophis spiralis* و *H. Lapemoides* *H. Cyanocinctus* و *Lapemis curtus* مورد بررسی قرار گرفتند (۶۱). مقادیر LD<sub>50</sub> زهر خام این مارهای دریایی به ترتیب، ۰/۴۰، ۰/۶۰، ۰/۷۰ و ۲/۹ میلی‌گرم/کیلوگرم بود. موش‌های دریافت کننده دوز یک دوم LD<sub>50</sub> پس از ۲۰ ساعت، دارای شرایط بحرانی بودند اما گروه دریافت کننده یک سوم LD<sub>50</sub> تا ۴۸ ساعت زنده ماندند. زهر مار دریایی، *Hydrophis spiralis* به عنوان قوی‌ترین زهر (LD<sub>50</sub> برابر ۰/۴ میلی‌گرم/کیلوگرم)، افزایش قابل توجهی در سطوح آنزیم‌های سرمی در مقایسه با دیگر زهرها ایجاد کرده بود. غلظت اجزای شیمیایی سرم گلوکز، بیلی‌روین، نیتروژن اوره خون نیز به طور قابل توجهی بالا بود. پروتئین، آلبومین، چربی کل، کلسیترول و تری‌گلیسرید پس از تزریق وریدی زهر، کاهش پیدا کرده بود.

همچنین تغییرات مورفو‌لوژیکی قابل ملاحظه‌ای در کبد، طحال، کیسه صفراء، ریه‌ها و قلب، در زهر فیزالیا و مارهای دریایی دیده شد. حیوانات دریافت کننده زهر مار دریایی، دارای کبدی با سطحی خشن و رنگ قهوه‌ای مایل به قرمز و لکه‌های سیاه و سفید مایل به قهوه‌ای نامنظم، طحال قهوه‌ای تیره بودند و در چند مورد نیز لکه‌های قرمز یا قهوه‌ای بر روی قلب مشاهده شدند. تغییرات رنگ ریه از رنگ مایل به رنگ صورتی روشن به سفید متمایل به زرد با رگه‌های قرمز مشخص، دیده شد.

نه تنها گزارش اثرات قوی نفرو‌توکسیک، هپاتوتوكسیک و کاردیوتوكسیک زهر مارهای دریایی در منابع موجود است بلکه در برخی موارد، در صورت عدم درمان مناسب و به موقع، فالج و مرگ نیز دیده شده‌اند (۶۲ و ۶۳).

ترکیبات ضد سرطانی زهر مارها، در مطالعات پیشین نیز مورد مطالعه قرار گرفته بودند (۷۱ و ۷۲)، مباحثه مربوط به فعالیت‌های ضد توموری زهر مارها، حتی در طب سنتی نیز مطرح بوده است (۷۳-۷۵).

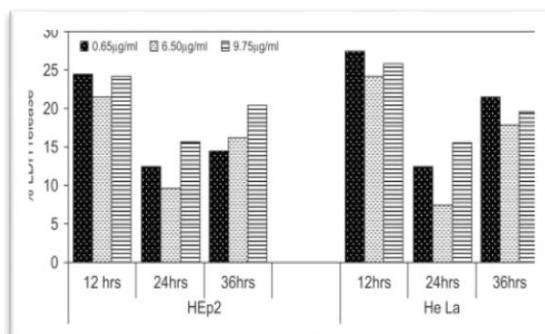
### توكسین‌های دو مار دریایی *Lapemis curtus* و *Acalyptophis peronei*

ترکیب زهر مار به طور گستردگی در میان گونه‌های نزدیک و جنس‌های مشابه، بر اساس متغیرهای زیست محیطی، متفاوت است. در مارهای زمینی، این قبیل تنوع‌ها ممکن است به دلیل رژیم غذایی مارها باشد. مارهای زمینی، گونه‌های مختلف حشرات، مارمولک‌ها، قورباغه‌ها و وزغ‌ها، پرندگان و جوندگان را شکار می‌کنند، در حالی که مارهای دریایی معمولاً یک کلاس مهره‌داران یعنی ماهیها را مورد هدف قرار می‌دهند. از این رو، بررسی تکامل توكسین‌ها در زهر مار دریایی نسبت به مارهای زمینی جالب به نظر می‌رسد. در مطالعه پاهاری (Pahari) و همکاران (۲۰۰۷)، به بررسی بیان ژن‌های توكسین دو مار دریایی *Lapemis curtus* و *Acalyptophis peronei* پرداخته شد (۳۰). مطالعه آنها نشان داد که تفاوت‌های بسیار کمی در توكسین سه انگشتی (3FTx) و همچنین آنزیم فسفولیپاز A2 به عنوان دو ترکیب اصلی زهر *Lapemis curtus* و *Acalyptophis peronii* وجود دارد.

شکل (۴۴)، توزیع کلون‌ها و فراوانی توكسین‌ها در هر دو زهر مارهای *L. curtus* و *A. peronei* را نشان می‌دهد.

(۲۰۰۷)، مقدار LD<sub>50</sub> زهر خام، ۰/۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم (mg kg<sup>-1</sup>) بود (۶۸).

در این مطالعه، غلظت‌های مختلف زهر، جهت تعیین اثر بالقوه ضد سرطانی، در مدل *in vivo*، با استفاده از روش انتخابی ابوسینا و همکاران (۶۹)، مورد بررسی قرار گرفت. معیار قابل اعتماد برای ارزیابی پتانسیل هر عامل ضد سرطان، طولانی گشتن زنده مانی حیوانات آزمایشگاهی است. کاهش حجم تومور و تعداد سلول‌های تومور زنده، در آزمون‌ها می‌تواند به عنوان شاخص مهم در کاهش بار تومور و افزایش طول عمر موش در نظر گرفته شود (۷۰).



شکل (۴۳) سمیت سلولی زهر *Lapemis curtus* روی خطوط سلولی HEp2 و هلا نتایج (هر کدام شش بار تکرار) گروه درمان با گروه درمان نشده بر اساس mean±SD مقایسه شدند (n=6)

با توجه به مشاهدات در مطالعه آنها، زهر *L. curtus* دارای اثرات ضد پرولیفراتیو بالقوه‌ای روی مدل تومور حیوانی و رده‌های سلولی سرطانی بود. در میان دوزهای مختلف مورد آزمون، ۶/۵۰ میکروگرم/میلی‌لیتر در ۲۴ ساعت، به طور مؤثری مانع از تکثیر سلول‌های سرطانی شده بود. تزریق i.p. همان دوز بر روی موش، به طور قابل توجهی موجب کاهش رشد تومور و افزایش طول عمر آن، تا ۲۰/۱ درصد گردید (شکل (۴۳)).

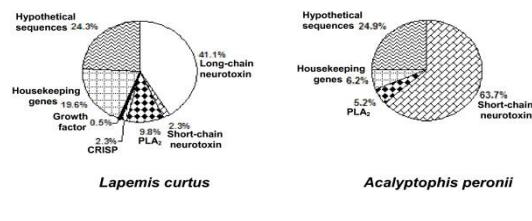
یک فاکتور رشد تکقلو (AY742212) را نشان داد که یک خصوصیت مشابه قابل توجهی با فاکتور رشد مشتق از پلاکت (PDGF) داشت. هر چند که فاکتورهای رشدی چون NGF (۷۸) و VEGF (۷۹) در برخی از نومها شناسایی شده‌اند، ولی حضور پروتئین شبه PDGF، اولین گزارش در غده زهری است.

**اثرات گاز گرفنگی توسط مار دریایی**  
زهری که مار دریایی وارد می‌کند ۳ تا ۱۳ برابر قوی‌تر از زهر مار کبری است. در اثر گاز گرفتن، ممکن است از یک تا ۳۳ سوراخ مشاهده شود. دندان ممکن است در زخم باقی بماند. سم نوروتوکسین، یک پروتئین بدون آنزیم است که به گرمای مقاوم است. بنابراین مصدومی که توسط مار دریایی گزیده شده است را نباید مثل مصدومی که توسط ماهی زهرآگین گزیده گردیده در آب داغ قرار داد.

به دلیل داشتن آرواره کوچک، اغلب گزیدگی‌ها منجر به وارد کردن زهر نمی‌شود. گزیده شدن توسط مار دریایی، درد کمتری به وجود می‌آورد و معمولاً دوره نهفته‌ای از ۱۳ دقیقه تا چند ساعت قبل از گسترش نشانه‌های عمومی چون درد و سختی ماهیچه، احساس زبری زبان، تهوع، استفراغ، دشواری در صحبت کردن و بلع، ناتوانی و دیسترنس تنفسی، ادرار خاکستری رنگ ناشی از میوگلوبینوریا (که ممکن است باعث از کار افتادگی کلیه شود)، وجود دارد (۱۴).

### راههای پیشگیری

لباس‌های غواصی، به خصوص دستکش‌ها ممکن است که بدن را در برابر گزیده شدن محافظت کنند و باید هنگام غواصی در آب‌هایی که مارهای دریایی فراوان‌اند استفاده شوند. در محل‌های با احتمال وجود



شکل ۴۴) فراوانی توکسین‌ها در زهر *Lapemis curtus* و *Acalyptophis peronii*

تا به امروز، سه ایزوفرم زنجیره بلند توکسین سه انگشتی، ABN54892 AAL54893 ABN54806 (AAL54893) و چهار ABN54805 AAL54894 P68416 AAL54895 از زهر *L. curtus* گزارش گردیده است (۷۶).

همچنین در این مطالعه، کلون‌های cDNA کدکننده هر دو ایزوفرم زنجیره بلند، (AAL54893 AAL54892) از ۳FTx با ۴۱ درصد فراوانی یافت شدند (شکل ۴۴) که نسبت بین ایزوفرم‌های AAL54893 و AAL54892 ۱:۱ بود. همچنین کلون‌های cDNA کدکننده ۳FTx زنجیره کوتاه، با دو درصد فراوانی (AAL54894) یافت گردید.

تاکنون، سه ایزوفرم PLA<sub>2</sub> از مار دریایی AAL55555 AAL55556 (AAL55555) یعنی *L. curtus* گزارش شده است (۷۷).

در مطالعه پاهاری، یک ایزوفرم به طور کامل شناسایی شده AAL55555، نیز با فراوانی تقریبی ۱۰ درصد یافت گردید. توالی‌های بخشی از دو ایزوفرم Q8UW25 و Q8UW11 از توکسین CRISP (Q8UW11) غدد زهری *L. curtus* گزارش شده است. کتابخانه cDNA مربوط به مطالعه پاهاری حاوی حدود ۲ درصد کلون کدگذاری برای ایزوفرم Q8UW25 توکسین CRISP. بدون هر گونه تنوع در سطح نوکلئوتیدی بود (شکل ۴۴). کتابخانه cDNA حضور

علائم حیاتی باید به دقت بررسی شوند. حمایت قلبی-عروقی و تزریق مایع درون رگی، علاوه بر اکسیژن رسانی، ممکن است لازم باشد. به دلیل احتمال از کار افتادگی علائم حیاتی، تمام مصدومان که توسط مار دریایی گزیده می‌شوند باید حداقل ۱۳ ساعت تحت مراقبت‌های شدید باشند. اگر علائم مسمومیت، در عرض یک ساعت اتفاق افتد، درمان سریع، با پادزه ر میسر می‌شود. اگر بیمار دچار مسمومیت شدید باشد، درمان توسط پادزه (استرالیا، ملبورن، آزمایشگاه سرم کامانولر)، حتی پس از یک تأخیر قابل ملاحظه نیز مفید است. در صورت عدم وجود پادزه مخصوص، می‌توان پادزه مار خشکی زی (مار ببری یا کرایت الپیده) را جانشین کرد. در صورت استفاده پادزه، پزشک باید برای مقابله با شوک آنافیلاکسی آماده باشد. تجویز تناولس، باید به طور مناسب مدد نظر قرار گیرد (۱۴).

### نتیجه‌گیری

تنوع بسیار کمی در ترکیب و نوم در گونه‌های مشابه و متفاوت مارهای دریایی وجود دارد. مطالعه ما نشان می‌دهد یک پروفایل ونوم نسبتاً ساده با میل به سمت ترکیبات مهلك قابل ملاحظه‌ای از نوروتوکسین‌ها و PLA2s و مقدار کمتری از توکسین‌هایی چون SVMP، LAAO، CRISP

### تضاد منافع

هیچ گونه تضاد منافع توسط نویسنده‌گان بیان نشده است.

مار دریایی، از کفش استفاده گردد. در هنگام ماهیگیری، به مارهای دریایی دست زده نشود. گزیده شدن دست ماهیگیران هنگامی اتفاق می‌افتد که سعی می‌کنند مارهای دریایی را از تور جدا نمایند.

### امداد و درمان اولیه

باید مصدوم را بی‌حرکت نگه داشت و از استفاده از رگ بند اجتناب و از فشار مستقیم با استفاده از باندаж متراکم استفاده نمود و آنرا با استفاده از آتل‌ها یا باندаж‌های کشی در موقعیت خود ثابت کرد. این روش از گسترش نوروتوکسین جلوگیری می‌کند.

می‌توان از روش برش و مکش استفاده نمود. تمام مصدومان گزیده شده توسط مارهای دریایی را بدون توجه به علائم رایج، باید به سرعت به بخش مراقبت‌های ویژه پزشکی انتقال داد. باید اطمینان حاصل نمود که بیمار به طور مناسب تنفس می‌کند و آماده احیاء دهان به دهان یا احیاء قلبی و ریوی (در صورت لزوم) می‌باشد.

زهر، یک پروتئین مقاوم در برابر گرما است که انتقال عصبی- عضلانی را مسدود می‌کند. اغلب، میونکروزیس ناشی از میوگلوبینوریا و خرابی کلیوی، دیده می‌شوند. هیپوتانسیون هم ممکن است وجود داشته باشد. امکان ایست قلبی ناشی از فلنج ماهیچه‌ای وجود دارد. انټوباسیون و تهییه مکانیکی ممکن است لازم باشد. عملکرد کلیه باید با دقت مورد بررسی قرار بگیرد چون ممکن است که دیالیز پریتونیال یا همودیالیز لازم باشد. ادرار قلیایی با تزریق درون رگی مناسب، دفع میوگلوبین را بالا می‌برد. عملکرد کلیه را باید بررسی نمود.

## References:

- Iranian snakes. Young elites scientific site. (Accessed August 10, 2016, at

[http://www.njavan.com/forum/showthread.php?102259-specific topic of snakes/page10.\)](http://www.njavan.com/forum/showthread.php?102259-specific%20topic%20of%20snakes/page10.)

- 2.Gibbons JW, Scott DE, Ryan TJ, et al. The global decline of reptiles, deJa vu amphibians. *BioSci* 2000; 50(8): 653-6.
- 3.Subrata T, Abdulhadi AA, Hasibur R, et al. DNA barcoding: Tool for assessing species identification in Reptilia. *JEZS* 2016; 4(1): 332-7.
- 4.Harris JB. Phospholipases in snake venoms and their effects on nerve and muscle. *Pharmacol Ther* 1985; 31(1-2): 79-102.
- 5.Squamata-UCL. Squamata - lizards and snakes. (Accessed August 10, 2016, at <http://www.ucl.ac.uk/museums-static/obl4he/vertebratediversity/squamata.html>.)
- 6.Dehghani R, Mehrpour O, Shahi MP, et al. Epidemiology of venomous and semi-venomous snakebites (Ophidia: Viperidae, Colubridae) in the Kashan city of the Isfahan province in Central Iran. *J Res Med Sci* 2014; 19(1): 33-40.
- 7.Weinstein SA, Warrell DA, White J, et al. Venomous Bites from Non-Venomous Snakes: A Critical Analysis of Risk and Management of Colubrid Snake Bites. Burlington: Elsevier, 2011, 30-135.
- 8.Pajoumand A, Shariat Tarabghani A. Diagnosis and treatment of poisonin. Tehran: Chehr Publication, 1998, 96-130. (Persian)
- 9.Latifi M. The Snakes of Iran. 3<sup>rd</sup> ed. Tehran: Environment Protection organization, 2000, 27-92. (Persian)
- 10.Valenta J. Venomous Snakes: Envenoming, Therapy. New York: Nova Science Publishers, 2010, 27-49.
- 11.Rasmussen AR, Murphy JC, Ompi M, et al. Marine reptiles. *PLoS One* 2011; 6(11): e27373.
- 12.Kharin VE. Review of Sea Snakes of the genus *Hydrophis* sensu stricto (Serpentes: Hydrophiidae). *Russ J Marine Biol* 2004; 30(6): 387-94.
- 13.Kanishka DBU, Anslem de S, Bryan GF, et al. Molecular evidence that the deadliest sea snake *Enhydrina schistosa* (Elapidae: Hydrophiinae) consists of two convergent species. *Mol Phylogenet Evol* 2013; 66(1): 262-9.
- 14.Nobakht M. A Glance on medical principles, in exposure with dangerous animal of Persian Gulf, and providing some strategies relief and rescue of victims. (Accessed August 10, 2016, at [http://health.ajaums.ac.ir/\\_health/documents](http://health.ajaums.ac.ir/_health/documents).)
- 15.Nabipour I. The venomous animals of the Persian Gulf. Bushehr: Bushehr University of Medical Sciences Press, 2012, 98-108. (Persian)
- 16.Heatwole H. Sea Snakes. Sydney: University of New South Wales Press, 1999, 148.
- 17.Reptiledatabase. *Hydrophis cyanocinctus*. (Accessed August 10, 2016, at [http://reptiledatabase.reptarium.cz/species?genus=Hydrophis&species=cyanocinctus&search\\_param=\(\(genus%3DT'\)](http://reptiledatabase.reptarium.cz/species?genus=Hydrophis&species=cyanocinctus&search_param=((genus%3DT')))
- 18.Rasmussen A, Sanders K, Lobo A. *Hydrophis cyanocinctus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2010. (Accessed August 10, 2016, at <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-4.RLTS.T176726A7291386.en>.)
- 19.Rasmussen AR. A preliminary study on sea snakes (Hydrophiidae) from Phuket Harbor, Phuket Island, Thailand. *Nat Hist Bull Siam Soc* 1989; 37(2): 209-25.
- 20.Rasmussen AR. Sea Snakes. In: Carpenter KE, Niem VH (Eds) FAO species identification guide for fishery purposes. The living marine resources of the Western Central Pacific. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 2001, 6.
- 21.Baldwin R, Gardner AS. Marine reptiles. In the emirates: a natural history. Hellyer P, Aspinall S, editors. London, Trident Press, 2005, 242-51.
- 22.Soorae PS, Das HS, Al Mazrouei H. Records of sea snakes (subfamily Hydrophiinae) from the coastal waters of the Abu Dhabi Emirate, United Arab Emirates. *Zoology in the Middle East* 2006; 39(1): 109-10.
- 23.Craig J. Venter Institute. (Accessed August 10, 2016, at <http://www.jcvi.org/reptiles/search.php>.)
- 24.Low BW. Handbook of experimental pharmacology: Snake Venoms. In: Lee CY, editors. Chap. 6, Vol. 52. Berlin: Springer-Verlag, 1979, 213-5.
- 25.Dufton MJ. Kill and cure: the promising future for venom research. *Endeavour* 1993; 17(3): 138-40.

- 26.Kardong KV. Snake toxins and venom: an evolutionary perspective. *Herpetologica* 1996; 52(1): 36-46.
- 27.Mariam K, Tu AT. Extremely low nerve growth factor (NGF) activity of sea snake (Hydrophiidae) venoms. *J Nat Toxins* 2002; 11(4): 393-8.
- 28.Tan CH, Tan KY, Lim SE, et al. Venomics of the beaked sea snake, *Hydrophis schistosus*: A minimalist toxin arsenal and its cross-neutralization by heterologous antivenoms. *J Proteomics* 2015; 126: 121-30.
- 29.Lomonte B, Pla D, Sasa M, et al. Two color morphs of the pelagic yellow-bellied sea snake, *Pelamis platura*, from different locations of Costa Rica: snake venomics, toxicity, and neutralization by antivenom. *J Proteomics* 2014; 103: 137-52.
- 30.Pahari S, Bickford D, Fry BG, et al. Expression pattern of three-finger toxin and phospholipase A<sub>2</sub> genes in the venom glands of two sea snakes, *Lapemis curtus* and *Acalyptophis peronii*: comparison of evolution of these toxins in land snakes, sea kraits and sea snakes. *BMC Evol Biol* 2007; 27: 175.
- 31.Tan T, Xiang X, Qu H, et al. The study on venom proteins of *Lapemis hardwickii* by cDNA phage display. *Toxicol Lett* 2011; 206(3): 252-7.
- 32.Li M, Fry BG, Kini RM. Eggs-only-diet: its implications for the toxin profile changes and ecology of the marbled sea snake (*Aipysurus eydouxii*). *J Mol Evol* 2005; 6(1): 81-9.
- 33.Tan CH, Tan NH, Tan KY, et al. Antivenom cross-neutralization of the venoms of *Hydrophis schistosus* and *Hydrophis curtus*, two common sea snakes in Malaysian waters. *Toxins (Basel)* 2015; 7(2): 572-81.
- 34.Damotharan P, Veeruraj A, Arumugam M, et al. Isolation and characterization of biologically active venom protein from sea snake *Enhydrina schistosa*. *J Biochem Mol Toxicol* 2015; 29(3): 140-7.
- 35.Petras D, Sanz L, Segura A, et al. Snake venomics of African spitting cobras: toxin composition and assessment of congeneric cross-reactivity of the Pan-African EchitAb-Plus-ICP antivenom by antivenomics and neutralization approaches. *J Proteome Res* 2011; 10(3): 1266-80.
- 36.Corrêa-Netto C, Junqueira-de-azevedo I, Silva D, et al. Snake venomics and venom gland transcriptomic analysis of Brazilian coral snakes, *Micrurus altirostris* and *M. corallinus*. *J Proteomics* 2011; 74(9): 1795-809.
- 37.Rey-Suárez P, Núñez V, Gutiérrez JM, et al. Proteomic and biological characterization of the venom of the redtail coral snake, *Micrurus mipartitus* (Elapidae), from Colombia and Costa Rica. *J Proteomics* 2011; 75(2): 655-67.
- 38.Calvete JJ, Ghezelou P, Paiva O, et al. Snake venomics of two poorly known Hydrophiinae: comparative proteomics of the venoms of terrestrial *Toxicocalamus longissimus* and marine *Hydrophis cyanocinctus*. *J Proteomics* 2012; 75(13): 4091-101.
- 39.Kularatne SA, Hettiarachchi R, Dalpathadu J, et al. *Enhydrina schistose* (Elapidae: Hydrophiinae) the most dangerous sea snake in Sri Lanka: three case studies of severe envenoming. *Toxicon* 2014; 77: 78-86.
- 40.Mebs D, Samejima Y. Myotoxic phospholipases A from snake venom, *Pseudechis colletti*, producing myoglobinuria in mice. *Experientia* 1980; 36(7): 868-9.
- 41.Chetty N, Du A, Hodgson WC, et al. The in vitro neuromuscular activity of Indo-Pacific sea-snake venoms: efficacy of two commercially available antivenoms. *Toxicon* 2004; 44(2): 193-200.
- 42.Brook GA, Torres LF, Gopalakrishnakone P, et al. Effects of phospholipase of *Enhydrina schistosa* venom on nerve, motor end-plate and muscle of the mouse. *Q J Exp Physiol* 1987; 72(4): 571-91.
- 43.Tan NH. Acidic phospholipases A2 from the venom of common sea snake *Enhydrina schistosa*. *Biochim Biophys Acta* 1982; 717(3): 503-8.
- 44.Gawade SP, Gaitonde BB. Isolation and characterisation of toxic components from the venom of the common Indian sea snake (*Enhydrina schistosa*). *Toxicon* 1982; 20(4): 797-801.
- 45.Yu NT, Lin TS, Tu AT. Laser Raman scattering of neurotoxins isolated from the

- venoms of sea snakes *Lapemis hardwickii* and *Enhydrina schistosa*. *J Biol Chem* 1975; 250(5): 1782-5.
- 46.Mackessy SP, Tu AT. Biology of the sea snakes and biochemistry of their venoms. In: Tu AT, editor. *Toxin-related Diseases: Poisons Originating from Plants, Animals and Spoilage*. New Delhi: Oxford & IBH Publishing Co, 1993, 305-51.
- 47.Tamiya N, Yagi T. Studies on sea snake venoms. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2011; 87: 41-52.
- 48.Calvete JJ, Juárez P, Sanz L. Snake venomics. Strategy and applications. *J Mass Spectrom* 2007; 42(11): 1405-14.
- 49.White J. Clinical toxicology of snakebite in Australia and New Guinea. In: Meier J, White J, editors. *Handbook of clinical toxicology of animal venoms and poisons*. Boca Raton: CRC Press, 1995, 595-617.
- 50.Peng LS, Zhong XF, Huang YS, et al. Molecular cloning, expression and characterization of three short chain alpha-neurotoxins from the venom of sea snake *Hydrophiinae Hydrophis cyanocinctus* Daudin. *Toxicon* 2003; 42(7): 753-61.
- 51.Atassi MZ. Postsynaptic-neurotoxin-acetylcholine receptor interaction and the binding sites on the two molecules. In: Tu AT, editors. *Handbook of Natural Toxins: Reptile Venoms and Toxins*. New York: Marcel Dekker, 1995, 53-83.
- 52.Ali SA, Alam JM, Abbasi A, et al. Sea snake *Hydrophis cyanocinctus* venom. II. Histopathological changes, induced by a myotoxic phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>-H1). *Toxicon* 2000; 38(5): 687-705.
- 53.Ali SA, Alam JM, Stoeva S, et al. Sea snake *Hydrophis cyanocinctus* venom. I. Purification, characterization and N-terminal sequence of two phospholipases A2. *Toxicon* 1999; 37(11): 1505-20.
- 54.Vishwanath BS, Kini RM, Gowda TV. Characterization of three edema-inducing phospho-lipase A2 enzymes from habu (*Trimeresurus Flavoviridis*) venom and their interaction with the alkaloid aristolochic acid. *Toxicon* 1987; 25(5): 501-15.
- 55.Davidson FF, Dennis EA. Evolutionary relationships and implications for the regulation of phospholipase A2 from snake venom to human secreted forms. *J Mol Evol* 1990; 31(3): 228-38.
- 56.Liu CS, Huber GS, Lin CS, et al. Fractionation of toxins from *Hydrophis cyanocinctus* venom and determination of amino acid composition and end groups of hydrophitoxin a. *Toxicon* 1973; 11(1): 73-9.
- 57.Tu AT, Hoxo BS. Purification and chemical studies of a toxin from the venom of *Lapemis hardwickii* (Hardwick's sea snake). *J Biol Chem* 1971; 246(9): 2772-9.
- 58.Yang CC, Chance CC, Hayashi K, et al. Amino acid composition and end group analysis of cobrotoxin. *Toxicon* 1969; 7(1): 43-7.
- 59.Liu CS, Blackwell RQ. Hydrophitoxin b from *Hydrophis cyanocinctus* venom. *Toxicon* 1974; 12(5): 543-6.
- 60.Tamiya N, Maeda N, Cogger HG. Neurotoxins from the venoms of the sea snakes *Hydrophis ornatus* and *Hydrophis lapemoides*. *Biochem J* 1983; 213(1): 31-8.
- 61.Alam JM, Qasim R. Changes in serum components induced by venoms of marine animals. *Pak J Pharm Sci* 1993; 6(1): 81-7.
- 62.Reid HA. Myoglobinuria and sea-snake bite poisoning. *Brit Med J* 1961; 1(5235): 1284-9.
- 63.Marsden AT, Reid HA. Pathology of sea-snake poisoning. *Br Med J* 1961; 1(5235): 1290-3.
- 64.Amarasekera N, Jayawardena A, Ariyaratnam A, et al. Bites of a sea snake (*Hydrophis spiralis*): a case report from Sri Lanka. *J Trop Med Hyg* 1994; 97(4): 195-8.
- 65.Sanders KL, Lee MS, Mumpuni Bertozzi T, et al. Multilocus phylogeny and recent rapid radiation of the viviparous sea snakes (Elapidae: *Hydrophiinae*). *Mol Phylogenetic Evol* 2013; 66(3): 575-91.
- 66.Karthikeyan R, Karthigayan S, Sri Balasubashini M, et al. Inhibition of Hep2 and HeLa cell proliferation in vitro and EAC tumor growth in vivo by *Lapemiscurtus* (Shaw 1802) venom. *Toxicon* 2008; 51(1): 157-61.

- 67.Ali SA, Alam JM, Stoeva S, et al. Sea snake *Hydrophis cyanocinctus* and N-terminal sequence of two phospholipases A2. *Toxicon* 1999; 37(11): 1505-20.
- 68.Karthikeyan R, Karthigayan S, Sri Balasubashni M, et al. Histopathological changes induced in mice after intramuscular injection of venom from spin-bellied sea snake, *Lapemis curtus* (Shaw, 1802). *J Pharmacol Toxicol* 2007; 2(4): 307-18.
- 69.Abu-Sinna G, Esmat AY, Al-Zahaby AA, et al. Fractionation and characterization of *Cerastes cerastes* snake venom and the antitumor action of its lethal and non-lethal fractions. *Toxicon* 2003; 42(2): 207-15.
- 70.Hogland HC. Hematological complications of cancer chemotherapy. *Semin Oncol* 1982; 9(1): 95-102.
- 71.Yang RS, Tang CH, Chuang WJ, et al. Inhibition of tumor formation by snake venom disintegrin. *Toxicon* 2005; 45(5): 661-9.
- 72.Mora R, Valverde B, Díaz C, et al. A Lys49 phospholipase A2 homologue from *Bothrops asper* snake venom induces proliferation, apoptosis and necrosis in a lymphoblastoid cell line. *Toxicon* 2005; 45(5): 651-60.
- 73.Sun P, Ren XD, Zhang HW, et al. Serum from rabbit orally administered cobra venom inhibits growth of implanted hepatocellular carcinoma cells in mice. *World J Gastroenterol* 2003; 9(11): 2441-4.
- 74.Araya C, Lomonte B. Antitumor effects of cationic synthetic peptides derived from Lys49 phospholipase A2 homologues of snake venoms. *Cell Biol Int* 2007; 31(3): 263-8.
- 75.Zhou Q, Sherwin RP, Parrish C, et al. Contortrostatin, a dimeric disintegrin from *Agiistrodon contortrix*, inhibits breast cancer progression. *Breast Cancer Res Treat* 2000; 61(3): 249-60.
- 76.Zhong XF, Peng LS, Wu WY, et al. Identification and functional characterization of three postsynaptic short-chain neurotoxins from *Hydrophiinae*, *Lapemis hardwickii* gray. *Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng Wu Wu Li Xue Bao (Shanghai)* 2001; 33(4): 457-62.
- 77.Yang WL, Wei JW, Zhong XF, et al. Diversity of PLA(2) genes from sea snake *Lapemis hardwickii* gray venom. *Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng Wu Wu Li Xue Bao (Shanghai)* 2001; 33(3): 345-50.
- 78.Bailey GS, Banks BE, Pearce FL, et al. A comparative study of nerve growth factors from snake venoms. *Comp Biochem Physiol B* 1975; 51(4): 429-38.
- 79.Tokunaga Y, Yamazaki Y, Morita T. Specific distribution of VEGFF in Viperinae snake venoms: isolation and characterization of a VGEF-F from the venom of *Daboia russelli siamensis*. *Arch Biochem Biophys* 2005; 439(2): 241-7.

***Review Systematic Article***

# The toxinology of sea snakes: A systematic review

***GH. Mohebbi<sup>1\*</sup>, R. Seyedian<sup>1</sup>, I. Nabipour<sup>1</sup>,***

<sup>1</sup> The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

(Received 27 Jul, 2016      Accepted 24 Aug, 2016)

## ***Abstract***

**Background:** Sea snakes belong to Hydrophiidae family mainly are found in tropical and subtropical waters of the world including the Persian Gulf. Their highly lethal venoms are more potent than snakes with terrestrial origin and contain complex mixtures of organic and inorganic bioactive substances, such as enzyme, and non-enzymatic proteins. There were limited studies on the venoms and toxins of sea snake; hence, the aim of this systematic review was to investigate the toxinological dimensions of sea snakes.

**Materials and Methods:** In order to investigate of the toxins of sea snakes, the "Hydrophis schistosus toxin", "Hydrophis cyanocinctus toxin", " Hydrophis lapemoides toxin", "Hydrophis spiralis toxin", and "Lapemis curtus toxin " terms were searched separately, in "PubMed database", in 10/08/2016 which obtained 32, 9, 2, 2 and 4 papers, respectively. The "Hydrophis gracilis toxin" term had no any results. For the "Hydrophis gracilis" term, two studies were obtained. The first one related to the sea snakes phylogenetic characteristics and the second one shared with other search results and well-connected with the issue. Some papers were similar in different searches. Of these, those studies were selected that had direct relevance to the subject .

**Results:** The main isolated toxins from different sea snakes venoms included three-finger toxin (3FTx) (short chain neurotoxins isoforms: AAL54893, AAL54892, ABN54806; long chain neurotoxins isoforms: AAL54894, AAL54895, P68416 , ABN54805), pelamitoxin (P62388), phospholipase A<sub>2</sub> (both the basic and acidic PLA<sub>2</sub>), two phospholipases A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>-H1 and H2), cysteine-rich secretory protein (CRISP), snake venom Zn<sup>2+</sup>-metalloproteinase (SVMP), L-amino acid oxidase (LAAO), 5'-nucleotidase, Hydrophitoxins a, b and c, Hydrophis ornatus a, Hydrophis lapemoides a, PDGF and α- neurotoxins of rSN311, rSN316 and rSN285. Each toxin and protein family presents a wide range of pharmacological activities. Some of these neurotoxins were linked to acetylcholine receptors in the neuromuscular junctions. These toxins showed protease (gelatinase and caseinase) activities, and/or they produce the myonecrosis and biochemical and histopathological changes.

**Conclusion:** There is scant variability in the venom composition in the same and different species of sea snakes. Our study revealed that there is a rather simple venom profile with an affinity towards a lethal mixture of high abundance of neurotoxins and PLA2s, and lower amounts of toxins such as CRISP, SVMP and LAAO.

**Key words:** sea snake, venom, toxin, Persian Gulf

©Iran South Med J. All rights reserved.

**Cite this article as:** Mohebbi GH, Seyedian R, .Nabipour I. The toxinology of sea snakes: A systematic review. *Iran South Med J* 2016; 19(4): 662-703

Copyright © 2016 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: mohebbihsn@yahoo.com