

سم ریسین: مکانیسم سمیت، روش‌های تشخیص، درمان و ایمنی زائی علیه آن

داود صادقی^۱، فیروز ابراهیمی^{۲*}، مهدی زین الدین^۳، سید امیر حسینی^۴، زهره هدایت منش^۵

چکیده

سم ریسین یک گلیکوپروتئین هتروداایمر دارای اتصال دی سولفید متشکل از زنجیره سمی A و زنجیره B متصل به سلول می باشد که بواسطه غیرفعال کردن برگشت‌ناپذیر ریپوزوم‌های یوکاریوتی از طویل شدن زنجیره پلی‌پپتیدی جلوگیری می‌کند و در نهایت باعث مرگ سلول می‌شود. این سم از دانه‌های گیاه کرچک استخراج می‌شود و ۵-۱۰ درصد از وزن دانه خشک را شامل می‌شود. ریسین یکی از عوامل نگران‌کننده در دفاع بیولوژیک می باشد بعلاوه اینکه به آسانی توسط گروه‌ها و اشخاص با تکنیک‌هایی با تخصص کم و بودجه پایین قابل تهیه است و منبع آن بصورت علف هرز و یا محصول کشت شده در همه کشورها وجود دارد. با توجه به اینکه ریسین به راحتی در بدن انتشار می‌یابد توسط CDC (مراکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌های آمریکا) به عنوان یک تهدید زیستی کلاس B طبقه‌بندی شده است. تحقیقات مختلفی برای تشخیص، درمان و ساخت یک واکسن مناسب بر علیه این عامل صورت پذیرفته است. جهت تشخیص مسمومیت ریسین در نمونه‌های بالینی، از روش‌های ایمونولوژیکی برای غربالگری و از تلفیق روش‌های کروماتوگرافی و طیف‌سنجی جرمی برای تأیید مسمومیت استفاده می‌شود. در حال حاضر هیچ درمان ویژه‌ای برای مسمومیت با ریسین در دسترس نمی‌باشد اما دو واکسن که شباهت زیادی با زیر واحد A سم دارند، شامل RiVax و RVEC، در حال توسعه هستند. هدف از این مطالعه معرفی سم ریسین، روش‌های تشخیص، درمان و کاندیدهای جدید واکسنی آن می‌باشد.

کلید واژگان: سم ریسین، روش تشخیص، درمان، توسعه واکسن.

۱-دکترای گروه نانوبیوتکنولوژی.

۲-استادیار گروه بیوشیمی.

۳-دانشیار گروه بیوشیمی.

۴-دانشجو دکتری نانوبیوتکنولوژی.

۵-کارشناس ارشد فیزیولوژی.

۱ و ۲-مرکز تحقیقات زیست‌شناسی، دانشکده و پژوهشکده علوم پایه، دانشگاه امام حسین (ع)، تهران، ایران.

۳-پژوهشکده فناوری زیستی، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، تهران، ایران.

۵-دانشگاه آزاد اسلامی واحد آبادان، آبادان، ایران.

*نویسنده مسؤول:

فیروز ابراهیمی؛ مرکز تحقیقات زیست‌شناسی، دانشکده و پژوهشکده علوم پایه، دانشگاه امام حسین (ع)، تهران، ایران.

تلفن: ۰۰۹۸۹۱۰۸۶۰۹۳۴۰

Email:

davudsadeghi64@yahoo.com

مقدمه

کند که باعث رسیدن آسیب به بسیاری از افراد می‌شود. بیشتر تحقیقات انجام شده و اطلاعات بدست آمده بر روی پروتئین‌های سمی گیاهی حاصل مطالعات انجام شده بر روی ریسین می‌باشد. علت اهمیت ریسین در بین RIPها تولید انبوه آن در کشورهای مختلف جهت تهیه روغن کرچک بوده که در این بین کنجاله آن که جزء مواد باقی مانده از فرایند جداسازی روغن است حاوی سم ریسین می‌باشد. هدف از این مطالعه معرفی سم ریسین، مکانیسم سمیت، روش‌های تشخیص، درمان و کاندیدهای جدید واکسنی ریسین می‌باشد (۱-۳).

گیاه کرچک:

گیاه کرچک (*Ricinus communis*) که در زبان انگلیسی *castor-oil plant* نامیده می‌شود یک گیاه علفی است که بنا به محل رویش، طول دوره رشد آن متفاوت است به صورتی که در مناطق سردسیری، گیاه یکساله بوده ولی در مناطق گرمسیر به صورت چندساله در آمده و ممکن است از لحاظ حجمی فضای بسیاری را اشغال کند و به صورت درخت یا درختچه در آید. این گیاه یک یا چندساله (در مناطق سردسیر بصورت یکساله است) که متعلق به خانواده فریبون (*Eupharbiaceae*) می‌باشد دارای ساقه ای با ارتفاع ۲ متر است ولی در آب و هوای گرم و مساعد با ظاهر درختچه مانند به ارتفاع ۴ تا ۶ متر و حتی ۱۰ متر و گاهی بیشتر ممکن است رشد نماید (تصویر ۱).

بررسی‌ها نشان می‌دهد که کرچک بومی آفریقای شمالی و به احتمال زیاد کشور اتیوپی می‌باشد (۴). کرچک تقریباً در همه نوع خاک به جز خاک‌های سنگین رسی رشد کرده و محصول می‌دهد. میوه آن پوشیده از خار و محتوی سه دانه کرچک دار است (۵).

از دانه‌های کرچک در تولید روغن کرچک استفاده می‌شود. روغن کرچک در تولید رنگ‌ها، لاک و روغن موتورهای جت، اتومبیل و ماشین آلات صنعتی کاربرد دارد. یکی دیگر از کاربردهای روغن کرچک مسهل کردن

بسیاری از موجودات زنده پروتئین‌های سمی قوی ای را تولید می‌کنند که این پروتئین‌ها در سلول‌های دیگر عمل می‌کنند، که گاهی اوقات هم با اثرات کشنده همراه می‌باشند. این پروتئین‌ها به افزایش شانس بقا یا تکثیر و تولیدمثل ارگانسیم کمک می‌کنند. بعضی از آن‌ها کارکردی دقیق و خاصی را دارا می‌باشند که سموم پروتئینی تولید شده توسط گیاهان از جمله این سموم می‌باشند. برای مثال ریسین، ویسکومین، ولکنسین و پروتئین‌های شبیه آن‌ها به نحوی تکامل یافته‌اند که بصورت انتخابی ریبوزوم‌های درون سلول‌های موجودات حساس را هدف قرار دهند، در نتیجه اختلال کشنده‌ای را در سنتز پروتئین ایجاد می‌کنند. این سموم قادرند با استفاده از مسیرهای انتقال داخل سلولی از سطح سلول به بسترهای مرتبط با خود در سیتوزول انتقال یابند. پروتئین‌های سمی گیاهی، متعلق به گروه فیتوتوکسین‌ها می‌باشند که با غیرفعال کردن ریبوزوم‌های سلولی سنتز پروتئین سلول‌های یوکاریوتی را مهار می‌کنند. سموم این گروه، گلیکوپروتئین‌هایی با وزن مولکولی حدود ۶۰ کیلودالتون می‌باشند که از دو زیرواحد تشکیل شده‌اند که این دو زیرواحد به وسیله یک بانند دی‌سولفیدی به هم مرتبط می‌شوند. به این سموم پروتئین‌های غیرفعال کننده ریبوزوم یا RIP (Ribosome Inactivation Protein) می‌گویند. سموم گیاهی RIP ممکن است به عنوان یک سم قابل دسترس برای کاربردهای جنگی استفاده شوند زیرا منابع گیاهی آن‌ها به آسانی کشت می‌شود و آماده سازی سم خالص آن پیچیده نمی‌باشد. تهیه سموم گیاهی برای کشورها یا تروریست‌هایی که پول زیادی برای تهیه سلاح‌های هسته‌ای و دیگر ابزارهای کشتار جمعی با تکنولوژی بالا ندارند قابل استفاده و در دسترس می‌باشد. از ویژگی‌های این سموم می‌توان به ارزان بودن، آسانی ساخت و سادگی پنهان کردن اشاره کرد. حتی مقدار کمی از این سموم گیاهی اگر به طور موثر استفاده شود می‌تواند آسیب‌های گسترده‌ای را ایجاد

شده به عنوان یک سلاح بالقوه زیستی محسوب می شود (۱۱).

سم خالص، یک پودر سفید رنگ می باشد و قابل انحلال در آب و در محدوده pH وسیع پایدار است، کاملاً در دمای کمتر از ۶۰ درجه سانتیگراد پایدار است و در محلول آبی برای ۱ ساعت در دمای ۸۰°C غیر فعال می شود و نیاز به دما و زمان طولانی تری برای غیرفعال کردن فرم خام و یا پودری سم می باشد. حتی هنگامی که سم جوشانده می شود دوز بالای سم ریسین می تواند کشنده باشد (۱۲-۱۳).

در اصل سم ریسین یک گلیکوپروتئین لکتین تشکیل شده از دو زنجیره A و B می باشد که توسط یک باند دی سولفید به یکدیگر متصل شده اند و دارای وزن مولکولی ۶۵-۶۰ kDa می باشد (۱۳). زنجیره B یک لکتین و دارای وزن مولکولی ۳۴kDa می باشد و به گالاکتوزگلیکوپروتئین ها و گلیکولیپیدهای بیان شده بر روی سطح سلول متصل می شود که ورود ریسین به سیتوزول را تسهیل می کند (۱۴). زنجیره A دارای وزن مولکولی ۳۲kDa می باشد و از سنتز پروتئین به واسطه غیرفعال کردن برگشت ناپذیر ریبوزوم های یوکاریوتی به واسطه حذف یک باقیمانده آدنین از حلقه ۲۸S RNA ریبوزومی موجود در زیر واحد ۶۰S جلوگیری می کند. این فرآیند مانع از تولید شدن زنجیره پلی پپتیدی و در نتیجه توقف ساخت پروتئین در سلول و در نهایت منجر به مرگ سلول می شود (۱۵). نتیجه سمیت جلوگیری از بیان پروتئین است، اما مکانسیم های دیگر از جمله مسیر آپوپتوز، آسیب مستقیم به غشاء سلولی، تغییر ساختار و عملکرد و فرآیندهای غشایی و آزادسازی سایتوکاین های التهابی نیز صورت می گیرد (۱۶).

پراکندگی دانه های کرچک، سهولت استخراج و پایداری شیمیایی، ریسین را به ماده ای جذاب و ارزان قیمت برای افراد با علم پایین و یا سازمان های تروریستی برای تولید مقادیر زیاد این سم تبدیل کرده است و

است (۶). سم ریسین در پالپ های دانه کرچک پیرو جداسازی روغن از دانه ها موجود است. اگر عصاره گیری در شرایط دمایی انجام شود هیچ ریسینی در روغن باقی نمی ماند و ریسین در طول جداسازی غیرفعال می شود (۷). اگرچه ریسین در سرتاسر گیاه پراکنده است لیکن دانه های کرچک هستند که حاوی مقادیر قابل توجهی از این سم می باشند. در صورت خوردن دانه های کرچک سمیت ریسین تنها در صورت خیساندن و یا جویدن دانه ها ایجاد می شود (۸).

دانه گیاه کرچک به جز ریسین دارای یک لکتین گلیکوپروتئین دیگر بنام *Ricinus communis agglutinin (RCA)* می باشد که بر خلاف ریسین بطور مستقیم سمیت ندارد اما دارای میل ترکیبی برای سلول های قرمز خون می باشد که منجر به لخته شدن خون و متعاقب آن همولیز می شود. RCA بطور قابل توجهی از روده جذب نمی شود و تنها پس از تزریق داخل وریدی باعث همولیز قابل توجهی می شود (۹).

سم ریسین:

سم ریسین (RT) یک سم بیولوژیک است که در دانه های گیاه کرچک (*Ricinus communis*) موجود می باشد. ۱-۵ درصد از وزن کل دانه خشک کرچک حاوی سم ریسین می باشد (۱۰). گیاه کرچک در سراسر جهان در هوای معتدل و گرمسیری رشد می کند و از آن به عنوان یک گیاه زینتی و در تجارت برای تولید روغن کرچک استفاده می شود، همچنین بصورت علف هرز نیز در مناطق مختلف رشد می کند. روغن کرچک در درجه حرارت بالا استخراج می شود و از آن به عنوان یک ماده مسهل کننده استفاده می کنند. پس از استخراج روغن، سم را می توان از خمیر باقی مانده بوسیله ترسیب با هیدروکسید سدیم یا بوسیله کروماتوگرافی خالص کرد و در مجموع با ۲ مرحله جداسازی با بازده شیمیایی ۹۵ درصد سم خالص تولید می شود. با این حال، حتی سم ریسین خام بسیار سمی است، همچنین دانه های آسیاب

آن به سلول‌های انسان شوند که این می‌تواند برای کاهش سمیت ریسین مصرف شده به صورت خوراکی استفاده شود (۱۹).

ریسین پس از ورود به بدن موجود زنده، از سطح سلول به واسطه یک مکانیسم متغیر از کلاترین وابسته و مستقل و داینامین وابسته و مستقل وارد سلول می‌شود. به وسیله تداخل با مولکول‌های سطح سلول و سیگنالینگ به واسطه کینازهای سطح سلول، ریسین می‌تواند تنظیمات را در درون سلول برای خودش افزایش دهد. چرا که ریسین می‌تواند به تعدادی از ساختارهای حاوی گلایکان سطح سلول، به علاوه گلیکوپروتئین‌های سرم و بافت متصل و باعث محدوده‌ی بالایی از مکانیسم‌های ادراکی شامل فاگوسیتوز و پنیوسیتوز شود. مکانیسم‌های ورودی ریسین به سلول‌های مختلف و همچنین به سلول‌های یکسان متفاوت می‌باشد که در جایگاه‌های درون سلولی مختلفی صورت می‌پذیرد. بیشتر مسیرهای اصلی برون سلولی ریسین شامل نقل و انتقال به واسطه بخش‌های اندوزومی و سه مرحله می‌باشد. اولین مرحله شامل آگزوسیتوز و دفع سلولی می‌باشد که به طور مشابهی باعث ایجاد تاول می‌شود. ایجاد تاول می‌تواند حاصل تلاش سلول برای بیرون انداختن سم باشد که این می‌تواند پتانسیل ریسین را برای انتقال به سلول‌های دیگر را نشان دهد. دومین مسیری که ریسین می‌تواند طی کند این است که توسط لیزوزوم‌های سلول میزبان تخریب می‌شود و در سومین مسیر، ریسین در شبکه اندوپلاسمی احیاء شده و عملکرد سمیت خود را در سلول اعمال می‌کند (۱۹).

جهت ورود ریسین دسته یکسانی از ارگان‌ها که در ترشح پروتئین‌ها دخیل هستند درگیر می‌شوند، اما در جهت معکوس مسیر پروتئین‌های ترشحی مورد استفاده قرار می‌گیرند که از اندوزوم‌ها به واسطه دستگاه گلژی به درون شبکه اندوپلاسمی منتقل می‌شوند. در ابتدا گمان می‌شد که این مسیر تنزل بطور منحصر بفردی مربوط به سم ریسین می‌باشد اما بعدها مشخص شد که این مسیر

احتمال اینکه در برخی از نقاط طی یک اقدام تروریستی مورد استفاده قرار گیرد وجود دارد (۱۰).

روش انتشار ریسین و علائم بالینی بر اساس نوع در معرض قرار گرفتن انسان تعیین می‌شود. ریسین را می‌توان بصورت عصاره خام، کریستال‌های خالص و یا اشکال پودری آماده و یا محلول در مایعات تهیه کرد. انتشار عمومی می‌تواند از طریق ذرات معلق، از طریق آب و غذا و یا تزریق مستقیم ویریدی انجام پذیرد (۱۷).

سمیت سلولی ریسین:

ریسین یک مولکول بیوشیمیایی ساده می‌باشد، که باید در بخش‌های خاصی در سلول برای اعمال سمیت شکسته شود (۱۸). پردازش ریسین به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته است و مسیرهای انتقال منحصر به فرد در سلول، به ویژه انتقال معکوس آن مشخص شده است. چندین مقاله مروری در توصیف پردازش درون سلولی ریسین وجود دارد (۱۹). زنجیره B از طریق گیرنده‌های لکتین خود به سلول‌ها متصل می‌شوند. از آنجا که بسیاری از گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدهای سطح سلول دارای باقیمانده‌های گالاکتوزیل انتهایی می‌باشند، تقریباً ریسین بی قاعده به تمام انواع سلول‌ها متصل می‌شود. از آنجا که هر یک از مونومرهای ریسین می‌تواند به دو باقی مانده گالاکتوز متصل شود، ریسین همچنین می‌تواند با برخی از مولکول‌های سطح سلول کراس لینک داشته باشد (۲۰). به طور معمول از محلول‌های ۰/۱ مولار لاکتوز و یا گالاکتوز جهت جلوگیری از سمیت سلولی ریسین در شرایط آزمایشگاهی استفاده می‌کنند. شیر شامل یک غلظت مشابهی از لاکتوز می‌باشد و در نتیجه از شیرهای بر پایه مسدود کننده TM BLOTTO جهت جلوگیری از اتصال غیر اختصاصی گلیکوپروتئین‌ها به ریسین در آزمایش‌های ایمونولوژی استفاده می‌شود. البته هنوز اینکه آیا خوردن یک لیوان شیر می‌تواند بعنوان پادزهر ریسین استفاده شود هنوز مورد بررسی قرار نگرفته است. همچنین ممکن است که پلی ساکاریدهای میکروبی در بخش‌های مخاطی به ریسین متصل شوند و مانع از اتصال

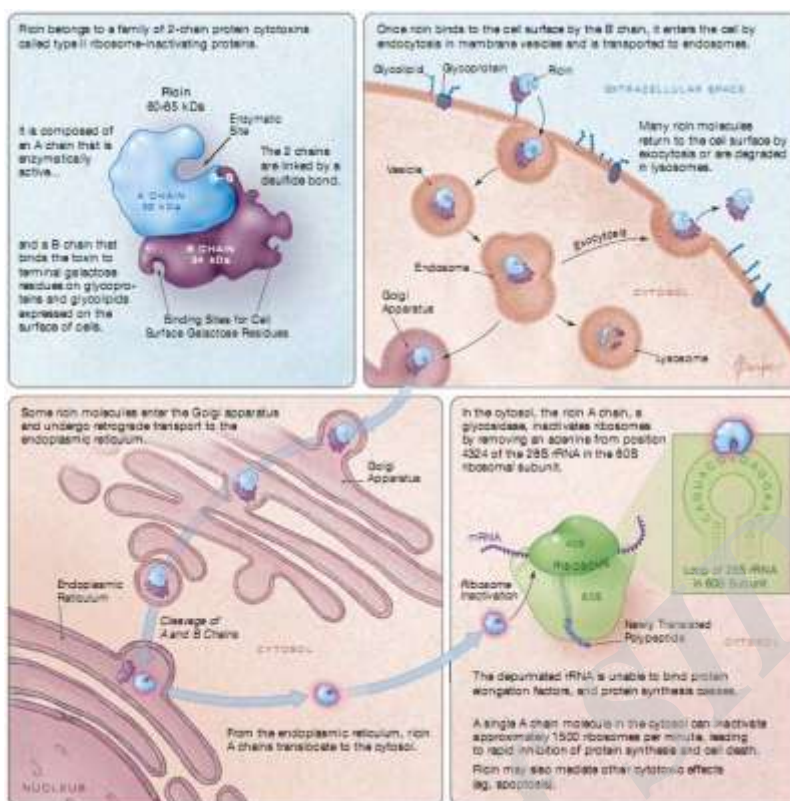
هلیکس و الحاق پایانه کربوکسیل به غشاء لیپیدی دو لایه شبکه اندوپلاسمی می‌شود (۲۳-۲۲). در یکی از این جایگاه‌های فعالیت، زنجیره A بعنوان یک -N- گلیکوزیداز فعالیت می‌کند که RNA ریپوزومی را به وسیله حذف آدنین ۴۳۲۴ در لوپ RTA/sarcin در 28srRNA غیرفعال می‌کند. این آنزیم در هر دقیقه ۱۵۰۰ ریپوزوم را غیر فعال می‌کند. فعالیت کاتالیتیکی در بخش متحرک ساختار RNA اعمال می‌شود. مشخص شده است که دمین مارپیچی زنجیره A یک نقش کلیدی را در حذف آدنین بازی می‌کنند که عملکرد این دمین می‌تواند به وسیله یک هجوم آنتی بادی حد واسط متوقف شود (تصویر ۲). ارزیابی شده است که به ازای عملکرد هر مولکول ریسین که به جایگاه فعالیت می‌رسد، ۱۰۰۰۰ مولکول دیگر به وسیله آگروسیتوز یا تفکیک در بخش-های غیر مرتبط عملکردی در سلول حذف می‌شوند. نتیجه مرگ سلولی بعلت جلوگیری از سنتز پروتئین و اصولاً بوسیله آپوپتوزیس صورت می‌گیرد (۲۴).

یک ویژگی تنظیمی از عبور و مرور برون سلولی می‌باشد (۲۱). داروهایی که بطور اختصاصی از این مسیر جلوگیری می‌کنند اثر دارویی ضد ریسین را هم در سلول و هم در حیوانات از خود نشان می‌دهند (۱۸).

اولین سمی که به شبکه اندوپلاسمی می‌رسد باید به واسطه غشاء شبکه اندوپلاسمی به درون سیتوزول منتقل شود تا بتواند سمیت خود را اعمال کند. درون شبکه اندوپلاسمی ریسین احیاء می‌شود و زنجیره A از زنجیره B جدا می‌شود. زنجیره A سپس از تاخوردگی خارج می‌شود و از غشاء شبکه اندوپلاسمی عبور می‌کند و وارد سیتوزول می‌شود. زنجیره A باید از مسیرهای تخریبی وابسته به شبکه اندوپلاسمی اجتناب کند، تا زمانیکه در جریان پروتئینی ترانس لوکون‌ها که بخشی از مسیر تخریب هستند بکار برود. اینکار به واسطه استفاده از چاپرون‌هایی مانند Hsc70 و Hsp90 انجام می‌شود، بعلاوه یک تغییر ساختار وابسته به دما در زنجیره A انجام می‌شود و باعث کاهش ساختارهای مارپیچ آلفا



تصویر ۱: تصویر گیاه کرچک و دانه گیاه کرچک در حال خارج شدن از پوسته اولیه



تصویر ۲: مکانیسم سمیت ریسین

کاربردهای دارویی سم ریسین:

هستند استفاده می‌شود. در اغلب موارد این لیگاندها آنتی-بادی‌های مونوکلونال (MAbs) متصل شونده به سلول هستند. این ترکیب لیگاند-سم یا ایمونوتوکسین آن، نتایج آزمایش‌های بالینی موفق را نشان داده‌اند. در این تحقیقات که در زمینه درمان سرطان از ریسین متصل به آنتی بادی مونوکلونال و پلی کلونال استفاده می‌گردد، مشکلاتی نیز در کاربرد ریسین - ایمونوتوکسین وجود دارد و آن بیماری نشت عروقی (vascular leak syndrome) است که در آن مایعات از سیستم‌های گردش خون و لنفاتیک نشت می‌کنند و باعث کاهش میزان آلبومین (hypoalbuminuria)، افزایش وزن و ورم ریوی (pulmonary oedema) می‌شود. همچنین ریسین ایمونوتوکسین به طور موفقیت آمیز در تخریب سلول‌های لنفوسیتی T در مغز استخوان طی فرایند پیوند مغز استخوان مورد استفاده قرار گرفته است و بنابراین احتمال پس زدن مغز استخوان پیوندی توسط گیرنده را کاهش می‌دهد (بیماری میزبان علیه پیوند). با افزایش

ترکیب سمی موجود در گیاه کرچک ماده‌ای بنام ریسین است. اگرچه ریسین بسیار سمی است، ولی دارای کاربردهای درمانی متنوعی است و به عنوان ابزاری در مطالعه خصوصیات سطح سلول و نیز آزمایشات دیگر مورد استفاده قرار می‌گیرد. ریسین برای استفاده‌های درمانی در شیمی درمانی سرطان، در پیوند مغز استخوان و در تحقیقات سلولی مورد استفاده قرار گرفته است. شواهد تجربی نشان می‌دهد که سلول‌های بدخیم نسبت به سم ریسین حساس‌تر هستند به علت اینکه آن‌ها کربوهیدرات‌های بیشتری شامل سطوح لکتین اتصالی به سایت‌ها را بیان می‌کنند. سلول‌های غیربدخیم این حالت را ندارند. آنتی‌بادی الحاق شده به ریسین سلول‌های سرطانی را مورد هدف قرار داده است و به‌عنوان یک عامل مورد بررسی قرار گرفته است (۲۶، ۱۰، ۲۵).

ریسین و زنجیره A سمی آن (RTA) بصورت درمانی با لیگاندهای بازویی که هدف سلول‌های بیماری‌زا

ریسین خام از دانه‌های کرچک پودر شده که سمی هستند، تولید می‌شود و با ۲ مرحله جداسازی با بازده شیمیایی ۹۵ درصد سم خالص تولید می‌شود. سم از نظر شیمیایی پایدار است و می‌تواند برای دوره‌های طولانی مدت با کاهش کمی در فعالیت در محیط غیر سرد ذخیره شود. تقریباً تمام گزارش‌ها از مسمومیت ریسین با توجه به مصرف دانه‌های کرچک بوده اند اما با توجه به اینکه آن‌ها رشد فراوانی در سراسر جهان دارند و به راحتی در دسترس هستند در طی چندین دهه گذشته، اطلاعات مختلفی از تهیه ریسین برای استفاده‌های غیر اخلاقی وجود دارد و آخرین اطلاعات مربوط به ترور با ریسین می‌باشد. خطر ریسین بخوبی مشخص نیست و این به علت این است که میزان تلفات آن نامشخص است و ما نباید اختلال و وحشتی که می‌تواند نتیجه یک حمله بیولوژیکی به وسیله یک ماده تک باشد را دست کم بگیریم حتی اگر این ماده باعث مسمومیت تعداد کمی از افراد بشود و تصمیمات عمومی باید شدت اضطراب و تشویش را کاهش دهد و بعنوان یک بازدارنده عمل کند (۱۱).

حفاظت از اثرات کشنده ریسین برای جمعیت‌های نظامی و غیرنظامی متفاوت خواهد بود. برای جمعیت‌های غیرنظامی احتمال زیادی وجود دارد که یک حمله به صورت همگانی صورت گیرد که باعث مسمومیت تعداد محدودی از اشخاص شود. در این مورد درمان پس از در معرض قرار گرفتن بسیار اختصاصی است. بعلاوه درمان‌های اختصاصی توسعه داده شده است که بطور مؤثری در استراتژی‌های پس از در معرض قرار گرفتن جهت سازماندهی حوادث با اولین اعلام خطر، تایید سریع یک حمله بواسطه آزمایش‌های اختصاصی، فراهم کردن داروهای درمانی اختصاصی و تجویز آن‌ها همه در یک محدوده زمانی کمتر از ۲۴ ساعت مورد نیاز است. علائم مسمومیت ریسین برای ساعت‌ها مشخص نمی‌شود و تشخیص آن از خیلی از عفونت‌های عمومی دیگر مشکل می‌باشد. یک عامل که بطور قوی خطر در معرض قرار

یافتن اطلاعات در مورد حرکت ریسین در اطراف سلول و هدف گیری اجزای سلولی ویژه، کاربرد ریسین-ایمونوتوکسین در درمان سرطان در آینده بسیار مورد توجه خواهد بود. علاوه بر این، عصب شناسان از ریسین جهت از بین بردن سلول‌های عصبی به صورت انتخابی استفاده می‌کنند و آسیب به سلول‌های عصبی خاصی را القاء نمایند. این کار به محققان اجازه می‌دهد تا جزئیات بسیاری از بیماری‌هایی که در آن‌ها سلول‌های عصبی از بین می‌روند و مسیر تکامل سلول‌های عصبی را مشخص نمایند (۲۷).

در سال‌های اخیر با بکارگیری تکنیک‌های پیشرفته ایمونودرمانی، ریسین مجدداً مورد توجه در درمان پزشکی قرار گرفته است و ریسین طبیعی و یا زنجیره A آن به آنتی بادی‌های مونوکلونال ضد سلول‌های سرطانی، کونژوگه و در تحقیقات مورد استفاده می‌باشد (۲).

کاربردهای نظامی سم ریسین بعنوان یک سلاح

بیوتروریسم:

ریسین یکی از عوامل نگران کننده در دفاع بیولوژیک می‌باشد به علت اینکه به آسانی توسط گروه‌ها و اشخاص با تکنیک‌هایی با تخصص کم و بودجه پایین قابل تهیه است و منبع آن بصورت علف هرز و یا محصول کشت شده در همه کشورها وجود دارد. افزایش آگاهی و نگرانی در مورد ریسین بعنوان یک سلاح تروریستی نیاز به بررسی جامعی از سم را ضروری می‌کند. مراکز کنترل و پیشگیری بیماری (CDC) ریسین را به عنوان سری عامل B (دومین اولویت) رده بندی کرده‌اند، به علت اینکه ریسین به راحتی انتشار می‌یابد و نتیجه آن مرگ و میر کم اما عوارض متوسط به بالا می‌باشد و نیاز به ارتقاء خاص تشخیص CDC و ظرفیت نظارت بیماری دارد. چنین عواملی به طور معمول رخ نمی‌دهد بنابراین افزایش آگاهی جامعه و مراقبت‌های بهداشتی و زیرساخت‌های بهداشت عمومی قوی برای تشخیص و واکنش لازم مورد نیاز است (۲۸).

نظامی یا غیرنظامی در معرض خطر استفاده خواهد شد (۳۱-۳۰).

تاریخچه مختصری از استفاده ریسین و تهدیدات

حاضر:

اطلاعات مختلفی از تهیه سم ریسین جهت استفاده- های غیراخلاقی وجود دارد و آخرین اطلاعات مربوط به ترور با سم ریسین می‌باشد در اینجا به تاریخچه مختصری از استفاده ریسین و تهدیدات حاضر در مورد ریسین اشاره می‌کنیم:

➤ سمیت دانه های کرچک از زمان‌های باستان در آفریقا، مصر، روم و یونان شناخته شده بود (۳).

➤ این توکسین اولین بار توسط دانشمندی بنام استیلمارک در سال ۱۸۸۸ میلادی گزارش شد (۳).

➤ وزارت جنگ آمریکا ریسین را ابتدا در سال ۱۹۱۸ بعنوان جنگ افزار شیمیایی در نظر گرفت (۳۲).

➤ در اواخر جنگ جهانی اول نتیجه کار مشترک آمریکا و انگلیس تولید W bomb در جنگ جهانی دوم شد. این سلاح مورد آزمایش قرارگرفت ولی هرگز در جنگ واقعی استفاده نشد (۳۳).

➤ هرچند هیچ آزمایشگاهی تایید نکرد، از سم ریسین بعنوان عامل اتیولوژیک در سال ۱۹۷۸ جهت ترور روزنامه نگار بلغاری بنام جرجی مارکو در بریتانیا استفاده کردند (۳).

➤ در اواخر دهه ۱۹۸۰ در عراق ذرات خالص و قابل استنشاق ریسین تولید و در حیوانات آزمایشگاهی و آتش توپخانه در محدوده ی آزمایشی مورد استفاده قرار گرفت (۳۲).

➤ از سال ۱۹۹۱-۱۹۹۷ سه مورد استفاده از سم ریسین بعنوان عامل تروریسم زیستی در آمریکا گزارش شده است (۳۲).

➤ در سال ۱۹۹۵ گمرگ کانادا یک کانتینر حاوی سم ریسین را پس از دستگیری یک قاچاقچی اسلحه کشف کردند (۳۲).

گرفتن به‌وسیله یک جمعیت بزرگ را کاهش می‌دهد، انتقال ریسین بصورت غیر یکنواخت در مقادیر کشنده می‌باشد. در معرض ذرات معلق ریسین قرار گرفتن ایجاد علائم مهمی می‌کند. انتقال سم بصورت محلول یا پودر آسیاب شده نیاز به ذرات کمتر از ۳ میکرون دارد، ذرات بزرگتر به سرعت ته نشین می‌شوند و نمی‌تواند به سیستم ریوی بطور عمقی نفوذ کند. با این وجود ذرات کمتر ۱ میکرون که می‌توانند بصورت ذرات معلق مورد استفاده قرار بگیرند می‌تواند بوسیله اشخاص آموزش دیده که برای گروه دشمن کاری می‌کنند تولید شود (۲۹).

مقدار مورد نیاز برای سمیت ذرات معلق ریسین ($10 \mu\text{g}/\text{kg}$) در مقایسه با سم بوتولینوم ($100 \text{ ng}/\text{kg}$) بالا می‌باشد. با وجود اینکه ریسین ۱۰۰ برابر کمتر از سم بوتولینوم سمی است اما حتی کمترین میزان آن در جمعیت غیر نظامی می‌تواند منجر به وحشت و اختلال اقتصادی شود، که از اهداف اصلی تروریسم می‌باشد. با توجه به سابقه ی حوادث مربوط به ریسین، احتمال اینکه در برخی از نقاط طی یک اقدام تروریستی مورد استفاده قرار گیرد وجود دارد. برای واحدهای نظامی احتمال در معرض قرار گرفتن برای کل گروه وجود دارد و پراکندگی و پخش در میدان جنگ یا قرارگاه نظامی بطور بالایی وابسته به شرایط آب و هوایی و تکنیک‌های تخصصی دارد. با این وجود اگر نظامی‌ها با دشمن مواجه شوند و تصور شود که ریسین در زرادخانه‌های دشمن وجود دارد، باید کارهای پیشگیری کننده قبل از در معرض قرار گرفتن که می‌تواند شامل موانع فیزیکی، مواد جلوگیری کننده از ترکیب اکسیژن با مواد شیمیایی و ایمن سازی می‌باشد باید طرح ریزی شود. در کل ریسین باید در هر حادثه‌ای که در آن پودر سفید رنگ وجود دارد در نظر گرفته شود. سندرم بالینی ناشی از مسمومیت ریسین وابسته به مسیر در معرض قرار گرفتن است. در حال حاضر اقدامات مختلفی برای جلوگیری از مسمومیت ریسین در حال توسعه هستند و از آن‌ها در جمعیت

متصل می‌شود (تصویر ۳). ریسین در طول ترجمه به شبکه اندوپلاسمی هدایت شده و در آنجا سیگنال پپتید آن جدا می‌شود. پپتید باقیمانده کلیگوزیله شده و ۵ باند دی سولفیدی در آن شکل می‌گیرد (۳۴). چهار باند دی-سولفیدی در داخل توالی زنجیره B ایجاد می‌شود و یک باند نیز انتهای کربوکسیل از زنجیره A را به انتهای آمین از زنجیره B متصل می‌کند. ریسین شکل گرفته سپس از طریق دستگاه گلژی به داخل واکوئل‌های ذخیره سازی پروتئین منتقل می‌شوند. در داخل این گویچه‌ها پپتید انتهای آمین و ۱۲ اسیدآمینه متصل کننده دو زنجیره از طریق آنزیمی برش داده می‌شوند و هتروداپمر ریسین با دو زنجیره A و B که از طریق باند دی سولفیدی به یکدیگر متصل شده‌اند، آزاد می‌گردد (۳۵).

راه های انتشار ریسین:

روش انتشار ریسین بر اساس نوع در معرض قرار گرفتن انسان تعیین می‌شود. ریسین را می‌توان بصورت عصاره خام، کریستال‌های خالص و یا اشکال پودری آماده و یا محلول در مایعات تهیه کرد. انتشار عمومی می‌تواند از طریق ذرات معلق، از طریق آب و غذا و یا تزریق مستقیم وریدی و همچنین از مسیر چشم و پوست انجام پذیرد. میزان پراکندگی ریسین در محدوده‌های ذرات کمتر از میکرون در محیط‌های نظامی مورد آزمایش قرار گرفته است، هر چند اطلاعات کمی در این زمینه وجود دارد. ریسین ماندگاری کمی در محیط دارد، اما ذرات در اندازه‌های میکرون می‌توانند برای چندین ساعت بصورت سالم در هوا باقی بمانند. ذرات کمتر از $10\mu\text{m}$ جهت استنشاق ذرات معلق بکار رفته است، با کاهش اندازه ذرات تا حدود $1\mu\text{m}$ قدرت افزایش می‌یابد. مسمومیت ریسین مسری نیست و انتقال فرد به فرد رخ نمی‌دهد (۳۶).

اثرات بالینی مسمومیت با ریسین در حیوانات و

انسان:

مسمومیت خوراکی سم ریسین:

➤ در سال ۲۰۰۴ ریسین در یک محل دسته بندی نامه ها در کارولینای شمالی، در یک اتاق نامه ها که مربوط به دفتر سناتور بیل فست بود، پیدا شد که در داخل نامه ای خطاب به کاخ سفید کشف شد (۳۲).

➤ در سال ۲۰۱۱ وجود انبارهای ریسین در سراسر جهان که توسط القاعده تولید بمب های ریسین می کند توسط نیویورک تایمز گزارش شده است (۲۴).

➤ همچنین ریسین در طول این سالها در دست افراد وابسته به گروه‌های ضد دولتی و در کشورهای مختلف در دست افرادی که احتمالاً مرتبط با سازمان های تروریستی بودند، کشف شد (۲۴). در جدول ۱ به خلاصه ای از مسمومیت های عمدی و تصادفی و تعداد مرگ و میر افراد مسموم اشاره شده است (۳).

نحوه سنتز ریسین در گیاه کرچک:

چندین ایزوفرم از ریسین وجود دارد از قبیل ریسین D و ریسین E که این سموم بوسیله یک خانواده چند ژنی کوچک در ژنوم این گیاه که تقریباً هشت عضو دارد، تولید می‌شود و برخی از اینها غیرفعال هستند. ریسین در بافت اندوسپرم در طول تشکیل دانه روغن کرچک تولید می‌شود و در اندام پروتئینی سلول‌های اندوسپرم همراه با آلومین‌ها و پروتئین‌های کریستالوئید ذخیره می‌شود (۵). در داخل این اندام ریسین تا حدود ۵ درصد کل پروتئین‌های آن ذخیره می‌شود و در مراحل اولیه بعد از رشد تولید مثلی گیاه از بین می‌رود. ریسین در گیاه به شکل یک پلی پپتید منفرد سنتز می‌شود و سپس به دو زنجیره A و B برش داده می‌شود. زنجیره کامل قبل از برش خوردن به گالاکتوز متصل می‌شود ولی قادر به جداکردن پورین از $28S\ rRNA$ نمی‌باشد. ریسین از یک mRNA که شامل زنجیره A و B است سنتز می‌شود. این قسمت شامل ۵۷۶ اسیدآمینه است که ۳۵ اسید آمینه اول سکانس سیگنال برای هدایت به شبکه رتیكولوم آندوپلاسمیک (ER) است. ۲۶۷ اسیدآمینه بعدی زنجیره A ریسین را تشکیل می‌دهند که از طریق ۱۲ اسیدآمینه متصل کننده به زنجیره B با ۲۶۲ اسیدآمینه

طول ۲۴ ساعت اول توسط ادرار و کمتر از ۲ درصد توسط مدفوع دفع می‌شود. شروع علائم و نشانه‌های غیر اختصاصی پس از تزریق ریسین می‌تواند شامل تب، سردرد، سرگیجه، تهوع، بی‌اشتهایی، افت فشار خون، درد شکم باشد و حتی با دوزهای بالاتر نیز می‌تواند در حدود ۱۰ تا ۱۲ ساعت به تاخیر بیافتد. همچنین آسیب بافتی نیز در محل تزریق رخ می‌دهد. ناهنجاری‌های آزمایشگاهی شامل ترانس آمینازهای کبدی، آمیلاز و کراتینین کیناز و نارسایی کلیوی می‌باشد. میزان نارسایی کلینیکی می‌تواند تا نارسایی در چندین ارگان نیز پیشرفت کند. یافته‌های پس از مرگ که در مطالعات و تحقیقات حیوانی یکسان است، شامل خونریزی مرکزی در روده‌ها، مغز، قلب و پرده جنب می‌باشد. همچنین در گره‌های لنفاوی، کلیه‌ها و روده‌ها نیز ممکن است نکروز، خونریزی و تورم ایجاد شود (۲۴،۳۲).

مسمومیت استنشاقی سم ریسین:

رسوب در ریه و مرگ پس از استنشاق ریسین، بطور ویژه‌ای به اندازه ذرات وابسته می‌باشد. ذرات کمتر از ۳ میکرون می‌توانند به بخش‌های عمیق‌تری نفوذ کرده و در نتیجه باعث مرگ و میر بالاتری شوند. ذراتی که به طور فزاینده‌ای قطر آن‌ها افزایش می‌یابد، به طور معمول در مسیرهای هوایی باقی مانده و توسط سیستم مخاطی جاروب شده و پس از آن بلعیده می‌شوند. LD50 در مسیر استنشاقی در موش برای اندازه ذرات کمتر از ۵ میکرومتری در حدود ۳-۵ $\mu\text{g}/\text{kg}$ می‌باشد. میمون‌هایی که در معرض ۲۱-۴۲ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ریسین استنشاقی با قطر ذرات ۱-۲ میکرومتری قرار گرفتند پس از ۲۴-۲۰ ساعت دچار تنگی نفس پیشرفته شدند و ۳ میمون طی ۳۶، ۴۰، ۴۸ ساعت بعد از استنشاق ریسین مردند. بررسی‌های پس از مرگ شامل تورم ریوی پراکنده با چندین ناحیه نکروز و التهاب در بدن بود. در کل آسیب‌ها در مسیرهای هوایی دیستال و آلوئول‌ها شدیدتر بود. نتایج حاصل از سمیت جلوگیری از سنتز پروتئین، آزادسازی واسطه‌های سایتوکا و آسیب مستقیم به غشاء اپی تلیالی بود. پس از

تا کنون هیچ گزارشی از مسمومیت ریسین خالص به واسطه خوردن گزارش نشده است. همه گزارشات بالینی به مسمومیت با خوردن دانه کرچک اشاره می‌کنند، متوسط دوز کشنده (LD50) از مسیر خوراکی در موش ۳۰ mg/kg می‌باشد، یا تقریباً هزار برابر بیشتر از میزانی است که باعث مسمومیت به وسیله مسیرهای تزریقی یا استنشاقی می‌شود. در گزارشات در رابطه با خوردن دانه کرچک توسط انسان، دوز کشنده خوراکی در انسان بین ۲۰-۱ mg/kg از وزن بدن تخمین زده شده است (تقریباً ۸ دانه کرچک)، اما دوز ریسین تخمین زده شده برای تعداد دانه‌ها بدلیل تنوع در اندازه، وزن و درصد رطوبت دانه‌ها، فصل و سن گیاه و همچنین میزان جویدن متفاوت می‌باشد. تعداد دانه‌های مصرفی گزارش شده در مستندات علائم بالینی (خفیف تا کشنده) محدوده‌ای از ۱/۵ تا ۳۰ دانه می‌باشد. کمترین تعداد دانه‌ها در ارتباط با مرگ برابر ۲ عدد می‌باشد. در مطالعات حیوانی، ریسین خورده شده در عرض ۲ ساعت بوسیله غدد لنفاوی و رگ‌های خونی جذب می‌شود و عمدتاً در کبد و طحال تجمع می‌یابد و تقریباً ۲۰-۴۵ درصد از آن بدون هیچ تغییری توسط مدفوع دفع می‌شود. شروع علائم در عرض ۶-۴ ساعت پس از خوردن ریسین رخ می‌دهد اما تا ۱۰ ساعت هم طول می‌کشد. علائم اولیه پس از خوردن غیر اختصاصی می‌باشد و می‌تواند شامل درد شکمی، اسهال، استفراغ و سوزش سردل باشد. ضایعات آبکی می‌تواند منجر به عدم تعادل الکترولیتی بدن، از دست دادن آب، افت فشار خون و نقص در گردش خون شود. همچنین ناهنجاری‌ها ممکن است منجر به افزایش میزان ترانس آمینازها و کراتینین کیناز، نارسایی کلیوی و کم‌خونی شود (۲۴،۳۲).

مسمومیت تزریقی سم ریسین:

اطلاعات کمی از اثرات تزریقی ریسین بر روی انسان وجود دارد. LD50 در موش در مسیر تزریقی حدود ۵-۱۰ $\mu\text{g}/\text{kg}$ است. حداقل دوز کشنده در موش بین ۲-۰/۷ $\mu\text{g}/\text{kg}$ و در سگ ۱-۱/۷۵ $\mu\text{g}/\text{kg}$ می‌باشد. در جوندگان پس از تزریق، بخش اعظمی از ریسین در

در مطالعات حیوانی، ریسین در بخش‌هایی از نمونه‌های بافتی، سوآب‌های بینی و مایعات به‌وسیله روش‌های ایمنولوژیکی شناسایی شده است و امروزه تشخیص سم به روش الیزا به عنوان روشی دقیق و مطمئن مورد نظر است. روش‌های پایه‌ای ایمنولوژیکی بکار رفته در نمونه‌های مایعات انسان و حیوان، پتانسیل اندازه‌گیری غلظت‌های کمتر از 0.1 ng/ml را داشته است (۳۷). با این وجود چنین کاربردهایی بصورت کلینیکی معتبر نمی‌باشد و غلظت‌ها پس از در معرض سم قرار گرفتن نامعلوم است. همچنین روش MALDI-MS (Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Mass Spectrometry) که بر پایه کروماتوگرافی گازی-جرم سنجی جرمی می‌باشد بعنوان یک روش نوید بخش برای شناسایی حضور سم در نمونه‌های زیستی و غیر زیستی شناخته شده است. همچنین بکارگیری آزمون‌های عملکردی مانند روش‌های زیست‌سنجی (Bioassay) حیوانات آزمایشگاهی و یا استفاده از روش‌های سمیت سلولی به صورت *in vitro* وجود دارد که با توجه به توانایی ریسین در غیرفعال کردن ریبوزوم‌ها، یکی از روش‌ها جهت تمایز بین اشکال فعال و غیرفعال مولکول، مجاورت سم با ریبوزوم‌ها در محیط *in vitro* و عاری از سلول می‌باشد. در حال حاضر هیچ آزمایش تجاری قابل دسترسی برای ریسین در نمونه‌های زیستی وجود ندارد. همچنین آزمایش ادرار برای تشخیص آلکالوئید ریسینین دارای یک پتانسیل تشخیص جهت در معرض ریسین قرار گرفتن است. به علت اینکه ریسین و ریسینین از منبع گیاهی یکسانی خالص سازی می‌شوند، ریسینین می‌تواند به عنوان شاخص جایگزینی جهت اثبات حضور ریسین باشد. تشخیص ریسینین ۴۸ ساعت پس از در معرض قرار گرفتن می‌تواند صورت پذیرد (۳۸، ۳).

تشخیص در نمونه‌های محیطی:

پاسخ آزمایشگاهی، آزمایشگاه‌های شبکه‌ای توسط انجام تست PCR و آزمون‌های time-resolved

استنشاق ریسین هدف اولیه سمیت، پنوموسیت‌های نوع I و II می‌باشد. هیچ جذب سیستمیک مهمی پس از در معرض استنشاق قرار گرفتن انجام نمی‌شود و مسمومیت در درجه اول به دستگاه تنفسی در مطالعات حیوانی محدود می‌شود و به احتمال زیاد نارسایی تنفسی پس از استنشاق ریسین توسط انسان می‌تواند منجر به مرگ شود. فقط یک گزارش ضعیف از مسمومیت استنشاقی در انسان وجود دارد که در دهه ۱۹۴۰، ۸ نفر که به مدت ۸-۴ ساعت در معرض احتمالی استنشاق مواد حاوی ریسین قرار گرفته بودند دچار تب، حالت تهوع، سرفه، تنگی نفس، تنگی قفسه سینه و درد مفاصل شدند. بر اساس این گزارش و مطالعات حیوانی، بیماران ممکن است علائم تنفسی را ۶-۴ ساعت بعد از در معرض قرار گرفتن نشان دهند، اما شروع علائم جدی ۲۴ ساعت پس از در معرض قرار گرفتن ایجاد می‌شود. استنشاق ذرات معلق ریسین همچنین ممکن است باعث واکنش آلرژیک شود که منجر به التهاب راه‌های هوایی، ورم غشاء مخاطی بینی و سوزش چشم می‌شود. همچنین اطلاعاتی در رابطه با واکنش آلرژیک در افرادی که در نزدیکی گیاه کرچک، کار یا زندگی می‌کنند نیز وجود دارد (۲۴، ۳۲). جدول ۲ میزان LD50 سم ریسین برای موش‌های آزمایشگاهی را از مسیرهای مختلف نشان می‌دهد.

مسمومیت از طریق جذب پوست یا چشم:

در مطالعات پوستی/چشمی مشخص شده است که کهیر، به‌واسطه IgE و واکنش آلرژیک پس از دست زدن به دانه گیاه کرچک و یا گرد و غبار یا تفاله دانه کرچک می‌تواند ایجاد شود. همچنین سوزش چشم و ایجاد غشاءهای التهابی پس از قرار گرفتن در معرض غلظت-های خیلی کم از ریسین در حیوانات آزمایشگاهی گزارش شده است (۳۲).

تشخیص آزمایشگاهی مسمومیت ریسین:

تشخیص در نمونه‌های زیستی:

آزمایش تاییدی مورد نیاز است. کیت‌های آزمایشی دیگر در وزارت امنیت داخلی آمریکا در حال توسعه و توزیع تجاری محدود است (۳۲). در جدول ۳ مجموع روش‌های تشخیصی برای تشخیص سم ریسین در نمونه‌های زیستی و محیطی با میزان (limit of LOD (detection یا محدوده تشخیص آورده شده است.

immunofluorescence برای تشخیص ریسین در محیط بکار می‌رود. آزمایش‌های زیستی بر پایه سلول بعضی مواقع جهت تایید فعالیت کشندگی سم ریسین در نمونه‌های محیطی بکار می‌رود. همچنین روش‌های ایمنی سنجی که سنجش دستی (Hand-Held-Assay)، یا smart tickets نامیده می‌شوند نیز وجود دارند که در اختیار ارتش آمریکا قرار گرفته‌اند. همراه با تست اولیه،

جدول ۱: خلاصه‌ای از مسمومیت‌های عمدی و تصادفی و تعداد مرگ و میر افراد مسموم [۳]

نمونه‌های انسانی	نمونه‌های تصادفی (مجموع/کشته شده)	نمونه‌های عمدی (مجموع/کشته شده)
خوراکی	۸۷۵/۱۳	۵/۰
تزریقی	۱/۰	۶/۵
مجموع	۸۷۶/۱۳ (۱/۵ درصد)	۱۱/۵ (۴۵/۵ درصد)



تصویر ۳: ساختمان شماتیک mRNA کدکننده Preproricin: حاوی سیگنال پپتید، دو زنجیره A، B و پپتید متصل کننده

جدول ۲: میزان LD₅₀ ریسین در موش آزمایشگاهی

مسیر تجویز	دوز LD ₅₀	زمان مرگ
تزریق داخل رگی	۵-۱۰ µg/kg	۹۰ ساعت
تزریق داخل صفاقی	۲۲ µg/kg	۱۰۰ ساعت
تزریق زیرجلدی	۲۴ µg/kg	۱۰۰ ساعت
تجویز خوراکی	۲۰-۳۰ mg/kg	۸۵ ساعت
تجویز استنشاقی	۳-۵ µg/kg	۶۰ ساعت

جدول ۳: روش های تشخیص ریسین در نمونه های زیستی و محیطی (۳۹)

روش تشخیص ریسین	روش غنی سازی ریسین	محیط نمونه	LOD	مدت زمان
Sandwich-type ELISA	انتی بادی تثبیت شده بر روی میله های سیلیکونی	بافر و مایع بدن	۱۰-۱۰۰ fmol	۱۰ ساعت
Colorimetric and chemiluminescence ELISA	آنتی بادی متصل شده به صفحات میکرومتری	بافر و مایع بدن	۰/۱ - ۰/۵ ng/ml	۳-۲۴ ساعت
Fiber optic-based biosensor	آنتی بادی متصل شده به فیبر نوری	بافر و آب رودخانه	۰/۱ - ۱ ng/ml	۲۰ دقیقه
Colloidal immunochromatographic	آنتی بادی متصل شده به غشاء نیتروسولولز	بافر	۰/۱-۵۰ ng/ml	۱۰ دقیقه
Inca bioanalytical microarray platform	آنتی بادی متصل شده به IncaSlide	بافر و شیر	۰/۵-۱ ng/ml	۹۰ دقیقه
xMAP microspheres immunoassay	آنتی بادی متصل شده به گوی های میکرومتری xMAP	بافر و شیر	۰/۰۱-۰/۰۳ ng/ml	۲,۵ ساعت
DNA aptamer and Raman scattering technique	آپتامر متصل شده به ذرات مغناطیسی	بافر و شربت	۲۵ ng/ml	گزارش نشده
SPR	آنتی بادی متصل شده به چیپ SPR	بافر و نمونه های حیاطی	۰/۱ ng/ml	۱۵ دقیقه
Hand-held SPR	آنتی بادی متصل شده به چیپ SPR	بافر	۲۰۰ ng/ml	۱۰ دقیقه
Localized SPR	بنا گالاکتوزیداز پوشش داده شده با نانوذرات طلا در چیپ SPR	بافر	۳۰ ng/ml	۷,۵ دقیقه
SPR	گلیکان های متصل شده به چیپ SPR	بافر	۱۰ pg/ml	۵ دقیقه
SPR	sdAb متصل شده به چیپ SPR	بافر	۰/۷ ng/ml	۲-۶ دقیقه
sdAb-QD fluoroimmunoassay	sdAb متصل شده به پلیت های ۹۶ تایی	بافر	۱ ng/ml	گزارش نشده
Microring resonator array	sdAb متصل شده به تشدید کننده های microring array	بافر	۳۰۰ pM	۱۵ دقیقه
Lectin pull-down	نانوپارتیکل های مغناطیسی اکسید آهن- گالاکتوز	بافر و سرم	۲-۴ ng/ml	۳ ساعت
Sandwich-type glyco immunoassay	چیپ لاکتوز	بافر	۸۰ ng/ml	۲۰ دقیقه
Immuno-PCR	آنتی بادی متصل شده به صفحات میکروتیتراسیون	گوشت گاو، شیر، تخم مرغ	۰/۱-۰/۰۱ ng/ml	گزارش نشده
Nano LC-MS	لاکتوز تثبیت شده به ستون های چرخشی یک یارچه	محلول پروتئینی	۸ ng/ml	۵ ساعت
Immunocapture and MALDI-TOF/MS	آنتی بادی متصل شده به ذرات مغناطیسی	بافر و شیر	۵۰ ng/ml	۶ ساعت

درمان:

توصیه‌های دفع آلودگی قبل از درمان، بیمارانی

که در معرض ریسین قرار گرفته‌اند:

توصیه‌هایی برای دفع آلودگی براساس خواص فیزیکی و شیمیایی ریسین، روش‌های جلوگیری از در معرض قرار گرفتن و روش‌هایی براساس رویکرد بالینی و عمومی بهداشتی وجود دارد. خواص فیزیکی و شیمیایی ریسین نشان می‌دهد که پس از ضد عفونی کاملاً دفع می‌شود و بیماران و کارکنان بهداشت در معرض خطر ثانویه ریسین نیستند (۳۲).

مدیریت درمانی:

شناسایی ریسین در بیمار مسموم شده به علت شباهت با بیماری‌هایی که بطور معمول رخ می‌دهد کار را مشکل می‌کند. تشخیص متکی بر ظن پزشک با توجه به یک تهدید ریسین و یا شیوع بیماری‌های گوارشی یا تنفسی شدید می‌باشد. جهت کنترل یک تهدید موثق با سوء ظن به مسمومیت ریسین، همه بیمارانی که دارای علائم مسمومیت می‌باشند باید در بیمارستان بستری شوند. دوره بالینی پس از بلع و استنشاق بطور معمول بیش از ۴ تا ۳۶ ساعت پیشرفت می‌کند و باید فردی که احتمال مسمومیت با سم ریسین را دارد در یک واحد مراقبت‌های ویژه تحت کنترل باشد. بیمارانی که پس از ۱۲ ساعت از مصرف خوراکی و یا استنشاق ریسین بدون علامت باقی بمانند، بعید است که مسموم شده باشند و با اقدامات احتیاطی مناسب می‌توان آن‌ها را ترخیص نمود (۴۰). شواهد تجربی نشان می‌دهد که احتمال تاخیر علائم تنفسی ۲۰ تا ۲۴ ساعت پس از استنشاق ریسین وجود دارد، بنابراین باید تمامی بیماران مرخص شده آموزش داده شوند که در صورت بروز علائم باید به بخش اورژانس مراجعه کنند. تشخیص و درمان افرادی که در معرض ریسین قرار دارند می‌تواند با توجه به سن، عوامل اساسی و بیماری‌های پیش زمینه متفاوت باشد (۸).

درمان بیماران:

هیچ پروتکل درمانی خاصی برای مواجه شدن با ریسین وجود ندارد و درمان تا حد زیادی با توجه به نشانه‌های بیماری و کمکی می‌باشد. در صورتی که خوردن در یک ساعت یا کمتر رخ داده باشد شستشوی معده می‌تواند انجام شود. برای جلوگیری از جذب سیستمیک مواد سمی ناشناخته، یک دوز واحد از ذغال فعال برای بیمارانی که استفراغ نمی‌کنند در نظر گرفته می‌شود. حتی اگر میزان جذب ریسین توسط ذغال مشخص نباشد باز هم اینکار انجام می‌شود. اما هنگامی که بیمار شروع به استفراغ می‌کند احتمال رفع آلودگی معده مبهم می‌باشد (۴۱).

ریسین قابل دیالیز نمی‌باشد و هیچ پادزهر تجاری در حال حاضر در دسترس ندارد. اهداف عمده درمان برای بیمارانی که بصورت خوراکی با ریسین مسموم شده‌اند بهبود خون‌رسانی به واسطه مایعات احیاء کننده، درمان وازوپرسورها و تجدید الکترولیت‌ها می‌باشد و درمان عمدتاً بصورت کمکی انجام می‌گیرد و مایعات داخل وریدی و افزایش دهنده فشار خون (به‌عنوان مثال دوپامین) بعلت کاهش فشار خون بکار می‌رود. همچنین بیمارانی که در معرض استنشاقی ریسین قرار گرفته‌اند نیز کنترل می‌شوند و برای هر شواهدی از میوگلوبینوریا و نارسایی کلیه تحت درمان قرار می‌گیرند. درمان عمومی شامل استفاده از اکسیژن، گشاد کننده برونش‌ها، لوله گذاری و مکمل نهایی بازدم با فشار مثبت می‌باشد. در ارتباط با تماس چشمی نیز شستشوی موضعی آب و یا نرمال سالین به مدت ۱۵ دقیقه توصیه می‌شود. درمان حمایتی انعقادی، ریوی، کبدی، کلیوی و قلبی-عروقی نیز باید صورت پذیرد (۳۲، ۳۳).

ایمنی در برابر مسمومیت ریسین:

مطالعات حیوانی نشان می‌دهد که امکان حفاظت در برابر مسمومیت خوراکی، استنشاقی و تزریقی ریسین از

علاوه بر حفاظت ۱۰۰ درصد ایجاد شده، برنامه ایمن-سازی با هفت دوز ۵۰gμ از سم ریسین غیرفعال شده با فرمالین مقایسه شد. اثر نیمی از این دوز و کوتاه شدن برنامه ایمن سازی به نصف، میزان زنده ماندن را به ۵۰ درصد رسانید. در حالیکه حفاظت ایجاد شده مدرکی دال بر پتانسیل سیستم انتقال است، سیستم انتقال واکسن بصورت دهانی بطور مهمی وابسته به میزان دوز و برنامه و فواصل تجویز می‌باشد. همچنین میکروسفرهای (I-Poly(lactide) حاوی توکسوئید ریسین برای انتقال درون بینی سم ریسین بکار رفته است که نشان داد که پیرو ایمن سازی با دو دوز از میکروسفرهای حاوی سم، ۱۰۰ درصد موش‌ها علیه سم کشنده ریسین به مدت یکسال حفاظت شدند. در صورتی که دو دوز توکسوئید ریسین محلول منتقل شده از طریق بینی هیچ حفاظتی را ایجاد نکرده است. در تحقیقات گزارش شده الحاق سم ریسین درون میکروسفرهای (Lactide-co-Poly(glycolide) بطور بارزی شامل تیر بالاتر آنتی بادی در مقایسه با آنتی ژن محلول بصورت مجزا بود که باعث تسهیل در برنامه ایمن سازی و افزایش سرعت ایجاد حفاظت می‌شد (۴۳-۴۵).

ایمنی زایی توسط لیپوزوم‌های حامل توکسوئید و

زنجیره A دگلیکوزیله شده:

بکاربردن یک فرمولاسیون لیپوزومی برای لیپوزوم حاوی توکسوئید ریسین مشخص کرد که لیپوزوم حاوی توکسوئید ریسین در مقایسه با لیپوزوم حاوی زنجیره A سم میزان IgA اختصاصی ریسین بیشتری را در ریه تولید کرد. کار آنها با ارزش بود به علت اینکه لیپوزوم‌ها را به زنجیره A سم ریسین متصل کردند که بر خلاف سم، زنجیره A به آسانی در لیپوزوم گنجانیده نمی‌شد. بطور جالب توجهی لیپوزوم‌های حاوی زنجیره A بطور قوی برای مسیر درون نایی در مقایسه با زنجیره A تنها تقویت شد. بر طبق مقالات و تحقیقات مشابه توکسوئید ریسین لیپوزومی یک کاندیدای واکسن خوب و بهینه شده برای انتقال ریوی بوسیله استنشاق می‌باشد. این بر

طریق ایمن‌سازی غیرفعال (آنتی‌بادی‌های ویژه ریسین) و یا ایمن‌سازی فعال توسط واکسن وجود دارد. ایمن‌سازی غیرفعال می‌تواند موجب حفاظت در برابر مسمومیت ریسین شود اگر پیش از در معرض قرار گرفتن تجویز شود، با این حال مزایای ایمن‌سازی پس از در معرض ریسین قرار گرفتن هنوز مشخص نشده است. چندین مطالعه حیوانی، ایمن‌سازی فعال را بررسی کرده است که نشان دهنده این بوده است که سطوح مناسبی از آنتی-بادی‌های محافظ خنثی‌کننده ریسین تولید خواهند شد. جهت تولید واکسنی علیه ریسین تحقیقات زیادی صورت پذیرفته است که می‌توان به واکسن‌هایی شامل سم ریسین غیرفعال شده توسط فرمالین، زنجیره A دگلیکوزیله، میکروذرات و لیپوزوم‌های حاوی توکسوئید ریسین و زنجیره A ریسین و یا واکسن‌های زیر واحدی نوترکیب به‌عنوان واکسن علیه مسمومیت ریسین اشاره کرد (۵۶-۴۲).

ایمنی زایی توسط توکسوئید و زنجیره A

دگلیکوزیله شده ریسین:

در تحقیقات انجام شده جهت تولید یک واکسن علیه مسمومیت ریسین، محققان ابتدا از سم غیرفعال شده توسط فرمالین (توکسوئید) و زنجیره A دگلیکوزیله به-عنوان واکسن جهت ایمنی زایی فعال استفاده کردند که حفاظت کامل علیه ذرات معلق ریسین را در حیوانات از خود نشان داد. البته با توجه به نگرانی‌هایی که برای سمیت، سم غیرفعال شده توسط فرمالین و پتانسیل اثرات جانبی زنجیره A دگلیکوزیله شده ریسین وجود دارد، محققان تحقیقات خود را برای ساخت واکسن‌های ایمن-تر جهت استفاده در انسان گسترش دادند (۴۲).

ایمنی زایی توسط میکروپارتیکل‌های حامل

توکسوئید و زنجیره A دگلیکوزیله شده:

کندا و همکارانش نشان دادند که میکروپارتیکل‌های (Poly(Lactide-co-glycolide)) که از مسیر دهانی تجویز شدند توانایی تسهیل حفاظت علیه ذرات معلق کشنده سم ریسین را در مدل‌های موشی دارند. همچنین

برای استفاده از این واکسن پروتئینی علیه مسمومیت سم ریسین در انسان شده است (۵۳-۵۰). همچنین کریستالوگرافی اشعه ایکس نشان داده است که ساختار RiVax با آنچه در RTA می‌باشد، تقریباً یکسان است، که این نشان می‌دهد که جهش‌های نقطه‌ای یک اثر حداقل در ساختار سوم پروتئین آن داشته است (۵۴).

RVEc نیز پروتئین نوترکیب دیگر می‌باشد که مشتق کوتاه شده‌ای از RTA است که فاقد منطقه انتهایی کربوکسیل آبگریز (باقی مانده‌های ۲۶۷-۱۹۹) و یک حلقه آبگریز کوچک در انتهای آمین (باقی مانده ۴۳-۳۴) می‌باشد و در نتیجه یک مولکول با افزایش حلالیت و پایداری حرارتی است. RVEc شامل موتاسیون‌هایی که مستقیماً جایگاه‌های فعال را غیرفعال می‌کنند، نمی‌شود اما در مدل‌های آزمایشگاهی مشخص شده است که حذف این دو بخش منجر به غیرفعال شدن فعالیت آنزیمی مولکول و همچنین کاهش و یا حذف توانایی مولکول برای نشت عروقی می‌شود (۵۵). هر دو واکسن در مطالعات حیوانی، تولید پیشرفته و آزمایش‌های بالینی فاز یک تحت بررسی هستند. هر دو واکسن RiVax و RVEc در موش بسیار ایمونوژنیک می‌باشند و منجر به برانگیختن ایمنی حفاظتی در برابر قرار گرفتن در معرض ریسین از طریق استنشاق، گاوآژ و یا تزریق می‌شوند (۳۱، ۵۵).

با وجود تفاوت‌های ساختاری بین این دو واکسن زیرواحدی، مقایسه سر به سر آن‌ها نشان داده است که RiVax و RVEc زمانی که به آلهیدروژل جذب می‌شوند و یا همراه با ادجوانت LT-II تجویز می‌شوند، دارای ظرفیت‌های یکسانی برای القاء آنتی‌بادی‌های خشی‌کننده و برای محافظت از در موش‌ها هستند (۵۷-۵۶).

هیچ مقایسه سر به سر از این دو واکسن هنوز در پریما‌تها انجام نشده است هر چند که مشخص شده است که تجویز عضلانی RiVax جذب شده در

پایه مشاهداتی بود که توکسوئید ریسین لیپوزومی یک کیفیت بهتری را برای حفاظت با یک کاهش تاثیر لوکوسیت‌های پلی مرفونوکتار و تورم ریوی کم (و احتمال کاهش آسیب ریوی) را در مقایسه با فرمولاسیون لیپوزوم / زنجیره A را ایجاد می‌کرد (۴۷-۴۶).

ایمنی زایی توسط واکسن‌های زیر واحدی

نوترکیب ریسین:

در یک تحقیق با اضافه کردن یک زنجیره شامل ۲۵ باقیمانده آمینواسیدی در داخل زنجیره A ریسین یک واکسن ضد سم ریسین تولید شد که بطور قابل توجهی (در حدود ۳۰۰ برابر) سمیت در آن کاهش یافته بود (۴۸). در مطالعه دیگر یک مشتق عملکردی (کاهش در فعالیت سم با ۳ برابر کوچک شدن اندازه سم) از زنجیره سم ریسین برای حضور در یک اپی توپ حفاظتی ویژه بکار رفت. این مشتق بطور ۱۰۰ درصد به‌عنوان واکسن علیه ذرات معلق کشنده ریسین در حیوانات محافظت ایجاد کرد (۴۹). در تلاش برای تولید یک واکسن غیرسمی و یک پروتئین بی‌خطر قابل قبول، زیر واحدهای زنجیره A نوترکیب موتانت به‌وسیله Small shaw و همکارانش بررسی شدند. دو تا از ۳ موتانت حفاظت موش‌ها علیه ریسین را از خود نشان دادند و که بر طبق گفته نویسنده فاقد سمیت بود که در نهایت یک واکسن پروتئینی نوترکیب بنام RiVax معرفی شد که یک پروتئین دارای دو جهش در دو جایگاه اعمال سمیت زنجیره A می‌باشد که در آن تیروزین ۸۰ به آلانین و والین ۷۶ به متیونین تغییر پیدا کرده بود و جایگاه‌های سمیت ریپوزومی زنجیره A و همچنین موتیفی که باعث ایجاد سندرم نفوذ رگی می‌شود غیر فعال شده است. مطالعات مختلفی در رابطه با ایمنی RiVax و در ارتباط با پایداری و میزان ایمونوژنیسیته و مسیرهای ارسال آن به بدن صورت پذیرفته است. همچنین آزمایش‌های بالینی این واکسن پروتئینی بر روی موش، خرگوش، میمون و انسان نیز صورت گرفته است که نتایج خوبی را در ایجاد ایمنی علیه ریسین نشان داده است و منجر به امیدهایی

از آنجایی که این فرمول **RiVax** پس از ماه‌ها آنکوباسیون در ۴۰ درجه سانتی‌گراد در موش موثر بوده است، حدس زده می‌شود که آنتی‌ژن‌های متصل به ادجوانت بی‌ثبات نمی‌باشند و هر آنفولدشدنی از آنتی‌ژن که قرار بود رخ دهد در طول فرایند فاز آبی رخ داده است. به احتمال زیاد اثر بخشی این پروتئین به این علت می‌باشد که به طور کامل یا بخشی از اپی‌توپ‌های مسئول القاء ایمنی حفاظتی واکسن حفظ شد (۵۳). در مورد **RVEc** به نظر می‌رسد، اتصال به سطح ادجوانت آلومینیوم پایداری مولکول را بالا می‌برد (۵۹). با این حال، تا کنون هیچ مقایسه بیوفیزیکی مستقیمی بین پروتئین‌های تثبیت شده از **RiVax** و **RVEc** هنوز انجام نشده است.

استفاده از واکسن‌های مشتق شده از **RTA** در

نمونه‌های انسان:

از منظر بی‌خطر بودن و ایمنی زایی **RiVax**، در فاز یک انسانی مطالعات اندکی انجام شده است. در یکی از گروه‌های انسانی **RiVax** بدون ادجوانت و در گروه دیگر همراه با ادجوانت آلومینیوم هیدروکسید فرموله شده است (۶۱، ۳۰).

در هر دو آزمایش، سه دوز مختلف ۱-۱۰۰ میکروگرم استفاده شد. در تمام داوطلبان واکسینه شده در روزهای ۰، ۶، و ۲۶ هفته به جز آن‌هایی که کمترین دوز آنتی‌ژن به آن‌ها تجویز شده بود، آنتی‌بادی ترشح شد. پاسخ آنتی‌بادی ضد ریسین وابسته به میزان دوز تجویزی بود و در داوطلبان دریافت کننده واکسن همراه با ادجوانت آلومینیوم بیشتر و طولانی مدت‌تر بود. با این حال ترشح آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده در داوطلبان دو هفته پس از سومین واکسیناسیون توسعه یافت و در طول یک سال پس از اولین واکسیناسیون آنتی‌بادی خنثی‌کننده با سینتیک آهسته‌ای نسبت به مجموع آنتی‌بادی‌ها کاهش یافت (۶۲).

مرکز **USAMRIID** نیز یک مطالعه فاز ۱ بالینی در انسان را که توسط **RVEc** همراه با ادجوانت

ادجوانت هیدروکسید آلومینیوم، میمون رزوس را در برابر استنشاق آئروسول ریسین محافظت می‌کند (۵۴).

همچنین **RiVax** تجویز شده توسط تزریق عضلانی از موش‌ها در برابر قرار گرفتن در معرض استنشاق ریسین محافظت می‌کند، که این نشان دهنده این است که **IgA** ترشحی اختصاصی ریسین می‌تواند از سلول‌های اپیتلیوم حفاظت کند ولی مطالعات در موش واکسینه نشان می‌دهد که ممکن است شدت دوز بالای ریسین کاهش یابد، اما آسیب بلند مدت به سطوح مخاطی از بین نمی‌رود (۵۲). از این رو واکسیناسیون عضلانی همراه با تجویز مخاطی ممکن است حفاظت بهتری را ارائه دهد. همچنین ممکن است که دوزهای رژیم‌درمانی بهتری با استفاده از مسیر عضلانی بکار برود که نتیجه آن حفاظت بهتر از سطوح مخاطی با افزایش کل سطح آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده باشد. همچنین **RiVax** تقریباً با **RTA** طبیعی برابر است، اما در مقایسه با **RVEc**، در محلول‌های آبی به سرعت آنفولد و دناتوره می‌شود (۵۸-۵۹). بی‌ثباتی ذاتی **RTA** و تمایل به آنفولد، دناتوره یا اگرگیگیت شدن نشان می‌دهد که تکنیک‌های ایجاد ثبات در ساختار **RiVax** برای موفقیت‌های آینده آن به عنوان واکسن بسیار مهم است. تلاش‌های اخیر در تکنولوژی پایداری مولکولی شرایط زنجیره سرد را بهبود داده است و به‌طور بالقوه می‌تواند اثر بخشی را با نگهداری بهبود یافته ساختار طبیعی افزایش دهد. همچنین تثبیت **RiVax** بر روی ادجوانت هیدروکسید آلومینیوم در تلاشی برای افزایش پایداری در ساختار و جلوگیری از آنفولد شدن و دناتوراسیونی که در محلول رخ می‌دهد، انجام شده است (۵۳).

این روش تثبیت شامل لیوفیلیزه کردن ادجوانت آلومینیوم متصل به آنتی‌ژن **RiVax** در حضور ترهالوز می‌باشد، که یک واکسنی تولید می‌شود که به راحتی با آب هیدراته و آماده مصرف می‌شود (۶۰).

مانند شیگاتوکسین، آبرین، مودسین، ولکن سین، ویسکومین طبقه بندی می‌شود (۶۶). ریسین از قوی ترین و کشنده ترین سم های ممکن در طبیعت می‌باشد. سهولت در تهیه گیاه کرچک و خالص سازی ریسین (با توجه به اینکه روش تهیه آسانتری نسبت به بسیاری سموم از جمله سم سیاه زخم و بوتولینوم دارد) این سم را به یک سلاح بیولوژیکی جذاب تبدیل کرده است. تهدیدات اخیر در انتشار ریسین بعنوان یک سلاح تروریستی برجسته نیاز به این دارد که پزشکان و کارمندان بخش بهداشت عمومی اطلاعات بیشتری در رابطه با در معرض قرار گرفتن ریسین داشته باشند. سم ریسین توانایی اتصال به سطح تمامی سلول‌های جانداران را دارا می‌باشد و مسمومیت ریسین می‌تواند از طریق خوردن، استنشاق یا تزریق رخ دهد و منجر به اسهال، استفراغ، بیماری تنفسی و یا آسیب به کلیه‌ها و کبد بشود که البته علائم بالینی ریسین با توجه به مسیرهای در معرض ریسین قرار گرفتن متفاوت می‌باشد.

در کنترل یک تهدید معتبر، پزشکان باید مسمومیت ریسین در بیماران دارای بیماری دستگاه گوارش و دستگاه تنفسی را در نظر بگیرند، بخصوص اگر علائم بتدریج پیشرفت کرده و عملکرد اندام با اختلال مواجه شد. به منظور سهولت در تشخیص زود هنگام و کاهش عوارض و مرگ و میر کمتر، سازمان‌های کنترل سموم و بهداشت عمومی باید با بیماری‌هایی که بعلت در معرض ریسین قرار گرفتن ایجاد شده و با شیوع مسمومیت مشابه است، مطلع باشند. در حال حاضر هیچ پادزهر و یا درمان خاصی برای مسمومیت ریسین در دسترس نمی‌باشد و درمان‌های کمکی با مراقبت‌های ویژه برای کاهش عوارض و مرگ و میر مورد نیاز است. کارکنان مراقبت‌های بهداشتی و مقامات بهداشت عمومی باید بیماری‌های دستگاه گوارش و تنفسی را در جهت تنظیم تهدیدات موثق در نظر بگیرند. همچنین جهت تشخیص سم ریسین در نمونه‌های زیستی و غیر زیستی باید از تلفیق چند روش برای تأیید نهایی استفاده شود. در کل

آلومینیوم بکار رفته بود را انجام داد که در آن نشان داده شد که این واکسن پروتئینی در دوزهای ۲۰ میکروگرم و ۵۰ میکروگرم که در در روزهای ۰، ۲۸ و ۵۶ تجویز شده بود، بی‌خطر و ایمنونژنیک می‌باشد. دو هفته پس از واکسیناسیون سوم، در همه داوطلبان آنتی‌بادی تولید شد، اما تنها ۵۰ درصد از آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده با تیتراژ بیش از ۱:۵۰ توسعه یافت. چهار نفر در گروه دوز ۵۰ میکروگرم، یک دوز دیگر را ۲۰ ماه پس از واکسیناسیون اول دریافت کردند. این دوز دریافتی بی‌خطر و قابل تحمل بود و هر چهار نفر یک پاسخ آنامنستیک قوی (*robust anamnestic response*) را ارائه دادند و تیتراژ بالایی از خنثی‌سازی (بیش از ۱:۱۰۰۰) را تا ۶ ماه پس از آخرین بستر ارائه دادند. پس از آن آنتی‌بادی‌های افراد واکسینه شده بصورت واکسیناسیون غیرفعال به موش‌ها منتقل شد و این موش‌ها با دوز کشنده ریسین به چالش کشیده شدند که منجر به حافظت حیوانات از مرگ شد (۶۲).

با وجود این نتایج امیدوار کننده، چندین مانع مهم وجود دارد که از اخذ مجوز FDA برای واکسن ریسین جلوگیری می‌کند. عوامل کلیدی در این میان نیاز به مدل‌های حیوانی مناسب مشابه به انسان می‌باشد که علیه آلودگی ریسین به خوبی حفاظت شوند، کیفیت بهتر و مطلوب‌تر مواد مرتبط با حفاظت و شناسایی ادجوانت‌های افزودنی مناسب‌تر از نمک آلومینیوم می‌باشد که بتواند شدت تولید آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده ریسین در بدن را بالا ببرد (۶۲).

نتیجه‌گیری

گروه وسیعی از سموم گیاهی و باکتریایی همانند ریسین دارای ترکیبات پروتئینی زنجیره A و B می‌باشند مانند دیفتری، بوتولینوم و سیاه زخم که تحقیقات مختلفی بر روی این سموم صورت پذیرفته است (۶۵-۶۳). ریسین جزو گروهی از توکسین‌های دو زنجیره است که دارای فعالیت پروتئینی غیر فعال کردن ریبوزوم توسط زنجیره A (RIP-II) می‌باشد و در گروه سم‌هایی

های آنها انجام شود که با استفاده از دوزهای متفاوت و احتمالاً استفاده از ادجوانت‌های جایگزین و سیستم‌های تحویل نوین خواهد بود و تحقیقات بر روی شدت پاسخ زودتر و قوی‌تر آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده تمرکز خواهد یافت که در این میان می‌توان از سیستم‌های تحویلی نوین به صورت نانوذرات جهت افزایش کارایی این واکسن‌ها علیه سم ریسین استفاده کرد.

بهترین راه جلوگیری از مسمومیت ناشی از سم ریسین پیشگیری با استفاده از واکسن‌های مناسب علیه سمیت ریسین می‌باشد که تحقیقات مختلفی برای تولید یک واکسن مناسب انجام شده است که بهترین واکسن‌های آزمایش شده شامل واکسن‌های پروتئینی REVC و RiVax می‌باشد که هنوز به صورت گسترده مورد استفاده قرار نگرفته است و باید بررسی‌های بیشتری بر روی بی‌خطر بودن، ایمنی‌زایی و خصوصیات آنتی‌بادی-

منابع

- 1-Larsson S.L., M.S. Sloma, O. Nygard O. Conformational changes in the structure of domains II and V of 28S rRNA in ribosomes treated with the translational inhibitors ricin or alpha-sarcin. *Biochem. Biophys. Acta* . 2002. 1577: 53-62.
- 2-Olsnes S. The history of ricin, abrin and related toxins. *Toxicon*. 2004;44:361-370.
- 3-Worbs S, Köhler K, Pauly D, Avondet M.A, Schaer M, Dorner M.B, et al. *Ricinus communis* Intoxications in Human and Veterinary Medicine—A Summary of Real Cases. *Toxins* 2011; 3(10), 1332-1372.
- 4-Krieger R (Editor). *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*, (3rd Edition). Vol 1. 2010. p119–229.
- 5-Aplin P.J, Eliseo .T. Ingestion of castor oil plant seeds. *Med. J. Aust.*1997. 167 (5): 260–1.
- 6-Brugsch HG. Toxic hazards: the castor bean. *N Engl J Med*. 1960; 262:1039-1040.
- 7-Burrows WD, Renner SE. Biological warfare agents as threats to potable water. *Environ Health Perspect*. 1999; 107:975-984.
- 8-Challoner KR, McCarron MM. Castor bean intoxication: review of reported cases. *Ann Emerg Med*. 1990; 19:1177-1183.
- 9-Hegde R, Podder SK. Studies on the variants of the protein toxins ricin and abrin. *Eur J Biochem*. 1992; 204:155-164.
- 10-Bradberry SM, Dickers KJ, Rice P, Griffiths GD, Vale JA. Ricin poisoning. *Toxicol Rev*. 2003;22:65-70.
- 11-Schep L.J, Temple W.A, Butt G.A, Beasley M.D. Ricin as a weapon of mass terror—separating fact from fiction. *Environ. Int*. 2009, 35, 1267–1271.
- 12-Parker DT, Parker AC, Ramachandran CK. Joint Technical Data Source Book. Vol 6. Part 3. US Dugway Proving Ground, Utah: Joint Contact Point Directorate. 1996;1-38.
- 13-Balint GA. Ricin: the toxic protein of castor oil seeds. *Toxicology*. 1974;2:77-102.
- 14-Olsnes S. The history of ricin, abrin and related toxins. *Toxicon*. 2004;44:361-370.
- 15-Sandvig K, van Deurs B. Entry of ricin and Shiga toxin into cells: molecular mechanisms and medical perspectives. *EMBO J*. 2000;19:5943-5950.
- 16-Day PJ, Pinheiro TJ, Roberts LM, Lord JM. Binding of ricin A-chain to negatively charged phospholipid vesicles leads to protein structural changes and destabilizes the lipid bilayer. *Biochemistry*. 2002;41:2836-2843.
- 17-Eitzen E, Palvin J, Cieslak T. et al. *Medical Management of Biological Casualties Handbook*. eds 3rd ed. Fort Detrick, Frederick, Md: US Army Medical Research Institute of Infectious Diseases. 1998;101-106.
- 18-Stechmann B, Bai S.K, Gobbo E, Lopez R, Merer G, Pinchard S, et al. Inhibition of retrograde transport protects mice from lethal ricin challenge. *Cell*. 2010; 141, 231–242.
- 19-Sandvig K, Torgersen M.L, Engedal N, Skotland T, Iversen T.G. Protein toxins from plants and bacteria: Probes for intracellular transport and tools in medicine. *FEBS Lett*. 2010; 584, 2626–2634.
- 20-Thomas, R.J. Receptor mimicry as novel therapeutic treatment for biothreat agents. *Bioeng. Bugs* 2010; 1, 17–30.
- 21-Tsai B, Ye Y, Rapoport T.A. Retro-translocation of proteins from the endoplasmic reticulum into the cytosol. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 2002; 3, 246–255.
- 22-Mayerhofer P, Cook J, Wahlman J, Pinheiro T, Moore K, Lord J, et al. Ricin a-chain insertion into ER membranes is triggered by a temperature increase to 37 °C. *J. Biol. Chem*. 2009; 284, 10232–10242.
- 23-Spooner R, Hart P, Cook J, Pietroni P, Rogon C, Höhfeld J, et al. Cytosolic chaperones influence the fate of a toxin dislocated from the endoplasmic reticulum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2008; 105, 17408-17413.

- 24-Pincus SH, Smallshaw JE, Song K, Berry J, Vitetta ES. Passive and active vaccination strategies to prevent ricin poisoning. *Toxins*. 2011; 3, 1163-1184.
- 25-Bies C, Lehr C.M, Woodley J.F. Lectin-mediated drug targeting: history and applications. *Adv Drug Deliv Rev*. 2004; 56:425-435.
- 26-Godal A, Fodstad O, Ingebrigtsen K, Pihl A. Pharmacological studies of ricin in mice and humans. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1984; 13:157-163.
- 27-Weiss EA. *Castor, Sesame and Safflower*. Barnes & Noble, New York. 1971.
- 28-Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations of the CDC Strategic Planning Workgroup Biological and Chemical Terrorism: strategic plan for preparedness and response. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2000;49:1-14.
- 29-Roy C.J, Hale M, Hartings J.M, Pitt L, Duniho S. Impact of inhalation exposure modality and particle size on the respiratory deposition of ricin in balb/c mice. *Inhal. Toxicol*. 2003; 15, 619-638.
- 30-Vitetta E.S, Smallshaw J.E, Coleman E, Jafri H, Foster C, Munford R, et al. pilot clinical trial of a recombinant ricin vaccine in normal humans. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 2006; 103, 2268-2273.
- 31-Marconescu P.S, Smallshaw J.E, Pop L.M, Ruback S.L, Vitetta E.S. Intradermal administration of Rivax protects mice from mucosal and systemic ricin intoxication. *Vaccine* 2010; 28, 5315-5322.
- 32-Audi J, Belson M, Patel M, Schier J, Osterloh J. Ricin poisoning: A comprehensive review. *J. Am. Med. Assoc*. 2005; 294, 2342-2351.
- 33-Croddy EA, Wirtz JJ, Larsen JA (Editors). *Weapons of Mass Destruction: An Encyclopedia of Worldwide Policy, Technology, and History*. 2004. Vol 1. p240.
- 34-Weston SA, Tucker AD, Thatcher DR, Derbyshire DJ, Pauptit RA. X-ray structure of recombinant ricin A-chain at 1.8 Å resolution. *J. Mol. Biol*. 1994. 244 (4): 410-22.
- 35-Dlsnes S, and Kozlov JV. *Ricin Toxicon*. 2001; 39: 1723-1728.
- 36-Cope AC, Dee J, Cannan RK. et al. *Chemical Warfare Agents and Related Chemical Problems-Part I: Summary Technical Report of Division 9*. Washington, DC: National Defense Research Committee. 1945; 179-203.
- 37-Griffiths GD, Newman HV, Gee DJ. Immunocytochemical detection of ricin, II: further studies using the immunoperoxidase method. *Histochem J*. 1986;18:189-195.
- 38-Johnson RC, Lemire SW, Woolfitt AR. et al. Quantification of ricinine in rat and human urine: a biomarker for ricin exposure. *J Anal Toxicol*. 2005;29:149-155.
- 39-Bozza WP, TollesonWH, Rivera Rosado LA, Zhang B. Ricin detection: Tracking active toxin. *Biotechnology Advances*. 2015; 33:117-123
- 40-Franz DR, Jahrling PB, McClain DJ, et al. Clinical recognition and management of patients exposed to biological warfare agents. *Clin Lab Med*. 2001; 21:435-473.
- 41-Chyka PA, Seger D. Position statement: single-dose activated charcoal: American Academy of Clinical Toxicology; European Association of Poisons Centres and Clinical Toxicologists. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1997; 35:721-741.
- 42-Bramwell VW, Eyles JE, Alpar HO. Particulate delivery systems for biodefense subunit vaccines. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2005; 57: 1247- 1265.
- 43-Kende M, Yan C, Hewetson J, Frick MA, Rill WL, Tammariello R. Oral immunization of mice with ricin toxoid vaccine encapsulated in polymeric microspheres against aerosol challenge. *Vaccine*. 2002; 20: 1681-1691.
- 44-Yan C, Rill WL, Malli R, Hewetson J, Naseem H, Tammariello R, et al. Intranasal stimulation of longlasting immunity against aerosol ricin challenge with ricin toxoid vaccine encapsulated in polymeric microspheres. *Vaccine*. 1996; 14:1031-1038.
- 45-Yan C, Rill WL, Malli R, Hewetson J, Tammariello R, Kende M. Dependence of ricin toxoid vaccine efficacy on the structure of poly(lactide-co-glycolide) microparticle carriers. *Vaccine*. 1995; 13:645-651.
- 46-Griffiths GD, Bailey SC, Hambrook JL, Keyte MP. Local and systemic responses against ricin toxin promoted by mtoxoid or peptide vaccines alone or in liposomal formulations. *Vaccine*. 1998; 16:530- 535.
- 47-Griffiths GD, Phillips GJ, Bailey SC. Comparison of the quality of protection elicited by toxoid and peptide liposomal vaccine formulations against ricin as assessed by markers of inflammation. *Vaccine*. 1999; 17:2562- 2568.
- 48-Marsden GJ, Knight S, Smith DC, Day PJ, Roberts LM, Phillips GJ, et al. Insertional mutagenesis of ricin a chain: a novel route to an anti-ricin vaccine. *Vaccine*. 2004; 22: 2800-2805.
- 49-Olson MA, Carra JH, Roxas-Duncan V, Wannemacher RW, Smith LA, Millard CB. Finding a new vaccine in the ricin protein fold. *Protein Eng. Des., Sel*. 2004; 17:391- 397.
- 50-Smallshaw JE, Firan A, Fulmer JR, Ruback SL, Ghetie V, Vitetta ES. A novel recombinant vaccine which protects mice against ricin intoxication. *Vaccine*. 2002; 20:3422-3427.
- 51-Smallshaw J.E, Richardson J.A, Pincus S, Schindler J, Vitetta E. S. Preclinical toxicity and efficacy testing of RiVax, a recombinant protein vaccine against ricin. *Vaccine*; 2005; 23: 4775-4784.

- 52-Smallshaw J.E, Richardson J.A, Vitetta E.S. RiVax, a recombinant ricin subunit vaccine, protects mice against ricin delivered by gavage or aerosol. *Vaccine*. 2007; 25: 7459-7469.
- 53-Roy CJ, Brey RN, Mantis NJ, Mapes K, Pop IV, Pop LM, et al. Thermostable ricin vaccine protects rhesus macaques against aerosolized ricin: Epitope-specific neutralizing antibodies correlate with protection. *Proc Natl Acad Sci*. 2015; 24; 112(12): 3782-3787.
- 54-Legler PM, Brey RN, Smallshaw JE, Vitetta ES, Millard CB. Structure of RiVax: a recombinant ricin vaccine. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*. 2011; 67:826-30.
- 55-Porter A, Phillips G, Smith L, Erwin-Cohen R, Tammariello R, Hale M, et al. Evaluation of a ricin vaccine candidate (RVEc) for human toxicity using an in vitro vascular leak assay. *Toxicon*. 2011; 58:68-75.
- 56-O'Hara JM, Brey RN, Mantis NJ. Comparative efficacy of two leading candidate ricin toxin a subunit vaccines in mice. *Clin Vaccine Immunol*. 2013; 20:789-94.
- 57-Vance DJ, Greene CJ, Rong Y, Mandell LM, Connell TD, Mantis NJ. Comparative Adjuvant Effects of Type II Heat-Labile Enterotoxins in Combination with Two Different Candidate Ricin Toxin Vaccine Antigens. *Clin Vaccine Immunol*. 2015; 22(12):1285-93.
- 58-Peek LJ, Brey RN, Middaugh CR. A rapid, three-step process for the preformulation of a recombinant ricin toxin A-chain vaccine. *J Pharm Sci*. 2007; 96:44-60.
- 59-Carra JH, Wannemacher RW, Tammariello RF, Lindsey CY, Dinterman RE, Schokman RD, et al. Improved formulation of a recombinant ricin A-chain vaccine increases its stability and effective antigenicity. *Vaccine*. 2007; 25:4149-58.
- 60-Hassett KJ, Cousins MC, Rabia LA, Chadwick CM, O'Hara JM, Nandi P, et al. Stabilization of a recombinant ricin toxin A subunit vaccine through lyophilization. *Eur J Pharm Biopharm*. 2013; 85:279-86.
- 61-Vitetta ES, Smallshaw JE, Schindler J. Pilot Phase IB Clinical Trial of an Alhydrogel- Adsorbed Recombinant Ricin Vaccine. *Clin Vaccine Immunol*. 2012; 19:1697-9.
- 62-Brey RN, Mantis NJ, Pincus SH, Vitetta ES, Smith LA, Roy CJ. Recent Advances in the Development of Vaccines against Ricin. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*; 2016; 12, 1196–1201.
- 63-Najarasl M, Hashemzadeh MS, Honari H, Mousavy SJ, Ebrahimi F, Pourhakkak H. Production of Recombinant Construct by Cloning of Protective Antigen Domain 4 Gene and Fusion of it with Lethal Factor Domain 1 Gene of *Bacillus anthracis* in *E.coli*. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2015, 23(7), 18-27.
- 64-Bagheripour MJ, Ebrahimi F, Hajizadeh A, Nazarian Sh, Arefpour MA, Rashidiani J. Preparation of Chitosan Based Botulinum Neurotoxin E Recombinant Nanovaccine and Evaluation of its Immunogenicity as Oral & Intradermal Route in Mice. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2016, 14(11): 923-38.
- 65-Rezaeiani S, Ebrahimi F, Honari H, Hajizade A, Barati B. Cloning and Expression of Clostridium Botulinum Type B Binding Domain E. Coli. *URMIA MED J*. 2014; 25(6): 502-510.
- 66-Olad GhR, Tavalhee M, Mohammad-Hassan Z, Ebrahimi F, Salimian J, Nazarean Sh, et al. Shigella dysentery stxA mutant (R170L-A231D-G234E) gene design and optimization of recombinant protein expression and purification. *J Sharekord Univ Med Sci*. 2011; 13(5): 93-102.

Ricin Toxin; Mechanisms of Toxicity, Diagnosis Methods, Treatment and Immunization Against it

Davoud Sadeghi¹, Firouz Ebrahimi^{1*}, Mehdi Zeinoddini², Seyed Amir Hosseini¹,
Zohreh Hedayat Manesh³

1-Ph.D of Nanobotechnology.

2-Ph.D of Biochemistry.

3-Ph.D of Biochemistry.

4-Ph.D Student of

Nanobotechnology.

5-Master of Physiology.

1,2,4-Department of Biology,
Faculty of Basic Science, Imam
Hossein University, Tehran, Iran.

3-Department of Bioscience and
Biotechnology, Malek-Ashtar
University of Technology, Tehran,
Iran.

5-Islamic Azad University of
Abadan, Abadan, Iran.

*Corresponding author:

Firouz Ebrahimi; Department of
Biology, Faculty of Basic Science,
Imam Hossein University, Tehran,
Iran.

Tel: +989108609340

Email: dvudsadeghi64@yahoo.com

Abstract

Ricin toxin is a disulfide-linked heterodimeric glycoprotein consisting of the toxic A chain and the cell-binding B chain that acts through the irreversible inactivation of eukaryotic ribosomes and inhibition of the polypeptide chain elongation, which finally leads to cell death. The toxin is extracted from castor plant beans (*Ricinus communis*) and it consists of 1–5% of the beans' dry weight. Ricin is of concern in the area of biodefense because it is readily available to individuals or groups with little technical expertise or funding and its source is ubiquitous in the weed and in the cultivated crop in many countries. Since ricin can easily be distribute in the body, it has been classified by the CDC (US center for Disease Control and Prevention) as a class B biothreat. There has been much investigation on the diagnosis, treatment and production of a potent vaccine against this agent. For diagnosis of ricin poisoning in clinical cases, immunological techniques have been used for screening of samples and combination of high tech chromatographic and mass spectrometric methods could be used for poisoning confirmative analysis. There is currently no specific treatment available for poisoning with ricin but two closely related RTA-based subunit vaccines, contain RiVax and RVEc, are now under development. The aim of this study is presentation of ricin toxin, diagnosis methods, treatment and new vaccine candidates against it.

Keywords: Ricin toxin, Diagnosis, Treatment, Vaccine development.

►Please cite this paper as:

Sadeghi D, Ebrahimi F, Zeinoddini M, Hosseini SA, Hedayat Manesh Z. Ricin Toxin; Mechanisms of Toxicity, Diagnosis Methods, Treatment and Immunization Against it. *Jundishapur Sci Med J* 2017;16(1):103-124.

Received: Aug 6, 2016

Revised: Mar 11, 2017

Accepted: Mar 13, 2017