

547.945:615.9-099

TOXIKOLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA RICINU

Doc. RNDr. Jiří PATOČKA, DrSc.

Katedra toxikologie Vojenské lékařské akademie J. E. Purkyně, Hradec Králové
(rektor: plk. doc. MUDr. Svatopluk Býma, CSc.)

Úvod

Jako ricin bývá označována směs glykoproteinů izolovaných ze semen skočce obecného (*Ricinus communis* L.). Ricin je řazen do skupiny tzv. lektinů, což jsou proteiny, resp. glykoproteiny, izolované z různých přírodních zdrojů schopné aglutinovat živočišné buňky a vytvářet precipitační komplexy s karbohydráty (1). Až dosud byly tyto látky izolovány ze semen různých rostlin, což je i případ ricinu, z kořenů a kůry, z plísní, bakterií, mořských hub a sasaneček, plíží, rybích jiker, tělesných tekutin bezobratlých živočichů a z membrán savčích buněk (2-4).

Fyziologická úloha lektinů v přírodě není dosud plně objasněna, ale pro své zajímavé vlastnosti nachází značné uplatnění ve výzkumu (5) a předpokládá se jejich uplatnění v medicíně (6-13). V sou-

časné době je známo několik desítek různých lektinů, jejich skutečné počty však půjdou do tisíců.

Vzhledem k tomu, že lektiny jsou schopny vytvářet vysoce specifické nerozpustné komplexy s karbohydráty, a měnit tak významným způsobem biochemické a biofyzikální vlastnosti biologických membrán, chovají se tyto látky jako vysoce účinné aglutininy (14-17). Díky tomu je většina z nich značně toxická pro teplokrevné živočichy, včetně člověka. Takovým toxickým lektinem je i ricin (18-20).

Chemie

Ricin se vyskytuje ve dvou formách označovaných jako RCA₆₀ a RCA₁₂₀ (RCA = *Ricinus communis* agglutinin) podle molekulové hmotnosti, která je při-

bližně 60, resp. 120 kDa (10). Základní formou je RCA_{60} , označovaný také jako RCA_{II} nebo ricin D. RCA_{120} je dimerem RCA_{60} . Ricin D je tvořen dvěma peptidickými řetězci označovanými jako řetězec A a B, spojenými navzájem disulfidickým můstkem (21). Řetězce A a B mají rozdílnou primární strukturu, ale jejich molekulová hmotnost je přibližně stejná, tj. 30 kDa (21). V řetězci A jsou dva cysteinové zbytky, Cys171 a Cys259, v řetězci B pak jeden cysteinový zbytek v pozici 4. Disulfidický můstek je tvořen dvojicí cysteinů Cys259 a Cys4 (22) a oba řetězce se dají oddělit redukcí disulfidického můstku na volné SH-skupiny, např. dithiothreitem (23), a oxidací zase spojit (24).

Farmakokinetika

Ricin aplikovaný parenterálně dosahuje maximálních hladin v krvi již po několika desítkách minut, ale jeho koncentrace v krevním séru se rychle snižuje, zatímco koncentrace v tkáních roste, protože látka je vázána na membrány. Také při perorální aplikaci se dostává ricin rychle do krevního oběhu a místem jeho vstřebávání je převážně tenké střevo (25). Při celotělové autoradiografii s ^{125}I -značeným ricinem byl největší podíl radioaktivity nalezen v játrech, slezině a kůře nadledvinek, ale značná část radioaktivity byla nalezena také v kostní dřeni (26).

Farmakologie

Farmakologické účinky ricinu jsou poměrně pestré, protože látka ovlivňuje řadu fyziologických pochodů. Nejvýznamnější jsou ty, které souvisí s účinkem ricinu jako lektinu, tedy tvorba precipitačních komplexů s vysokou selektivitou, zejména k N-acetyl-D-galaktosaminu a terminálním zbytkům beta-D-galaktózy (12, 27). S tím souvisí zejména změny fyzikálně-chemických a imunologických vlastností biomembrán, vedoucí např. k aglutinaci či lýze buněk. Lidské erytrocyty aglutinují již při koncentracích ricinu v $\mu g/ml$ (17). Ricin je také mohutným inhibitorem syntézy proteinů (7, 13) a vykazuje inhibiční účinek na růst některých rakovinných nádorů (28).

Toxikologie

Vzhledem ke své biologické aktivitě je ricin vysoce toxický. Akutní toxicita je zřejmě podmíněna jeho schopností vyvolávat neuronální degeneraci (29) a výrazným způsobem narušovat intracelulární transport (30). Pro svou dostupnost a mimořádnou toxicitu byl ricin podrobně studován jako potenciální otravná látka za I. i II. světové války ve Velké Británii, Kanadě, USA a ve Francii. V USA bylo k tomuto účelu připraveno asi 700 kg ricinu. Ke konci války

byly vyvinuty experimentální ricinové zbraně pod kódovým označením W, které měly nahradit fosgen. Ukázalo se totiž, že ricin je ve srovnání s fosgenem asi 40krát účinnější. Obě látky mají opožděný nástup účinku, ricin však postrádá jakýkoli zápach a jeho detekce v polních podmínkách je velice obtížná. Uvažovalo se o jeho aplikaci ve formě aerosolu. Předpokládaná letální dávka u nechráněných osob byla odhadována na $30 \text{ mg} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}$ (31).

Ricin se také dobře vstřebává ze zažívacího ústrojí, lépe než živočišné toxiny (25). Pro intoxikaci je typické dlouhé bezpříznakové období - několik hodin až několik dní. Potom se dostavuje bolestivé pálení v ústech a v hrdle. Klinicky se rozvíjí těžká gastroenteritida s nauzeou, zvracením a průjmy, provázená dehydratací, křečemi s cirkulačním kolapsem a v závažných případech urémií s letálním koncem. Na sliznicích se objevují petechiální krevní výrony, v ojedinělých případech dochází i ke krvácení do sliznic. Obraz intoxikace ricinem je poměrně dobře znám, protože náhodné požití semen skočce obecného, zejména dětmi, není tak mimořádnou událostí (19, 20, 32-35). Letální dávka pro děti je množství ricinu ze 3 vyzrálých semen, pro dospělého ze 4-8 semen (19). V rámci první pomoci je důležité vyvolat co nejdříve zvracení a provést výplach žaludku. Specifická antidotní terapie není známa. Léčení je podpůrné a spočívá v parenterálním podávání tekutin a udržování elektrolytové rovnováhy, resp. transfuzi.

Spíše na úrovni dohadů než skutečných důkazů jsou informace o použití ricinu jako prostředku k odstraňování nepohodlných osob. K tomuto účelu měly sloužit zejména deštníky s hrotem obsahujícím ricin umožňující nenápadně aplikovat vyhlédnuté osobě jed, např. v davu na ulici (36, 37).

Souhrn

Je podána stručná charakteristika toxického proteinu ricinu přítomného v semenech skočce obecného (*Ricinus communis*) řazeného do skupiny lektinů. Ricin je charakterizován po stránce chemické, farmakologické a toxikologické. Jsou popsány mechanismy jeho farmakologického a toxického účinku a klinické projevy intoxikace.

Literatura

1. GOLD, ER. - BALDING, P.: Receptor-specific Proteins: Plant and Animal Lectins. Excerpta Medica, Amsterdam 1975.
2. ROTH, J.: The Lectine. Molecular Probes in Cell Biology and Membrane Research. Experimental Pathology, Jena, Gustav Fischer Verlag, 1978, Suppl. 3.
3. BOG-HANSEN, TC. (Ed.): Lectins: Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry. W. DeGruyter, Berlin, 1980 vol. 1, 1981 vol. 2, 1983 vol. 3, 1985 vol. 4, 1986 vol. 5.
4. BOG-HANSEN, TC., et al. (Eds.): Lectins: Biology, Biochemistry, Clinical biochemistry. Sigma-Chemical Co., St. Luis, 1988 vol. 6, 1989 vol. 7.
5. LIENER, IE. - SHARON, NM. - GOLDSTEIN, IJ. (Eds.): The

- Lectins: Properties, Functions and Applications in Biology and Medicine. London, Acad. Press, 1986.
6. DECASTEL, M., et al.: Interaction between ricin and Zajdela ascitic hepatoma cells. *C. R. Acad. Sci.*, 1988, vol. 307, p. 165-170.
 7. LEONARD, JE. - GROTHAUS, CD. - TAETLE, R.: Ricin binding and protein synthesis inhibition in human hematopoietic cell lines. *Blood*, 1988, vol. 72, p. 1357-1363.
 8. MAGNUSSON, S., et al.: Interactions of ricin with sinusoidal endothelial rat liver cells. Different involvement of two distinct carbohydrate-specific mechanisms in surface binding and internalization. *Biochem. J.*, 1991, vol. 277, p. 855-861.
 9. ODA, T. - KOMATSU, N. - MURAMATSU, T.: Cell lysis induced by ricin D and ricin E in various cell lines. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 1997, vol. 61, p. 291-297.
 10. NICOLSON, GL. - BLAUSTEIN, J. - ETZLER, ME.: Characterization of two plant lectins from *Ricinus communis* and their quantitative interaction with a murine lymphoma. *Biochemistry*, 1974, vol. 13, p. 196-204.
 11. NICOLSON, GL. - BLAUSTEIN, J.: The interaction of Ricinus communis agglutinin with normal and tumor cell surfaces. *Biochim. Biophys. Acta*, 1972, vol. 266, p. 543-547.
 12. WEI, CH. - KOH, C.: Crystalline ricin D, a toxic anti-tumor lectin from seeds of *Ricinus communis*. *J. Biol. Chem.*, 1978, vol. 253, p. 2061-2066.
 13. ROBBINS, JC. - HUNTER, TR. - NICOLSON, GL.: Ricinus communis toxin-mediated inhibition of protein synthesis in cell-free extracts of a toxin-resistant variant mouse lymphoma cell line. *J. Supramol. Struct.*, 1976, vol. 5, p. 515-525.
 14. DIRNHEIMER, G. - HAAS, F. - MÉTAIS, P.: Biochemical changes of the blood during ricin poisoning in the rat. *C. R. Seances. Soc. Biol. Fil.*, 1966, vol. 160, p. 2458-2461.
 15. DODEUR, M. - AUBERY, M. - BOURRILLON, R.: Toxic effect of Ricinus lectin on hepatoma cells in relation to enzyme modification on the cell surface. *Biochim. Biophys. Acta*, 1980, vol. 628, p. 303-313.
 16. GOLDMACHER, VS. - LAMBERT, JM. - BLÄTTLER, WA.: The specific cytotoxicity of immunoconjugates containing blocked ricin is dependent on the residual binding capacity of blocked ricin: evidence that the membrane binding and A-chain translocation activities of ricin cannot be separated. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1992, vol. 183, p. 758-766.
 17. SANDVIG, K. - OLSNES, S. - PIHL, A.: Kinetic of binding of the toxic lectins abrin and ricin to surface receptors of human cells. *J. Biol. Chem.*, 1976, vol. 251, p. 3977-3984.
 18. LUGNIER, AA. - CREPPY, EE. - DIRHEIMER, G.: Ricin, the toxic protein of the castor-oil plant (*Ricinus communis* L.). Structure and properties. *Pathol. Biol. (Paris)*, 1980, vol. 28, p. 127-139.
 19. WEDIN, GP., et al.: Castor bean poisoning. *Am. J. Emerg. Med.*, 1986, vol. 4, p. 259-261.
 20. APLIN, PJ. - ELISEO, T.: Ingestion of castor oil plant seeds. *Med. J. Aust.*, 1997, vol. 167, p. 260-261.
 21. RUTENBER, E., et al.: Crystallographic refinement of ricin to 2.5 Å. *Proteins*, 1991, vol. 10, p. 240-250.
 22. ARGENT, RH., et al.: Introduction of a disulfide bond into ricin A chain decreases the toxicity of the ricin holotoxin. *J. Biol. Chem.*, 1994, vol. 269, p. 26705-26710.
 23. EMMANUEL, F., et al.: Separation of ricin A- and B-chains after dithiothreitol reduction. *Anal. Biochem.*, 1988, vol. 173, p. 134-141.
 24. ARGENT, RH. - ROBERTS, LM. - LORD, JM.: Purification of recombinant ricin A chain after reassociation with ricin B chain. *Anal. Biochem.*, 1995, vol. 224, p. 459-460.
 25. ISHIGURO, M., et al.: Biochemical studies on oral toxicity of ricin. V. The role of lectin activity in the intestinal absorption of ricin. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 1992, vol. 40, p. 1216-1220.
 26. GODAL, A., et al.: Pharmacological studies of ricin in mice and humans. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1984, vol. 13, p. 157-163.
 27. LIN, TT. - LI, SL.: Purification and physicochemical properties of ricins and agglutinins from *Ricinus communis*. *Eur. J. Biochem.*, 1980, vol. 105, p. 453-459.
 28. GOTTSSTEIN, C., et al.: Antidisialoganglioside ricin A-chain immunotoxins show potent antitumor effects in vitro and in a disseminated human neuroblastoma severe combined immunodeficiency mouse model. *Cancer Res.*, 1994, vol. 54, p. 6186-6193.
 29. LING, EA., et al.: Neural degeneration and non-neuronal cellular reactions in the hypoglossal nucleus following an intraneural injection of toxic ricin. *Arch. Histol. Cytol.*, 1989, vol. 52, p. 345-354.
 30. VAN DEURS, B., et al.: Endocytosis, intracellular transport and transcytosis of the toxic protein ricin by a polarized epithelium. *Europ. J. Cell. Biol.*, 1990, vol. 51, p. 96-109.
 31. HRDINA, V., aj. - kolektiv: Toxikologie bojových chemických látek a zdravotnicko-protichemická ochrana. Díl II. Učební texty VLVDÚ JEP, Hradec Králové 1983, Sv. 189, s. 54-55.
 32. MARETIC, Z.: Castor bean poisoning. *Arh. Hig. Rada Toksikol.*, 1980, vol. 31, p. 251-257.
 33. KINAMORE, PA. - JAEGER, RW. - DE CASTRO, FJ.: Abrus and ricinus ingestion: Management of three cases. *Clin. Toxicol.*, 1980, vol. 17, p. 401-405.
 34. ZIFRONI, A.: Castor bean poisoning. *Harefuah*, 1985, vol. 108, p. 102-103.
 35. BELZUNEGUI OTANO, T., et al.: Poisoning by ingestion of castor bean seeds. Apropos of a case. *Med. Clin. (Barcel.)*, 1988, vol. 90, p. 716-717.
 36. HENRY, GW. - SCHWENK, GR., Jr. - BOHNERT, PA.: Umbrellas and mole beans: a warning about acute ricin poisoning. *J. Indiana State Med. Assoc.*, 1981, vol. 74, p. 572-573.
 37. VODIČKA, M.: Tajné zbraně apartheidu: Jed v bonbonech i košili. *Mladá fronta Dnes*, 16. června 1998, s. 8.

Klíčová slova: Ricin; Toxický protein; Lektin; Intoxikace.

Do redakce došlo 26. 6. 1998