



## Токсины как химическое оружие

В.Н. Александров, В.И. Емельянов

(часть книги *Отравляющие вещества*)

### Общая характеристика

Токсинами называют химические вещества белковой природы растительного, животного, микробного или иного происхождения, обладающие высокой токсичностью и способные при их применении оказывать поражающее действие на организм человека и животных. Существенным отличием токсинов от ядов небелковой природы является их способность при попадании в организм человека проявлять антигенные свойства и вырабатывать в нем иммунитет.



peopledaily.com.cn

Все ядовитые химические вещества природного происхождения независимо от их состава и строения, поражение которыми не сопровождается иммунными ответами организма, называются природными ядами. В связи с этим включение термина «токсин» в исторически сложившиеся названия некоторых токсичных веществ природного происхождения, например конваллятоксин (яд ландыша), тетродотоксин (яд шар-рыбы), батрахотоксин (яд лягушек-древолозов), сакситоксин (устричный яд), палитоксин (яд зоонтидов) и т. п., следует рассматривать как своеобразную дань консерватизму. *(В настоящее время термин «токсин» часто применяется к любому яду биологического происхождения – независимо от его способности вызывать иммунную реакцию у человека (см. напр., предыдущую статью) – прим. ред.).*

До настоящего времени токсины еще нередко относят к биологическому оружию, основываясь на том, что продуцентами наиболее эффективных с военной точки зрения токсинов являются бактерии. Однако в отличие от биологических организмов токсины нежизнеспособны. Они не имеют периода инкубации, и возможный период скрытого действия при отравлении токсинами зависит только от принятой дозы вещества и пути его поступления в организм. Токсинные поражения не являются инфекционными



заболевания, т. е. не передаются другим людям и животным, а сам токсин образуется задолго до того, как он проник в организм. Боевое применение токсинов возможно на основе тех же принципов и теми же методами, которые характерны для химического оружия. Наконец, токсины могут вырабатываться не только микроорганизмами, но и животными, растениями и даже могут быть получены синтетическим путем. Уже сейчас появляются сообщения о синтезе в лабораторном масштабе фрагментов современных токсинов из 10—15 аминокислот в полипептидной цепи. Все это дает основание считать токсины одним из современных направлений развития химического оружия.

Началом для изучения токсинов послужили работы основоположника современной иммунологии французского ученого Л. Пастера (1822—1895 г.), посвященные установлению причины бешенства. Л. Пастер постулировал существование специфического токсина бешенства — рабитоксина (от лат. *rabiā* — «бешенный») и предложил метод лечения заболевания путем использования антирабической сыворотки, успешно апробированной на людях в 1885 г.

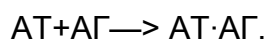
В 1838 г. ученик и сотрудник Л. Пастера французский микробиолог П. Ру в швейцарский ученый А. Иерсен впервые выделили и охарактеризовали токсин дифтерийной палочки и показали, что именно он вызывает параличи, расстройства сердечной деятельности и другие симптомы при заболевании дифтерией. Этим открытием была созданы предпосылки для разработки новых методов лечения дифтерии и многих других инфекционных заболеваний не только путей уничтожения болезнетворных микроорганизмов, но и путем обезвреживания вырабатываемых этими микроорганизмами токсинов.

В 1890 г. немецкий бактериолог Э. Беринг установил, что сыворотка крови животных, которым введены небольшие (сублетальные) дозы токсинов, обладает профилактическими и лечебными свойствами. Результатом этих исследований явилась разработка П. Ру во Франции и Э. Берингом в Германии противодифтерийной сыворотки, положившей начало иммунотерапии распространенных инфекционных заболеваний.

При попадании в организм человека и теплокровных животных некоторых микроорганизмов в нем образуются антитела — специфичные белки глобул и новой фракции крови, которые нейтрализуют выделяемые микроорганизмами токсичные вещества. На рубеже XIX — XX вв. было установлено, что подобные же антитела образуются и при поступлении в организм токсинов. Такие антитела получили название антитоксинов.



Впоследствии оказалось, что каждый антитоксин строго специфичен в своей активности, т. е. способен обезвреживать (нейтрализовать) только тот токсин, который вызвал его образование. Высокомолекулярные коллоидные вещества, которые при введении в организм вызывают образование специфически реагирующих с ними антител, получили название антигенов. Таким образом, удалось установить, что токсины проявляют свойства антигенов. Антигенные свойства присущи только таким высокомолекулярным соединениям, которые по своей структуре не являются аналогами ни одного из веществ, свойственных организму. Обезвреживание токсичного полипептида — антигена (АГ) является результатом иммунной реакции с ним антитела (АТ), проявляющейся в образовании осадка неактивного комплекса, что приводит к неактивности токсина:



В 1924 г. французский ученый Г. Рамой предложил обезвреживать токсины, а точнее — резко ослаблять их активность с сохранением антигенных свойств путем обработки токсинов водным раствором формальдегида (формалином). В результате такой обработки образуется неядовитое производное токсина — анатоксин (от греч. *ана* — обратно, *toxicon* — яд), который при введении в организм также способствует выработке иммунитета к соответствующему токсину. С тех пор основным назначением токсинов стало получение из них анатоксинов с целью использования в составе вакцин при профилактике и лечении заболеваний, вызываемых токсогенными микроорганизмами.

Начавшееся в середине XX столетия бурное развитие химии полипептидов обусловило разработку новых методов их выделения, очистки и идентификации. В связи с этим стали разрабатываться и методы химической модификации токсинов, что значительно расширило возможности получения анатоксинов высокой степени чистоты. К настоящему времени получены столбнячный, гангренозный, дифтерийный, ботулинический и другие анатоксины, которые используются в вакцинах для иммунизации людей. Создались также предпосылки и для научной классификации токсинов.

### **Классификация токсинов**

Наиболее широкое распространение получила классификация токсинов по происхождению, по роли в жизнедеятельности организма-продуцента, по токсическому действию на поражаемый организм.

В зависимости от источника происхождения все токсины подразделяют на три группы:



**фитотоксины** — токсины растительного происхождения, продуцируемые отдельными растениями;

**зоотоксины** — токсины животного происхождения, продуцируемые некоторыми видами животных и входящие в состав яда этих животных, нередко выделяемую во внешнюю среду;

**микробные токсины**, вырабатываемые многими видами микроорганизмов и являющиеся причиной отравления и заболевания.

Эта классификация может быть дополнена четвертой группой — **синтетическими токсинами**. На сегодняшний день таких токсинов не существует.

В зависимости от роли токсина в жизнедеятельности организма-продуцента (в основном это относится к бактериям) различают две группы токсинов: эндотоксины и экзотоксины. Последние иногда называют экзотоксинами.

Эндотоксины — продукты обмена веществ, функционирующие внутри клеток в качестве метаболитов. Они выделяются во внешнюю среду только после гибели клеток, например, после разложения микроорганизмов. Как правило, эндотоксины представляют собой комплексы полипептидов с полисахаридами, липидами или липополисахаридами.

Экзотоксины также вырабатываются при внутриклеточном обмене веществ, но выделяются клетками-продуцентами в окружающую их среду в процессе жизнедеятельности. Обычно экзотоксины — это белки, которые сохраняют свою биоактивность вне клетки. Внеклеточная стабильность экзотоксинов является принципиально важной их особенностью, поскольку это делает возможным их получение не только биологическим, но и синтетическим путем, создание их запасов, использование экзотоксинов для тех или иных целей, включая цели химической войны. В связи с такими особенностями именно экзотоксины всесторонне обследуются как потенциальные средства ведения химической войны.

По действию на поражаемый организм токсины (это относится главным образом к экзотоксинам) условно классифицируются на нейротоксины, цитотоксины (токсины-эффекторы), токсины-ферменты и токсины — ингибиторы ферментов.

Нейротоксины как вещества, специфически действующие на нервную систему, нарушают передачу нервного импульса на различных этапах. Они могут вызвать нарушение мембранной проницаемости нервных клеток для ионов, ингибирование или стимулирование выделения медиатора в синаптическую щель, блокирование рецепторов постсинаптической мембраны или, напротив, стимулирование ее



перестройки.

Цитотоксины как неспецифичные эффекторы обладают способностью нарушать структуры различных биологических мембран, изменяя тем самым клеточную проницаемость и направления внутриклеточных процессов. В отдельных случаях цитотоксины способны даже разрушать мембраны: растворять мембраны лейкоцитов, лимфоцитов, тромбоцитов, микрофагов крови. Гемолизины, например, вызывают растворение мембран эритроцитов, высвобождая содержащийся в них гемоглобин. Некоторые энтеротоксины способны нарушать проницаемость мембран кровеносных капилляров в эпителии кишечника, что приводит к локальным кровоизлияниям.

Токсины-ферменты способствуют гидролитическому расщеплению отдельных структурных компонентов клеток: белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов, липидов. Среди токсинов такого типа встречаются протеазы, нуклеазы, гиалуронидазы, фосфолипазы и др. — все они вызывают то или иное нарушение нормальных физиологических реакций человека или животного.

Токсины — ингибиторы ферментов способны нарушать биокаталитический контроль за многими процессами обмена веществ.

Следует отметить, что известны экзотоксины и со смешанным фармакотоксическим действием. Большинство цитотоксинов, например, дополнительно характеризуются ферментной или ингибиторной активностью.

На токсины распространяется также тактическая классификация отравляющих веществ, согласно которой все они делятся на токсины смертельного действия и временно выводящие живую силу из строя (инкапаситанты).

### **Особенности строения и свойств токсинов**

Большинство токсинов являются водорастворимыми глобулярными белками и внешне представляют собой твердые вещества, чаще всего имеющие вид аморфного порошка от белого до желто-коричневого цвета. Лишь некоторые экзотоксины выделены в кристаллическом состоянии. Все токсины термически нестойки, не перегоняются и не могут быть охарактеризованы температурами плавления.

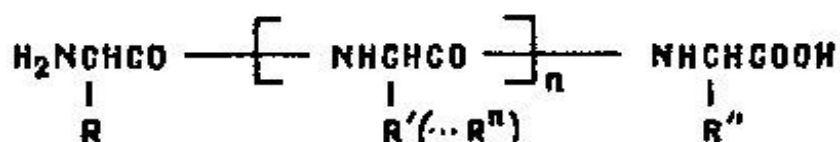
Обычно порошкообразные токсины активно связывают воду с образованием гелей или высоковязких водных растворов. В органических растворителях токсины не растворяются, хотя кристаллы экзотоксинов, выращенные из водных растворов, содержащих органический растворитель, включают молекулы последнего, так что удаление растворителя сопровождается потерей кристалличности.

Эндотоксины, как правило, комплексы полипептидов с полисахаридами или

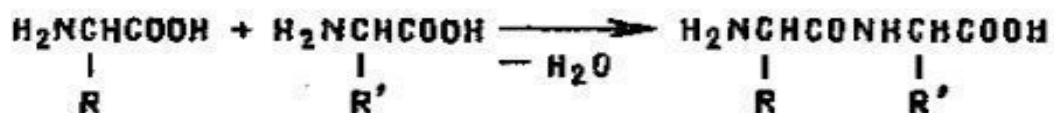


липидами. Большинство экзотоксинов — высокомолекулярные полипептиды. В связи с этим для характеристики строения токсинов используются различные описательные возможности, отражающие тот или иной уровень структурной сложности полипептидов: первичный, вторичный, третичный, четвертичный.

Первичная структура токсинов, подобно всем природным белкам, описывается общей формулой:



где R-R<sup>n</sup> — остатки 20 различных белокобразующих α-аминокислот H<sub>2</sub>NCH(R)COOH, т. е. H или алкилы, которые могут быть замещены арилами, окси-, меркапто-, амино-, имино-, амидино-, карбоксигруппами, карбамидом или гетероциклическими радикалами. Первичная структура характеризует набор, количество аминокислотных звеньев в молекуле токсина и последовательность их сцепления. Все аминокислоты связываются в полипептидную цепь по единому образцу путем конденсации: аминогруппа одной аминокислоты и карбоксигруппа другой генерируют молекулу воды, а за счет освободившихся валентностей остатки аминокислот соединяются:



Между сконденсированными аминокислотами возникает прочная ковалентная связь —CO—NH—, называемая пептидной связью. Образующееся соединение называется пептидом. Из двух аминокислот образуется дипептид, из трех — трипептид, из нескольких — олигопептид, из многих — полипептид. В состав молекул токсинов входят многие сотни — тысячи аминокислотных остатков, следовательно, все токсины — полипептиды.

Линейный размер каждого аминокислотного звена составляет примерно 0,3 нм. Молекула линейно построенного полипептида должна была бы представлять собой достаточно длинную цепь. В действительности же она имеет вид компактной частицы (глобулы), что объясняется особой пространственной организацией таких регулярно построенных биополимеров, описываемой вторичной и третичной структурами. Во вторичной структуре белковая цепь закручивается за счет свободного вращения вокруг C—C-связей в спираль, как бы навитую на цилиндр. Спираль стабилизируется путем образования водородных связей между кислородом CO-групп и водородом NH-групп



на соседних витках, идущих по образующей цилиндра. Хотя водородные связи относительно слабы, но, повторенные многократно, они обеспечивают достаточно прочное сцепление. Полипептидная спираль, «прошита» многочисленными водородными связями, представляет собой довольно устойчивую пространственную структуру с фиксированным размещением заместителей R.

Наличие различных фиксированных на «поверхности» спирали функциональных групп в молекуле полипептида обуславливает возможность последующего взаимодействия между ними, в результате которого спираль за счет своей гибкости свертывается в клубок (глобулу), получивший название третичной структуры. Это объемное структурное образование с характерной для каждого токсина поверхностью получило название конформации. Наиболее часто клубок скрепляется дисульфидными мостиками — ковалентными S—S-связями, которые возникают при окислении меркаптогрупп в заместителях R аминокислот, расположенных на отдаленных друг от друга участках полипептидной цепи:



Иногда для фиксации клубка достаточно «сшить» изогнутую спираль одним или несколькими дисульфидными мостиками. Дополнительно этому способствуют водородные, ионные, гидрофобные и иные слабые связи. Считают, что именно конформация обуславливает физиологическую активность и реакционную способность токсинов, равно как и биокаталитическую активность белков-ферментов.

Многие токсины представляют собой «агрегаты», сформированные из нескольких глобул полипептидов с определенной третичной структурой. Каждая из этих глобул, являющихся как бы полипептидными фрагментами токсина, синтезируется под контролем различных генов и называется субъединицей токсина или доменом. При описании свойств таких токсинов, как «агрегатов» нескольких доменов, обычно используется понятие четвертичной структуры. Эта структура поддерживается как ковалентными, в частности дисульфидными связями, так и непрочными гидрофобными связями, т. е. силами сцепления между неполярными заместителями R многих аминокислот. Хотя гидрофобные силы сцепления относятся к слабейшим связям, в сумме они благодаря многочисленности дают значительную энергию взаимодействия.

Четвертичной структурой описывают также комплексы полипептидов третичной структуры со сравнительно низкомолекулярными непептидными соединениями, встречающиеся в химии токсинов.

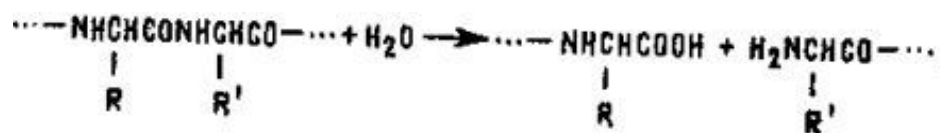


Естественно, что нарушение конформации токсина может привести к изменению его реакционной способности и к потере токсичности. Это может быть не только изменение природы функциональных групп R реакционного центра, но и восстановление дисульфидных мостиков, а иногда даже извращение уровня слабых взаимодействий (водородных, ионных, гидрофобных). В одних случаях нарушение конформации токсина обратимо (денатурация), в других — необратимо (денатурация).

Денатурация полипептидов третичной или четвертичной структуры наблюдается, например, при незначительном и кратковременном нагревании, при контакте с разбавленными щелочами и кислотами, при обработке растворами солей и некоторых органических соединений. В этих случаях имеет место обратимое и частичное извращение конформации, например частичное разворачивание спирали, что сопровождается изменениями физических свойств полипептида: снижением уровня гидратации, уменьшением растворимости в воде, увеличением вязкости растворов.

Денатурация полипептидов имеет место при длительном и значительном нагревании, при ионизирующем или ультрафиолетовом облучении, при обработке концентрированными щелочами и кислотами, а также окислительно-хлорирующими реагентами и растворами формальдегида. Денатурация обычно сопровождается разрывом одних и образованием других, новых ковалентных связей в молекуле полипептида, в итоге изменяется природа реакционных центров молекулы и извращается ее физиологическая активность. Иными словами, денатурация токсинов ведет к снижению или полной потере ими токсичности, что используется для их уничтожения.

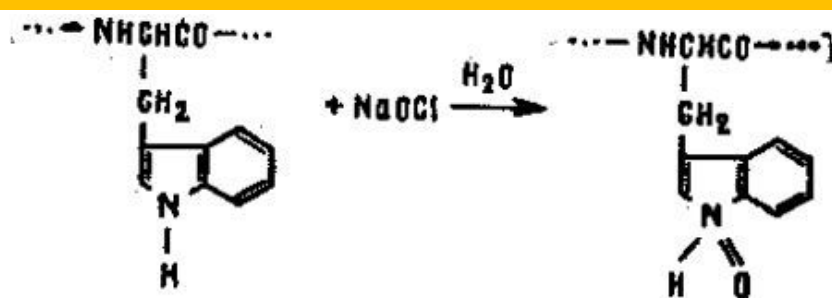
Токсины гидролизуются с разрывом пептидных связей и образованием нетоксичных фрагментов полипептидной цепи разной величины или даже отдельных аминокислот:



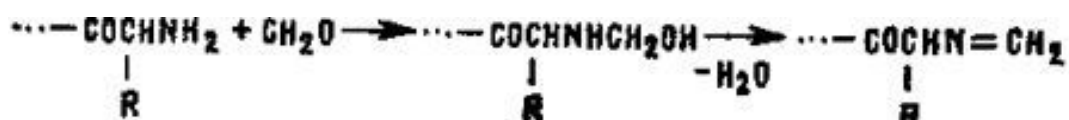
Скорость гидролиза зависит от температуры, pH среды, соотношения кислотных и основных групп в молекуле. Медленный гидролиз происходит уже при хранении водных растворов токсинов при комнатной температуре, в связи с чем токсичность растворов постепенно снижается. Гидролиз ускоряется протеолитическими ферментами (протеазами).

Окислители и вещества окислительно-хлорирующего действия (хлорамины, гипохлориты, перманганат калия) лишают токсины физиологической активности, очевидно, за счет окисления азота в индольном кольце аминокислоты триптофана:

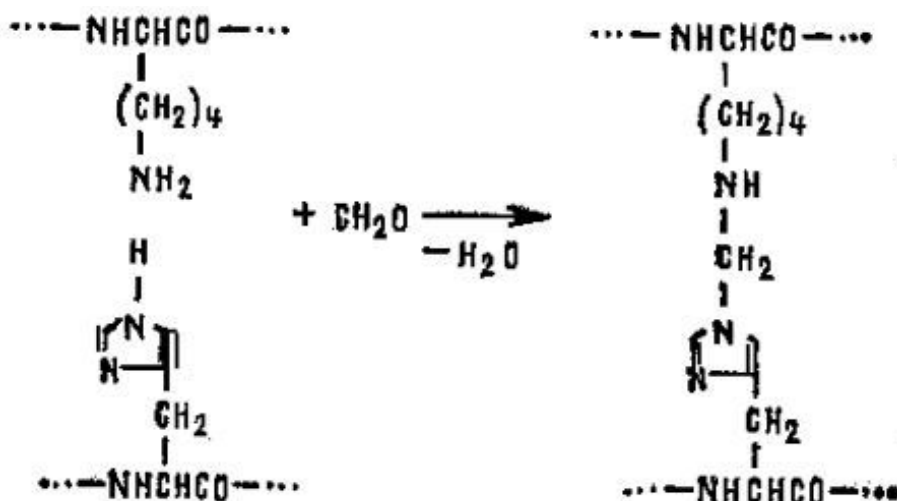




Альдегиды и некоторые кетоны также пригодны для инактивации токсинов. Они взаимодействуют с концевыми и боковыми аминогруппами пептидов:



При обработке токсинов формалином (водным раствором формальдегида) нередко случается «сшивание» полипептидных цепей:



Характерно, что в то время как биоактивность токсинов при конденсации с формальдегидом исчезает, антигенность продуктов конденсации остается достаточной, чтобы вызвать формирование иммунозащитного ответа организма — образование антител, нейтрализующих исходный токсин. Именно таким способом и получают анатоксины.

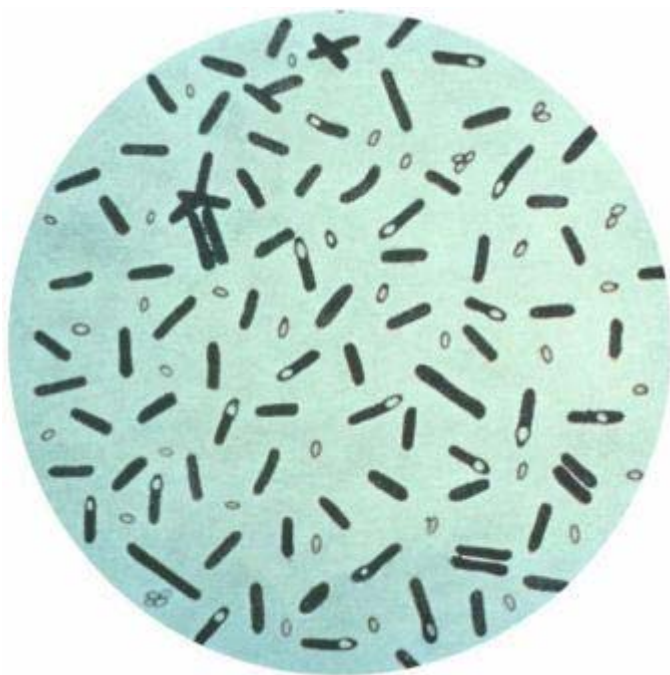
Токсины обладают свойством флюоресценции в ультрафиолетовом свете, что может быть использовано для их неспецифической индикации. Считают, что флюоресценция зависит от наличия в молекулах токсинов определенных аминокислот  $\text{H}_2\text{NCH(R)COOH}$ , где R — 3-индолилметил (триптофан),  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$  (фенилаланин), 4 -  $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{CH}_2$  (тирозин).

Для обнаружения токсинов пригодны многочисленные цветные реакции белков: на наличие пептидных связей в молекуле, на любые или какие-то конкретные аминокислоты. Все эти реакции неспецифичны.



## Ботулинические токсины и вещество XR

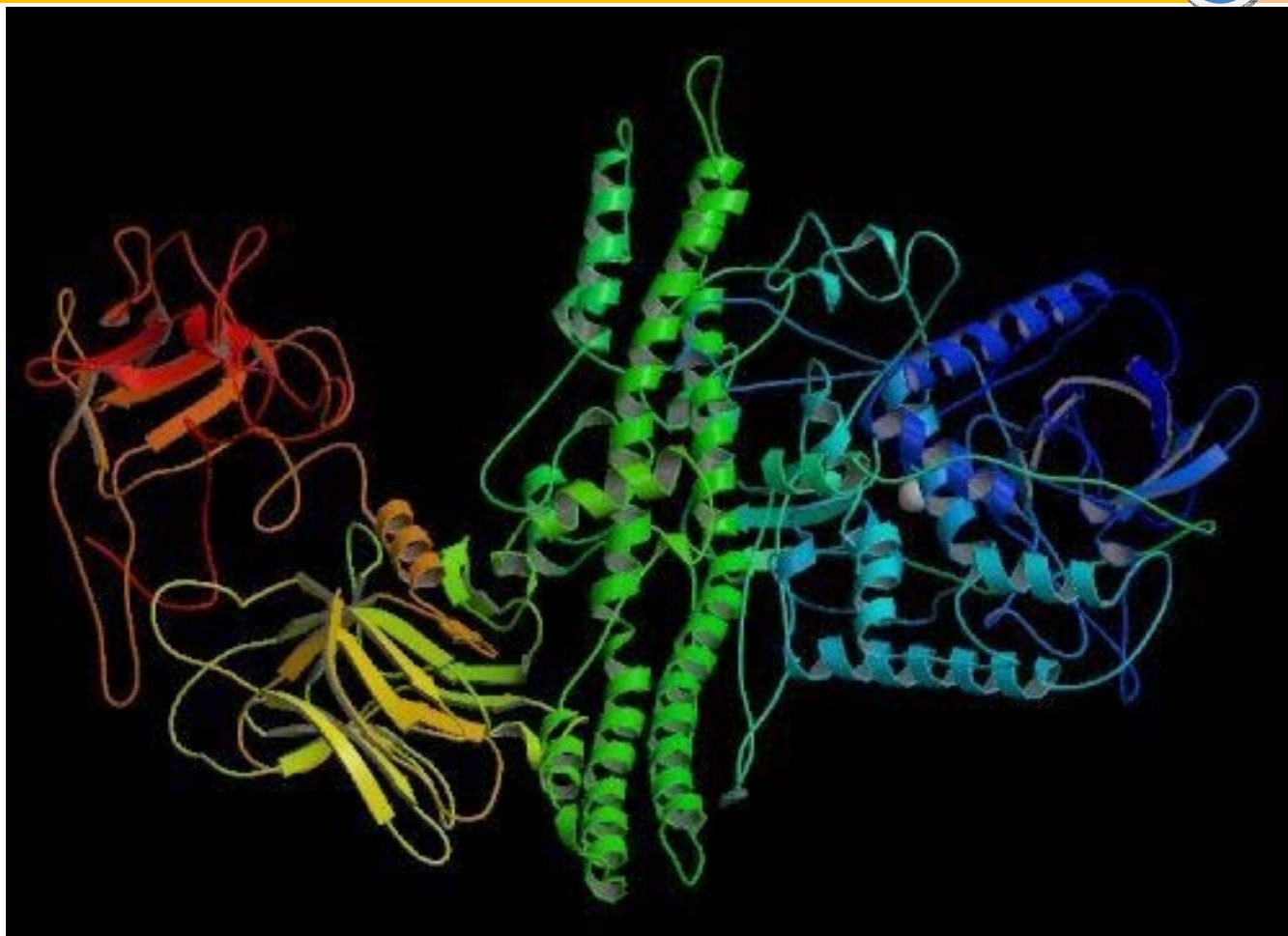
Экзотоксины ботулинических бактерий *Clostridium botulinum* различных штаммов представляют собой смесь двух биополимеров — нейротропного  $\alpha$ -токсина, являющегося полипептидом, и гемагглютинирующего  $\beta$ -токсина (гликопротеида). Собственно ботулиническими токсинами, или ботулотоксинами, называют только нейтронные компоненты.



**Clostridium botulinum** (Wikipedia, kimicontrol.com)

Известно семь типов ботулотоксинов (А, В, С, D, Е, F, G), входящих в состав экзотоксинов ботулинических бактерий разных штаммов, зафиксированных в тех или иных географических регионах планеты. Ботулотоксины всех типов подобны друг другу по характеру поражающего действия, хотя различаются первичными структурами (набором и количеством аминокислот, последовательностью их сцепления), степенью токсичности и иммуногенными свойствами: антитоксин ботулотоксина каждого типа не нейтрализует токсины других типов. Для человека наиболее опасны ботулотоксины типов А, В, С, D, Е, F, из которых максимальной токсичностью характеризуется ботулинический токсин типа А. Именно он подробно изучен в военных центрах США, Великобритании и Канады.

Продуцентом ботулотоксина А является бактерия наиболее часто встречающегося соответствующего штамма, имеющая вид жгутиконосной палочки, малоподвижной в питательной среде. Физиологический характер бактерии таков, что она культивируется только при отсутствии воздуха на белковой питательной среде, которая может быть и недоброкачественной. Бактерия впервые была открыта на плох



**Структура ботулотоксина типа А** (Wikipedia).

прокопченной колбасе, откуда и получила свое название (лат. *botulus* — колбаса). В неблагоприятных условиях кислородсодержащей атмосферы бактерия трансформируется в спору, по внешнему виду напоминающую теннисную ракетку. Споры бактерий типа А выдерживают солнечный свет, глубокое охлаждение до температуры минус 253° С и сохраняют жизнеспособность после 6—8-летией выдержки в пресной и двухмесячной в соленой воде. Они способны к воспроизводству после высушивания в течение 347 дней и более чем столетнего пребывания в почве. Жизнеспособные споры ботулотоксина можно встретить в овощах и фруктах, в личинках мух и дождевых червях, в тканях рыб, птиц и многих животных, в кишечнике человека и животных. Уничтожение спор может быть достигнуто путем кипячения в воде (в течение 6 ч при температуре 100° С или 20 мин при температуре 120° С), не менее чем 24-часовой обработкой 20% формалином или нагреванием в течение 1 ч в 10% соляной кислоте.

В благоприятных условиях споры за 30—40 мин прорастают в вегетативную бактериальную форму, способную к размножению. Размножение бактерий возможно только в анаэробных условиях. В качестве питательной среды могут использоваться любые белковые продукты: недостаточно просоленное мясо, неправильно



обработанные мясные, рыбные, бобовые или грибные консервы, преимущественно домашнего приготовления. В связи с этим даже в высокоразвитых в техническом отношении странах нередки случаи бытовых отравлений ботулиническим токсином («ботулизмы») с высоким уровнем смертности. По данным на 1965 год из числа получивших ботулинические отравления умерли в Великобритании 76,5%, в США 65%, в Дании 40,6%, в Японии 31,9%, в СССР — 24,5% людей.

Для искусственного получения ботулинических экзотоксинов бактерии соответствующего штамма культивируют без доступа воздуха при температуре 30—38° С на стерилизованной питательной среде, представляющей собой водную суспензию рыбной или кукурузной муки в 1—5% соляной кислоте с добавкой нужных микроэлементов. Размножение бактерий, сопровождающееся выделением в воду токсина, осуществляется столь интенсивно, что через несколько дней (7 сут. в случае бактерий штамма А или 5 сут. в случае бактерий штамма Е активность среды достигает 2—3 млн. мышинных единиц в 1 мл.

[Мышиная единица (летальная мышинная токсодоза DLM — стандартная международная единица активности веществ природного происхождения, под которой понимают количество яда, вызывающее при внутрибрюшной инъекции гибель белой мыши массой 20 г в течение 15 мин.)]

После разделения фаз на бактериальном фильтре, не пропускающем микробные клетки, токсин осаждают из фильтрата 20% раствором поваренной соли или 0,3—0,4% гелем полифосфата натрия и отделяют на центрифуге.

Очистку экзотоксина-сырца осуществляют путем экстракции буферным раствором (рН = 6,5) с последующим осаждением этанолом при температуре 10—12°С либо гелефильтрацией на сефадексах. Нейротропный  $\alpha$ -токсин отделяется от гемагглютинирующего  $\beta$ -токсина при рН=7,5 и более. Многократным повторением операций по очистке может быть достигнуто получение аморфного или кристаллического ботулотоксина любого типа требуемой степени чистоты. Токсичность нейротропных ботулинических токсинов приведена в табл.

Таблица. Токсичность нейротропных ботулинических токсинов

Тип	Молекулярная масса		LD <sub>50</sub> мг/кг (мышы внутрибрюшно)
	Домен А	Домен В	
А	51000	99000	4,25·10 <sup>-7</sup>
В	53000	112000	4,4·10 <sup>-7</sup>
С	53000	98000	2·10 <sup>-6</sup>
Д	60000	110000	6·10 <sup>-7</sup>
Е	50000	102000	1,04·10 <sup>-5</sup>
F	51000	108000	1,2·10 <sup>-6</sup>
G	-	-	1·10 <sup>-6</sup>



Кристаллический нейротропный  $\alpha$ -токсин типа А, выделенный в виде бесцветных игл, представляет собой двудоменную глобулу с молекулярной массой около 150 тыс., в состав которой включены до 1500 аминокислотных остатков. Домены А (молекулярная масса около 51 тыс.) и В (молекулярная масса примерно 99 тыс.), являющиеся линейными полипептидами, связаны друг с другом одним дисульфидным мостиком.

Поражающее действие токсина связано с нарушением нервно-мышечной передачи и является результатом блокады выделения ацетилхолна из синаптических пузырьков в синапсах периферической и центральной нервной системы. Домен В при этом отвечает за транспортирование ботулотоксина в организме, рецепцию на пресинаптической мембране нейрона и структурную перестройку околорецепторного участка этой мембраны с формированием в ней трансмембранного канала. Домен А, освободившийся в результате восстановления дисульфидной связи, проникает по этому каналу в цитоплазму нервной клетки и препятствует выделению медиатора. Это ведет к прерыванию межнейронной передачи нервных импульсов. Такого рода блокада нервно-мышечной передачи проявляется в паралитических эффектах.

Пищевое отравление ботулотоксином всегда связано с наличием периода скрытого действия, продолжительность которого зависит от принятой дозы и составляет от нескольких часов при поражении самим токсином до 2—3 сут при употреблении в пищу зараженных им продуктов.

Признаки поражения появляются внезапно и начинаются с ощущения слабости, общей подавленности, тошноты, а затем и частой повторной рвоты. Через 3—4 ч после начала развития симптоматики наблюдается головокружение, зрачки глаз расширяются и перестают реагировать на внешние раздражители. Зрение становится неотчетливым: пораженный видит все окружающее как бы в тумане; часто развивается двоение в глазах.

Последующие симптомы связаны с прекращением функций слюнных и потовых желез. Кожа становится сухой, ощущаются сухость во рту и жажда, сильные боли в желудке. Возникают затруднения в глотании пищи и даже воды: наступает паралич глотательной мускулатуры. Речь пораженного становится невнятной, голос очень слабым. Иногда могут наблюдаться расстройство дыхания и судороги.

Аналогичная симптоматика характерна при попадании аэрозолей ботулинических токсинов через органы дыхания и через желудочно-кишечный тракт, а также при



введении экзотоксинов в кровяное русло. В случае летальных доз смерть наступает спустя несколько суток в результате паралича дыхательной мускулатуры и сердечной мышцы. При нескольких летальных дозах токсина симптоматика «смазана» во времени и смерть может наступить спустя двое-трое суток, а при 100—1000 летальных дозах — в течение нескольких часов. При нелетальных дозах полное выздоровление наступает нескоро: местные параличи мышц, иннервируемых лицевыми нервами, и двоение в глазах длятся месяцами.

В табл. приведена средняя смертельная доза для мышей кристаллического ботулотоксина типа А. Смесь  $\alpha$ -токсина с сопутствующим ему гемагглютинирующим  $\beta$ -токсином (аморфная форма) характеризуется несколько меньшей токсичностью. Так, для природного ботулинического экзотоксина типа А токсодоза  $LD_{50} - 1,5 \cdot 10^{-6}$  мг/кг (мыши, внутрибрюшно).

Высокая токсичность и доступность ботулинических экзотоксинов обусловили рассмотрение их в США, Великобритании и Канаде в 60—70-х годах в качестве химических агентов смертельного действия. В результате многолетних исследований к 1975 г. аморфный ботулотоксин типа А был принят на вооружение армии США под шифром XR. Запасы токсина хранятся в арсенале Пайн-Блафф (штат Арканзас).

Боевое назначение XR — уничтожение живой силы противника. Достижение этой цели предусматривается прежде всего аэрогенным заражением приземного слоя атмосферы порошкообразным XR из генераторов аэрозолей или гелеобразными токсинными рецептурами из дисперсионных боевых приборов авиации. Относительная токсичность при ингаляции для человека  $LD_{T50} 0,00002$  мг·мин/л для сухого XR и  $0,0001$  мг·мин/л — для его рецептур. Период скрытого действия составляет несколько часов, летальный исход может наступить в течение 1—3 сут. Аэрозоль не теряет поражающих свойств в воздухе до 12 ч. Токсин может быть использован также в средствах микстовых поражений. Подкожные токсодозы для человека (ориентировочно)  $LD_{50} - 2 \cdot 10^{-6}—4 \cdot 10^{-5}$  мг/кг. Период скрытого действия и сроки летального исхода короче, чем при ингаляции, и составляют от нескольких десятков минут до нескольких часов. Нельзя исключать возможность диверсионного заражения XR питьевой воды и продуктов питания. Для человека пероральная токсодоза  $LD_{50} - 5,7 \cdot 10^{-5}$  мг/кг. Таким образом, XR — наиболее токсичное из всех известных на сегодняшний день смертоносных веществ природного и синтетического происхождения.

По внешнему виду XR представляет собой мелкий порошок серого цвета без



вкуса и запаха. Гигроскопичен и образует в воде, водных растворах солей и кислот (pH=2—7) стабильные лиофильные гели с концентрацией XR 1—2,5 г/л. В сухом виде устойчив на солнечном свете при температуре от минус 30 до плюс 50° С и инертен к гнилостным бактериям. В темноте при низкой температуре и в бескислородной атмосфере может сохраняться в течение нескольких лет. Возможно хранение XR в виде токсинных рецептур — кислых лиофильных гелей с добавкой консервантов (белков и полисахаридов). Сроки хранения рецептур в темноте при температуре 0—4° С — до 13 лет.

Химические свойства XR аналогичны для всех токсинов. Он имеет удовлетворительную термическую устойчивость, выдерживает 90-часовое прямое солнечное облучение, относительно инертен к кислым и нейтральным водным средам. Так, в холодной непроточной воде XR сохраняется в течение недели. Гидролиз с образованием нетоксичных полипептидных фрагментов завершается при температуре 80° С в течение 1 ч, при температуре 100°С — за 10—15 мин. Скорость гидролиза несколько возрастает в щелочных средах.

Дезактивация XR может быть достигнута водными растворами веществ окислительно-хлорирующего действия с содержанием активного хлора 100—350 мг/л, например 0,1—0,2% растворами хлораминов или гипохлоритов. Особенно легко дезактивируют XR растворы формальдегида; после обработки зараженных поверхностей 10—40% формалином токсичность снижается на 99% в течение одной минуты.

Способность XR флюоресцировать в ультрафиолетовой области спектра позволяет осуществлять инструментальную неспецифическую индикацию токсина. Идентификация XR затруднена, поскольку внешние признаки его применения могут отсутствовать, а специфическая индикация возможна только с использованием методов иммунобиология, требующих значительного времени.

Защита от аэрозоля XR надежно обеспечивается противогазами и респираторами. Лечение пораженных основано на симптоматическом принципе: на любой стадии используются антитоксины совместно с антибиотиками, а на поздних стадиях — дополнительно вводятся сосудорасширяющие средства и стимуляторы сердечной деятельности и дыхательного центра. Такими способами может быть обеспечено снижение смертности с 90% до 15—30%. Относительно невысокая надежность терапевтического эффекта антитоксинов и антибиотиков объясняется заведомой несвоевременностью их применения в связи с наличием периода скрытого действия XR: поражение развивается значительно раньше, чем проявляются его

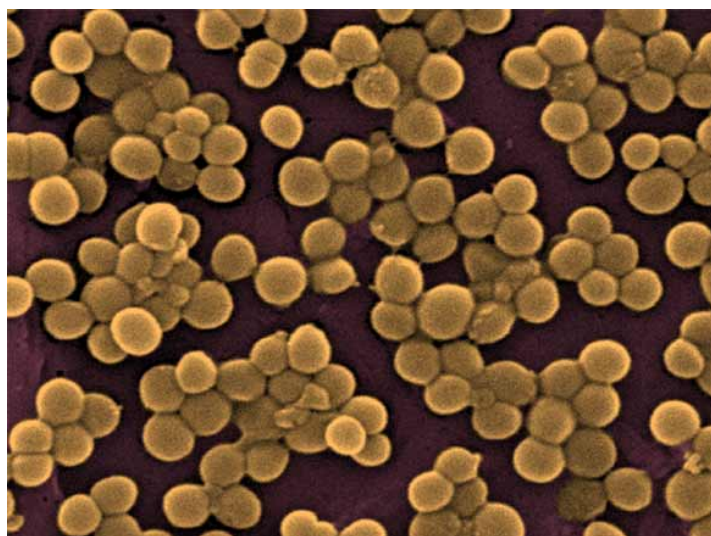


признаки.

Наиболее эффективным методом медицинской защиты является профилактическая иммунизация вакцинами анатоксина. Однако при этом следует иметь в виду, что 10—30% людей неспособны к иммунизации, а возникновение искусственного иммунитета к XR у остальных людей достигается лишь в течение четырех недель и более. К тому же в дозах XR  $10^3$ - $10^4$  LD<sub>50</sub> даже появившийся искусственный иммунитет может быть преодолен.

Стафилококковые энтеротоксины и вещество PG.

Экзотоксины шаровидных малоподвижных неспоро-образующих бактерий — стафилококков представляют собой смеси биополимеров, характеризующихся цитотоксичностью. Поражающее действие обусловлено наличием в их составе энтеротоксинов (греч. enteron — кишка), провоцирующих развитие у пораженных желудочно-кишечных интоксикаций, что приводит к временному выведению живой силы из строя.



**Стафилококк золотистый (Staphylococcus aureus).** (microbelibrary.org и biology4kids.com)

Наибольшее внимание зарубежных военных специалистов привлекают стафилококковые энтеротоксины, продуцируемые золотистыми стафилококками (*Staphylococcus aureus*) различных штаммов. Эти бактерии широко распространены в природе. В виде шаров диаметром 0,8—1,1 мкм, скомпонованных в «виноградные гроздья», они способны депонироваться в тканях всех растений и животных, насыщенных липидными и углеводными компонентами, в том числе в подкожных тканях человека и животных. Стафилококки — устойчивые аэробы. Они склонны к размножению с выделением экзотоксинов в кислородсодержащей среде, когда по-





давлены другие виды микроорганизмов, особенно продуцирующих протеолитические ферменты. Наиболее типично заражение теми или иными штаммами золотистых стафилококков молока, сладких творожных масс, кондитерских кремов и других

Таблица. Характеристика стафилококковых энтеротоксинов

Тип	Молекулярная масса	Число аминокислотных остатков	Эффективная доза $ED_{50}$ , мг/кг (макаки-резус)	
			Внутривенно	Перорально
A	27 800	241	0,00012	0,002
B	28 336	239	0,0001	0,0009
C <sub>1</sub>	34 100	296	0,0002	—
C <sub>2</sub>	32 000	255	0,00005	0,003
D	31 000	261	—	0,0005
E	29 800	259	0,0002	—

подобных продуктов питания, что и создает опасность пищевых интоксикаций.

К настоящему времени известно шесть различных антигенных типов стафилококковых энтеротоксинов, характеристика которых приведена в табл. В научной литературе часто употребляется сокращенное написание: SEA вместо «стафилококковый энтеротоксин типа А», SEB вместо «стафилококковый энтеротоксин типа В» и т.д. Род стафилококков насчитывает множество культур, которые вырабатывают биологически активные соединения, так что не исключено появление токсинов новых типов.

Исследованиями зарубежных специалистов установлено, что по совокупности свойств наиболее пригодным для боевого применения является SEB. К 1975 г. техническая рецептура на основе этого токсина была принята на вооружение армии США и получила шифр PG. Она относится к инкапсультантам и предназначена для временного выведения живой силы из строя.

Основными путями поступления PG в организм являются органы дыхания, желудочно-кишечный тракт и открытые раневые поверхности. Энтеротоксин избирательно нарушает водопроницаемость стенок кровеносных капилляров, пронизывающих эпителий тонкого кишечника, с одновременным раздражением эметического (ответственного за рвотные рефлексy) центра головного мозга, опосредствованным через симпатические и парасимпатические нервные волокна.

Признаки поражения PG в целом носят характер пищевых отравлений, наступают неожиданно и очень бурно после периода скрытого действия со средней продолжительностью 3 ч с разбросом от 30 мин. до 6 ч. в зависимости от дозы и пути поступления в организм. Период скрытого действия минимален при ингаляционном



поражении аэрозодем PG и составляет от нескольких минут до нескольких десятков минут, Начальными симптомами являются усиливающиеся слюнотечение, тошнота и рвота. Потом начинаются сильная резь в животе и неудержимый кровавый понос. Симптомы сопровождаются высшей степени слабостью в сочетании с падением кровяного давления, снижением температуры тела, угнетением деятельности центральной нервной системы и затихают примерно через 24 ч; все это время пораженный абсолютно небоеспособен.

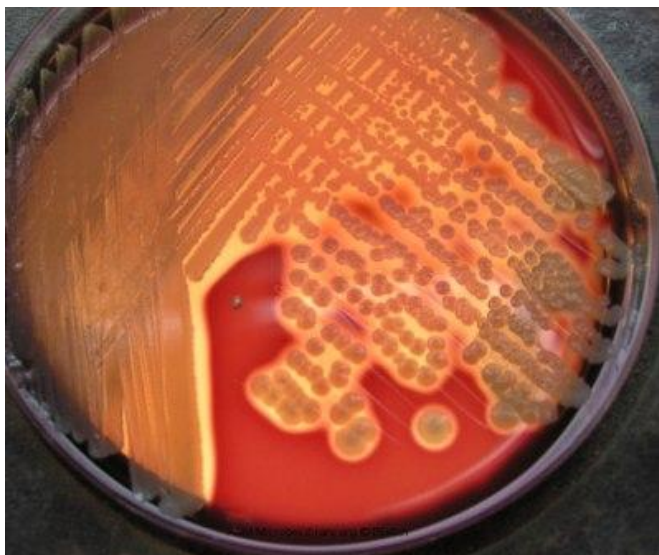
Поражения со смертельным исходом крайне редки и могут быть только у нездоровых, обессиленных людей или при отравлениях очень большими дозами PG, По оценкам специалистов, смертность при отравлениях PG не превышает 5%. Только при 250 ID<sub>50</sub> и более смертность несколько увеличивается в связи с дополнительным развитием отека легких.

Для людей средневыводящая из строя токсодоза ID<sub>50</sub> при пероральном поступлении в организм ID<sub>50</sub> 0,0004 мг/кг, начальные признаки поражения отмечаются при ED<sub>50</sub> 0,000015 мг/кг. В случае заражения атмосферы аэрозодем PG IC<sub>T50</sub> 0,02 мг. мин/л, хотя уже в концентрации 0,0005 мг/л при одноминутной экспозиции возникают тошнота и рвота, Значения IC<sub>T50</sub> и LD<sub>50</sub> в сотни раз превышают временно выводящие из строя. Так, для обезьян при внутривенном введении энтеротоксина эффективная доза, вызывающая рвоту и понос равна 0,0001 мг/кг, а смертельная LD<sub>50</sub> — 0,025 мг/кг, т. е. в 250 раз выше.

Стафилококковый энтеротоксин типа В — это линейный одноцепочечный полипептид, вторичная структура которого описывается частично деформированной спиралью с одной внутримолекулярной дисульфидной связью. Токсин не выделен в кристаллическом виде. Вещество PG — это очищенный и высушенный аморфный SEB, имеющий вид пушистого белого порошка без вкуса и запаха. Он гигроскопичен и растворяется в воде с образованием гелей.

Вещество PG термически устойчивее XR: в сухом виде оно выдерживает нагревание до температуры 80°C и не теряет физиологической активности даже после 30-минутного кипячения в воде. Если учесть, что токсин отличается еще большей стабильностью в пищевых продуктах, то можно сделать вывод о непригодности к употреблению зараженного им продовольствия даже после кипячения.

Под действием формальдегида PG теряет свою физиологическую активность. Вещества окислительно-хлорирующего действия могут применяться для дезактивации PG, но реагируют с ним медленно.



Для получения РГ на питательной среде, основу которой составляют мясопептонный агар-агар или картофель, в аэробных условиях инкубируют культуру соответствующего штамма золотистого стафилококка. Клетки культуры отделяют на бактериальном фильтре, фильтрат очищают, замораживают и образовавшиеся мелкие кристаллы воды удаляют в глубоком вакууме.

Для защиты от аэрозолей РГ пригодны противогазы и респираторы. Лечение пораженных основано на использовании методов симптоматической терапии.

### Оценка токсинов

Основным назначением токсинов является уничтожение или временное выведение из строя живой силы на поле боя, а также акты диверсий различного масштаба в ближнем и глубоком тылу противника. При этом токсины из-за своей высокой физиологической активности пригодны для выполнения самой сложной боевой задачи, решаемой с помощью химического оружия, — поражения живой силы, защищенной противогазами в средствах индивидуальной защиты кожи. Эта задача может быть выполнена с использованием токсинов путем непосредственного введения их в кровь с помощью зараженных механических поражающих элементов боеприпасов взрывного типа. Считается, что для достижения равного поражающего эффекта потребная боевая концентрация XR вдвое ниже соответствующей концентрации VX и в шесть раз — концентрации GB.

В боевых условиях токсины могут применяться для заражения приземного слоя атмосферы в виде тонкодисперсного аэрозоля путем использования порошкообразных, гелеобразных или жидких рецептур с помощью авиационных генераторов аэрозолей, кассет или боеголовок ракет с дистанционными взрывателями. Такие способы применения позволяют заразить токсинами атмосферный воздух над большими площадями и вызвать массированное поражение живой силы.

Зарубежными военными специалистами подсчитано, что при расходе XR 5—6 кг/км<sup>2</sup> образуется облако аэрозоля с глубиной распространения до 6 км. На всей этой



глубине будет создана концентрация токсина, обеспечивающая уничтожение или выведение из строя 50% живой силы, не принявшей мер защиты в течение одной минуты. Поражающее действие аэрозоля сохраняется до 12 ч. Аналогично заражение атмосферы аэрозолем PG с нормой расхода 50—60 кг/кмг обеспечит при 30-минутной экспозиции массированное выведение из строя на срок не менее суток.

Наиболее перспективным токсином для применения в боевых условиях считают PG. Он легко переводится в аэрозольное состояние, устойчивее XR и отличается быстродействием, особенно при заражении атмосферы. К достоинствам относят отсутствие у него вкуса, цвета и запаха, а также временную потерю живой силой боеспособности с признаками чисто пищевого отравления. Это дает возможность ввести противника в заблуждение и скрыть факт применения оружия массового поражения.

Наибольшую потенциальную опасность в качестве диверсионного средства для отравления воды, продовольствия и фуража представляет собой XR и кристаллический ботулинический токсин типа А.

По оценке специалистов Всемирной организации здравоохранения, для отравления источника воды, рассчитанного на 50 тыс. человек, достаточно 140 г XR. Если в течение суток не будут приняты меры по обеззараживанию воды и не будет организована медицинская помощь ее потребителям, то поражения со смертельным исходом составят до 40 тыс. человек. Даже в том случае, если лечебные мероприятия начнутся сразу после обнаружения у 5—10% людей явных признаков ботулинического поражения, летальность составит до 50%.

По взглядам зарубежных военных специалистов, токсины целесообразно применять в подготовительный период боевых операций, т.е. за несколько часов — сутки до начала наступления своих войск, с тем, чтобы в максимальной степени использовать поражающие свойства токсинов. Благодаря особенностям физических свойств и высокой физиологической активности применение аэрозолей токсинов легко поддается маскировке путем одновременного применения дымовых и других маскирующих средств. Это создает реальную опасность нераспознавания химического нападения, что чревато тяжелыми последствиями.

Появление в иностранных армиях токсинов, как никогда прежде, остро ставит задачу привить всему личному составу прочный навык: всякий артиллерийский налет, ракетный или авиационный удар условно считать химическим и принимать необходимые меры защиты до получения заключения химической разведки об отсут-



вии заражения атмосферы и местности.

Токсины очень трудно определить в полевых условиях, особенно в безопасных концентрациях. Защитой от токсинов служат противогазы, респираторы, противопыльные ватно-тканевые маски и повязки. Дезактивация токсинов может быть достигнута водными растворами формальдегида и веществами окислительно-хлорирующего действия.

Познание механизмов поражающего действия токсинов открывает новые направления в химии и фармакологии токсичных полипептидов. Так, на примерах действия ботулинических и некоторых других эндо- и экзотоксинов было установлено, что их активность обусловлена кооперативным действием доменов, из которых они скомпонованы. При этом во всех случаях один из доменов обеспечивает транспортирование токсина к биомишени, ее «узнавание», рецепцию на мембране клетки-мишени и структурную перестройку мембраны с формированием трансмембранного канала. Второй домен, проникая по этому каналу внутрь клетки, оказывает непосредственно поражающее действие.

Это наблюдение привело специалистов к мысли о возможности создания искусственных двудоменных гибридных композиций, которые могли бы характеризоваться непредсказуемым физиологическим и иммуногенным действием. Работы по созданию таких «химерных токсинов» ведутся во многих научных центрах США, Канады, Великобритании, Франции, ФРГ, Норвегии и Японии.

По-видимому, подобные исследования находятся еще на методологической стадии, хотя в 1983 г. в американском журнале «Природа» сообщалось о создании двух высокотоксичных гибридных полипептидов: гибридов домена А рицина (эндотоксин, содержащийся в бобах растения клещевины, из которых получают касторовое масло), а также токсифорного домена дифтерийного гистотоксина с соответствующими антителами. При этом прогнозировалось, что 10 мкг каждого «иммунотоксина» смертельны для человека, причем разработка средств медицинской защиты, основанных на принципах иммунобиологии, невозможна или, по крайней мере, существенно затруднена.

Создание полусинтетических гибридных «химерных токсинов» и изыскание новых природных токсичных полипептидов, безусловно, следует рассматривать как наиболее опасные пути совершенствования химического оружия вероятного противника.