

ИСТОРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ И ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ТОКСИНОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ РИЦИНА И АБРИНА

Никишин А.С., Мясников В.А., Ильинский Н.С., Пугач В.А.

с, 195043,

Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая д. 4, 8-(812)-775-02-41,

gniiivm_7@mil.ru

Резюме. В работе представлены исторические аспекты изучения и практического применения лектинов растительного происхождения рицина и абрина. Отражены два наиболее актуальных на сегодняшний день вектора их рассмотрения, касающиеся вопросов разработки на основе токсинов эффективных противоопухолевых средств и потенциальной угрозы использования в качестве биологических поражающих агентов. Обсуждение первого направления включает демонстрацию основных достижений и существующих проблем, ограничивающих внедрение препаратов в клиническую практику. Второго – обобщение фактов, аргументирующих сохранение высокой вероятности применения рицина и/или абрина в качестве средств биотерроризма и необходимость, в связи с этим, совершенствования мер противодействия.

Ключевые слова: риксин, абрин, история изучения, биологические поражающие агенты, противоопухолевые средства

HISTORICAL ASPECTS OF THE STUDY AND PRACTICAL APPLICATION OF PLANT TOXINS RICIN AND ABRIN

Nikishin A.S., Myasnikov V.A., Ilinskiy N.S., Pugach V.A.

State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of Russia, 195043, Russian Federation, Saint Petersburg, Lesoparkovaya Str., 4, 8-(812)-775-02-

41, gniiivm_7@mil.ru

Abstract: The paper presents the historical aspects of the study and practical application of lectins of plant origin, ricin and abrin. The two most actual vectors of their consideration today are reflected. One of them concerns the issues of development of effective antitumor agents based on toxins and the other one is about potential threat of use the toxins as biological damaging agents. The discussion of the first direction includes a demonstration of the main achievements and existing problems that limit the introduction of the drugs into clinical practice. The second one involves generalization of facts that arguing the preservation of a high probability of using ricin and/or abrin as a means of bioterrorism and the need to improve countermeasures in this regard.

Key words: ricin, abrin, study history, biological damaging agents, antitumor agents.

ВВЕДЕНИЕ

Рицин и абрин представляют собой растительные токсины, принадлежащие к группе рибосом-ингибирующих протеинов II типа (РИП II), источниками которых служат плоды *Ricinus communis* (Клещевина обыкновенная) и *Abrus precatorius* (Четочник молитвенный) соответственно. Оба соединения способны нарушать процесс синтеза белка на рибосомах эукариотических клеток [1]. Наличие такого механизма действия позволило исследовать их в роли перспективных противоопухолевых средств, обладающих выраженным цитотоксическим эффектом в отношении злокачественных клеток при применении в незначительных количествах [2].

С другой стороны, низкие значения смертельных доз, высокая доступность растений-продуцентов, определяющая возможность получения первичного сырья в больших объемах, достаточно простая процедура извлечения из плодов, не требующая наличия высокотехнологичного оборудования, или, напротив, возможность наработки рекомбинантных образцов, не уступающих по основным физико-химическим свойствам природным соединениям, методами синтетической биологии, несовершенная система установления случаев применения и диагностики отравлений, отсутствие эффективных средств профилактики и терапии позволяют относить и рицин и абрин к потенциальным биологическим поражающим агентам (БПА) [3, 4, 5, 6].

Учитывая тот факт, что оба вектора изучения токсинов касаются актуальных на сегодняшний день научных направлений, связанных как с разработкой высокоактивных противоопухолевых средств, так и с обеспечением биологической безопасности населения страны в условиях сохраняющейся угрозы применения БПА, **целью настоящей работы** стал анализ основных этапов изучения и использования рицина и абрина, а также определение перспектив дальнейших исследований.

ЭТАПЫ ИЗУЧЕНИЯ СТРУКТУРЫ И МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ

РИЦИНА И АБРИНА

Большой научный интерес к изучению растительных ядов рицина и абрина возник в конце XIX века, когда появились первые упоминания об их вероятной химической природе. Это событие напрямую связано с учеными С. Warden и L. Waddel, выдвинувшими предположение о том, что структура абрина соответствует белку. Несколько позже Т. Dixon высказал подобное и в отношении рицина [2].

Подробное же исследование токсинов было выполнено в Дерптском университете (в настоящее время Тартуский, Эстония) в лаборатории R. Kobert, в которой работавший над докторской диссертацией микробиолог P. Stillmark в 1888 году определил, что

обладающее токсичными свойствами соединение, выделенное из плодов растения *Ricinus communis*, относится к белкам. Также с его именем связано и первое представление о механизме токсического действия рицина, обусловленном агглютинирующей активностью в отношении эритроцитов. В той же лаборатории в 1891 г. Н. Hellin установил подобные свойства и для абрина [1, 2].

На начальном этапе большой вклад в характеристику обоих токсинов внес выдающийся немецкий врач Р. Ehrlich, продемонстрировавший их иммуногенные свойства. Он показал, что подкожное введение лабораторным животным сублетальных доз рицина или абрина приводило к появлению сывороточных белков, способных осаждать токсины и препятствовать развитию интоксикации у особей экспериментальных групп. При этом было отмечено, что определенное количество сыворотки связывает определенное количество антигена [2, 7]. Продолжая исследования иммунитета Р. Ehrlich, установил, что животные, иммунизированные рицином, не были защищены от интоксикации абрином и наоборот. Таким образом, была наглядно показана специфичность образующихся в сыворотке крови антител [7].

Помимо этого, глубокий анализ экспериментальных данных и незаурядное мышление ученого позволили выдвинуть гипотезу, согласно которой механизм токсического действия рицина и абрина связан с их влиянием на внутриклеточные процессы, а не опосредован агглютинацией эритроцитов. Р. Ehrlich предполагал, что токсины могут состоять из двух частей: связывающей области, называемой «гаптофор», и фрагмента, отвечающего за токсичность, именуемого «токсофор». Установление кристаллической структуры показало, что размышления ученого оказались довольно близки к действительности. Поскольку рассматриваемые белки представляли собой гетеродимеры, состоящие из двух полипептидов, соединенных между собой дисульфидной связью [1].

На сегодняшний день роль каждого структурного элемента токсинов установлена, а также им присвоены соответствующие названия – субъединица А (РТА) и Б (РТБ). При этом, как и считал Р. Ehrlich, каждая из них выполняет свою специфическую функцию. В частности, РТА обладает каталитической активностью и может соответствовать определению «токсофор». В свою очередь РТБ, обеспечивающая связывание с поверхностью клеточной мембраны, подходит под описание «гаптофор» [1].

Однако, несмотря на новизну полученных сведений, интерес к рицину и абрину ослаб почти на 70 лет и был замещен изучением различных факторов патогенности микробного происхождения [2].

Вновь внимание общественности к растительным токсинам было привлечено во второй половине XX века сообщениями об их цитотоксической активности в отношении опухолевых клеток. Публичное представление этих данных положило начало новому этапу пристального изучения как рицина, так и абрина [2].

В этот период значительные усилия научного сообщества в первую очередь были направлены на раскрытие основных механизмов действия, позволяющих достигать высоких показателей противоопухолевой активности. Многие исследователи в своих работах отмечали, что результатом аппликации токсинов служило нарушение синтеза белка в клетке, несвязанное с повреждением структуры полирибосом. Этот факт позволил предположить наличие у рицина и абрина ферментативных свойств, которые могли быть реализованы на этапе удлинения полипептидной цепи [1, 2].

Весомый вклад в расшифровку механизма действия рицина и многих соединений, позже отнесенных в группу рибосом-ингибирующих протеинов, был внесен коллективом ученых под руководством Y. Endo, продемонстрировавших в экспериментах на клетках печени крыс N-гликозидазную активность субъединицы А токсина, которая заключалась в расщеплении гликозидной связи аденина в положении 4324 на 28S рибосомной рибонуклеиновой кислоте (рРНК). Учитывая важную роль данного участка в присоединении факторов элонгации, обеспечивающих наращивание полипептидной цепи, нарушение в нем нуклеотидной последовательности в конечном итоге приводило к блоку синтеза белка в клетке и её гибели в ближайшие сроки [7].

На сегодняшний день благодаря усилиям множества исследователей структура рицина и абрина полностью изучена, а также определены основные механизмы их цитотоксического действия. Так, известно, что токсины представляют собой гетеродимеры, состоящие из субъединиц А и Б и имеющие молекулярную массу около 65 кДа. Субъединица Б относится к семейству углеводсвязывающих белков, называемых лектинами. Она обеспечивает высокоспецифичное связывание с гликопротеинами и гликолипидами на поверхности клеточной мембраны. В частности, лектиновые домены рицина и абрина обладают высоким сродством с участками, содержащими галактозу, N-ацетилгалактозамин или N-ацетилнейрамовую кислоту. Именно наличие РТБ придает токсинам гемагглютинирующие свойства в отношении эритроцитов, ранее описанные P. Stillmark в качестве основного механизма токсичности [1]. Также было установлено, что альтернативным способом поступления РТА в цитоплазму клеток-мишеней может служить маннозоопосредованный путь. Маннозный рецептор (CD 206) представляет собой трансмембранный белок массой 175 кДа, который распознает сложные олигосахариды с

концевыми остатками, представленными маннозой, фукозой или N-ацетилглюкозамином, и обеспечивает их интернализацию [8].

После связывания с поверхностью цитоплазматической мембраны токсины попадают внутрь клетки путем реализации механизмов клатрин-зависимого или клатрин-независимого эндоцитоза. Далее они имеют различную судьбу: большая их часть рециркулирует на поверхность клетки, другая направляется в лизосомы для ферментативной деградации. Основной же токсический эффект связан с, приблизительно, 5 % сохранивших активность соединений, которые поступают в аппарат Гольджи и далее ретроградным путем в эндоплазматический ретикулум (ЭПР). Считается, что именно в просвете ЭПР происходит восстановление дисульфидной связи, соединяющей субъединицы А и В между собой. Сегодня в осуществлении этого процесса определена роль протеиндисульфидизомеразы и α -маннозидазы I-подобного белка [7, 8].

Освободившись от РТБ, обладающая каталитической активностью РТА, поступает в цитозоль клетки при участии комплекса Sec 61 и прикрепляется на сарцин-рициновой петле, охватывая двумя тирозиновыми кольцами каталитического центра аденин. Далее в ходе ферментативной реакции происходит разрушение гликозидной связи и удаление азотистого основания из нуклеотидной последовательности. Изменение в рРНК приводит к нарушению взаимодействия фрагмента цепи с факторами элонгации 1 и 2, что неминуемо ведет к прекращению синтеза белка в клетке и её гибели [9].

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ УГРОЗЫ ПРИМЕНЕНИЯ РИЦИНА И АБРИНА В КАЧЕСТВЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПОРАЖАЮЩИХ АГЕНТОВ

Пристальное внимание на высокую токсичность рицина при различных путях поступления в организм было обращено в период Первой и Второй мировых войн, когда его всерьез стали рассматривать в качестве потенциального наступательного поражающего агента. Наиболее активно изучением этого вопроса занимались специалисты Соединенных Штатов Америки (США) и Великобритании. Известно, что в Соединенном Королевстве снарядам, содержащим данный токсин, был присвоен шифр – «Агент W». А результатом исследований, проводимых в США, в которых количество наработанного рицина достигало порядка 1,7 тонн, стало получение патента на подготовку его к использованию в качестве оружия массового поражения (ОМП) [10].

В ходе изучения рицина было установлено, что высокие показатели токсичности при ингаляционном воздействии могут повлечь за собой формирование массовых санитарных потерь в случае применения на поле боя. Однако также было показано, что токсикант не обладает кожно-резорбтивным действием, а диспергирование до аэрозольного состояния

разрывными снарядами сопровождается потерей активности. Помимо этого, длительное хранение порошка сопряжено со слеживаемостью и комкованием, а накопление в виде раствора – к разрушению с течением времени. Другая причина, ограничивающая его использование, заключалась в подверженности нейтрализующему действию ультрафиолетового излучения – получасовая экспозиция в ультрафиолете приводила к снижению его активности в 1000 раз. Также стало известно, что использование рицина в виде аэрозоля не создает проблем для защиты от него. Для этих целей достаточно противогаза с угольным фильтром [11].

Исходя из вышесказанного, становится понятно по каким причинам рицин так и не был принят на вооружение ни одной из стран мира. Кроме того, в полной мере этому воспрепятствовало начало изучения фосфорорганических соединений, которые обладали наиболее подходящими характеристиками для использования в качестве ОМП [4].

Однако упоминания об угрозе применения рицина в качестве БПА продолжают появляться как в средствах массовой информации (СМИ), так и в научных публикациях отечественных и зарубежных авторов. Так, имеются данные о том, что его наработка в больших объемах (10 л концентрированного раствора рицина) осуществлялась в Ираке в 1989 г. и предшествовала проведению испытаний на лабораторных животных. Сообщалось об обнаружении токсина в Афганистане в 2001 г. Также в получении неопределенных количеств рицина были заподозрены Сирия и Иран [4]. Помимо этого, многие специалисты отмечают, что приобретение токсина в готовом виде возможно в сети Интернет, там же широко представлены алгоритмы экстрагирования из первичного сырья и подходы к его биотехнологическому синтезу [12].

Практическим отражением доступности рицина служат задокументированные факты незаконного получения и накопления рицина как отдельными лицами для совершения убийств или самоубийств, так и радикально настроенными формированиями в ходе террористической деятельности [4].

Один из наиболее известных случаев применения токсина с целью убийства связан с именем болгарского писателя и диссидента Г. Маркова, работавшего журналистом британской газеты «ВВС» и выступавшим яростным критиком Болгарской коммунистической партии и её лидера Т. Живкова. Известно, что 7 сентября 1978 г., возвращаясь на работу после обеда, он направился на автобусную остановку. Ожидая транспорт, Г. Марков внезапно почувствовал боль в области правой икроножной мышцы, а обернувшись увидел человека с зонтом, который извинился и поспешно сел в такси. Не придав произошедшему серьезного внимания, он отправился к месту работы. Позже боль в области икроножной мышцы усилилась, а при осмотре определялось

небольшое покраснение. Той же ночью появились лихорадка, общая слабость, тошнота и рвота. Представленные симптомы послужили поводом для обращения за медицинской помощью. В больнице Г. Маркову был поставлен диагноз сепсис. Несмотря на проводимое лечение, спасти пациента не удалось [13].

Вышеупомянутые события явно демонстрируют, что рицин известен во всем мире как среди радикально настроенных представителей общества, так и лиц, предпринимающих попытки с его помощью решить бытовые проблемы. Для предотвращения возможной реализации сценариев использования токсина в качестве орудия убийства его оборот регулируется на законодательном уровне. Так, он входит в список 1 "Конвенция о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и о его уничтожении" (с изм. от 07.06.2020), заключенной в Париже 13 января 1993 г., а также в перечень 2 Центра по контролю и профилактике заболеваний США [6].

Помимо этого, ведутся исследования по совершенствованию подходов к его определению в пробах объектов окружающей среды, продуктах питания, биологическом материале, а также разработке средств профилактики и терапии данных отравлений [14], поскольку наличие выстроенных алгоритмов установления факта применения и оказания медицинской помощи пораженным способно снизить угрозу до минимума.

Обзор современных методов и средств экспресс-индикации токсальбуминов с указанием порогов чувствительности, а также основных проблем, связанных с их доступностью представлен в работе [15]. Для клинической практики большое значение имеет продолжительность определения этиологического фактора отравления в конкретном материале, отобранном от пациента, так как от этого зависит своевременность и точность поставленного диагноза, а следовательно, и эффективность проводимого лечения. Сегодня в литературе отражены временные промежутки выявления рицина в биологическом субстрате при различных путях поступления токсиканта. Так, при пероральном отравлении токсин может быть определен в крови между 4-20 ч после интоксикации, в кале – с 4 ч до 7 сут с сохранением возможности установления в 50 % проб. В случае ингаляционного воздействия ранняя диагностика (до 1 ч после интоксикации) возможна при получении смывов из носоглотки, а в качестве оптимального материала для индикации рассматривают бронхоальвеолярный лаваж, в котором период выявления соответствует 4-16 ч. Все представленные данные получены в опытах на лабораторных животных с применением иммуноферментного анализа [14]. Очевидно, приведенные сведения могут быть положены в основу разработки эффективных алгоритмов верификации отравлений, что особенно актуально в условиях неспецифичности симптомов и синдромов интоксикации РИП II,

схожими с таковыми при поражении другими токсикантами, проявлениями множества инфекционных заболеваний [16].

Значимые успехи также достигнуты в создании вакцин против рицина. В качестве основных кандидатов рассматривают образцы RVEcTM и RiVaxTM, продемонстрировавшие высокие показатели защитной эффективности при различных путях введения токсина (пероральном и ингаляционном) в опытах на нескольких видах лабораторных животных и должный уровень иммуногенности и безопасности в ходе клинических исследований [17].

Характеризуя проработанность вопросов лечения отравлений рицином следует отметить, что по мнению ряда специалистов, на сегодняшний день наиболее эффективный подход в оказании медицинской помощи пораженным заключается в применении нейтрализующих антител, способных связывать токсин или его субъединицы и предотвращать реализацию механизмов токсического действия [14, 18]. Развитие этого вектора отражено в большом числе публикаций, посвященных изучению поликлональных [19, 20, 21, 22] и моноклональных антител [23, 24], а также разработанных на их основе химерных [25] и гуманизированных образцов [26, 27]. При этом, несмотря на сложность объективного сравнения кандидатов, связанную с использованием различных моделей интоксикации, очевидны значительные успехи в достижении высоких показателей выживаемости при введении препаратов в ранние сроки после поступления токсина в организм.

Помимо этого, идет активное изучение подходов к повышению эффективности разрабатываемых средств специфической терапии. Так, зарубежные специалисты рассматривают возможность комбинированного применения нескольких моноклональных антител, направленных к различным эпитопам обеих субъединиц рицина. Одной из основополагающих задач данной области выступает выбор оптимального сочетания кандидатов, исключающий их взаимный антагонизм, приводящий к снижению эффективности от совместного использования [28, 29].

Таким образом, несмотря на значительные успехи, достигнутые в изучении вопросов диагностики, профилактики и терапии отравлений рицином, многие из которых в скором будущем могут завершиться конкретными решениями, способными снизить к нему интерес, как к потенциальному БПА, на сегодняшний день угрозу его применения в полной мере следует считать актуальной.

Абрин схож с рицином по основным свойствам, отражающим структуру и механизм токсического действия, характер морфофункциональных изменений при поступлении в организм, простоту извлечения из плодов, не требующую наличия высокоспециализированного оборудования. При этом значения летальных доз не уступают

таковым для рицина [14]. Среди различий следует отметить меньшую доступность сырья для его получения, обусловленную отсутствием крупномасштабного культивирования растения-продуцента для промышленных целей. В тоже время *Abrus precatorius* имеет широкий ареал произрастания в различных регионах субтропического и тропического поясов, в которых о токсических свойствах его плодов знают с древних времен [30]. Этот факт определяет возможность получения и накопления абрина в достаточных количествах для реализации сценариев групповых отравлений. При этом не исключены варианты его синтеза в необходимых объемах для применения с подобными целями в условиях наибольших лабораторий [3].

На сегодняшний день отсутствуют задокументированные факты использования абрина в качестве ОМП или орудия убийств людей. В тоже время токсин имеет длительную историю применения в роли агента для умерщвления животных в Индии – на родине растения-продуцента. Для этой цели представители низших сословных каст применяют специальные иглы размером около одного дюйма, которые готовят из пасты, получаемой при измельчении семян *Abrus precatorius* с добавлением воды. После высушивания на солнце они приобретают твердую консистенцию и могут быть использованы для парентерального введения животным. Приготовленные таким образом иглы получили названия Sui/Sutari [30].

Обеспокоенность потенциальной угрозой применения абрина в качестве поражающего агента отражена как в научных трудах [3, 4], так и в недавних публикациях в СМИ [31]. Этому в полной мере способствует низкая проработанность вопросов диагностики, профилактики и терапии интоксикаций. Сегодня отсутствуют широкодоступные надежные тесты способные быстро подтвердить факт отравления абрином [5]. При этом основные выводы о клинко-лабораторной диагностике интоксикаций базируются преимущественно на данных исследований, проведенных в отношении рицина [3]. Единичные работы посвящены разработке кандидатных вакцин [32, 33] и получению нейтрализующих антител, как основе для создания перспективных средств специфической терапии [34, 35, 36].

Несмотря на то, что абрин, также как и рицин, внесен в списки Центра по контролю и профилактике заболеваний США, отсутствие должного уровня исследований в направлении повышения готовности к потенциальной угрозе его применения может стать весомым аргументом в пользу использования токсиканта в ходе террористических атак и диверсий, реализация которых способна создать серьезные трудности как в вопросах верификации диагноза, так и выборе оптимальных подходов к оказанию медицинской помощи пострадавшим.

РИЦИН И АБРИН – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА

С давних времен части растений *Ricinus communis* и *Abrus precatorius* использовали при лечении различных заболеваний. Так, в папирусе Эберса, египетском медицинском трактате, датируемом 1500 г. до н. э., целая глава посвящена применению клещевины в качестве abortивного, слабительного и противовоспалительного средства. В папирусе Херста, написанном ориентировочно в тот же период, отражены факты включения компонентов, полученных из *Ricinus communis*, в состав рецептов для стимулирования диуреза [6].

Также в литературе имеются упоминания о назначении Гиппократом касторового масла в качестве слабительного и детоксикационного средств (400 г. до н.э.). Греческий травник и врач Диоскорид (40-90 гг. н. э.) в *De Materia Medica* писал, что семена *Ricinus communis* могут использоваться для стимулирования рвоты, а также при лечении рожи и ожогов [6, 37].

В китайской народной медицине плоды клещевины применяли с целью достижения антигельминтного эффекта, компресс из семян и сока листьев использовали наружно при язвах и лечении долго незаживающих ран. В Аюрведе представлены данные о назначении частей *Ricinus communis* при желудочно-кишечных расстройствах, воспалении, лихорадке, заболеваниях дыхательной системы [6, 37].

Показания к применению *Abrus precatorius* подробно описаны в трудах индийской народной медицины. Известно, что водный экстракт листьев использовали для лечения глазных болезней, корней – стимулирования менструации. Также утверждалось, что проглатывание одного семени во время менструального цикла препятствует зачатию ребенка в течение одного года [30].

На сегодняшний день представлены научно обоснованные данные об антимикробной активности вытяжки из корня *Четочника молитвенного* в отношении грамположительных микроорганизмов, гипогликемическом эффекте от использования хлороформ-метанольного экстракта из семян растения, противоаллергическом и бронходилатирующем действии, обусловленном содержанием в листьях абрухинонов и др. [30].

Среди многообразия перспективных направлений терапевтического применения различных частей рассматриваемых в рамках настоящей работы растений, наибольший интерес научного сообщества вызвали результаты, демонстрирующие цитостатическую активность содержащихся в плодах белковых токсинов рицина и абрина. Их эффективность была показана на различных моделях опухолевого процесса в эксперименте.

Так, способность замедлять рост злокачественных клеток была установлена при саркоме [2], снижать интенсивность метастазирования при аденокарциноме [38, 39], а также увеличивать продолжительность жизни при введении лабораторным животным лейкозных клеток и др. [40].

Обнадёживающие данные, полученные в ходе доклинических исследований, стали основой для изучения эффективности противоопухолевых средств в ходе клинических испытаний. Результаты тестирования рицина на пациентах показали, что внутривенное введение токсина препятствует прогрессированию онкологических заболеваний почек, желудочно-кишечного тракта и крови [41]. Однако его применение сопровождалось развитием гриппоподобного синдрома, тошноты и рвоты. Помимо этого, эффективность проводимого лечения снижалась со временем, что было обусловлено формированием рицин-нейтрализующих антител, нивелирующих его терапевтический потенциал [41].

Также было установлено, что наличие в структуре токсина субъединицы Б, способной неспецифично связываться с гликолипидами и гликопротеинами на поверхности клеток организма, определяет его низкую селективность к опухолевым мишеням. Ярким проявлением этого было развитие у пациентов синдрома повышенной сосудистой проницаемости, возникающего в результате повреждения эндотелия и характеризующегося перераспределением жидкости из сосудистого русла в ткани. Несмотря на обратимость представленных нарушений, значительная степень их выраженности могла стать причиной тяжелой гиповолемии и полиорганной недостаточности [9].

Один из первых подходов, направленных на достижение селективности в реализации терапевтического действия рицина и абрина, заключался в разработке на их основе иммунотоксинов (ИТ), состоящих из цельного токсина и нацеливающего фрагмента, в роли которого выступали антитела к антигенам злокачественных новообразований. Однако, несмотря на высокую эффективность конструкций *in vitro*, по данным экспериментов *in vivo* было установлено сохранение выраженного общетоксического действия. Это обстоятельство определило необходимость изучения новых путей по формированию оптимальных соотношений безопасности и эффективности перспективных лекарственных средств, среди которых рассматривали варианты стерического блокирования, химической модификации лектиновых фрагментов или полного удаления Б-цепи [37].

Бурное развитие молекулярной биологии и генной инженерии в 80-е годы XX века позволило разработать и представить общественности ИТ нового поколения. Так, в 1988 г. V. Ghatie и соавт. опубликовали данные о противоопухолевом средстве, состоящем из Fab-фрагмента иммуноглобулина, конъюгированного с химически дегликозилированной

субъединицей А рицина [37]. Позднее предпринимались попытки включения в состав конструкций моноклональных антител [42, 43] и рекомбинантной субъединицы А рицина [37, 44]. При этом многие из созданных образцов показывали многообещающие результаты в опытах на лабораторных животных и в ходе клинических исследований. Однако, как и прежде широкое внедрение в клиническую практику ограничивала низкая селективность действия, сохранение иммуногенности, короткий период полувыведения и проблема внутриклеточной лизосомальной деградации [37].

На сегодняшний день полученные результаты не позволили отказаться от идеи дальнейшего изучения рицина и абрина в качестве цитостатиков. Одним из примеров этого служит работа, опубликованная в 2019 г. Е.-G. Chavez-Cortez и соавт., по созданию иммунотоксина на основе птичьего иммуноглобулина Y к антигену CD133 и рекомбинантной субъединицы А абрина, предназначенного для проведения терапии распространенной первичной злокачественной опухоли центральной нервной системы – глиобластомы. По результатам серии экспериментов было установлено, что использование представленной конструкции в экспериментах *in vivo* приводит к уменьшению объема опухоли до 55 %. Этот факт позволил считать предложенный подход перспективным для дальнейших исследований [45].

Альтернативным направлением по созданию высокоселективных и безопасных средств на основе рицина и абрина стал подход, базирующийся на применении наночастиц, имеющих доказанную эффективность при необходимости адресной доставки фармакологически активных веществ к клеткам-мишеням. К их достоинствам относят: способность легко проникать через биологические барьеры, длительный период полувыведения, возможность контролируемого высвобождения, улучшенная биодоступность и защита от лизосомальной деградации [9].

Первые исследования по реализации представленного подхода заключались в инкапсуляции рицина в отрицательно заряженные фосфатидилсериновые липосомы. Их использование позволило повысить цитотоксичность препарата в отношении клеточной линии лимфомы у мышей [9]. В дальнейшем в качестве способа доставки рицина использовали отрицательно и положительно заряженные липосомы, в том числе с включением в их состав полимеров, мезопористого диоксида кремния и др. При этом многие из них демонстрировали повышение эффективности цитотоксического действия в отношении различных популяций опухолевых клеток без поражения нормально функционирующих [46].

Однако работа в данном направлении так и не была завершена, что оставило вопрос использования наноносителей в качестве средств безопасной и эффективной доставки рицина и абрина открытым [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день продолжительность изучения растительных лектинов рицина и абрина насчитывает более 130 лет. Однако за столь длительный временной отрезок вопросы, связанные с их практическим применением окончательно не решены. Не оставлены попытки получения на их основе противоопухолевых препаратов. Сегодня разработка подобных средств ведется с использованием рекомбинантных форм токсинов или их субъединиц, которые применяются как в роли токсической части современных ИТ, так и самостоятельных соединений, в отношении которых изучаются различные способы доставки к клеткам-мишеням.

Нерешенной остается проблема потенциальной угрозы использования рицина и абрина в качестве БПА. Несмотря на установленный контроль за их оборотом, оба токсина остаются доступными в количествах достаточных для реализации сценариев групповых отравлений. В этой связи большую актуальность представляют вопросы разработки средств специфической индикации, профилактики и терапии поражений рассматриваемыми агентами, наличие которых способно снизить потенциальную угрозу их использования в связи с невозможностью достижения конечных целей.

Таким образом, актуальность исследований рицина и абрина сохраняется и на сегодняшний день. При этом важность решаемых вопросов имеет практическое значение как для гражданского здравоохранения, так и военной медицины.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Walsh M. J., Dodd J. E., Hautbergue G. M. Ribosome-inactivating proteins: potent poisons and molecular tools. *Virulence*. 2013; 4 (8): 774-784.
2. Olsnes S. The history of ricin, abrin and related toxin. *Toxicons*. 2004; 44 (4): 361-370.
3. Patocka J. Abrin and ricin-two dangerous poisonous proteins. *ResearchGate*. 2002. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/285477944> (дата обращения: 15.11.2021).
4. Roxas-Duncan V. I. Of beans and beads: ricin and abrin in bioterrorism and biocrime. *J. Bioterr. Biodef.* 2011: 2156-2164.
5. Facts about abrin. Center for disease control and prevention. Available at: <https://emergency.cdc.gov/agent/abrin/basics/facts.asp> (дата обращения: 15.11.2021).
6. Franke H., Scholl R., Aigner A. Ricin and Ricinus communis in pharmacology and toxicology – from ancient use and "Papyrus Ebers" to modern perspectives and "poisonous plant of the year 2018". *Arch. Pharm.* 2019; 392 (10): 1181-1208.
7. Bolognesi M., Bortolotti M., Maiello S., Battelli M. G., Polito L. Molecule's ribosome-inactivating proteins from plants: a historical overview. *Molecules*. 2016; 21 (12): 1627-1639.
8. O'Hara J. M., Yermakova A., Mantis N. J. Immunity to ricin: fundamental insights into toxin-antibody interactions. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2012: 209-241.
9. Tyagi N., Tyagi M., Pachauri M., Ghosh P. C. Potential therapeutic applications of plant toxin-ricin in cancer: challenges and advances. *Tumour Biol.* 2015; 36 (11): 8239-8246.
10. Barceloux D. G. Medical toxicology of natural substances: foods, fungi, medicinal herbs, plants, and venomous animals. Springer; 2008: 1155 p.
11. Антонов Н. С. Химическое оружие на рубеже двух столетий. М.: Прогресс; 1994: 173 с.
12. Griffiths G. D. Understanding ricin from a defensive viewpoint. *Toxins (Basel)*. 2011; 3 (11): 1373-1392.
13. Gaillard Y., Regenstreif P., Fanton L. Modern toxic antipersonnel projectiles. *Am. J. Forensic. Med. Pathol.* 2014; 35 (4): 258-264.
14. Gopalakrishnakone P., Balali-Mood M., Llewellyn L. Biological toxins and bioterrorism. Springer. Netherlands; 2015: 611 p.
15. Митева О. А., Быкова К. А., Мясникова И. А., Чепур С. В., Аль-Шехадат Р. И. Анализ современных методов и средств экспрессной индикации растительных токсинов, ингибирующих синтез белка. *Medline.ru*. 2020; 21: 579-592.

16. Audi J., Belson M., Patel M., Schier J., Osterloh J. Ricin poisoning: a comprehensive review. *JAMA*. 2005; 294 (18): 2342-2351. doi: 10.1001/jama.294.18.2342.
17. Vance D. J., Mantis N. J. Progress and challenges associated with the development of ricin toxin subunit vaccines. *Expert. Rev. Vaccines*. 2016; 15 (9): 1213-1222. doi: 10.1586/14760584.2016.1168701.
18. Pincus S. H., Smallshaw J. E., Song K., Berry J., Vitetta E. S. Passive and active vaccination strategies to prevent ricin poisoning. *Toxins (Basel)*. 2011; 3 (9): 1163-1184.
19. Pratt T. S., Pincus S. H., Hale M. L., Moreira A. L., Roy C. J., K.-M. Tchou-Wong Oropharyngeal aspiration of ricin as a lung challenge model for evaluation of the therapeutic index of antibodies against ricin A-chain for post-exposure treatment. *Exp. Lung. Res*. 2007; 33: 459-481.
20. Gal Y., Mazor O., Alcalay R., Seliger N., Aftalion M., Sapoznikov A. et. al. Antibody/doxycycline combined therapy for pulmonary ricinosis: attenuation of inflammation improves survival of ricin-intoxicated mice. *Toxicol. Rep*. 2014; 1: 496-504.
21. Falach R., Sapoznikov A., Alcalay R., Aftalion M., Ehrlich S., Makovitzki A. et. al. Generation of highly efficient equine-derived antibodies for post-exposure treatment of ricin intoxications by vaccination with monomerized ricin. *Toxins*. 2018; 10 (11): 466-479.
22. Whitfield S., Griffiths G. D., Jenner D. C., Gwyther R. J., Stahl F. M., Cork L. J. et. al. Production, characterisation and testing of an ovine antitoxin against ricin; efficacy, potency and mechanisms of action. *Toxins*. 2017; 9 (10): 329-340.
23. Dong N., Luo L., Wu J., Jia P., Li Q., Wang Y. Monoclonal antibody, mAb 4C13, an effective detoxicant antibody against ricin poisoning. *Vaccine*. 2015; 33 (32): 3836-3842.
24. Respaud R., Marchand D., Pelat T., Tchou-Wong K.-M., Roy C. J., Parent C. et al. Development of a drug delivery system for efficient alveolar delivery of a neutralizing monoclonal antibody to treat pulmonary intoxication to ricin. *J. Control Release*. 2016: 21-32.
25. O'Hara J. M., Whaley K., Pauly M., Zeitlin L., Mantis N. J. Plant-based expression of a partially humanized neutralizing monoclonal IgG directed against an immunodominant epitope on the ricin toxin A subunit. *Vaccine*. 2012; 30 (7): 1239-1243.
26. Hu W., Yin J., Chau D., Negrych L. M., Cherwonogrodzky J. W. Humanization and characterization of an anti-ricin neutralization monoclonal antibody. *PLoS One*. 2012; 7 (9): 456-466.
27. Roy C. J., Ehrbar D. J., Bohorova N., Bohorov O., Kim D., Pauly M. Rescue of rhesus macaques from the lethality of aerosolized ricin toxin. *JCI Insight*. 2019; 4 (1): 456-464.

28. Noy-Porat T., Rosenfeld R., Ariel N., Epstein E., Alcalay R., Zvi A. et. al. Isolation of anti-ricin protective antibodies exhibiting high affinity from immunized non-human primates. *Toxins*. 2016; 8 (3): 64-78.
29. Noy-Porata T., Alcalaya R., Epstein E., Sabo T., Kronman C., Mazor O. Extended therapeutic window for post-exposure treatment of ricin intoxication conferred by the use of high-affinity antibodies. *Toxicon*. 2017; 27: 100-105.
30. Das A., Jain V., Mishra A. A brief review on a traditional herb: abrus precatorius (L.). *IP. Int. J. Forensic. Med. Toxicol. Sci.* 2016; 1 (1): 1-10.
31. Abrin – Another Poison Being Experimented with by Terrorists. Food safty magazine Available at: <https://www.food-safety.com/articles/6437-abrin-another-poison-being-experimented-with-by-terrorists> (дата обращения: 01.12.2021).
32. Wang J., Gao S., Xin W. A novel recombinant vaccine protecting mice against abrin intoxication. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2015; 11 (6): 1361-1367. doi: 10.1080/21645515.2015.1008879.
33. Han Y.-H., Gao S., Xin W.-W., Kang L., Wang J.-L. A recombinant mutant abrin A chain expressed in Escherichia coli can be used as an effective vaccine candidate. *Hum. Vaccin.* 2011; 7 (8): 838-844. doi: 10.4161/hv.7.8.16258.
34. Sabo T., Gal Y., Elhanany E. Antibody treatment against pulmonary exposure to abrin confers significantly higher levels of protection than treatment against ricin intoxication. *Toxicol. Lett.* 2015; 237 (2): 72-78.
35. Mechaly A., Alcalay R., Noy-Porat T. Novel phage display-derived anti-abrin antibodies confer post-exposure protection against abrin intoxication. *Toxins (Basel)*. 2018; 10 (2): 82-90.
36. Surendranath K., Karande A. A. A neutralizing antibody to the a chain of abrin inhibits abrin toxicity both in vitro and in vivo. *Clin. Vaccine. Immunol.* 2008; 15 (5): 737-743.
37. Polito L., Bortolotti M., Battelli M. G., Calafato G., Bolognesi A. Ricin: An ancient story for a timeless plant toxin. *Toxins (Basel)*. 2019; 11 (6): 324-331.
38. Lin J. Y., Chen C. C., Lin L. T., Tung T. C. Inhibitory effect of abrin on Ehrlich ascites tumor. *Taiwan*. 1969; 68 (10): 522-525.
39. Gundersen S., Fodstad O. Treatment of micrometastases from Lewis lung carcinoma with abrin and cyclophosphamide, given singly and in combination. *Int. J. Cancer*. 1979; 23 (4): 530-535.
40. Fodstad O., Pihl A. Effect of ricin and abrin on survival of L1210 leukemic mice and on leukemic and normal bone-marrow cells. *Int. J. Cancer*. 1978; 22 (5): 558-563.
41. Fodstad O., Kvalheim G., Godal A., Lotsberg J., Aamdal S., Høst H. A Pihl Phase I study of the plant protein ricin. *Cancer Res.* 1984; 44 (2): 862-865.

42. Shapira A., Benhar I. Toxin-based therapeutic approaches. *Toxins (Basel)*. 2010; 2 (11): 2519-2583.
43. Byers V. S., Rodvien R., Grant K., Durrant L. G., Hudson K. H., Baldwin R. W. et. al. Phase I study of monoclonal antibody-ricin A chain immunotoxin XomaZyme-791 in patients with metastatic colon cancer. *Cancer Res.* 1989; 49 (21): 6153-6160.
44. Weiner L. M., O'Dwyer J., Kitson J., Comis R. L., Frankel A. E., Bauer R. J. et. al. Phase I evaluation of an anti-breast carcinoma monoclonal antibody 260F9-recombinant ricin A chain immunoconjugate. *Cancer Res.* 1989; 49 (14): 4062-4067.
45. Chavez-Cortez E.-G., Felix G. V., López E. R., Sotelo J., Martínez-Canseco C., Pérez-de la Cruz V. et al. Production and evaluation of an avian IgY immunotoxin against CD133+ for treatment of carcinogenic stem cells in malignant glioma: IgY immunotoxin for the treatment of glioblastoma. *J. Oncol.* 2019. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6582814> (дата обращения: 20.11.2021).
46. Loan N. T. B. Anticancer activities of ricin-liposome complexes on SKMEL-28. *Cel. Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2019; 20 (7): 2117–2123.