

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra zoologie a rybářství**



**Toxicita u obojživelníků**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Anna Dobřemyslová**

**Obor studia: ABPS**

**Vedoucí práce: Ing. Štěpán Kubík, Ph.D.**

© 2017 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Toxicita u obojživelníků" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 26.3.2017

---

Anna Dobřemyslová

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Štěpánu Kubíkovi, Ph.D. za cenné rady a podporu při psaní mé bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat autorům vědeckých prací, knih a fotografií, jejichž práce mi byla podkladem a inspirací.

# Toxicita u obojživelníků

## Souhrn

Tato bakalářské práce je shrnutí a vyhodnocení dosavadních poznatků o toxicitě obojživelníků. Jedná se o přehled napříč tímto taxonem, se zaměřením na toxikologicky významné skupiny, jako jsou například čeled' pralesničkovitých Dendrobatidae, ropuchovitých Bufonidae či mlokovitých Salamandridae. Důležitou kapitolu tvoří obecný přehled toxikologie, jakožto nejdůležitější vědní obor zabývající se toxicitou. Další podstatnou součástí této práce tvoří kapitola zabývající se kožními žlázami s vnější sekrecí, které hrají klíčovou roli v přežití obojživelníků. Sekrety vylučované těmito žlázami jsou nedílnou součástí obrany těchto úžasných zvířat. Sekrety vylučované kožními žlázami pomáhají proti mechanickému poškození kůže. Zároveň se u velkého počtu druhů vyvinul díky produktům kožních žláz i systém obrany chemické. Jednotlivé složky jedu obojživelníků jsou obrovskou kombinací látek, které jsou buď výsledkem syntézy v tělech obojživelníků či je jejich přítomnost v sekretech podmíněna přijímáním z okolního prostředí. Účinnost jedovatých kožních sekretů je velmi rozmanitá. Od druhů, které jsou absolutně netoxické po druhy, jejichž pozření dokáže způsobit až fatální následky. Obojživelníci dávají najevo svou toxicitu výrazným aposematickým zbarvením. V této práci je také věnováno místo obranným strategiím obojživelníků, které v drtivé většině případů přímo korelují s jejich toxicitou. Velké množství látek objevených v sekretech kožních žláz skýtá možné využití ve farmacii či medicíně.

**Klíčová slova:** Toxicita, obojživelníci, jedy, chemická obrana, sekrety

# Toxicity of amphibians

## Summary

This work is a summarizing essay about toxicity in amphibians. This is an overview across this taxon, focusing on toxinological significant groups, such as family Dendrobatidae, Bufonidae and Salamandridae. Important chapter consists of a general overview of toxicology, as the major scientific discipline dealing with the toxicity. Another indivisible part of this work is chapter dealing with cutaneous exocrine gland, which play a crucial role in the survival of the amphibians. Secretions produced by these glands are integral part of the defense of these amazing animals. These secretions help to protect skin against mechanical damage. At the same time, a large number of species evolved, thanks to the cutaneous products, the system of chemical defence. The individual components of the amphibians poison are enormous combinations of substances which are either the result of the synthesis in their bodies, or their presence in the poison is conditioned by the receiving them from environment. Efficiency of the toxic skin secretions is very diverse. From species that are absolutely non-toxic, over the species whose ingestion can cause fatal consequences. Amphibians show their toxicity by distinctive aposematic coloration, that expresses about their toxicity to the predators. There is also devoted place to the defensive strategies of amphibians, that in most cases directly correlates with their toxicity. Large amount of the discovered substances from the cutaneous secretions of the glands provide possible use in pharmacy, or medicine.

**Keywords:** Toxicity, amphibians, poisons, chemical defense, secretion

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Cíl práce.....</b>	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>Literární rešerše.....</b>	<b>3</b>
<b>3.1</b>	<b>Toxikologie .....</b>	<b>3</b>
3.1.1	Disciplíny .....	3
3.1.2	Toxiny a jedy .....	4
3.1.3	Toxicita.....	5
3.1.4	Intoxikace .....	7
3.1.5	Toxikokinetika.....	8
<b>3.2</b>	<b>Toxicita u obojživelníků .....</b>	<b>10</b>
3.2.1	Jedovatí živočichové .....	10
3.2.2	Jedovatí obojživelníci.....	12
3.2.2.1	Fylogeneze a taxonomie obojživelníků.....	12
3.2.2.2	Kůže.....	13
3.2.2.3	Kožní sekreční žlázy .....	13
3.2.2.4	Obranné postoje .....	17
3.2.2.5	Aposematismus .....	17
3.2.2.6	Antimikrobiální funkce kožních sekretů.....	18
3.2.3	Jedy obojživelníků.....	19
3.2.4	Žáby.....	21
3.2.4.1	Čeď ropuchovití.....	21
3.2.4.1.1	Kožní žlázy .....	22
3.2.4.1.2	Toxicita .....	23
3.2.4.1.3	Ropucha obrovská <i>Rhinella marina</i> .....	24
3.2.4.1.4	Rod atelopus.....	25
3.2.4.1.5	Obranné reakce .....	26
3.2.4.1.6	Využití ropuších jedů v přírodě .....	27
3.2.4.1.7	Využití ropuších jedů ve farmacii.....	28
3.2.4.2	Čeď rosničkovití .....	28
3.2.4.3	Čeď pralesničkovití .....	31
3.2.4.3.1	Kůže a zbarvení.....	31
3.2.4.3.2	Potrava .....	31
3.2.4.3.3	Toxicita .....	32
3.2.4.3.4	Využití domorodými obyvateli .....	35

3.2.5	Ocasatí .....	36
3.2.5.1	Kůže a kožní žlázy s vnější sekrecí.....	36
3.2.5.2	Mlok skvrnitý <i>Salamandra salamandra</i> .....	37
3.2.5.3	Rod taricha.....	39
<b>4</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>41</b>
<b>5</b>	<b>Seznam použité literatury.....</b>	<b>42</b>

# 1 Úvod

Obojživelníci tvoří úžasnou skupinu živočichů balancující na pomezí vodního prostředí a souší. Pro přežití na tomto pomezí se u nich v průběhu evoluce vyvinuly kožní žlázy, díky nimž je chráněna jejich kůže proti nástrahám suchého terestrického prostředí. Vedle zvlhčování a ochrany proti mechanickému poškození jsou kožní žlázy obojživelníků schopny produkce mnohdy až smrtelně nebezpečných sekretů. Tento způsob chemické obrany je jednou z posledních možností záchrany života. V první řadě spoléhají obojživelníci na své zbarvení, které buď tvoří dokonalé maskování, nebo naopak varuje predátory před případnou toxicitou. Kůže obecně hraje klíčovou roli v přežití obojživelníků, uskutečňuje se přes ní velké procento výměny dýchacích plynů, udržuje vodní bilanci těla a podílí se i na termoregulaci.

Obojživelníci se vyskytují takřka po celé naší planetě a dokonale se dokázali přizpůsobit velké škále přirozených biotopů. Přímo úměrně nástrahám přírodních podmínek odpovídá rozličné množství hrozeb ze stran predátorů, od náletů létajících dravců, útoků hladových ryb či po pozemní hrozby v podobě hadů, šelem a dalších.

K dnešnímu dni se tato třída rozvinula do tří řádů- ocasatí (Caudata), žáby (Anura) a červoři (Gymnophiona). U mnoha druhů je jejich toxicita notoricky známa a v průběhu historie byla využívána k léčebným metodám, nebo naopak zneužívána pro svůj smrtelný potenciál. I dnes je možné využití látek extrahovaných z kožních sekretů obojživelníků využít ve farmacii a medicíně.



## **2 Cíl práce**

Cílem této bakalářské práce je shrnutí a vyhodnocení dosavadních poznatků o toxicitě obojživelníků.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Toxikologie

Toxikologie je vědní obor zabývající dopadem cizorodých látek (xenobiotik) na organismus a zkoumá jejich vzájemné působení. Dříve byla označována jako věda zabývající se jedy, avšak to je nepřesné označení. Již v 16. století učenec Paracelsus vyslovil svou nejslavnější myšlenku, že všechny látky jsou jedy, je jen dávkou, která určuje, kdy se z látky stává jed. Toxikologie je interdisciplinární obor, který se pohybuje v oblastech biologie, chemie, medicíny, farmakologie a na rozhraní živého a neživého (Linhart, 2014). Název je odvozen z řeckého slova *toxicon*, které se používalo pro označení jedovatých látek, nejčastěji užívaných lukostřelci (Stone and Darlington, 2003).

Toxikologie má dlouhou historii, při které se rozlišuje na starší předvědecké období, kdy znalosti o působení toxických látek byly využívány i zneužívány prakticky. V tomto období bylo primární hromadění informací o účincích látek. Novodobé pojetí toxikologie je postaveno nejen na pozorování účinků daných látek, ale i na snaze porozumět mechanismu jejich působení (Linhart, 2014). Je velmi podobná farmakologii, neboť ta studuje příznivé a nepříznivé dopady léčiv na živý organismus. Proto dochází velmi často k jejich vzájemnému překrývání (Horák a kol., 2004).

#### 3.1.1 Disciplíny

Z toxikologie se vyčlenilo mnoho vědních disciplín, mezi nejdůležitější patří následující:

**Ekotoxikologie** kombinuje dva vědní obory; ekologii a toxikologii. Studuje působení toxických látek na životní prostředí a živé organismy. Zabývá se znečištěním půdy, vody i ovzduší chemickými látkami. Cílem je chránit celé populace živočichů před nepříznivými účinky. Ekotoxikologie pracuje s bioindikátory, které slouží ke zhodnocení nezávadnosti životního prostředí (Anděl, 2011). Boháč (1999) uvádí, že za bioindikátor je pokládán organismus korelující s daným životním prostředím a může tak sloužit jako jeho ukazatel. Používá se velmi široké spektrum organismů od bakterií a rostlin po složitější organismy.

**Vojenská toxikologie** se zabývá látkami, které jsou využitelné jako chemické zbraně. Tyto látky jsou vhodné k bojovému nasazení během chemických válek. Mezinárodní úmluva z roku 1993 zakazuje použití veškerých chemických zbraní během bojového nasazení. Bojová toxikologie pracuje s otravnými látkami, které jsou definovány jako látky, které dokáží přivodit

smrt člověka nebo zvířete či zavinit trvalé poškození organismu. Dále jsou tyto látky schopné znehodnotit nebo dokonce zničit produkty živočišné i hospodářské výroby (Patočka, 2004).

**Klinická toxikologie** je velmi úzce spjata s medicínou. Diagnostikuje příčiny otravy u lidí a hledá způsob nápravy. Velmi často se jedná o vedlejší účinky léků, nebo jejich špatné užívání. Dále se klinická toxikologie snaží najít vhodné detoxikační metody, které pomohou pacientům k uzdravení. Jedním z mnoha úkolů klinické toxikologie je shromažďování informací o toxicitě v přehledných databázích, které jsou snadno dostupné a obsahují informace, které by mohly být užitečné jak pro veřejnost, tak i pro lékaře (Patočka, 2004).

**Veterinární toxikologie** souvisí i s toxikologií potravinářskou a naopak. Zjišťuje, která látka zapříčinila intoxikaci u zvířat a napomáhá k účinné detoxikaci (Prokeš, 2005).

**Forenzní toxikologie** neboli soudní toxikologie se využívá zejména v kriminalistice, kde vyšetřuje příčinu smrti způsobenou chemickou látkou. Výsledky slouží jako podklad pro soudní řízení (Patočka, 2004). K úkolům soudní toxikologie patří i rozlišení záměrné otravy cizím přičiněním či sebevraždou (Hodgson, 2004).

**Průmyslová toxikologie** zkoumá škodliviny, které vznikají během procesů a mohou mít vliv na organismus nebo dokonce i na životní prostředí. Dále se věnuje správným technologickým procesům a provádí ochranná opatření, která zaručují bezpečnost (Prokeš, 2005).

**Toxinologie**, označovaná též jako toxikologie přírodních látek, se věnuje studiu toxinů mikrobiálního, rostlinného a živočišného původu (Hrdina a kol., 2004).

### 3.1.2 Toxiny a jedy

Termín toxikant označuje jakoukoliv chemickou, přírodní, nebo i uměle vytvořenou látku, která může mít na živý organismus škodlivý až zhoubný dopad. Toxin je toxikant, který je produktem metabolismu živých organismů. Tvorba toxinů byla evolučně vytvořena pro obranné mechanismy či pro cílený lov kořisti. Podle původu jsou přírodní toxiny rozlišovány na bakteriální, mikrobiální, mykotoxiny (toxiny hub), fytotoxiny (rostlinný původ) a zootoxiny (živočišný původ) (Hodgson, 2004).

Jak již bylo zmíněno, každá látka je jed, proto se většinou za jed označují jen látky schopné vyvolat škodlivý účinek již v malé dávce. Působení cizorodé látky může mít velmi mnoho projevů. Kromě příznivých účinků, které mohou chemické látky nabízet, se jedná zejména o škodlivé dopady na organismus. Od mírné nevolnosti, poškození orgánů či systémových poruch až po smrt (Horák a kol., 2004).

Organotropismus je vlastnost některých toxinů, které jsou schopny působit na určité orgány či jen jeden konkrétní orgán (Hrdina a kol., 2004). Nejznámější skupinou organotropních toxinů jsou neurotoxiny, které jsou schopny poškozovat funkce centrální nervové soustavy. Ovlivňují činnost nervových buněk, obvykle na úrovni iontových kanálů, zabraňují přenosu nervového vzruchu atd. To se projevuje například poruchou motoriky a koordinace, změnou chování, bolestí hlavy a další. Kardiotoxiny ovlivňují svalová vlákna srdce a mohou účinkovat i na srdeční rytmus. Hemorhaginy mají škodlivý vliv na cévy krevního řečiště (Pitschmann a kol., 2001).

### 3.1.3 Toxicita

Hodgson (2004) definuje toxicitu jako schopnost látek působit nepříznivě na živé organismy. Dle původu lze toxické látky rozdělit na syntetické – uměle vytvořené a přirozené, které mají svůj původ rostlinný, bakteriální či živočišný.

Jak je již zmíněno výše, každá látka může působit jako jed a záleží jen na dávce. Toxická dávka představuje množství látky, která vyvolá otravu. Smrtná dávka způsobuje velice silnou otravu, která je pro organismus neúnosná. Smrtná dávka může být minimální, kdy ke kolapsu organismu dochází jen v ojedinělých případech po podání, nebo maximální, kdy nastává smrt po každém podání (Prokeš, 2005). Dobře charakterizujícím ukazatelem je střední letální dávka LD (latinsky *dosis letalis*), jež hodnotí míru toxicity. LD<sub>50</sub> je označení pro látku, která způsobila po podání zdravým organismům smrt v 50 % do jednoho dne po podání. Tato hodnota je udávána v mg/kg, kde mg představují hmotnost podané látky ku živé hmotnosti testovaného jedince. Avšak samotná LD<sub>50</sub> není vypovídající ohledně průběhu účinku dané látky (Linhart, 2014).

Dle velikosti LD<sub>50</sub> lze toxické látky rozdělit do skupin podle míry jejich toxicity (viz. tabulka 1). Rozpětí jejich účinku je veliké. Smrt může nastat již při podání mikrogramu látky u těch nejvíce toxických, nebo jsou účinky vyvolány teprve po podání kilogramového množství (Patočka, 2004).

Tabulka č. 1: Rozdělení látek, dle míry jejich toxicity (převzato z Patočka, 2004).

Podaná látka	LD <sub>50</sub>
Supertoxická	5 mg.kg <sup>-1</sup> a méně
Extrémně toxická	5-50 mg.kg <sup>-1</sup>
Vysoce toxická	50-500 mg.kg <sup>-1</sup>
Středně toxická	0,5-5 g.kg <sup>-1</sup>
Málo toxická	5-15 g.kg <sup>-1</sup> a více

Účinek dané látky je přímo závislý na dávce podávané látky. Pokud podáváme pokusnému jedinci postupně zvyšující se dávky dané látky, příznaky se projeví po překročení prahové dávky. Akutní toxicita je způsobena bezprostředním účinkem po podání jedné dávky. Nejčastěji se jedná o velké jednorázové dávky. Chronickou toxicitu způsobují opakované dávky v poměrně malém množství (Linhart, 2014).

Pokud je toxin výsledkem metabolických procesů, jedná se o **primární toxicitu**. Vytváření jedu není podmíněno přijímáním specifické potravy a není závislé na životním prostředí živočicha (Kůrka a Pflieger, 1984).

U živočichů, kteří získávají svou jedovatost z okolního prostředí, se jedná o **sekundární toxicitu**. Takové organismy jsou závislé na specifické potravě, biotopu apod. (Kůrka a Pflieger, 1984). Jak uvádí prof. Patočka na svých webových stránkách (2011), tato toxicita se objevuje nejčastěji u obojživelníků, kdy při nahrazení potravy dochází k postupné až úplné ztrátě toxicity. Po obnovení původní potravy nabývá organismus na jedovatosti. Zajímavým příkladem by mohl být chlupáč dlouhosrstý *Lophiomys imhausi* Milne-Edwards, 1867, africký hlodavec, který svůj jed získává okusováním stromu *Acokanthera schimperi*.

Dewen You a kolektiv (2009) publikovali svůj výzkum zaměřující se na primární toxicitu rosníček asánských *Hyla annectans* (Jerdon, 1870). U této stromové žáby je schopnost produkce jedu geneticky kódována a jedná se o první zjištění o primární toxicitě u obojživelníků. Nalezený neurotoxin byl pojmenován anntoxin a jeho funkcí je pravděpodobně ochrana proti různým nepřítelům a predátorům. Anntoxin je obsažen zejména v kůži, mozku, žaludku a játrech rosníčky.

Další možností získání toxicity, je osvojení symbiotického mikroorganismu, který je schopen produkce toxinu (Mebs, 2001).

Dle toxicity je možné rozdělit jedové živočichovy do dvou hlavních skupin. **Kryptotoxičtí** živočichové nemají specializovaný orgán pro vytváření jedu. Tito živočichové

mají toxin obsažený v těle. Daný toxin je buď produktem metabolismu, nebo je zahrnut v buněčné stavbě některých orgánů. Oproti tomu u **fanerotoxických** živočichů se již objevují speciální orgány pro produkci jedu; jedové žlázy (Kůrka a Pflieger, 1984).

U fanerotoxických živočichů lze členit toxicitu podle způsobu vpravení jedu do cizího organismu. **Aktivní toxicitou** jsou označováni živočichové, u kterých se v průběhu evoluce vytvořil aparát, kterým jsou schopni vpravit jed do jiného organismu. Aktivní toxicita slouží zejména k útočným reakcím, méně pak také k obraně. Obligátně obranné reakce, avšak s aktivním jedovým aparátem, se objevují nejčastěji u včel, některých druhů ostnokožců atd. (Kůrka a Pflieger, 1984). Nejznámější příklad aktivní toxicity představují jedovatí hadi, kteří svou kořist usmrtí vpravením jedu pomocí jedových zubů (Moravec, 1999).

**Pasivně toxičtí** živočichové nemají vyvinut sdělný aparát, pomocí kterého by došlo k vpravení jedu do jiného organismu. K intoxikaci těmito živočichy dochází nejčastěji kontaktem s kůží těchto jedovatých živočichů nebo kontaktem sliznice s kůží, či je jed pozřen, a následně vstřebán zažívací soustavou. Tento způsob toxicity je nejčastěji spojován s obojživelníky, kteří ji využívají k obranným reakcím (Kůrka a Pflieger, 1984).

### 3.1.4 Intoxikace

Intoxikace neboli otrava je poškození organismu vlivem toxické látky. Projevy intoxikace mohou být pro organismus minimální až fatální. Závažnost a projevy závisí na mnoha faktorech; na povaze samotné látky, na jejím množství, lokalizaci. Dále jsou důležitými vlivy; zdraví jedince, jeho vnímavosti k dané látce, ale i životní styl a dieta. U aktivně toxických živočichů je důležitá lokalizace a hloubka kousnutí, uštknutí, bodnutí (Kůrka a Pflieger).

Účinky toxické látky se mohou na organismu projevit okamžitě již po první podané látce, poté se jedná o akutní intoxikaci. Pokud je látka podávána dlouhodobě, mohou být dopady na organismus chronické. Totožná látka je schopna vyvolat akutní i chronické otravy, přičemž projevy akutní a chronické intoxikace mohou být velmi rozdílné (Linhart, 2014).

Sekundární intoxikace je získána pozřením již intoxikovaného organismu. K tomuto stavu dochází požitím mrtvého či umírajícího živočicha, ve kterém nedošlo k absorpci dané toxické látky a působí tak jako zdroj intoxikace. Nejčastěji jsou sekundární intoxikací postiženi živočichové živící se mršinami (Hrdina a kol., 2004).

Horák a kol. (2004) rozděluje dopad cizorodé látky na lokální nebo systémový. Lokální projev se dostavuje v místě styku s organismem, například na povrchu kůže či sliznice. Pokud je látka dále vstřebána do těla, je účinek látky systémový. Dle mechanismu působení se látky rozlišují na následující; na látky s přímým toxickým účinkem, kdy je pro organismus nepříznivá

pouhá přítomnost v určitém místě. Dalším způsobem působení látky může být imunotoxický účinek, který způsobuje změny v imunitním systému. Takové změny se mohou projevit sníženou obranyschopností či alergickou reakcí. Dalším účinkem mohou být změny genetické informace – mutagenitou. Karcinogenita vyvolává změny vedoucí k nekontrolovatelnému nádorovému bujení. Teretogenita způsobuje poškození vyvíjejícího se plodu, které může vést k narození defektního jedince nebo způsobit potrat.

### 3.1.5 Toxikokinetika

Toxikokinetika se zabývá osudem cizorodých látek (xenobiotik) v živém organismu. Kombinuje více vědních oborů, například farmakologii, patologii, fyziologii, chemii atd. Napomáhá ke zjištění nejvyšší možné koncentrace cizích látek v organismu a stanovit dobu, kdy je jejich koncentrace rovna nule. Toxikokinetické procesy se dělí do čtyř základních stádií; absorpce, distribuce, biotransformace a exkrece (Linhart, 2014).

Stádium **absorpce** zahrnuje způsob vniknutí cizí látky do organismu od místa kontaktu po vstupu látky do krevního řečiště. Nejčastějším vstupem látky do těla je její požití (*per os*), vdechnutí (*inhalace*), přes kůži (*per cutam*) a nitrožilně (*intra venam*). Mezi méně významné cesty patří podání cizorodé látky do svalu (*intramuskulárně*), do dutiny břišní (*intraperitoneálně*), do srdce (*intrakardiálně*) atd. Způsob vniknutí látky do organismu ovlivňuje jeho výslednou toxicitu. K intoxikaci obojživelníky dochází nejčastěji pozřením nebo kontaktem s kůží (Linhart, 2014).

Při požití prochází látka dutinou ústní, jícnem, žaludkem, přes tenké a tlusté střevo. K absorpci může docházet v jakékoli části traktu. U některých látek může docházet k absorpci již v dutině ústní, takto působí například nikotin, některé látky mohou působit až v konečníku. Nejvýznamnějším orgánem pro absorpci je tenké střevo. Anatomicky se tenké střevo dělí na tři části; dvanáctník (*duodenum*), lačník (*junenum*) a kyčelník (*ileum*). K největšímu vstřebávání dochází v lačníku a kyčelníku, ve kterých dochází přes prokrvené stěny ke vstřebání látek (Linhart, 2014). Nejčastějším absorpčním systémem je difúze, kromě ní má střevní stěna i specializované buňky pro transport látek. Absorpce ze zažívacího traktu je ovlivněna řadou faktorů týkajících se nejen chemických vlastností přijatých látek, ale i vlastností traktu samotného, například je ovlivněna patologickými stavy, motilitou střeva atd. (Hrdina a kol., 2004).

Kůže představuje přirozenou bariéru chránící organismus před škodlivými vlivy vnějšího prostředí. Skládá se ze tří vrstev. Pokožka (*epidermis*) tvoří vrchní část. Pod ní je uložena škára (*dermis*). Poslední vrstvou je podkoží (*hypodermis*). Nejdůležitější roli v obraně organismu

tvoří pokožka, zejména její vrchní zrohovatělá vrstva. Povrch kůže není celistvý, na její povrch ústí velké množství potních, mazových žláz a vlasových (chlupových) folikulů. K absorpci přes kůži dochází hlavně přes škáru a podkoží, kde je kontaktní plocha mezi tkáňovou tekutinou a oběhovým systémem velká (Linhart, 2014).

**Distribuce** následuje okamžitě po absorpci, představuje proces rozptýlení substance z krevního řečiště do tkání. Z počátku distribuce je látka dopravena krevním řečištěm nejprve do bohatě prokrvených orgánů; do plic, jater, ledvin atd. (Hrdina a kol., 2004).

**Biotransformace** představuje proces chemické přeměny cizorodých látek pro jejich lepší následné vyloučení. Avšak bylo i dokázáno, že v průběhu biotransformace je možné i zvýšení toxicity. Mezi základní reakce uplatňující se během biotransformace patří oxidace, redukce, metylace a další (Linhart, 2014). Nejvyšší aktivita biotransformačních procesů probíhá v játrech, v dalších orgánech má biotransformace nižší úroveň. Dalšími důležitými orgány, mimo játra, jsou ledviny, střevní stěna atd. (Hrdina a kol., 2004).

V průběhu **exkrece** dochází k vyloučení látky z organismu a je úzce spjata s biotransformací. Na exkreci se mohou podílet veškeré tělesné sekrety, které organismus absorboval. Nejvíce je využívána moč, dále pak stolice, vydechovaný vzduch, pot, žluč i mateřské mléko atd. (Linhart, 2014). Méně využívané způsoby exkrece potem a slzami mohou být pro organismus i příčinou vzniku nebezpečných zánětů (Hrdina a kol., 2004).



## 3.2 Toxicita u obojživelníků

### 3.2.1 Jedovatí živočichové

Napříč všemi živočišnými taxony se u organismů vyvinul systém chemické obrany, pomocí které jsou schopny získávat a využívat jedy k vlastnímu užitku. Buď pouze k obraně, či k získávání potravy skrze intoxikaci jiných organismů. Účinek živočišných jedů může mít na člověka neznatelný dopad, nebo v případě druhého extrému jsou jedovatí živočichové notoricky známí svou smrtící schopností a návštěvy jejich přirozených míst výskytu jsou velmi riskantní.

Mezi tyto nejnebezpečnější jedovaté živočichy patří známé medúzy čtyřhranky, zejména australská medúza čtyřhranka Fleckerova *Chironex fleckeri* Southcott, 1956. Tohoto fascinujícího žahavce můžeme najít i pod jménem „mořská vosa“. Její jed je řazen k nejsilnějším živočišným jedům na světě, i při 10 000 násobném zředění způsobuje takřka okamžitou smrt (Kůrka a Pflieger, 1984).

Kmen členovců je další velmi známou skupinou živočichů oplývající schopností uplatnění jedu. Přestože působí jejich jed zejména na bezobratlé a obratlovci jsou k němu méně vnímaví, budí i dodnes hrůzu a fobie u velké části populace. Důležití jsou z pohledu toxikologie hlavně pavouci a štíři. Na území České republiky nežije žádný členovec, který by byl schopen způsobit svým toxinem závažnější zdravotní komplikace, pokud ovšem nezpůsobí vpravený toxin alergickou odpověď organismu, v takovém případě může mít i minimální dávka fatální následky. Nejznámější alergickou reakci u nás způsobuje bodnutí včely, sršně či vosy (Hrdina a kol., 2004). U včel může dojít i k méně známému jevu, jedovatému medu, ke kterému dochází zejména v oblastech velkého výskytu některých druhů rododendronů. Vedle negativního účinku včelího jedu může být včelí toxin využíván i k léčbě. Jednou ze zajímavostí živočišné říše je, že ani řád motýlů nezůstal bez toxických zástupců (Kůrka a Pflieger, 1984).

U ryb se vyvinul aktivní i pasivní způsob využití toxinů. Nejslavnější pasivně toxické ryby jsou pravděpodobně zástupci čeledi čtverzubcovitých Tetraodontidae. Základní složkou jedu čtverzubců je tetradotoxin. Jedná se o neurotoxin, který je velmi odolný. K intoxikaci dochází pozřením rybího masa, i přes to mnoho lidí, zejména v Japonsku, vyhledává pokrmy z jedovatých ryb. Toxin se koncentruje zejména v játrech a jikrách (Mann, 1996). Známým příkladem aktivně jedovatých ryb jsou ropušnicovití Scorpaenidae. U těchto ryb se vyvinul jedový aparát v podobě jedových ostnů v ploutvích (Kůrka a Pflieger, 1984).

Plazi jsou nejznámější třídou obratlovců, u kterých se vyvinula toxicita, a to zejména u podřádu hadů. Jed využívají k usmrcení kořisti, k vlastní obraně. Jed obsahuje trávicí enzymy, které napomáhají k natrávení potravy. Jako sdělný aparát slouží hadům jedové zuby, umístěné v horní čelisti, které jsou propojeny kanálkem s jedovou žlázou. Ta vznikla přeměnou žlázy slinné. Hadi dávají svou toxicitu najevo zrakovými, někdy i zvukovými signály (Halliday and O'Shea, 2005). I dodnes, kdy je jedovatost u hadů notoricky známá, je počet úmrtí lidí způsobených intoxikací hadími jedy obrovský. Jedovatí hadi obývají takřka celou naši planetu, nejvíce obětí je evidováno v Indii, naopak v Austrálii, kde se vyskytuje nejvíce jedovatých hadů, je počet otrav velmi nízký. V Evropě je nejvíce obětí uštknuto zmijemi Viperidae. Hadí jedy jsou využívány v medicíně, kde je jich využíváno zejména v boji s epilepsií, alergiemi, revmatismem a dalšími zdravotními potížemi (Diesener, 2003).

V malém měřítku, ale přeci, se toxicita vyvinula i ptáků. Úžasným příkladem jsou pištci *Pitohui* Lesson, 1830, endemité z Nové Guinei. Dumbacher a kolektiv (2009) provedl výzkum zaměřený na tyto ptáky, konkrétně byl hlavním objektem studie pištěc černohlavý *Pitohui dichrous* (Bonaparte, 1850). Tito ptáci nabývají na jedovatosti z okolního prostředí, prostřednictvím přijímané potravy. Jejich jed obsahuje neurotoxin batrachotoxin, který je totožný s toxinem jihoamerických šípových žab, Dendrobatidae. Jed je lokalizován zejména v kůži a peří, v menším zastoupení v srdci a játrech. Slouží k obraně proti predátorům a parazitům.

I někteří savci si v průběhu evoluce vytvořili systém chemické obrany. Příkladem sekundární toxicity u savců je výše zmíněný hlodavec chlupáč dlouhosrstý *Lophiomys imhausi* (Patočka, 2011). Nejznámějším příkladem výskytu primární toxicity u savců se nachází u australského savce ptakopyska *Ornithorhynchus anatinus* Shaw, 1799. Jed je vytvářen ve žláze umístěné pod zadní končetinou. Tato žláza je kanálkem spojena s rezervoárem, kde je uskladněn a poté je odsud jed veden vývodem do pohyblivé ostruhy umístěné na zadní končetině samců. Dalšími zástupci třídy savců s jedovým aparátem jsou hmyzožravci, konkrétně štětinatec haitský *Solenodon paradoxus* Brandt, 1833, rejsec vodní *Neomys fodiens* (Pennant, 1771) a další. Jedové žlázy se nacházejí v čelistech a vyprodukovaný jed slouží k získávání potravy (Kůrka a Pflieger, 1984).

### 3.2.2 Jedovatí obojživelníci

Obojživelníci jsou úžasná skupina živočichů, která dokázala osídlit takřka celý svět. Mimo polární oblasti se dokázali přizpůsobit velmi rozmanitému spektru biotopů od tropických oblastí po vyprahlé pouště. Ke dni 7.3.2017, bylo popsáno 7 642 druhů obojživelníků, přičemž jen v tomto roce bylo prozatím přidáno do databáze amphibiaweb.org 17 nových druhů (amphibiaweb.org, 2017).

#### 3.2.2.1 Fylogeneze a taxonomie obojživelníků

Říše: *Animalia* (živočichové)

Kmen: *Chordata* (strunatci)

Nadtřída: *Tetrapoda* (čtvernožci)

Třída: *Amphibia* (obojživelníci)

Podtřída: *Lissamphibia* (obojživelníci)

Řád: *Anura* (žáby, bezocasí)

Řád: *Caudata* (ocasatí, mloci)

Řád: *Gymnophiona* (červoři, beznozí)

(Frost, 2017, Gaisler a Zima, 2007)

Český název obojživelníci označuje třídu Amphibia Linnaeus, 1758 i podtřidu recetních obojživelníků Lissamphibia Heackel, 1866. Třída Amphibia zahrnuje mimo podtřidu Lissamphibia i dva již vymřelé taxony. Současní obojživelníci se rozdělují do tří řádů: žáby (Anura), ocasatí (Caudata) a červoři (Gymnophiona). (Frost, 2017; Gaisler a Zima, 2007). Ocasatí i žáby se spojují do stejné vývojové větve, označované jako Batrachia. Tu je dále možno dělit na již známý řád ocasatých a na infratřidu Salientia, která spojuje již vymřelé obojživelníky a řád žab (Cannatella and Graybeal, 2008).

První obojživelníci se objevili v prvohorách přibližně před 360 miliony lety. Vědci usuzují, že se obojživelníci vyvinuli z lalokoploutvých ryb (Clarke, 2004). Nejstarší nalezený předek dnešních obojživelníků byl nalezen na Madagaskaru. Jedná se o rod neskákajících žab Triadobatrachus, pocházející ze spodního triasu. První, již skákající žáby Prosalirus byly nalezeny v severní Americe, pocházející z jury. Stejně naleziště nejstarší žáby je totožné

s nálezem nejstarších zástupců červorů ze spodní jury. Nejstarší zástupci ocasatých obojživelníků pocházejí ze spodní jury s výskytem v dnešní Anglii. Za kolébku ocasatých je považována severní polokoule, zejména Asie. Vědci na základě nalezených důkazů poukazují na velmi blízký vztah mezi ocasatými a žábami, přičemž červoři se od skupiny odloučili dříve. (Gaisler a Zima, 2007).

Základním odlišovacím znakem od ostatních obratlovců jsou jejich vazby na vodní a zároveň suchozemské prostředí. Přičemž případy, kdy dospělí jedinci žijí trvale ve vodním prostředí, jsou druhotné. Dalším odlišovacím znakem je metamorfóza pulce na dospělého jedince. Metamorfóza i přítomnost larvy během vývoje se u žádných jiných obratlovců neobjevuje (Gaisler a Zima, 2007).

#### 3.2.2.2 Kůže

Kůže hraje klíčovou roli v přežití obojživelníků. Je velmi hustě prokrvena sítí krevních vlásečnic a významně se podílí na dýchání obojživelníků. Přibližně se přes kůži uskuteční okolo 70 – 80 % potřeby výměny plynů. U obojživelníků, kteří hibernují, se takto během zimního spánku uskuteční až 100 %. U recentních obojživelníků je kůže hladká, bez výrazných rohovatějších útvarů. Výjimku tvoří *stratum corneum*, tenká vrstva zrohovatělých buněk na povrchu pokožky. Dalšími výjimkami jsou rohovité zuby u pulců, rohovité drápy u některých druhů žab. U některých druhů se mohou objevit zrohovatělé výstupky na vrcholcích bradavičnatých útvarů. Ve spodní vrstvě škáry se nacházejí chromatofory, které obsahují pigment. Zhuštěním či rozptýlením pigmentu, jsou některé druhy obojživelníků schopny barvoměny. Obojživelníci starou kůži svlékají vcelku, poté svlek požirají. (Zwach, 2013, Gaisler a Zima, 2007).

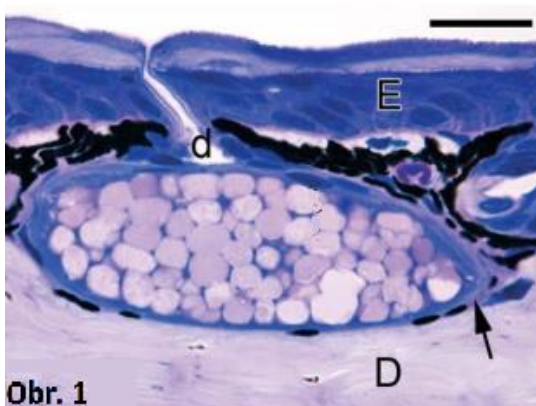
#### 3.2.2.3 Kožní sekreční žlázy

Vědci usuzují, že předci obojživelníků byly schopni žít velmi dlouhou dobu na suchu bez přístupu k vodě. Vyvinulo se u nich mnoho adaptací, například mnohobuněčné exokrinní žlázové buňky, které díky svému zvlhčování dovolují obojživelníků delší pobyt na souši. Během evoluce se u obojživelníků vyvinulo velké množství alveolárních i tubulárních žláz, které jsou rozmístěny po celém povrchu kůže (Toledo and Jared, 1995). Nacházejí se ve škáře

ve vrstvě *stratum spongiosum*. Alveolární žlázy se rozvinuly do dvou typů žláz; hlenové (serózní, nebo také slizové) a granulární (jedové) (Prates et al., 2012).

Hlenové produkují sekret, který má mnoho funkcí; napomáhá při reprodukci, termoregulaci, obranných reakcích a napomáhá také kožnímu dýchání (Toledo and Jared, 1995). Dále udržuje sekret z hlenových žláz povrch kůže vlhký a kluzký. Díky tomu je kůže ošetřena proti mechanickému poškození (zejména proti odřeninám). Také kůži chrání před odpařování vody z těla (Clark, 1997).

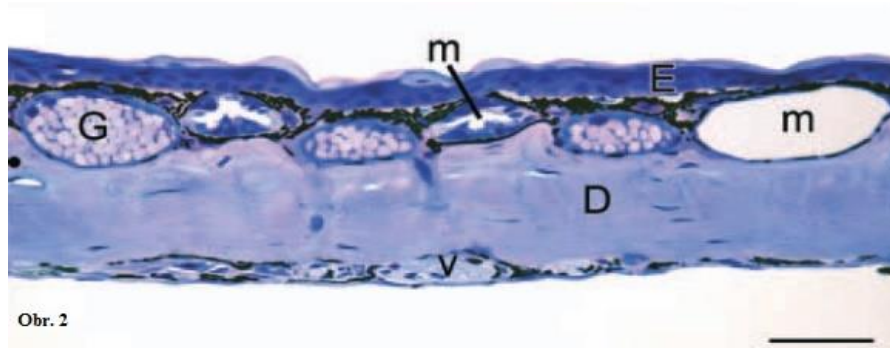
Granulární žlázy produkují toxiny, neboli repelentní sekrety, které mají svou toxicitou významnou roli při obranných reakcích. Granulární žlázy jsou tvořeny zejména z alveolárních žláz, tvořených sekreční vrstvou, kryjící vnější vrstvu myoepitelových buněk. Tato kontraktilní vrstva svalových buněk slouží k vytlačování produktů granulárních žláz, toxických i netoxických (Toledo and Jared, 1995). Duellmann a Trueb (1997) uvádí přibližně 50 hlenových žláz na 1 mm<sup>2</sup> kůže. Oproti tomu méně početné granulární žlázy jsou vůči hlenovým v poměru 1 : 10.



Obrázek č. 1: Průřez kůží pralesničky ozdobné *Amaerea picta* (převzato z Prates et al., 2012).

Prates a kol. (2012) ve své práci prostudovali granulární žlázy u jihoamerické pralesničky ozdobné *Amaerea picta* (Bibron In Tschudi, 1838). Na obrázku č. 1 je vyfocen histologický průřez kůží této žáby. Granulární žláza je umístěna mezi škárou (D) a pokožkou (E). Žlázový alveolus je naplněn velkými granulami nestejnorođe velikosti a tvaru. Dále je na fotografii vidět vývod (d), kterým je obsah žlázového vřčku vytlačován na povrch pokožky. Šipka označuje vrstvu myoepitelových buněk. Pro lepší názornost je velikost černého měřítka v pravém horním rohu 20  $\mu$ m. Obrázek č. 2 zobrazuje průřez hřbetní kůže u stejného druhu pralesničky ozdobné. U tohoto druhu jsou granulární žlázy stejnoměrně rozmístěny s žádnou známkou po shlukování

granulárních žláz. Na této fotografii jsou zachyceny i hlenové žlázy (m) a cévy krevního řečiště (v). Měřítko u tohoto snímku je 50  $\mu\text{m}$ .



Obrázek č. 2: Granulární buňka pralesničky ozdobné *Amaera picta* (převzato z Prates et al., 2012).

Granulární žlázy červorů a ocasatých jsou tvořeny sekreční vrstvou, velmi často tvořenou individuálními buňkami, ty v průběhu sekrečního cyklu ztrácí hranice a proměňují se na syncytium (soubuní). U žab mají granulární žlázy sekreční vrstvou tvořenou splynulými buňkami. Zaleží na chemické kompozici a vylučovaném toxinu a organelách tohoto soubuní liší se v typu a koncentraci (Toledo and Jared, 1995).

Obojživelníci mají jedové žlázy rozmístěny buď nerovnoměrně, poté jsou označovány jako difúzní žlázy, nebo jsou žlázy koncentrovány do kožních útvarů. (Zwach, 2013).

Žlázy jsou koncentrovány v určitých místech na těle obojživelníků. Toledo a Jared (1995) tyto koncentrované oblasti na tělech popisují jako makrožlázy a jsou nezbytně spojeny s reprodukcí a obranou. Makrožlázy se rozdělují na parotidy, paracnemidy, bederní, hédonické a hrudní. Parotidy (viz. obr. č. 3) se vyskytují u většiny žab i ocasatých druhů. Sestávají zejména z velké koncentrace granulárních alveolů, které obsahují jedovatý sekret. Parotidy se označují též jako příušní, nacházejí se na temeni hlavy za očnicemi. Mají nezaměnitelný pŕlměsícovitý tvar.



Obrázek č. 3: Histologický průřez příušní jedovou žlázou listovnice brazilské *Phyllomedusa distincta*. Na obrázku jsou jasně patrné velké granulární žlázy (G), nacházející se mezi pokožkou (E) a škárrou (D). Malé hlenové žlázy (M) jsou jen ve skromném zastoupení. V průřezu jsou zřetelné cévy krevního řečiště (označeny šipkami), které prokrvují parotidu. Dále jsou patrné tukové buňky (Li) a pigmentové buňky (P). (převzato z Antoniazzi et al., 2013).

Dalším typem makrožláz jsou paracnemidy. Tyto žlázy se nacházejí u určitých druhů žab na zadních končetinách v okolí holenní kosti (Toledo and Jared, 1995). Paracnemidy jsou strukturou i funkcí podobné parotidám. Jejich funkce je stejně jako u parotid obrana. Každá žláza má velikost zhruba 1 cm a 0,5 cm a je tvořena velkým počtem jednoduchých jednotek s vývody umístěnými na povrchu kůže (Bereiter-Hahn et al., 1986).

Hédonické makrožlázy se vyvinuly u některých druhů ocasatých obojživelníků, například u mločkovitých Plethodontidae. Nacházejí se ve svazcích na dolní části čelisti, nebo při základu ocasu či jsou rozptýleny na spáncích a v okolí očí (Bereiter-Hahn et al., 1986). Tyto žlázy produkují sekret obsahující feromony stimulující samičku k páření (Duellman and Trueb, 1994). Během období páření se zvýší sekreční činnost hédonických žláz, které produkují glykoproteiny izolované uvnitř žláz. V tomto období se buňky uvnitř žlázy mění z klidového cylindrického tvaru na kubický. V létě, mimo období páření, má epitel opět cylindrický tvar. U samců jsou hédonické makrožlázy třikrát častější než u samic (Pool and Dent, 1977).

Bederní a tříslové žlázy se vyskytují například u žab čeledi hvízdalkovitých *Leptodactylidae*. Jejich funkce jsou obligátně obranné. Jejich formace, zbarvení a pozice na těle připomíná dvě velké oči a může tak mít roli v zastrašování potencionálních nepřátel. V případě napadení jsou tyto skvrny vysunuty, navíc tyto žlázy produkují jed (Clarke, 2004, Toledo and Jared, 1989).

#### 3.2.2.4 Obranné postoje

Obojživelníci si mimo chemickou obranu vyvinuli i systém obranných aktivit. Většinou jsou tyto aktivity ve spojitosti se sekrecí jedu. U ocasatých je častý jev strnulosti celého těla. Při tomto strnulém postoji je současně vylučován jed. U žab byly pozorovány konkrétní postoje, které žábám dovolují obnažit oblasti s vysokou koncentrací granulárních žláz (Toledo and Jared, 1995). Některé druhy obojživelníků, například kuňky a některé druhy mloků, mají velmi výrazně zbarvenou spodní část těla. V případě ohrožení zaujímají pozici, při které vystavují varovně zbarvené části těla. Toto obranné chování je poslední možností. Primárním obranným mechanismem je dokonalé maskování korelující s prostředím či předstíraná smrt (Clarke, 2004).

#### 3.2.2.5 Aposematismus

Aposematismus (z řeckého *apo* – pryč, stranou, *semeion* – znamení) je jev při, kterém dávají jedovatí živočichové najevo svou toxicitu, skrze optické, zvukové či pachové signály. U obojživelníků je nejznámějším způsobem výrazné zbarvení. Výsledné barevné kombinace jsou v naprostém rozporu s jejich přirozeným prostředím (Leimar et al., 1986). Predátoři se vyhýbají kontaktu s varovně zbarvenou kořistí. Toto záměrné vyhýbání je založeno na předchozích zkušenostech a učení (Mappes et al., 2005).

U žab se vyvinulo nepřehledné množství barev a vzorů, ačkoli u většiny druhů se setkáváme s kryptickým zbarvením, které napomáhá s dokonalou kamufláží. Jen několik skupin obojživelníků lze označit jako ryze aposematické. Tyto pestře zbarvené druhy jsou většinou živočichové s denní aktivitou a velmi silnou toxicitou. Nejznámějším příkladem jsou vysoce jedovaté jihoamerické žáby čeledi prelesničkovitých Dendrobatidae, u kterých se barevné kombinace rozvinuly do obrovského množství a variant (Daly et al., 1987).

U nejedovatých živočichů se během evoluce vyvinuly jiné způsoby obrany. Mimikry, nebo i miméze (řecky *mimésis* – napodobení), jsou obranným mechanismem, kdy se živočich snaží napodobit živé či neživé objekty. Komárek (2004) rozděluje toto ochranné zbarvení dvěma způsoby. Kryptické mimikry slouží k naprosté nenápadnosti v daném prostředí. Živočich svým zbarvením, nebo i částmi těla, splývá s okolím. Krásným příkladem může být pablatnice nosatá *Megophrys nasuta* (Schlegel, 1858), která je na první pohled nedetekovatelná v substrátu z listů. Druhým typem miméze jsou sémantické mimikry, které tvoří naprostý opak ke kryptickému zbarvení. Živočich s tímto ochranným zbarvením se snaží o co největší



nápadnost. K tomuto způsobu se může řadit i aposematické zbarvení. Batesiánské, neboli batesovské mimikry, se vyvinuli u neškodných živočichů se snahou co nejlépe napodobit nebezpečné jedovaté živočichy. Vhodným příkladem se nabízí mločik červený *Pseudotriton ruber* (Sonnini de Manoncourt & Latreille, 1801), u kterého se vyvinulo podobně nápadné zbarvení, jako u jedovatého čolka zelenavého *Notophthalmus viridescens* (Rafinesque, 1820).

### 3.2.2.6 Antimikrobiální funkce kožních sekretů

Vědci usuzují, že jedovaté sekrety se u obojživelníků nevyvinuli primárně jako obrana proti potencionálním predátorům, ale jako obrana proti mikrobiálním a plísňovým infekcím. Mnoho komponentů žabího jedu slouží k obranným účelům proti predátorům, zatímco ostatní, zejména peptidy, mají antimikrobiální funkci. Velké množství alkaloidů vyskytujících se v kožních žlázách jihoamerických pralesniček bylo ověřeno pro antimikrobiální aktivitu. U mnoha látek byl prokázán jejich účinek proti G+ bakteriím (například *Bacillus subtilis*), G- bakteriím (například *Escherichia coli*) i proti houbám (např. *Candida albicans*). Látky, u kterých byla prokázána jejich toxicita proti původcům kožních infekcí, nebyly toxické pro predátory (Macfoy et al., 2005).

Doležilková a kol. (2011) zkoumali antimikrobiální peptidy a jejich potenciál ve farmacii a medicíně. Antimikrobiální peptidy jsou nedílnou součástí první obranné linie proti infekčním patogenům. U obojživelníků jsou přítomny například maganiny, dermaseptiny a brevininy, které působí proti bakteriím, plísním i proti prvokům. Tyto peptidy mohou být využívány ve farmacii jako synergisté k již běžně užívaným antibiotikům.

Velkým problémem, který aktuálně devastuje populace obojživelníků v globálním měřítku, je kožní plísňové onemocnění chytridiomykóza. Ta je způsobena houbou *Batrachochytrium dendrobatidis*, která napadá svrchní vrstvy kůže. Její rozšíření je celosvětové, mimo Antarktidu. Houba byla nalezena u 350 druhů obojživelníků, zejména u žab, několika druhů ocaatých, a dokonce byl její výskyt prokázán i u jednoho druhu červorů. Toto onemocnění již způsobilo vymření několika druhů a mnohé přivedlo na pokraj extinkce (Fisher et al., 2009).

### 3.2.3 Jedy obojživelníků

Obojživelníci patří k fanerotoxickým živočichům, kteří nejsou vybavení jedovým aparátem, a tak nejsou schopni aktivního vpravování jedu do jiného organismu. Jed obojživelníků je směsí látek, Daly a kol. (1987) rozdělil složky jedu do 4 hlavních kategorií;

**Biogenní aminy** se vyskytují v rostlinných i živočišných tkáních. Jedná se o dusíkaté látky odvozené od aminokyselin. Bazický amin vzniká odbouráním karboxylové skupiny aminokyselin, z které je následně odštěpen oxid uhličitý (Matouš, 2010). Erspamer (1971) rozdělil aromatické aminy nalezené v kůži obojživelníků do tří skupin; indolealkylaminy, imidiazolealkylaminy a hydroxyfenylalkylaminy. Nejčastěji jsou v sekretech zastoupeny deriváty indolealkylaminů, konkrétně bufotenin, bufovidrin, dehydrobufotenin a další. Tyto složky mohou mít halucinogenní a hypertenzní účinky. Kožní sekrety zástupců ropuch obsahovaly také adrenalin noradrenalin, dopamin a epinin.

Dalšími aminy, které jed obojživelníků obsahuje, jsou serotonin, tyramin a histamin. Tyto látky jsou syntetizovány samotnými obojživelníky a jsou skladovány v granulárních žlázách (Daly, 1995). Cei a kol. (1972) zkoumali 65 druhů a poddruhů ropuch a bylo zjištěno, že rozmanitost biogenních aminů je odlišná mezi jednotlivými druhy i podruhy. Toto zjištění vedlo mimo jiné i k lepšímu taxonomickému rozdělení.

Kožní sekrety vylučované obojživelníky obsahují velké množství **peptidů**. Jejich hlavní funkcí je obrana proti predátorům a valná většina působí proti mikroorganismům. V zastoupení jsou nejčastěji brydykininy, sauvagin, fysalemin, bombesiny a další (Daly, 1995). Bombesiny, zejména bombesin a alytesin, se vyskytují ve vysokých koncentracích v kožních sekretech evropských druhů žab čeledi kuňkovitých Bombinatoridae a pestrankovitých Alytidae. (Roseghini, 1989).

Jak uvádí Clarke (1997), výzkum peptidů nacházejících se u obojživelníků má velký význam ve farmacii a biochemii. Zejména maganiny, získané z kůže africké drápatky vodní *Xenopus laevis* (Daudin, 1802), jsou velmi účinné proti bakteriím, houbám i prvokům. Jejich antimikrobiální vlastnosti mohou být využity ve farmacii. Peptidy získané z kůže obojživelníků jsou ve struktuře velmi podobné, nebo dokonce i identické s peptidy ze savčích tkání.

**Bufadienolidiny** jsou kardiotonické steroidy, které mají vliv na činnost srdce. Zvyšují intenzitu srdečního rytmu a snižují srdeční frekvenci. Sušená kůže ropuch či vyschlé kožní sekrety byly používány v orientální medicíně již před 3000 lety. V 16. století byly využívány i v Evropě, kde byly následně po 200 letech vystřídány srdečními glykosidy (Clarke, 1997). Bufadienolidy se rozdělují na nekonjugované, též označované jako bufogeniny a na

konjugované, označované též jako bufotoxiny (Jabor, 2008). Mnoho bufogeninů se také uplatňuje jako lokální anestetika (Habermehl, 1981).

**Alkaloidy** jsou sloučeniny, které vznikají při přeměně aminokyselin. Jejich přítomnost je nejčastější v rostlinných pletivech, v malém zastoupení se nacházejí i živočišných tkáních. Alkaloidy nejsou, na rozdíl od zbylých složek jedu, vytvářeny v tělech obojživelníků, ale jejich přítomnost v kožních sekretech je podmíněna přijímanou potravou. Mnoho alkaloidů je pouze nepříjemných pro predátory, avšak některé mohou být i vysoce toxické (Clarke, 1997). Mezi obojživelníky hrají alkaloidy nejvýznamnější roli u zástupců čeledi pralesničkovitých Dendrobatidae, ale i paropuchovitých Myobatrachidae (zejména rod *Pseudophryne*), ropuchovitých Bufonidae (zejm. rod *Bufo*, *Atelopus*), u čeledi mantelovitých Mantellidae a dalších. Vedle žab jsou alkaloidy důležité i u ocasatých, zejména u čeledi mlokovitých Salamandridae (Daly et al., 1987).

Do skupiny alkaloidů se řadí lipofilní alkaloidy a alkaloidy odvozené od biogenních aminů, které jsou rozpustné ve vodě. Drtivá většina alkaloidů je známa díky činnosti granulárních žláz dospělých obojživelníků, avšak škodlivé účinky jsou přítomny i u vajíček a larev. Během několika desetiletí výzkumů bylo zjištěno přes 800 alkaloidů a přibližně 28 strukturálních tříd (Saporito et al., 2009). Mezi nejvýznamnější patří batrachotoxiny, histrionicotoxiny, pumiliotoxiny, epibatidin a další. Některé z alkaloidů oplývají výbornou farmaceutickou aktivitou s dosud jen málo využitým potenciálem (Hrdina a kol. 2004).

### 3.2.4 Žáby

Řád žab v současné době (ke dni 2.2.2017) zastřešuje 55 čeledí, 448 rodů a 6750 druhů. Jedná se o nejpočetnější řád obojživelníků, téměř 88 % všech obojživelníků je tvořeno žábami (amphibiaweb.org, 2017). V české republice se aktuálně nachází 5 čeledí (Zwach, 2013). Také se pro tento řád používá pojmenování bezocasí, které přímo odpovídá latinskému překladu. Jak tento název vypovídá, u takřka naprosté většiny dospělých jedinců se ocas nevyskytuje (Gaisler a Zima, 2007). Obecně se jedná o menší živočichy se zavalitým tělem, lépe nebo hůře uzpůsobených ke skákavému pohybu. Mají dobře vyvinut čich, sluch i zrak. Zrak je velmi důležitý pro detekci pohyblivé potravy, neboť o nehybnou kořist nejeví žáby zájem (Zwach, 2013).

Žáby se dokázaly přizpůsobit velmi širokému spektru přírodních podmínek. Jejich výskyt je globální, mimo Antarktidy. Některé druhy se dokázaly adaptovat i na velmi chladná podnebí, avšak největší rozmanitost nacházíme v tropických deštných pralesích. Některé druhy v dospělosti obývají obligátně vodní prostředí, některé ryze suchozemské a některé ke svému přežití potřebují obojí. Suchozemské druhy se přizpůsobily na své prostředí hrabáním nor, pobytu na stromech atd. Také rozmanitost barev, tvarů, velikostí, specifického chování je nepřehledná (Clarke, 2004).

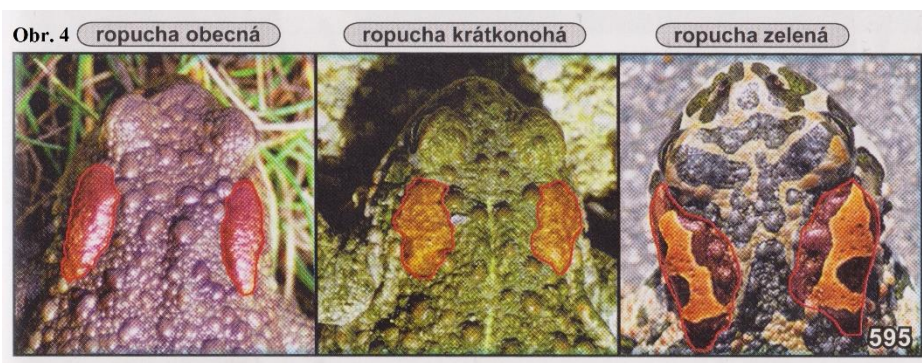
#### 3.2.4.1 Čeleď ropuchovití

Do čeledi ropuchovitých se ke dnešnímu dni (2.2.2017) řadí 52 rodů a 602 druhů (amphibiaweb.org, 2017). Areál rozšíření je obrovský; globálně mimo Madagaskar, Antarktidu, Grónsko, Nový Zéland, Novou Guineu a Austrálii. Austrálie je v současné době sužována zavlečeným, původně americkým druhem ropuchy obrovské *Rhinella marina* (Linnaeus, 1758) (Pramuk et al., 2007).

Ropuchy dorůstají délky od 20 do 200 mm. Drtivá většina má kryptické zbarvení, ale jsou i výjimky v podobě aposematického zbarvení u velmi jedovatých zástupců rodu *Atelopus*. Další raritou je existence Bidderova orgánu u samců. Jedná se o pozůstatek tkáně vaječnicků, která je schopna, po odstranění varlat, změny ve zcela funkční vaječník (Gaisler a Zima, 2007). V dospělosti jsou ropuchy terestrická zvířata bez přítomnosti zubů (Cannatella and Graybeal, 2008).

V české republice se aktuálně vyskytují tři druhy ropuch. Ropucha obecná *Bufo bufo* (Linnaeus, 1758), ropucha krátkonohá *Epidalea calamita* (Laurenti, 1768) a ropucha zelená

*Bufo viridis* (Laurenti, 1768). Všechny druhy vylučují dráždivé kožní sekrety a jsou u nich patrné výrazné příušní žlázy. Obr. č. 4 porovnává velikosti parotidních žláz u českých zástupců ropuchovitých (Zwach, 2013).

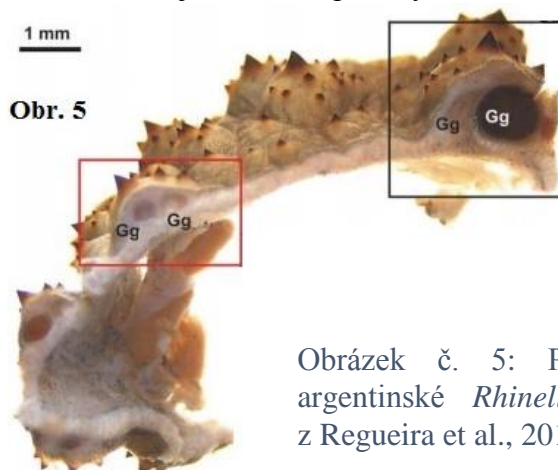


Obrázek č. 4: Parotidy u tří druhů českých zástupců ropuchovitých (převzato z Zwach, 2013).

#### 3.2.4.1.1 Kožní žlázy

Ropuchy jsou obecně terestrická zvířata s velmi dobře vyvinutým kryptickým zbarvením. Jejich kůže je poseta žlázami s vnější exkrecí, které ropuchám pomáhají v obraně, s hospodařením s vodou při páření či s udržováním tělesné teploty atd. Sekrety hlenových žláz, jak je zmíněno v předcházející kapitole, mají za úkol zejména zvlhčovat a chránit kůži. Granulární žlázy vylučují jedovaté sekrety. U některých druhů mohou být tyto výměšky zcela neškodné, některé druhy jsou vysoce toxické. Granulární žlázy se mohou shlukovat do makrožláz. Nejznámějším typem makrožláz u ropuch jsou parotidy, umístěné za očnicemi (Toledo and Jared, 1995).

Regueira a kol. (2016 104) ve své práci pozorovali kožní žlázy u ropuchy argentinské *Rhinella arenarum* (Hensel, 1867). Na obr. č. 5 jsou viditelné dva typy granulárních žláz. Červený čtverec ohraničuje oblast s malými žlázkami, v černém čtverci jsou pozorovatelné velké granulární žlázy. Dle výsledků této studie obsahují malé granulární žlázy acidofilní obsah, oproti obsah velkých granulárních žláz je bazofilní povahy.



Obrázek č. 5: Preparát kůže ropuchy argentinské *Rhinella arenarum* (převzato z Regueira et al., 2016).

### 3.2.4.1.2 Toxicita

Toxiny ropuch působí na nižší i vyšší obratlovce. Pokud kožní sekrety vstoupí do gastrointestinálního traktu vyšších obratlovců, způsobují nevolnost, slabost, problémy s dýcháním a paralýzu svalů. Při kontaktu s očima mohou způsobit vážné záněty (Garg et al., 2008).

U ropuch může být jedovatý sekret vylučovaný jak, hlenovými, tak i granulárními žlázami. Avšak granulární žlázy jsou schopny vyprodukovat více toxický sekret. Jed ropuch, stejně jako u všech jedovatých obojživelníků, se dá rozdělit do čtyř základních kategorií; biogenní aminy, bufadienolidy, alkaloidy a peptidy (Clarke, 1997). Sekret ropuch obsahuje více než 80 druhů bufadienolidů. Mezi nejdůležitější bufadienolidy patří bufalin, bufogenin, bufotalin, cinobufagin a další. Biogenní aminy obsažené v sekretech ropuch zahrnují serotonin, histamin, bradykin atd. (Basir et al., 2000).

Bufadienolidy jsou také zodpovědné za mléčný vzhled vylučovaného sekretu. Kožní žlázy ropuch vylučují sekret, jehož složkou je bufonin, který sám o sobě působí jako slabší jed. Jakmile přijde do styku s kyslíkem, bufonin oxiduje do formy bufadienolidu zvaného bufotalin. Tento komponent je již přímo zodpovědný za mléčný vzhled vylučovaného sekretu (Garg et al., 2008). Bufadienolidy či látky s podobnou strukturou se nenacházejí jen u ropuch, resp. u obojživelníků, ale také i u několika druhů rostlin, světlušek (*Photinus sp.*), hadů (*Rhabdophis sp.*) a i u savců (Steyn and van Heerden, 1998).

Koncentrace bufadienolidů je v průběhu života proměnná. Hayes a kol. (2009) zaměřil svůj výzkum na ropuchu obrovskou *Rhinella marina*. U této konkrétní žáby bylo zjištěno, že největší koncentrace bufadienolidů se nachází v nakladených vajíčkách, přibližně 2,64  $\mu\text{mol/mg}$ . Vajíčka obsahují nejméně 28 hlavních bufadienolidů, z toho 17 již není detekovaných v žádném z pozdějších stádiích vývoje. Vajíčka jsou jedovatá sama o sobě a na tuto toxicitu nemá vliv rosolovitý obal obalující vajíčko. Pulci mají výrazně jednodušší chemický profil, přibližně 2-8 hlavních bufadienolidů. Během tohoto období se koncentrace bufadienolidů pohybuje okolo 0,084  $\mu\text{mol/mg}$ . Během larválního období před metamorfózou rozmanitost toxinů výrazně klesá a opět vzrůstá po metamorfóze. Po této přeměně je koncentrace bufadienolidů přibližně 2,35  $\mu\text{mol/mg}$ . Tedy velmi podobná koncentraci v nakladených vajíčkách.

Bufotenin je indolový alkaloid, který může mít dokonce i halucinogenní vliv díky blokaci serotoninu (Garg et al., 2008). Tato látka ovlivňuje psychiku, vyvolává úzkostné stavy, poruchy vnímání, rozšíření zornic. Efekt je takřka shodný s mezkalinem nebo s LSD (Hrdina a kol., 2004). Bufotenin a jemu podobné látky byli také izolovány z muchomůrky červené *Amanita*

*muskaria* či z rostliny *Piptadenia peregrina*. Bufotenin je však až druhým nejsilnějším halucinogenní složkou ropušího jedy. Prvenství patří 5- methoxy-N a N-dimethyltryptaminu, látkám izolovaným u ropuchy koloradské *Bufo alvarius* (Girard in Baird, 1859). Tyto látky jsou smrtelné při orálním požití, avšak při jejich inhalaci mají psychoaktivní vliv na organismus (Weil and Davis, 1994).

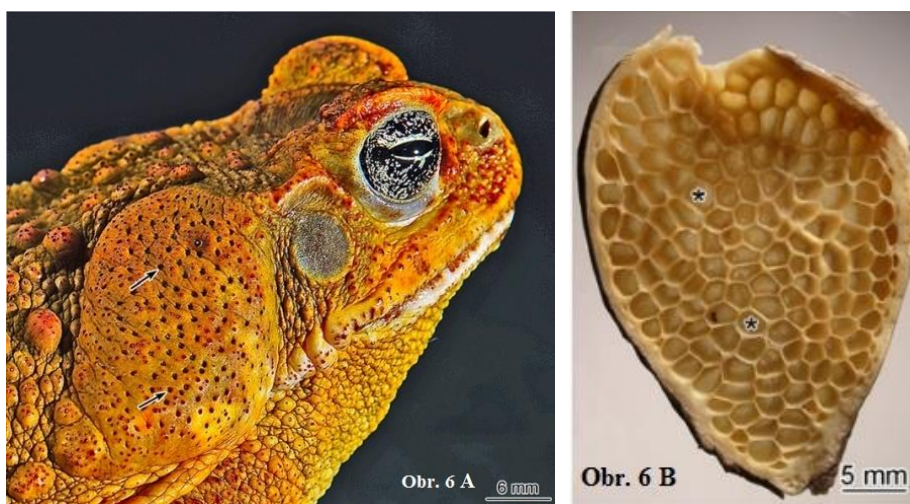
Otrava ropušími jedy může mít fatální následky u malých domácích zvířat. U psů může jed způsobit lokální i systematické poruchy, které při vážné otravě mohou vést až ke smrti. Zejména bufadienolidy, které ovlivňují sodíkovo-draselnou pumpu srdečních buněk, a tak mají vliv na činnost srdce, zvyšují srdeční kontrakce a redukují frekvenci srdečního tepu. K intoxikaci dochází zejména pozřením ropuchy či stykem jedovatých sekretů ropuch s poškozenou kůží. Lehká otrava způsobuje salivaci a podráždění ústní sliznice. Střední má za následek slabost, ataxii (porucha koordinace), hypersalivaci, apatii (chození v kružích), abnormality v srdečním rytmu, defekaci a urinaci. Těžká otrava opět vyvolává hypersalivaci a abnormality v srdečním rytmu, dále vyvolává bolest v břiše, zornice nereagují na osvit, silné křeče, cyanózu, plicní edém a v nejtěžších případech i smrt. Terapie probíhá zejména podáváním atropinu a propranololu (Palumbo et al., 1975, Sakate and Oliveira, 2000).

#### 3.2.4.1.3 Ropucha obrovská *Rhinella marina*

Známá ropucha obrovská *Rhinella marina* je původně americký druh, který je velmi přizpůsobivý a zdatný predátor. Díky těmto vlastnostem bylo introdukováno 102 ropuch do australského Queenslandu, aby likvidovaly škodlivý hmyz na plantážích s cukrovou třtinou. Avšak tento pokus selhal a ropuchy se rozšířily po celém kontinentu (Hrdina a kol., 2004). V médiích se objevovaly zprávy, které potvrzovaly schopnost původního druhu rosnice Dahlovy *Litoria dahlui* (Boulenger, 1896) pojídat vajíčka a pulce ropuchy obrovské a tím snižovat jejich populaci. Avšak studie tuto domněnku vyvrátily, neboť toxicita vajíček i pulců byla příliš vysoká a sledovaná zvířata následkem otravy zemřela (Shine et al., 2009).

Ropuchy obrovské a další příbuzné druhy vylučují ve svých sekretech také marinobufaginy a marinobufotoxiny. Tyto bufadienolidy působí výrazně kardiotoxicky. Také působí iritačně na citlivou, poškozenou kůži nebo na sliznicích. Může mít také vliv na nervovou soustavu. Při silné intoxikaci může způsobit smrt u malých zvířat. Tyto toxiny jsou obsažené i ve vajíčkách ropuch. U jihoamerických domorodých obyvatel byly zaznamenány případy úmrtí po pojití těchto vajíček (Hrdina a kol. 2004).

Příušní makrožlázy, nacházející se přímo za ušním bubínkem, jsou u tohoto druhu velmi jasně patrné. Při makroskopickém pohledu (viz. obr. č. 6a) jsou velmi zřetelné póry. Tyto póry slouží jako vyústění podkožních granulárních žláz. Při manuálním stlačení těchto žláz je jedovatý sekret okamžitě vypuzován ve formě proudů. Při průřezu parotidami tohoto druhu jsou nápadné výrazné alveoly granulárních žláz (viz. obr. č. 6b), které svou strukturou připomínají včelí plástve (Antoniazzi et al., 2013).



Obrázek č. 6A: Umístění parotidních žláz ropuchy obrovské *Rhinella marina* (převzato z Antoniazzi et al., 2013).

Obrázek č. 6B: Průřez parotidní žlázou ropuchy obrovské *Rhinella marina* (převzato z Antoniazzi et al., 2013).

#### 3.2.4.1.4 Rod atelopus

Žáby rodu *Atelopus* jsou proslaveny přítomností tetrodotoxinu a jemu podobných látek ve vylučovaných kožních sekretech. Tento toxin se vyskytuje také u čtverzubců, vysoce jedovatých tichomořských ryb, a u dalších živočišných druhů. Syntéza tohoto toxinu je přímo vázaná na přirozené prostředí těchto žab, neboť žáby chované v zajetí vykazovaly přítomnost pouze bufadienolidů, nikoli tetrodotoxinů (Daly et al., 1997). Tetrodotoxin není obsažen u všech druhů tohoto rodu žab stejnoměrně. Byl objeven jako hlavní složka jedu u druhu atelopa amazonského *Atelopus spumarius* Cope, 1871 a atelopa proměnlivého *Atelopus varius* (Lichtenstein & Martens, 1856). Vedlejší složku tvoří u druhu atelopa štíhlého *Atelopus spurrelli* Boulenger, 1914 a pouhé stopové množství bylo nalezeno u druhu atelopa plamínkového *Atelopus ignescens* (Cornalia, 1849) a atelopa panamského *Atelopus zeteki* Dunn, 1933 (Daly et al., 1994).

Tetrodotoxin je velice silný neurotoxin, který blokuje sodíkové kanály. Průběh otravy je možné rozdělit do čtyř fází. Prvním příznakem intoxikace je mírná necitlivost rtů a jazyka, dále



se brnění rozšíří na celý obličej i končetiny. Následuje velká bolest hlavy, břicha, nevolnost a jen zřídka se v této fázi objevuje zvracení či průjem. Občas mohou nastat problémy s orientací a koordinací, postižení nezvládají ani chůzi. Následuje hypotenze, srdeční arytmie, prohloubení dechové tísně, řečové problémy (zasažení řečového centra mozku). Nastává paralýza a silné křeče. Smrt nastává v rozmezí od 20 minut do 8 hodin po přijetí tetrodotoxinu (Noguchi et al., 2011). Léčebné využití tetrodotoxinu jakožto analgetika bylo prokázáno u pacientů s rakovinou. Pacientům bylo podáváno denně 15-90 µg tetrodotoxinu intramuskulárně. Většina těchto uživatelů potvrdila snížení intenzity bolesti po dobu dvou a více týdnů. Nevolnost a další toxické problémy byly obvykle mírné povahy (Hagen et al., 2007).

Další složkou jedovatého sekretu je atelopidtoxin, alkaloid, též označovaný jako zetekitoxin AB. Jedná se o jeden z nejjedovatějších nebílkovinných toxinů na světě. Předčí ho pouze batrachotoxin, isobatrachotoxin, saxitoxin a tetrodotoxin (Shindelman et al., 1969). Způsobuje vážné srdeční problémy, neboť blokuje sodíkové kanálky myokardu a snižuje srdeční tlak. LD<sub>50</sub> u myši činí 0,016 µg/kg a odhadovaná letální dávka pro člověka je 1 mg (Patočka, 2007).

Tyto žáby dávají najevo svou toxicitu jasným aposematickým zbarvením, proto jsou též označovány jako „harlekýnové žáby“. Vyskytují se ve Střední a Jižní Americe a jsou velmi ohroženy ničením svého přirozeného prostředí. Dodnes bylo prozkoumáno pouze několik druhů těchto žab a je možné, že u mnoha druhů nebude jejich toxicita nikdy podrobena analýze (La Marca et al., 2005).

#### 3.2.4.1.5 Obranné reakce

Mailho-Fontana a kol. (2013) zaměřili svůj výzkum na ropuchu modravou *Rhaebo guttatus* (Schneider, 1799). Tento druh si vyvinul vedle pasivní obrany a systém aktivní obranné reakce. Tato ropucha dokáže ze své příušní jedové žlázy vystříknout proud sekretu na predátora (viz. obr. 7). Parotidy přiléhají přímo k lopatce, bez kalcifikované kožní vrstvy. U tohoto druhu je dvakrát méně namáhavé vypudit sekret z kožní žlázy než u známého druhu ropuchy



Obrázek č. 7: Obranná technika ropuchy modravé *Rhaebo guttatus* A, a detailní pohled B (převzato z Mailho-Fontana et al., 2013).

obrovské. Oproti ropuše obrovské je jedovatý sekret ropuchy modravé mnohem méně toxický. Způsobuje otoky a navozuje čtyřikrát intenzivnější vnímání bolesti. Ačkoli není jed ropuchy modravé smrtelný, je možné že tento způsob obrany je přímo spjatý se schopností predátorů se učit.

#### 3.2.4.1.6 Využití ropuších jedů v přírodě

Velmi zajímavé je využití ropušího jedu jinými živočichy. Například ježek díky ropuším sekretům mechanicky vylepšuje své vlastní antipredační adaptace. Ježek využívá jak čerstvé, tak i sušené kožní výměšky ropuch, které olizováním roznese po vlastních bodlinách. Pravděpodobně tím zvyšují bolestivost či potencionální infekci (Brodie, 1977).

Vedle ježka, který ropuší jed využívá mechanicky, dokáže užovka tygří *Rhabdophis tigrinus* (F. Boie, 1826) získávat jed ze své oběti ropuchy japonské *Bufo japonicus* Temminck & Schlegel, 1838 po jejím pozření. Ropucha japonská vylučuje jed, jehož hlavní složkou jsou bufadienolidy, které mají silný vliv na činnost srdce, a dokonce i halucinogenní bufotenin. Užovka tygří je vůči jedu ropuchy japonské zcela imunní a získaný jed využívá k obraně proti predátorům, zejména proti sokolům. Užovka tygří má jedové žlázy umístěné na zádech za hlavovou částí (viz obr. č. 8), obdobně jako příušní žlázy ropuch. Tyto jedové žlázy se téměř vzápětí po požití ropuchy japonské naplní jedovatou substancí. Vědci zkoumali užovky žijící na několika různých japonských ostrovech. Zejména na ostrově Kinkazan, kde nežije žádná z těchto ropuch a na ostrově Ishima, kde je jejich výskyt velmi hojný. Užovky s jedovatým sekretem se nacházely pouze na ostrově Ishima, tedy pouze souběžně s výskytem jedovaté ropuchy japonské (Hutchinson et al., 2007).



Obrázek č. 8: Jedové žlázy užovky tygří *Rhabdophis tigrinus* označeny šipkou (převzato z Hutchinson et al., 2007).

#### 3.2.4.1.7 Využití ropuších jedů ve farmacii

Farmakologický potenciál sekretů ropuch je znám již od starověku, a to zejména v tradiční čínské a indické medicíně. V čínské medicíně byl (a nejspíše stále je) používán produkt zvaný Chan´Su. Hlavní složkami tohoto medikamentu jsou bufalin a cinobufagin. Tento přípravek je využíván pro léčbu kardiovaskulárního systému (Hong et al., 1992). Ayurveda, tradiční indická medicína, používá k léčebným účelům živých ropuch. Zejména pro léčbu domácích zvířat a dobytka. Léčebným postupem je tření živé ropuchy v místě otoku, či v případě ucpání jícnu je doporučováno tření živé ropuchy po hrdle (Tiwari and Pande, 2004). Největším problémem je variabilita v kvantitě i v kvalitě podávané látky, proto uživatelé těchto přípravků riskují předávkování. Ve spojených státech amerických je evidováno velké množství případů, kdy lidé zemřeli po požití těchto látek (Garg et al., 2008).

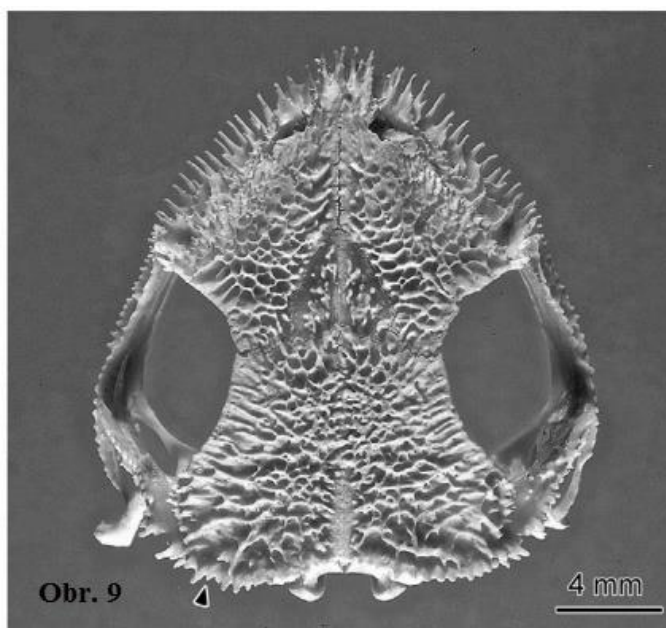
Sekrety ropuch mají mimořádný vliv na činnost organismu. Je možné, že v budoucnu budou využívány ve farmacii jako analgetika, antibiotika, antivirotika, léky ovlivňující kardiovaskulární systém, nebo dokonce jako léky potlačující rakovinné bujení a další (Garg et al., 2008). Bufalin a jemu látky podobné byly testovány in vitro v boji proti rakovinným buňkám. Bufalin se prokázal svou vlastností vyvolání apoptózy u lidských buněk postižených nekontrolovatelným rakovinným bujením. Cinobufagin, další z řady bufadienolidů, se prokázal být účinný v léčbě infekcí během kombinované chemoterapie (Jing et al., 1993).

Mnoho složek ropušího jedu bylo zkoumáno jako potencionální lék na zmírnění bolesti. Konkrétně bufalin se projevil jako velmi vhodný. Aktuálně využívané léky aspirin a morfin mají mnoho vedlejších účinků. Například nadměrné užívání aspirinu může způsobovat krvácení do žaludku, astmatické záchvaty, kopřivku či u dětí Reyův syndrom. Zkoumané látky by také mimo jiné mohli nahradit aspirin v léčbě revmatické horečky a artritidy. Dále je možné jejich použití v léčbě poruch spánku (Das et al., 2000).

#### 3.2.4.2 Čeleď rosničkovití

Rosničkovití Hylidae jsou vesměs štíhlé žáby s hladkou kůží. Jsou to převážně stromové žáby skvěle přizpůsobené pro tento způsob života (Gaisler a Zima, 2007). Tato čeleď je velmi rozsáhlá a k dnešnímu dni se k rosničkovitým řadí 968 druhů a 52 rodů. Jejich rozšíření je obrovské, zástupce najdeme zejména v Jižní, Střední i Severní Americe, dále je jejich výskyt v severní Africe, Eurasii, a dokonce i v Austrálii a na Papue Nové-Guinei ([aphibiaweb.org](http://aphibiaweb.org)).

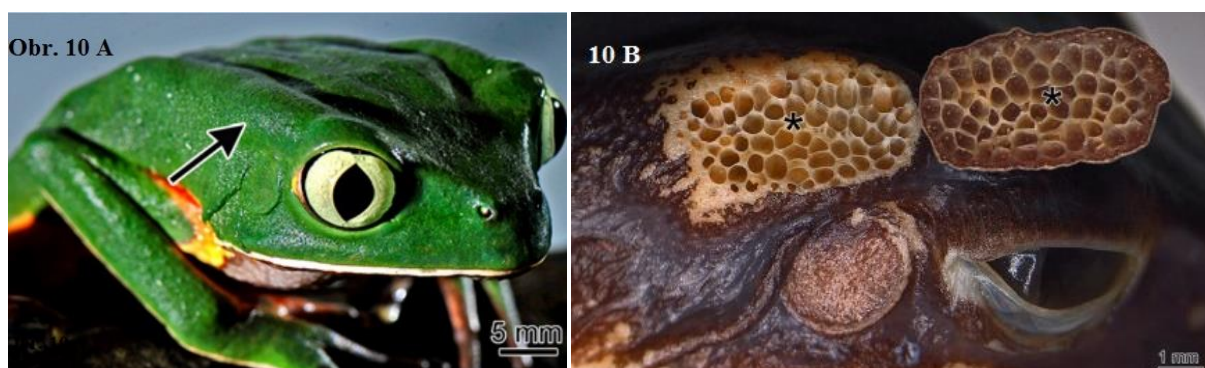
U brazilské rosničky Greeningovy *Corythomantis greeningi* Boulenger, 1896 a rosničky Brunovy *Aparasphenodon brunoi* Miranda-Ribeiro, 1920 byl popsán velmi zajímavý jev. V jejich lebce se nacházejí drsné kostnaté jehlice (viz. obr. č. 9), které fungují jako jedový aparát k vpravení jedovatého sekretu do jiného organismu. Tyto bodce se vyskytují na okraji horní čelisti, kde je i velmi vysoká hustota kožních žláz. Granulární žlázy na hlavové části jsou mnohem větší (přibližně 320  $\mu\text{m}$  na délku, 524  $\mu\text{m}$  na výšku) v porovnání s granulárními žlázami na zbytku těla (123  $\mu\text{m}$  na 30  $\mu\text{m}$ ). V případě napadení začne rosnička vylučovat lepkavý sekret, otáčet hlavou a třít ostny do kůže protivníka. Tento efekt je ještě umocněn nebývalou schopností rosniček v rozsahu otáčivosti hlavy. Toto chování je nejefektivnější, pokud se predátor snaží rosničku pozřít. Sekrety vylučované rosničkami jsou velmi jedovaté. U myši činí LD50 94  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Jed rosničky Greeningovy se prokázal jako méně toxický oproti jedu rosničky Brunovy, zato množství kostěných bodců je větší a taktéž množství vylučovaného sekretu. K objevu došlo relativní náhodou, kdy během vypracovávání studie byl jeden z výzkumníků zraněn rosničkou do dlaně. Byla popsána velmi intenzivní bolest, šířící se do celé paže, trvající zhruba 5 hodin. Naštěstí byl vědec intoxikován méně jedovatým druhem rosničky Greeningovy (Jared et al., 2015).



Obrázek č. 9: Lebka rosničky Greeningovy *Corythomantis greeningi* s výraznými kostěnými výstupky (převzato z Jared et al., 2015).

Oproti ropuchám nemají rosničky vyvinuté parotidní žlázy na takové úrovni (viz. obr. č. 10a). Podobně jako u ropuchovitých, slouží tyto žlázy pasivní k obraně proti potencionálním predátorům a vedeným frontálním útokům. Listovnice brazilská *Phyllomedusa distincta* Lutz,

1950 byla cílem studie zabývající se morfologické stavby u rosničkovitých. Stavba v průřezu je velmi podobná struktuře plástve (viz. obr. č. 10b). Obdobně jako u ropuchovitých reagují tyto makrožlázy na stlačení vypuzováním jedového sekretu skrze kožní póry. Avšak oproti ropuchám je sekret vyměšován pozvolna ve formě drobných kapek, které unikají přes póry na povrch kůže. Po stlačení jsou alveoly různě naplněny, pravděpodobně vlivem tlaku, který byl vyvinut na stlačení parotidy. Oproti ropuchám je toto obranné chování až poslední možností obrany. Listovnice spoléhají na své krycí zbarvení a na předstíranou smrt – thanatózu (Antoniazzi et al., 2013).



Obrázek č. 10: Příušní jedové žlázy listovnice brazilské *Phyllomedusa distincta* A a jejich průřez B (převzato z Antoniazzi et al., 2013).

Z kožních výměšků rosniček bylo extrahováno zhruba 80 peptidů, které se prokázaly antimikrobiální činností. Zejména peptid phylloseptin vykázal takřka minimální hemolytickou aktivitu, oproti tomu je silně antimikrobiální (Yang et al., 2016). Mimo aktivitu proti mikrobům a plísním se phylloseptin prokázal být účinný i proti buňkám rakovinného bujení. Tyto vlastnosti slibují phylloseptinu možné potenciální využití ve farmacii (Wan et al., 2015).

Cearulin je peptid nacházející se v sekretech australského rosnice siné *Litoria caerulea* (White, 1790) a dalších druhů. Jeho účinky jsou mnohostranné; snižuje krevní tlak, stimuluje hladkou svalovinu a ovlivňuje sekreci žaludku a slinivky břišní. Kožní výměšky dalších druhů rosniček mohou mít iritační vliv na kůži nepřátel. Způsobují vyrážku, podráždění, silné pálení či v případě zasažení očí vyvolávají záněty. Jihoameričtí domorodí obyvatelé využívají jedů rosniček zajímavým způsobem. Rosničky, zejména listovnici dvoubarvou *Phyllomedusa bicolor* (Boddaert, 1772), chovají jako domácí mazlíčky a v případě potřeby extrahují jejich jed. Ten je používán jako emetikum při případných zdravotních obtížích. Látka vyvolává zvracení a odstraňuje trávicí potíže. Domorodci si vtírají sekret získaný z parotidních žláz do právě pro tyto účely vytvořených oděrek na spáncích a zápěstí (Kůrka a Pflieger, 1984).



### 3.2.4.3 Čeď pralesničkovití

Čeď pralesničkovitých Dendrobatidae je asi nejvíce proslavena svou toxicitou. Zástupci jsou poměrně malí, pestře zbarvení. Pralesničkovití se vyskytují v tropických pralesech Střední a Jižní Ameriky. Dnes se do této čeledi řadí 307 druhů rozdělených do 18 rodů (amphibiaweb.org, 2017). Přibližně jedna třetina pralesniček vyměšuje svými kožními žlázami jedovatý sekret sloužící k obraně proti potencionálním predátorům i proti původcům kožních onemocnění (Grant et al., 2006).

#### 3.2.4.3.1 Kůže a zbarvení

Kůže je protkána dvěma typy exokrinních žlázových buněk; hlenových a granulárních. Oproti čeledi ropuchovitých se na tělech pralesniček nevyskytují žádné shluky granulárních žláz (Toledo and Jared, 1995).

Pralesničky oplývají neuvěřitelnou paletou barev, tvarů a kombinací. Samozřejmě u některých druhů se vyvinulo i kryptické zbarvení, avšak v drtivé většině tvoří výrazné aposematické zbarvení první linii obrany těchto žab. U několika druhů je možné využít zbarvení pralesniček jako determinační znak, avšak u mnoha druhů není toto možné z důvodů obrovské variability v rámci jednoho druhu (Grant et al., 2006). Summers a Clough (2001) zjistili, dle pozorování a počítačové techniky, že výrazné zbarvení čeledi pralesničkovitých se evolučně vyvinulo pospolu s toxicitou.

#### 3.2.4.3.2 Potrava

Míra toxicity je u pralesniček přímo vázaná na přijímanou potravu. Jen pár z 800 získaných alkaloidů bylo nalezeno v jejich potravě. Toxicita je však u těchto žab podmíněna stravou, neboť žáby odchované nebo chované v zajetí toxické nejsou, či toxicitu postupně ztratily. Pokud by byla těmto netoxickým žábám nabídnuta opět přirozená, alkaloidy skýtající kořist, toxicita by byla opět obnovena (Daly et al., 2005).

Kořist pralesniček v přírodě tvoří malé druhy členovců. Jak je již zmíněno v předchozích kapitolách, kořist musí být pohyblivá, jinak o ni žáby nejeví zájem (Zwach, 2013). Nejčastěji jsou ve volné přírodě loveni mravenci (zejm. rod *Brachymyrmex* a *Paratrechina*), roztoči, brouci a stonožky. Celkem bylo nalezeno 6 strukturních tříd alkaloidů u mravenců, 1 třída u brouků a taktéž 1 u stonožek (Darst et al., 2004). Z mravenců získají pralesničky konkrétně 25 alkaloidů, 5 z brouků a 6 ze stonožek (Saporito et al., 2009).

Během výzkumu byli vědci toho názoru, že batrachotoxiny je výsledkem biosyntézy těchto žab, avšak poté byla tato teorie vyvrácena, neboť sekrety žab chovaných v zajetí byly

netoxické. Nalezení batrachotoxinů v kůži a peří ptáků rodu pištců *Pitohui* z Papui Nové Guinei vedlo vědce k myšlence stejné kořisti, ze které tyto živočichové čerpají svou toxicitu ze stejných potravních zdrojů (Kahn et al., 2016).

#### 3.2.4.3.3 Toxicita

Pralesničkovití jsou proslulí svou toxicitou. Jedovatý kožní sekret obsahuje všechny hlavní složky jedu obojživelníků, avšak jsou to zejména alkaloidy, které tvoří jed tak smrtelný. Přibližně 800 alkaloidů bylo popsáno během výzkumů těchto žab. Tyto alkaloidy se rozřazují do 24 strukturních tříd, avšak stále existuje zhruba 150 alkaloidů bez jasného zařazení. Profil obsažených alkaloidů v jedu je velmi závislý na oblasti výskytu dané populace. Konkrétní ekosystém ovlivňuje zastoupení a hojnost potravy, ze které pralesničkovití získávají alkaloidy pro svou obranu (Kahn et al., 2016).

Jedním z nejvýznamnějších alkaloidů nalezených v sekretech pralesničkovitých jsou **batrachotoxiny**. Jedná se o steroidní alkaloidy. Mezi hlavní složky této skupiny patří batrachotoxin, homobatrachotoxin a batrachatoxinin. Mezi spíše minoritní alkaloidy se řadí pseudobatrachotoxin (Daly et al., 2005). Tyto alkaloidy byly nalezeny i v přirozené potravě, konkrétně v broucích čeledi Melyridae (Dumbacher et al., 2004). Pralesničky mají odolné sodíkové kanály, díky čemuž jsou schopny pojídat jedovaté brouky, bez toho aniž by se samy otrávily (Albuquerque et al., 1973). Batrachotoxiny jsou schopny ovlivňovat sodíkové kanály a blokují draslíkové, byla zjištěna jejich schopnost blokovat neurosvalový přenos. Dále mají vliv na činnost kardiovaskulárního systému, způsobují poruchy srdečního rytmu, zvýšenou tepovou frekvenci a další. Nejčastější příčinou smrti je ochromení a následné selhání dechového centra. Terapie probíhá zejména v léčbě symptomů, neboť specifický protijed není znám. Batrachotoxiny jsou využívány jako výzkumné složky v neurologii i kardiologii (Hrdina a kol., 2004).



Obrázek č. 11: Získávání kožních sekretů k výrobě otrávených šípů (převzato z Kahn et al., 2016).

Batrachotoxiny se nacházejí i u mnoha druhů pralesničkovitých, zejména u rodu *Dendrobates* a *Phyllobates*, avšak velmi vysoká koncentrace byla zjištěna pouze u tří druhů z těchto žab. Tyto tři druhy žijí ve stejné oblasti západní Kolumbie. Jedná se o pralesničku zlatopruhou *Phyllobates aurotaenia* (Boulenger, 1913), pralesničku dvoubarvou *Phyllobates bicolor* Duméril & Bibron, 1841 a nejvíce u pralesničky strašné *Phyllobates terribilis* Myers, Daly & Malkin, 1978 (Kahn et al., 2016). Domorodí obyvatelé využívají kožního sekretu těchto žab k vytváření šípového jedu, označovaného též jako kokoá (viz. obr. č. 11). Dle Indiánů lze z jedné jediné žáby získat zhruba 50 otrávených šipek, dostačující k účinné otravě lovené kořisti (Latham, 1966).

Rod pralesniček *Phyllobates* zahrnuje druhy s velmi rozdílnou toxicitou. Některé druhy, ba dokonce populace ve volné přírodě nejsou jedovaté, například druh pralesničky čarokrásné *Phyllobates lugubris* Schmidt, 1857. Oproti tomu druh pralesničky strašné *Phyllobates terribilis* je nejjedovatější zdokumentovaný obojživelník. Tato žába je jednou z největších, dorůstající zhruba 4 cm. Z jedné pralesničky strašné je možné extrahovat přibližně 1000  $\mu\text{g}$  batrachotoxinů. Oproti tomu příbuzné druhy pralesnička dvoubarvá a pralesnička zlatopruhá obsahují ve své kůži přibližně 100-200  $\mu\text{g}$  těchto toxinů (Daly et al., 2005).

Homobatrachotoxin je extrémně toxický alkaloid vyskytující se v kůži zástupců pralesničkovitých. Kromě žab je taktéž prokázán jeho výskyt v peří, a dokonce i svalstvu pištců *Pitohui* z Papui Nové Guinei (Hrdina a kol., 2004).

**Histrionicotoxiny** tvoří další skupinu bicyklických alkaloidů. Jsou takřka netoxické i dávka větší než 1000  $\mu\text{g}$  není pro myš letální. Jejich výskyt je zdokumentován u pralesničky batikové *Dendrobates auratus* (Giard, 1855), pralesničky ohnivé *Oophaga histrionica* (Berthold, 1845), pralesničky pralesní *Oophaga sylvatica* (Funkhouser, 1956) a dalších. Tyto alkaloidy se vyskytují jen u pralesniček rodu *Dendrobates* a *Oophaga*. Zajímavou výjimkou je



jejich výskyt i u madagaskarské čeledi žab mantelovitých Mantellidae. Význam v obranných sekretech těchto žab spočívá nejspíše v jejich hořkosti. V případě intoxikace způsobují blokádu nikotinových receptorů v mozku. Tato schopnost je využívána v lékařství pro výzkum nikotinových receptorů a acetylcholinu (Daly et al., 2005).

**Pumiliotoxiny** jsou velmi významná skupina, která zahrnuje zhruba 80 bicyklických alkaloidů. Do této skupiny se zařazují pumiliotoxiny, allopumiliotoxiny, homopumiliotoxiny a další. Tyto složky se vyskytují v sekretech jihoamerických zástupců pralesničkovitých (*Dendrobates*, *Epipedobates*, *Minyobates*, *Phyllobates*, a další.), severoamerických ropuchovitých (rod *Melanophryniscus* a další), madagaskarských mantelovitých i u australské čeledi paropuchovitých Myobatrachidae (rod *Pseudophryne*) (Daly et al., 2005). Hlavními alkaloidy z kožních sekretů pralesniček jsou pumiliotoxin-A, pumiliotoxin-B a Pumiliotoxin-C, všechny tři jsou izolované ze sekretů pralesničky drobné *Dendrobates pumilio* (Schmidt, 1857) a pralesničky batikové *Dendrobates auratus*. Tyto toxiny mají vliv na nervové a svalové procesy, také mohou působit na nikotinové receptory. Při silné intoxikaci nastává smrt ochrnutím dýchacích svalů. Terapie je opět jen symptomatická (v tomto případě umělým dýcháním), specifický protijed neexistuje. Pumiliotoxiny mají vliv na činnost srdce, proto jsou tyto látky potenciálními léky proti srdečnímu selhání (Hrdina a kol., 2004).

Prokázalo se, že pralesničkovití nemají žádnou schopnost modifikovat přijaté alkaloidy, které jsou přijaty a uskladněny v jejich tělech. Přesto bylo objeveno, že u mnoha druhů existuje enzym, který účinně přeměňuje přijatý pumiliotoxin 251D na toxicitější allopumiliotoxin 267A (Daly et al., 2003).

Tabulka č. 2: LD<sub>50</sub> u konkrétních toxinů získaných z kožních sekretů žab (Hrdina a kol., 2004).

Alkaloid	LD <sub>50</sub> µg.kg <sup>-1</sup> u myší
Batrachotoxin	2
Homobatrachotoxin	3
Batrachotoxinin A	1000
Pumiliotoxin A	2500
Pumiliotoxin B	1500

Jedním z nejdůležitějších dosud objevených alkaloidů je epibatidin, který se řadí mezi **pyridinové alkaloidy**. Tento alkaloid byl izolován v roce 1992 z kožních sekretů pralesniček rodu *Epipedobates*, konkrétně u pralesničky Anthonyovy *Epipedobates anthonyi* (Noble, 1921)

a pralesničky trojbarvé *Epipedobates tricolor* (Boulenger, 1899). Epibatidin je látka velice podobná rostlinnému nikotinu, který se také objevuje v kožních sekretech několika druhů pralesničkovitých i mantelovitých. LD<sub>50</sub> u myši je poměrně vysoká, zhruba 0,4 µg pro jednu myš (Daly et al., 2005). Stejně jako nikotin i tento alkaloid vytváří vazby na nikotinové acetylcholinové receptory v mozku i ve svalech. Této skutečnosti je využíváno v experimentální medicíně a při studiu vazebných míst pro acetylcholin (Hrdina a kol., 2004). Epibatidin se vykazuje vysokou antinociceptivní aktivitou, dokonce až 200krát převyšuje morfin (dle váhy). Tato vlastnost byla impulsem k objasnění struktury, neboť tato látka by mohla být průkopníkem ve výrobě neopioidních analgetik (Kahn et al., 2016). Při experimentech zvyšoval epibatidin lokomoční aktivitu pozorovaných potkanů. Toto zjištění by mohlo vést k vývoji nových léčiv k léčbě neurogenerativních onemocnění. Epibatidin by tak mohl hrát důležitou roli v léčbě Parkinsonovy choroby, Alzheimerovy choroby či eventuálně k terapii Tourettova syndromu, epilepsie, nebo dokonce k léčbě závislosti na nikotinu (Patočka a kol., 2001). Bohužel byla prokázána postupná tolerance, která se může u epibatidinu navodit (Damaj and Martin, 1996). Bohužel díky drastickému ničení přirozeného prostředí jsou žáby využívající tento alkaloid v ohrožení. Dosud nejsou objasněny ani přirozené potravní zdroje, ze kterých pralesničky svou toxicitu získávají (Daly et al., 2005).

Dalšími skupinami alkaloidů jsou indolické alkaloidy, piperidiny, indolizidiny, pyrrolidinové alkaloidy a mnohé další (Hrdina a kol., 2004). Tyto látky tvoří spíše minoritní zastoupení v kožních sekretech žab (Daly et al., 2005).

#### 3.2.4.3.4 Využití domorodými obyvateli

Pralesničkovití jsou známi i pod označení šípové žáby. Jedovaté sekrety jsou využívány domorodými obyvateli. Kromě přímého otírání šipek o těla žab bylo vymyšleno mnoho způsobů k výrobě otrávených šípů a oštěpů. Další možností, jak toxické substance získat, je nabodnutí žáby a její zahřívání nad plameny. Vysoká teplota způsobí exkreci jedovatého sekretu, který je následně odebírán do nádobek. Jiným způsobem je uzavření pralesničky do duté bambusové tyče a opět je vlivem tepla a stresu vylučován jed. Ten je poté smísen s rostlinnými výtažky a zahuštěn (Kůrka a Pflieger, 1984).

### 3.2.5 Ocasatí

Řád ocasatých je v porovnání s řádem žab co do počtu druhů skromnějším řádem, který zahrnuje zhruba 9 % všech žijících obojživelníků. Ke dnešnímu dni (2.2.2017) je evidováno v datábazi amphibiaweb 695 druhů ocasatých obojživelníků. Toto zastoupení je členěno do 10 čeledí a 68 rodů (amphibiaweb.org, 2017). Obecně je tento řád charakterizovaný protáhlým tělem, přítomností ocasu ve všech vývojových stádiích atd. Tento řád je velmi rozličný ve velikosti těla dospělých zvířat. Průměrná velikost je poměrně malá, pohybující se okolo 15-20 cm, avšak zástupci čeledi velemlokovitých Cryptobranchidae mohou dorůstat délky přibližně 150 cm. Území obývané ocasatými obojživelníky zaujímá takřka výhradně severní polokouli. Výjimku tvoří čeleď mločikovitých Plethodontidae, která má velmi rozsáhlý a rozmanitý areál, linoucí se od jižní Kanady po tropickou oblast Jižní Ameriky. Nutno podotknout, že tato čeleď je také druhově nejpestřejší čeledí ocasatých obojživelníků (Gaisler a Zima). V České republice se aktuálně můžeme setkat s osmi druhy ocasatých ze stejné čeledi mlokovitých Salamandridae (Zwach, 2013).

Spolu s chemickou obranou byla u několika druhů ocasatých obojživelníků pozorována i obrana fyzická. Vedle obranných postojů a zbarvení kůže dokáží někteří ocasatí, například španělský druh žebrovníka Waltlova *Pleurodeles waltl* Michahelles, 1830 vytočit svá žebra až o 65° a ostrými konci poruší kůži v místě výstupu. Žebra v případě napadení vystupují ze stran trupu jako trny. Vedle nepříjemného pobodání, vystupují žebra zejména v místech vysoké koncentrace granulárních žláz. Sekret tohoto druhu je mléčný a viskózní. Zajímavý je také vysoký obsah antimikrobiálních peptidů, který slouží jako obrana proti infekci, která je častým jevem po porušení kontinuity kůže vystupujícími žebry (Heiss et al., 2010).

#### 3.2.5.1 Kůže a kožní žlázy s vnější sekrecí

Kůže ocasatých je opět protkána žlázami s vnější sekrecí. Ty plní opět stejné funkce jako u řádu žab; udržují kůži vlhkou, pomáhají dýchání, slouží při reprodukci atd. Důležitá je i obranná funkce, kdy sekrety z kožních žláz chrání živočicha před predátory i před různými patogeny. Kůže v defenzivních strategiích ocasatých, kromě vylučování branných látek, slouží zejména jako maskování, nebo naopak výstražné upozornění. Mnoho ocasatých je aposematicky zbarveno, například evropský zástupce mlok skvrnitý *Salamandra salamandra* (Linnaeus, 1758) dává najevo svou toxicitu kombinacemi intenzivní žluté barvy na černém podkladě. Relativně nízká toxicita u tohoto druhu, která dokáže způsobit zvracení či nevolnost,

neusmrtí predátora, avšak tato zkušenost vede k naučení vyhýbání se kontaktu při příštím setkání s podobně zbarveným živočichem (Zug and Wiens, 1993).

Granulární, neboli jedové žlázy produkují sekrety obsahující toxiny. Tyto žlázy jsou rozmístěny roztroušeně po celém těle, nebo se shlukují do kožních žlázových útvarů. Vedle obrany těla mohou mít kožní sekrety další funkce. U axolotla dlouhoprstého *Ambystoma macrodactylum* Baird, 1849 bylo pozorováno vyměšování proteinů z kaudálních granulárních žláz. Tyto výměšky neobsahují mukózu, tuky či polysacharidy. Nárazovým požitím mohou způsobit intoxikaci nahromaděným proteinem. Tyto sekrety mají funkci během období hladovění, kdy axolotl pojídá tyto látky, ze kterých čerpá energii a důležité látky (Williams and Larsen, 1986).

### 3.2.5.2 Mlok skvrnitý *Salamandra salamandra*

Mlok skvrnitý je nejrozšířenější evropský druh, vyskytující se v několika podruzích. Pro tento druh je typické výrazné zbarvení vypovídající o toxicitě daného jedince. V České republice je největší ocasatý obojživelník, dosahující v dospělosti velikosti od 10-17 cm. Samice bývají větší a robustnější, dosahující až 22 cm (Zwach, 2013).

Jedové žlázy u mloka skvrnitého jsou rozmístěny po celém těle. Největší a nejvýznamnější jsou koncentrovány na temeni hlavy za očnicemi. Téměř ve všech zaznamenaných případech měly tyto parotidy žluté zbarvení. Další menší žlázy jsou umístěny v řadách na hřbetu těla (viz. obr. č. 12). Granulární žlázy jsou u mloka skvrnitého vyvinuté nejvíce ze všech druhů (Kůrka a Pflieger, 1984).



Obrázek č. 12: Rozmístění kožních jedových žláz u mloka skvrnitého *Salamandra salamandra* (převzato z Zwach, 2013).

Vylučovaný sekret je bělavé barvy, lepkavý, hustý a je provázen velmi aromatickou vůní. Hlavní složku tohoto jedovatého sekretu tvoří steroidní alkaloidy, zejména samandarin, samandaron, samandaridin. Jejich koncentrace je největší zejména v kůži, dále pak v játrech, gonádách, vajíčkách atd. Larvy jsou bez prosté přítomných alkaloidů. Je zajímavé, že v rámci poddruhů se hlavní účinná složka mění (Kůrka a Pflieger, 1984). Při kontaktu s kůží může způsobovat kožní sekret mloka skvrnitého lokální reakce. U lidí vyvolává palčivý pocit na sliznici či při zasažení očí může způsobit nepříjemné záněty spojivky (Hrdina a kol., 2004).

Samandarin má vliv na činnost centrální nervové soustavy, přičemž je schopen poškozovat důležitá centra, zejména dechové centrum. Dále jeho intoxikaci provází paralýza svalů, nepravidelná činnost srdce, neklid a další zdravotní problémy. Tato složka může působit i anesteticky. Samandarin byl nalezen také v kožních sekretech některých žab, konkrétně u australské paropuchy corroboree *Pseudophryne corroboree* Moore, 1953 (Hrdina a kol., 2004). LD<sub>50</sub> u myši je přibližně 1500 µg na 1 kg hmotnosti (Mann, 1996).

Granulární žlázy mloka skvrnitého jsou obaleny v příčně pruhované svalovině. Díky tomuto jsou mloci v případě ohrožení schopni vystříknout jedovatý sekret (viz. obr. č. 13) na predátora velmi vysokou rychlostí (více než 3 m/s) na poměrně velkou vzdálenost (0,5 – 2 m). Během stimulace pomocí elektrického proudu byl sekret vystříknut až na 4 metry. Sekret je vypuzen kontrakcí okolního svalstva, během experimentů se tak dělo pouze u zvířat při vědomí. Díky svalovině není nutná externí komprese na vypuzení sekretů. Podobná schopnost byla vytvořena napříč mnoha živočišnými taxony, například u členovců, plazů či dokonce i savců. (Brodie JR. and Smatresk, 1990).



Obrázek č. 13: Vypuzení jedovatého sekretu mloka skvrnitého *Salamandra atra* (převzato z Brodie JR and Smatresk, 1990).

### 3.2.5.3 Rod taricha

Tarichy jsou velmi jedovatí ocasatí obojživelníci obývající území severní Ameriky. Dorůstají délky přibližně okolo 20 cm a jsou tmavě krypticky zbarveny na dorzální části těla. Břicho je zbarveno výrazně aposematicky, což dovoluje tarichám v případě napadení zaujmout pozici, ve které jsou nehybně křečovitě stočeny a obnažují své zářivě zbarvené části těla (viz. obr. č. 14). Dávají tak potencionálnímu predátorovi najevo svou toxicitu (Johnson and Brodie JR, 1975).



Obrázek č. 14: Obranný postoj tarichy zrnité *Taricha granulosa* (převzato z <http://www.californiaherps.com/salamanders/pages/t.granulosa.html>).

Rod taricha *Taricha* je velmi zajímavý taxon, u kterého byl v kožních výměšcích nalezen tarichotoxin. Alkaloid totožný s extrémně toxickým tetrodotoxinem. Nejznámější živočichové využívající tetrodotoxin jsou čtverzubci, hlavonožci, dokonce i u další skupiny obojživelníků (rod atelopus) a další. Tarichotoxin- tetrodotoxin působí neurotoxicky, svým účinkem blokuje sodíkové kanály. Více o působení tetrodotoxinu je popsáno v předcházející kapitole (**viz.** ).

Tarichotoxin byl izolován z vajíček, embryí i dospělých jedinců mnoha druhů z rodu taricha. Toxicita samic přímo odpovídá toxicitě vajíčkům, která naklade, přičemž velikost jednotlivých vajíček nehraje roli (Hanifin et al., 2003). Separovaný jed v množství 0,5 mg je schopen usmrtit 70 kg člověka, pokud je jed vpraven do organismu přímo do oběhového systému (Mosher et al., 1964).

Užovka proužkovaná *Thamnophis sirtalis* (Linnaeus, 1758) loví tarichu zrnitou. Aby u ní nedošlo k intoxikaci tetrodotoxinem, byla u užovky vyvinuta rezistence proti tomuto toxinu. Jed je uchovávan v játrech, dokonce i měsíc po pozření jedné tarichy. Přibližně tři týdny po

pozření jedné tarichy zrnité *Taricha granulosa* (Skilton, 1849) obsahuje hadí organismus přibližně 42  $\mu\text{g}$  tetrodotoxinu v játrech (Williams et al., 2004). Ovšem i nadměrně velké množství pozřeného toxinu může být pro užovku proužkovanou smrtelné. Dle studie Williamse a kol. (2010) jsou pozřeny právě ty tarichy, které mají ve své kůži přibližně  $1,72 \pm 1,25$  mg tetrodotoxinu na 1 gram kůže. Naopak odmítnuty byly tarichy, jejichž kůže obsahovala  $4,55 \pm 4$  mg tetrodotoxinu na 1 gram kůže.



## 4 Závěr

Cílem této práce byl stručný ucelený přehled toxicity napříč taxony obojživelníků, s výběrem nejvýznamnějších skupin a jejich podrobnějším rozebráním. Obojživelníci jsou neuvěřitelně přizpůsobivou skupinou živočichů, která osídlila takřka všechny biotopy. Stejně jako nástrahám velkého množství přírodních podmínek, musí tato třída čelit i hrozbám rozličného množství predátorů, vůči kterým si v průběhu evoluce obojživelníci osvojili velké množství obranných mechanismů. Vedle zbarvení a různých postojů je velmi významnou obrannou strategií i jedovatý potenciál látek vylučovaných kožními žlázami. Ty se tvoří v granulárních neboli jedových žlázách v kůži obojživelníků. Mnoho látek je výsledkem metabolismu v jejich tělech, avšak několik významných složek je možno získat pouze z konkrétní potravy. Nejenom obojživelníci si v průběhu evoluce vytvořili toto přebírání toxicity, dokonce i u několika druhů hadů jsou jedovaté složky získávány z potravy tvořené jedovatými obojživelníky. Bohužel při hledání zdrojů k vytvoření této práce nebyl nalezen jediný zdroj potvrzující či vyvracející toxicitu u řádu červorů.

Funkce kožních sekretů není jen v obraně proti potencionálním predátorům, ale významná je i jejich antimikrobiální funkce, která dokáže tělo účinně chránit proti virům, bakteriím, prvokům i houbám. Potenciálním využitím těchto složek by mohlo být v budoucnu vyvinutí nových druhů antibiotik, antivirotik či protiplísňových léčivých přípravků. Další složky sekretu obojživelníků tvoří látky mající vliv na činnost srdce nebo centrální nervové soustavy. I u těchto látek je studováno jejich možné využití ve farmacii či medicíně. Mnoho látek extrahovaných z obojživelníků by tak mohlo sloužit jako analgetika nebo dokonce léky bojující proti neurodegenerativním chorobám.

Bohužel je v současné době celosvětová populace obojživelníků na ústupu. Vinou plísňového onemocnění, proti kterému jsou i antimikrobiální sekrety obojživelníků neúčinné. Vedle této epidemie je největší hrozbou obojživelníků člověk. Díky rychlosti, jakou devastuje přirozené prostředí obojživelníků, již mnoho druhů nenávratně zmizelo a mnohým hrozí stejný osud.



## 5 Seznam použité literatury

Albuquerque, E. X., Warnick, J. E., Sansone, F. M., Daly, J. 1973. The pharmacology of batrachotoxin. V. A comparative study of membrane properties and the effect of batrachotoxin on sartorius muscles of the frogs *Phylllobates aurotaenia* and *Rana pipiens*. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 184 (2). 315-329.

AmphibiaWeb. [Online]. Berkeley. [ cit. 2017-2-2]. Dostupné z: <<http://www.amphibiaweb.org>>.

Anděl, P. 2011. Ekotoxikologie, bioindikace a biomonitoring. Evernia. Liberec. 243 s. ISBN 9788090378797.

Antoniazzi, M. M., Neves, P. R., Mailho-Fontana, P. L., Rodrigues, M. T., Jared, C. 2013. Morphology of the parotoid macroglands in *Phyllomedusa* leaf frogs. *Journal of Zoology*. 291 (1). 42-50.

Basir, Y. J., Knoop, F. C., Dulka, J., Conlon, J. M. 2000. Multiple antimicrobial peptides and peptides related to bradykinin and neuromedin N isolated from skin secretions of the pickerel frog, *Rana palustris*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*. 1543 (1). 95-105.

Bereiter-Hahn, J., Matoltsy, A. G., Richards, K. S. 1986. *Biology of the Integument 2 Vertebrates*. Springer-Verlag. Berlin. p. 855. ISBN: 9783662009895.

Boháč, J. 1999. Organismy jako bioindikátory měnícího se prostředí. *Životné prostredie*. 33 (3). 126-129.

Brodie, E. D. 1977. Hedgehogs use toad venom in their own defence. *Nature*. 268. 627-628.

Brodie JR, E. D., Smatresk, N. J. 1990. The antipredator arsenal of fire salamanders: spraying of secretions from highly pressurized dorsal skin glands. *Herpetologica*. 46 (1). 1-7.

Cannatella, B., Graybeal, A. 2008. The Tree Of Life Web Project [Online]. Austin. 29. listopadu 2008. [ cit. 2017-2-2]. Dostupné z: <<http://tolweb.org/Anura/16963>>.

Cei, J. M., Erspamer, V., Roseghini, M. 1972. Biogenic amines: Evolution in the genus *Bufo*. University of Texas Press. 233-243.

Clarke, B. T. 1997. The natural history of amphibian skin secretions, their normal functioning and potential medical applications. *Biological Reviews*. 72 (3). 365-379.

Clarke, B. 2004. Oboživelníci. Fortuna Print. Praha. 64 s. ISBN 8073210444.

Daly, J. W., Myers, Ch. W., Whittaker, N. 1987. Further classification of skin alkaloids from neotropical poison frogs (*Dendrobatidae*), with a general survey of toxic/noxious substances in the amphibia. *Toxicon*. 25 (10). 1023- 1095.

Daly, J. W., Gusovsky, F., Myers, C. W., Yotsu-Yamashita, M., Yasumoto, T. 1994. First occurrence of tetrodotoxin in a dendrobatid frog (*Colostethus inguinalis*), with further reports for the bufonid genus *Atelopus*. *Toxicon*. 32 (3). 279-285.

Daly, J. W. 1995. The chemistry of poisons in amphibian skin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 92 (1). 9-13.

Daly, J. W., Padgett, W. L., Saunders, R. L., Cover, J. F. 1997. Absence of tetrodotoxins in a captive-raised riparian frog, *Atelopus varius*. *Toxicon*. 35 (5). 705-709.

Daly, J. W., Garraffo, H. M., Spande, T. F., Clark, V. C., Ma, J., Ziffer, H., Cover, J. F. 2003. Evidence for an enantioselective pumiliotoxin 7-hydroxylase in dendrobatid poison frogs of the genus *Dendrobates*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 100 (19). 11092-11097.

Daly, J. W., Spande, T. F., Garraffo, H. M. 2005. Alkaloids from amphibian skin: a tabulation of over eight-hundred compounds. *Journal of Natural Products*. 68 (10). 1556-1575.

Damaj, M. I., Martin, B. R. 1996. Tolerance to the antinociceptive effect of epibatidine after acute and chronic administration in mice. *European journal of pharmacology*. 300 (1-2). 51-57.

Darst, C. R., Menéndez-Guerrero, P. A., Coloma, L. A., Cannatella, D. C. 2004. Evolution of dietary specialization and chemical defense in poison frogs (Dendrobatidae): a comparative analysis. *The American Naturalist*. 165 (1). 56-69.

Das, M., Mallick, B. N., Dasgupta, S. C., Gomes, A. 2000. A sleep inducing factor from common Indian toad (*Bufo melanostictus*, Schneider) skin extract. *Toxicon*. 38 (9). 1267-1281.

Diesener, G. 2003. *Obojživelníci a plazi*. Knižní klub. Praha. 160 s. ISBN 8024210177.

Doležilková, I., Macková, M., Macek, T. 2011. Antimikrobiální peptidy: Vztah mezi jejich strukturou a antibakteriální aktivitou. *Chemické listy*. 105. 346-355.

Duellman, W. E., Trueb, L. 1994. *Biology of Amphibians*. Johns Hopkins University Press. Baltimore. p. 670. ISBN 9780801847806.

Dumbacher, J. P., Wako, A., Derrickson, S. R., Samuelson, A., Spande, T. F., Daly, J. W. 2004. Melyrid beetles (Choresine): a putative source for the batrachotoxin alkaloids found in poison-dart frogs and toxic passerine birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 101 (45). 15857-15860.

Dumbacher, J. P., Menon, G., Daly, J. W. 2009. Skin as a toxin storage organ in the endemic New Guinean genus *Pitohui*. *The Auk*. 126 (3). 520- 530.

Erspamer, V. 1971. Biogenic amines and active polypeptides of the amphibian skin. *Annual review of pharmacology*. 11 (1), 327-350.

Fisher, M. C., Garner, T. W. J., Walker, S. F. 2009. Global emergence of *Batrachochytrium dendrobatis* and amphibian chytridiomycosis in space, time and host. *The annual review of microbiology*. 63. 291-310.

Frost, D. 2017. *Amphibian Species of the world: an Online Reference* [Online]. New York. 2. února 2014. [ cit. 2017-2-2]. Dostupné z: <<http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/index.php//Amphibia>>.

- Gaisler, J., Zima, J. 2007. *Zoologie obratlovcu*. Academia. Praha. 696 s. ISBN 9788020014849.
- Garg, A. D., Hippargi, R. V., Gandhare, A. N. 2008. Toad skin-secretions: potent source of pharmacologically and therapeutically significant compounds. *Internet J Pharmacol.* 5 (2). 17.
- Grant, T., Frost, D. R., Caldwell, J. P., Gagliardo, R., Haddad, C. F. B., Kok, P. J. R., Means, D. B., Noonan, B. P., Schargel, W. E., Wheeler, W. C. 2006. Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia: Athesphatanura: Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History.* 299. 1-262.
- Habermehl, G. 1981 *Venomous animals and their toxins*. Springer-Verlag. New York. 195. ISBN 9780387107806.
- Hagen, N. A., Fisher, K. M., Lapointe, B., du Souich, P., Chary, S., Moulin, D., Sellers, E., Ngoc, A. H. 2007. An open-label, multi-dose efficacy and safety study of intramuscular tetrodotoxin in patients with severe cancer-related pain. *Journal of pain and symptom management.* 34 (2). 171-182.
- Halliday, T., O'Shea, M. 2005. *Plazi a obojživelníci*. Knižní klub. Praha. 256 s. ISBN 8024214156.
- Hanifin, C. T., Brodie, E. D., Brodie, E. D. 2003. Tetrodotoxin levels in eggs of the rough-skin newt, *Taricha granulosa*, are correlated with female toxicity. *Journal of chemical ecology.* 29 (8). 1729-1739.
- Hayes, R. A., Crossland, M. R., Hagman, M., Capon, R. J., Shine, R. 2009. Ontogenetic variation in the chemical defenses of cane toads (*Bufo marinus*): toxin profiles and effects on predators. *Journal of chemical ecology.* 35 (4). 391-399.
- Heiss, E., Natchev, N., Salaberger, D., Gumpenberger, M., Rabanser, A., Weisgram, J. 2010. Hurt yourself to hurt your enemy: new insights on the function of the bizarre antipredator mechanism in the salamandrid *Pleurodeles waltl*. *Journal of Zoology.* 280 (2). 156-162.

Hodgson, E. 2004. A textbook of modern toxicology. 3rd edition. John Wiley. Hoboken, N.J. p. 582. ISBN 047126508X.

Hong, Z., Chan, K., Yeung, H. W. 1992. Simultaneous Determination of Bufadienolides in the Traditional Chinese Medicine Preparation, Liu-She-Wan, by Liquid Chromatography. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 44 (12). 1023-1026.

Horák, J., Linhart, I., Klusoň, P. 2004. Úvod do toxikologie a ekologie pro chemiky. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. 187 s. ISBN 807080548X.

Hrdina, V., Hrdina, R., Jahodář, L., Martinec, Z., Měrka, V. 2004. Přírodní toxiny a jedy. Galén. Praha. 302 s. ISBN 8072622560.

Hutchinson, D. A., Mori, A., Savitzky, A. H., Burghardt, G. M., Wu, X., Meinwald, J., Schroeder, F. C. 2007. Dietary sequestration of defensive steroids in nuchal glands of the Asian snake *Rhabdophis tigrinus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 104 (7). 2265-2270.

Jabor, A. 2008. Vnitřní prostředí. Grada. Praha. 560 s. ISBN 9788024712215.

Jared, C., Mailho-Fontana, P. L., Antoniazzi, M. M., Mendes, V. A., Barbaro, K. C., Rodrigues, M. T., Brodie, E. D. 2015. Venomous frogs use heads as weapons. *Current biology*. 25 (16). 2166-2170.

Jing, Y., Watabe, M., Hashimoto, S., Nakajo, S., Nakaya, K. 1993. Cell cycle arrest and protein kinase modulating effect of bufalin on human leukemia ML1 cells. *Anticancer research*. 14 (3). 1193-1198.

Johnson, J. A., Brodie JR, E. D. 1975. The selective advantage of the defensive posture of the newt, *Taricha granulosa*. *American Midland Naturalist*. 139-148.

Kahn, T. R., La Marca, E., Lotters, S., Brown, J. L., Twomey, E., Amézquita, A. 2016. Aposematic Poison Frogs (Dendrobatidae) of the Andean Countries: Bolivia, Colombia,

Ecuador, Perú and Venezuela. Conservation International. Bogotá. p. 588. ISBN: 9781934151273.

Komárek, S. 2004. Mimikry, aposematismus a příbuzné jevy. Dokořán. Praha. 192 s. ISBN 8086569721

Kůrka, A., Pflieger, V. 1984. Jedovatí živočichové. Academia. Praha. 168 s. ISBN 2109284.

La Marca, E., Lips, K. R., Lötters, S., Puschendorf, R., Ibáñez, R., Rueda-Almonacid, J. V., García- Pérez, J. E., Rueda-Almonacid, J. V., Schulte, R., Marty, Ch., Castro, F., Manzanilla-Puppo, J., Bolanos, F., Chaves, G., Pounds, A., Toral, E., Young, B. E. 2005. Catastrophic population declines and extinctions in Neotropical harlequin frogs (Bufonidae: Atelopus) 1. *Biotropica*. 37 (2). 190-201.

Latham, M. 1966. Capturing strange creatures in Colombia. *National Geographic*. 129 (5). 682-693.

Leimar, O., Enquist, M., Sillen- Tullberg, B. 1986. Evolutionary stability of aposematic coloration and prey unprofitability: A theoretical analysis. *The American Naturalist*. 128 (4). 469-490.

Linhart, I. *Toxikologie: interakce škodlivých látek s živými organismy, jejich mechanismy, projevy a důsledky*. 2014. 2. upravené a rozšířené vydání. Praha. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. 410 s. ISBN 9788070808771.

Macfoy, C., Danosus, D., Sandit, R., Jones, T. H., Garraffoc, H. M., Spande, T. F., Daly, J. W. 2005. Alkaloids of anuran skin: antimicrobial function. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 60 (11-12). 932-937.

Mailho-Fontana, P. L., Antoniazzi, M. M., Toledo, L. F., Verdade, V. K., Sciani, J. M., Barbaro, K. C., Pimenta, D. C., Rodriguez, M. T., Jared, C. 2013. Passive and active defense in toads: The parotoid macroglands in *Rhinella marina* and *Rhaebo guttatus*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*. 321 (2). 65-77.

- Mann, J. 1996. Jedy, drogy, léky. Academia. Praha. 208 s. ISBN 8020005080.
- Mappes, J., Marples, N., Endler, J. A. 2005. The complex business of survival by aposematism. *Trends in Ecology and Evolution*. 20 (11). 598-603.
- Matouš, B. 2010. *Základy lékařské chemie a biochemie*. Galén. Praha. 540 s. ISBN 9788072627028.
- Mebs, D. 2001. Toxicity in animals: Trends in evolution? *Toxicon*. 39 (1). 87-96.
- Moravec, J. 1999. Obojživelníci, plazi: želvy, krokodýli, haterie, ještěři, dvouplazi, hadi, ocasatí, červoři, žáby. Albatros. Praha. 183 s. ISBN 8000007193.
- Mosher, H. S., Fuhrman, F. A., Buchwald, H. D., Fischer, H. G. 1964. Tarichatoxin-tetrodotoxin: a potent neurotoxin. *Science*. 144 (3622). 1100-1110.
- Noguchi, T., Onuki, K., Arakawa, O. 2011. Tetrodotoxin poisoning due to pufferfish and gastropods, and their intoxication mechanism. *ISRN toxicology*, 2011. 1-10.
- Palumbo, N. E., Perri, S., Read, G. 1975. Experimental induction and treatment of toad poisoning in the dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 167 (11). 1000-1005.
- Patočka, J., Schwanhaeuser, K. W., Marini-Palomeque, M. V. 2001. Epibatidine and analogs – new trends in the development of cognitive enhancers and strong analgetics. *Vojenské Zdravotní Listy*. 70 (1). 33-38.
- Patočka, J. 2004. *Vojenská toxikologie*. Grada. Praha. 180 s. ISBN 8024706083.
- Patočka J. Panamská "zlatá žába" a její jed - zetekitoxin [online]. *Toxicology*. 18. září 2007. [cit. 2017-02-17]. Dostupné z <<http://toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=133>>.

Patočka J. Chlupáč dlouhosrstý – záhada s jeho jedovatostí vyřešena [online]. Toxicology. 6. listopadu 2011. [cit. 2017-02-02]. Dostupné z <<http://www.toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=519>>.

Pitchmann, V., Haláček E., Koblíha Z. 2001. Boj ohněm, dýmem a jedy: nejstarší historie vojenského použití chemických a zápalných látek a vznik moderní chemické války. Military System Line. Kounice. 178 s. ISBN 8090266924.

Pool, T. B., Dent, J. N. 1977. The ultrastructure and the hormonal control of product synthesis in the hedonic glands of the red-spotted newt *Notophthalmus viridescens*. Journal of Experimental Zoology. 201 (2). 177-201.

Pramuk, J. B., Robertson, T., Sites, J. W., Noonan, B. P. 2008. Around the world in 10 million years: biogeography of the nearly cosmopolitan true toads (Anura: Bufonidae). Global Ecology and Biogeography. 17 (1). 72-83.

Prates, I., Antoniazzi, M. M., Sciani, J. M., Pimenta, D. C., Toledo, L. F., Haddad, C. F. B., Jared, C. 2012. Skin glands, poison and mimicry in dendrobatid and leptodactylid amphibians. Journal of morphology. 273 (3). 279-290.

Prokeš, J. 2005. Základy toxikologie: obecná toxikologie a ekotoxikologie. Galén. Praha. 248 s. ISBN 807262301X.

Regueira, E., Dávila, C., Hermida, G. N. 2016. Morphological changes in skin glands during development in *Rhinella Arenarum* (Anura: Bufonidae). The Anatomical Record. 299 (1). 141-156.

Roseghini, M., Erspamer, G. F., Severini, C., Simmaco, M. 1989. Biogenic amines and active peptides in extracts of the skin of thirty-two European amphibian species. Comparative Biochemistry and Physiology. 94 (2). 455-460.

Sakate, M., Oliveira, P. L. D. 2000. Toad envenoming in dogs: effects and treatment. Journal of Venomous Animals and Toxins. 6 (1). 52-62.



- Saporito, R. A., Spande, T. F., Garraffo, H. M., Donnelly, M. A. 2009. Arthropod alkaloids in poison frogs: a review of the dietary hypothesis. *Heterocycles*. 79 (1). 277-297.
- Shindelman, J., Mosher, H. S., & Fuhrman, F. A. 1969. Atelopitoxin from the Panamanian frog, *Atelopus zeteki*. *Toxicon*. 7 (4). 315-319.
- Shine, R., Greenlees, M., Crossland, M., Nelson, D. 2009. The myth of the toad-eating frog. *Frontiers in Ecology and the Environment*. 7 (7). 359-361.
- Steyn, P. S., van Heerden, F. R. 1998. Bufadienolides of plant and animal origin. *Natural Product Reports*. 15 (4). 397-413.
- Stone, T. W., Darlington G. 2003. *Léky, drogy, jedy*. Academia. Praha. 440 s. ISBN 8020010653.
- Summers, K., Clough, M. E. 2001. The evolution of coloration and toxicity in the poison frog family (Dendrobatidae). *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 98 (11). 6227-6232.
- Tiwari, L., Pande, P. C. 2004. Traditional veterinary practices in south-eastern part of Chamoli district, Uttaranchal. *Indian Journal of Traditional Knowledge*. 3 (4). 397-406.
- Toledo, R. C., Jared, C. 1989. Histologic study of the lumbar glands of *Pleurodema thaul* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Revista brasileira de biologia*. 49 (2). 421-428.
- Toledo, R. C., Jared, C. 1995. Cutaneous granular glands and amphibian venoms. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 111 (1). 1-29.
- Wan, Y., Ma, C., Zhou, M., Xi, X., Li, L., Wu, D., Wang, L., Lin, C., Lopez, J. C., Chen, T., Shaw, C. 2015. Phylloseptin-PBa--A Novel Broad-Spectrum Antimicrobial Peptide from the Skin Secretion of the Peruvian Purple-Sided Leaf Frog (*Phyllomedusa Baltea*) Which Exhibits Cancer Cell Cytotoxicity. *Toxins*. 7 (12). 5182-5193.

- Weil, A. T., Davis, W. 1994. Bufo alvarius: a potent hallucinogen of animal origin. Journal of ethnopharmacology. 41 (1-2). 1-8.
- Williams, T. A., Larsen, J. H. 1986. New function for the granular skin glands of the eastern long-toed salamander, *Ambystoma macrodactylum columbianum*. Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology. 239 (3). 329-333.
- Williams, B. L., Brodie, E. D., Brodie, E. D. 2004. A resistant predator and its toxic prey: persistence of newt toxin leads to poisonous (not venomous) snakes. Journal of chemical ecology. 30 (10). 1901-1919.
- Williams, B. L., Hanifin, C. T., Brodie, E. D., Brodie III, E. D. 2010. Tetrodotoxin affects survival probability of rough-skinned newts (*Taricha granulosa*) faced with TTX-resistant garter snake predators (*Thamnophis sirtalis*). Chemoecology. 20 (4). 285-290.
- Yang, N., Li, L., Wu, D., Gao, Y., Xi, X., Zhou, M., Wang, L., Chen, T., Shaw, C. 2016. Discovery of Novel Bacterial Cell-Penetrating Phylloseptins in Defensive Skin Secretions of the South American Hylid Frogs, *Phyllomedusa duellmani* and *Phyllomedusa coelestis*. Toxins. 8 (9). 255.
- You, D., Hong, J., Rong, M., Yu, H., Liang, S., Ma, Y., Yang, H., Wu, J., Lin, D., Lai, R. 2009. The first gene-encoded amphibian neurotoxin. Journal of Biological Chemistry. 284 (33). 22079-22086.
- Zug, G. R., Wiens, J. J. 1993. Herpetology. An introductory Biology of Amphibians and Reptiles. Systematic Biology. 42 (4). 592-595.
- Zwach, I. 2013. Obojživelníci a plazi České republiky. Grada. Praha. 496 s. ISBN 9788024725093.