

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroekologie a biometeorologie



Pavoučí jedy
Bakalářská práce

Autor práce: Markéta Posseltová

Obor studia: ABPS

Vedoucí práce: Mgr. Stanislav Korenko, Ph.D.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Pavoučí jedy" 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 neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21.4.2017 _____

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala svému vedoucímu Mgr. Stanislavovi Korenkovi, Ph.D., za jeho ochotu a trpělivost. Dále pak svým kamarádům Tomáši Klingerovi a Janu Kadlecovi, za pevné nervy při pomáhání překladu odborných medicínských a chemických názvů. Dále pak slečně Michaele Velánové, paní Haně Neradové a panu Stanislavu Macíkovi za nafocení a zapůjčení fotografií a v neposlední řadě děkuji své rodině za nervy a psychickou podporu.

Pavoučí jedy

Souhrn

Pavouci jsou na naší planetě více než 300 milionů let. Za tu dobu si vyvinuly dva nejdůležitější mechanismy, tvorbu jedu a produkci vlákna, které jim pomohly dostat se na vrchol potravního řetězce v říši bezobratlých. Tito převážně carnivorní tvorové vytvářejí ve svých jedových žlázách množství látek, které mají za úkol paralyzovat či zabít kořist. Ačkoliv je hlavní složkou potravy většiny pavouků hmyz, v jedu velké části druhů se objevuje množství toxinů působících i na obratlovce, který může fungovat jak pro lov, tak obranu. Jed pavouků je komplex biologicky aktivních a inaktivních látek. Jeho složení neovlivňuje pouze druh a lovená kořist, ale je dán i faktory jako je například prostředí, klima či pohlaví. Největší zastoupení mají proteiny, enzymy, nukleové kyseliny, volné aminokyseliny, monoaminy a anorganické soli. Složky jedu můžeme rozdělit podle mnoha kritérií, například podle délky a složitosti.

Komponenty s nízkou molekulovou hmotností, jako jsou například soli, karbohydráty a aminokyseliny, mají za úkol blokovat neuromuskulární spoje jak hmyzu, tak obratlovců. Lineární peptidy, které mají hlavně cytolytický efekt, zajišťují samotným neurotoxinům rychlejší průnik do těla. Pravděpodobně mají nejen přímou toxickou aktivitu, ale i funkci antimikrobiální a konzervační. Nejdůležitější složkou jsou disulfidické peptidy tvořící neurotoxiny, které se skládají z proteinů, peptidů nebo polyaminů a mají různá pole působnosti v nervovém systému oběti. Velká část disulfidických peptidů napadá presynaptické iontové kanály, nebo postsynaptické receptory na periferních neuromuskulárních spojeních (NMS), nebo v synapsích v centrální nervové soustavě (CNS) hmyzu. Tyto peptidy působí mimo jiné na vápníkové, draslíkové, sodíkové, chloridové a glutamátové kanály, které nejčastěji inhibuje a zabrání tak správné funkci nervového systému. Pavoučí jed má velký farmakologický potenciál, neboť již byly prokázány složky antimalarické, antifungní, antibakteriální a dokonce i protinádorové.

Ačkoliv pavouci vzbuzují hrůzu, většina z nich není pro člověka nijak nebezpečná a k incidentu dochází nejčastěji náhodou, například přimáčknutím pavouka. Ovšem agrese ze strany pavouka hrozí od rodu *Phoneutria* (palovčící), kteří se k nám mohou dostat z Brazílie se zásilkou banánů, a od rodu *Atrax*, který je k nalezení pouze v Austrálii. V Čechách je posledních několik let s kousnutím spojována západnice jedovatá *Cheiracanthium punctorium* (Villers, 1789).

Klíčová slova: pavouci, kořist, specializace, evoluce, rizika jedů

Spider's venoms

Summary

Spiders are on this planet more than 300 million years. During this time, they developed two very important mechanisms, venom and silk secretion, which helps spiders to become the top predator of food chain in the world of invertebrates. Spiders are mostly carnivores and they produce in their venom glands a lot of venom components, which are able to paralyse or kill the prey. Though, their prey is mostly insect, in the venom of many spiders can be found components against vertebrates, which can be used for hunt or as a protection. Spider venom is a product of venom glands and it is a complex of active and inactive compounds. Composition of venom is not influenced only by species and prey capture, but also by environment, climate or sex. Main part of venom are proteins, enzymes, nucleic acids, amino acids, monoamines and organic salts. We can divide venoms into many groups, for example according to length or complexity.

Components with a low molecular weight, such as salts, carbohydrates and amino acids, have the task of blocking neuromuscular connections as insects, vertebrates. Linear peptides, which are mainly cytolytic effect, ensure the actual neurotoxin faster penetration into the body. Probably not only have a direct toxic activity, but also the function of antimicrobial and preservative. The most important component are disulfide peptides forming neurotoxins, which consist of a protein, peptide or polyamine and having a different field of activity in the nervous system of the victim. A large part of the disulfide peptides invades the presynaptic ion channels or postsynaptic receptors on peripheral neuromuscular connections (NMS), or at synapses in the central nervous system (CNS) of insects. These peptides act, inter alia, calcium, potassium, sodium, chloride and glutamate channels, which most often inhibits and prevents the proper function of the nervous system.

Spider venom is a large pharmacological potential, because it has already been demonstrated components of antimalarial, antifungal, antibacterial and even antitumor.

Although spiders inspire terror, most of them not for humans not dangerous and the incident most frequently occurs accidentally, for example stepping spider, however, aggression from the side of the spider threat is from the genus *Phoneutria*, who can get to us from Brazil with a shipment of bananas, and from the genus *Atrax*, which is to be found only in Australia. In the Czech republic is the last few years with the bite associated *Cheiracanthium puncturium* poisonous.

Keywords: spiders, prey, specialization, evolution, venom risks

Obsah

1	Úvod	1
2	Cíl práce	2
3	Přehled literatury	3
3.1	Biologie pavouků	3
3.1.1	Evoluce.....	9
3.2	Lov	10
3.3	Pavoučí jedy	11
3.3.1	Rozdělení.....	13
3.3.2	Komponenty jedu.....	14
3.3.2.1	Komponenty s nízkou molekulovou hmotností.....	14
3.3.2.2	Lineární peptidy.....	15
3.3.2.3	Disulfidické peptidy.....	18
3.3.2.4	Proteinové složky.....	27
3.3.2.5	Toxinové spolky.....	28
3.3.3	Získávání jedu.....	29
3.4	Jedovatí pavouci	30
3.4.1	Rod <i>Latrodectus</i> (snovačky).....	31
3.4.2	Rod <i>Loxosceles</i> (koutníci).....	32
3.4.3	Rod <i>Phoneutria</i> (palovčící).....	34
3.4.4	Rod <i>Atrax</i> (sklípkanci).....	35
3.4.5	Kousnutí pavoukem v ČR a Evropě.....	36
3.4.6	Kousnutí chovatele.....	38
4	Praktická část	39
5	Závěr	40
6	Seznam literatury	41
7	Slovník cizích výrazů a zkratk	44

1 Úvod

Pavouci jsou tvorové vyvolávající u lidí mnoho pocitů. Někteří jsou jimi uchvázeni, někdo se radši drží dále a někdo z nich má vyloženě hrůzu. Není se čemu divit. Nejen, že občas dosahují poměrně velkých rozměrů a jejich nohy mohou působit děsivě, ale jistě nejvíce hrůzostrašné je vědomí, že pavouk je zvíře jedovaté a tedy potenciálně nebezpečné. Jak říká ve své knize Barth (2002), není pavouka bez jedu. Jak v této práci zjistíte, není tomu tak, avšak většina pavouků skutečně využívá svůj jed k přemožení kořisti a k obraně. Díky mnoha specifickým účinkům jedu se pavouci stali předmětem zkoumání ve snaze získat látky, které by mohly lidstvu velmi dobře posloužit. Nejen, že je aktuálně snaha vyvinout novou generaci antibiotik, ale byly prokázány i protinádorové, antifungní a hlavně insekticidní účinky pavoučích jedů. V této práci bude čtenář seznámen s problematikou pavoučích jedů, jejich složením, účinky, případné s využitím ve farmacii a v neposlední řadě se zaměřím i na potenciální nebezpečí pro člověka.

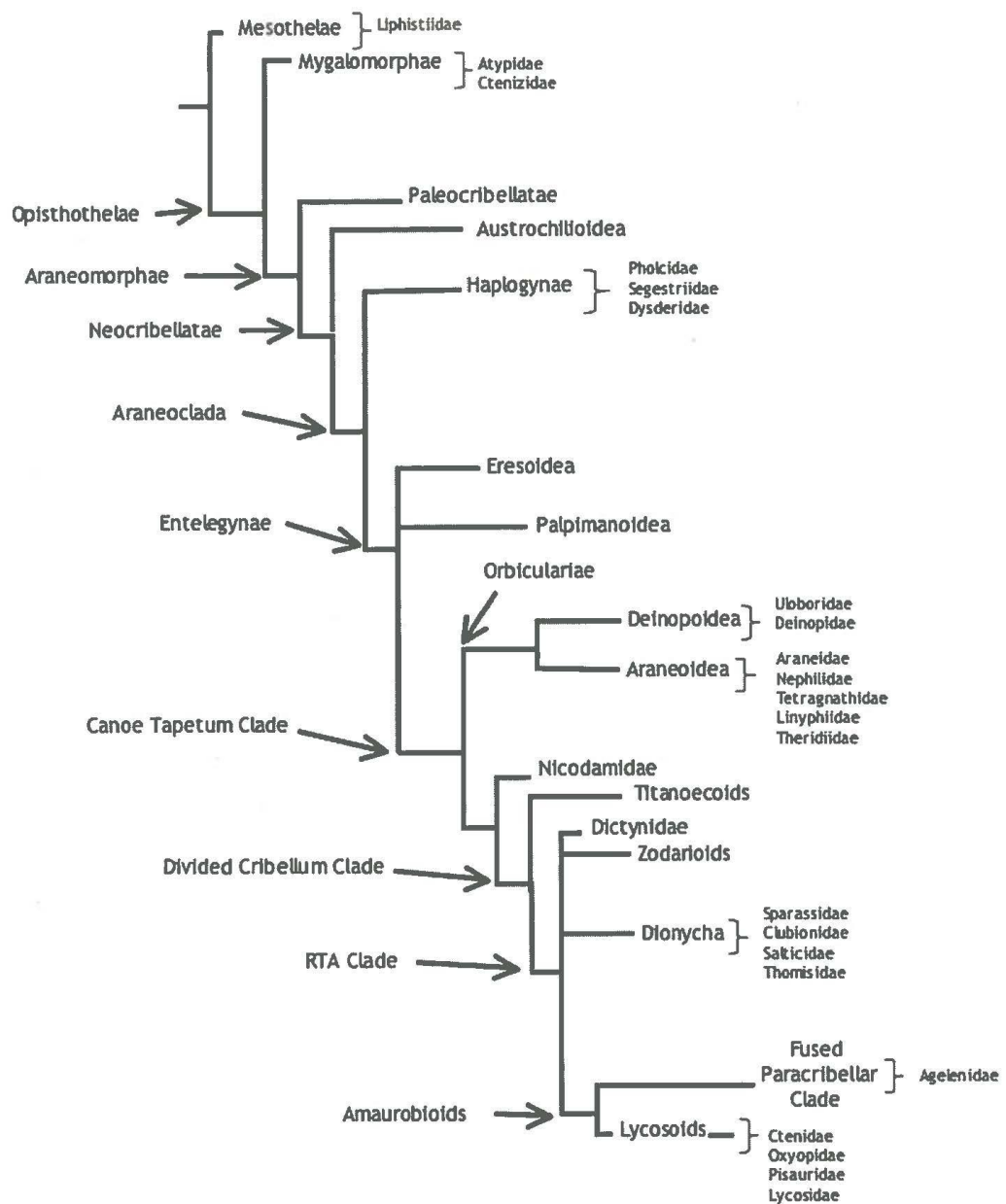
2 Cíl práce

Práce bude vypracována formou literární rešerše. Literární přehled bude zaměřen na poznatky o jedech pavouků, jejich dělení, jejich efektivitu na specializovanou kořist a potencionální nebezpečí pro člověka. Práce má dále za úlohu zpracovat poznatky o možnostech ohrožení člověka uhryznutím pavouka v Evropě.

3 Přehled literatury

3.1 Biologie pavouků

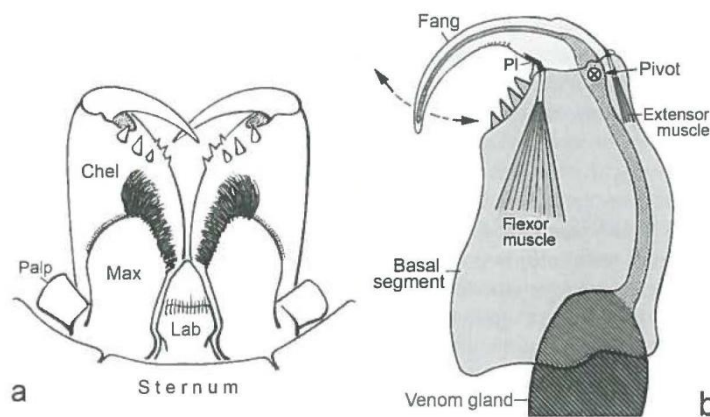
Řád pavouci (Aranae) patří do třídy Arachnida společně s roztoči (Acari), štíry (Scorpiones), sekáči (Opiliones), bičnatci (Thelyphonida), krabovci (Amblypygi), štírenkami (Palpigradi), štirky (Pseudoscorpiones), solifugami (Solifugae) a roztočovci (Ricinulei). Pavouci se dělí na dva podřády, primitivnější Mesothelae (sklípkoši) a více vyvinuté Opisthothelae, který obsahuje dva infrařády, Mygalomorphae (sklípkaní) a Araneomorphae (dvojplícní) (Herberstein, 2011) (viz obrázek č.1).



Obrázek č.1 Rozdělení řádu Aranae (zdroj: Herberstein, 2011)

Nejstarší dochovaná fosilie pavouka se datuje do dob před 300 miliony let, tedy do období Karbonu. Pomineme-li hmyz, pavouci jsou neúspěšnější skupinou bezobratlých na pevnině (Rash & Hodgson, 2001). V současnosti je evidováno 46 650 druhů (WSC, 2017). Pavouky můžete nalézt asi v každé terestické oblasti, od pobřeží k alpínským oblastem, podél lesů, na poušti či v tropickém pralese a jsou k nalezení ve všech úrovních těchto prostředí. Mnoho druhů se dobře adaptovalo k životu poblíž lidí. Většina pavouků není od přírody agresivní či jinak nebezpečná pro člověka. Nicméně je několik druhů zodpovědné za velmi nepříjemná kousnutí často s fatálními následky. Avšak často dojde k incidentům z důvodu obrany či pouhé náhody (Rash & Hodgson, 2001).

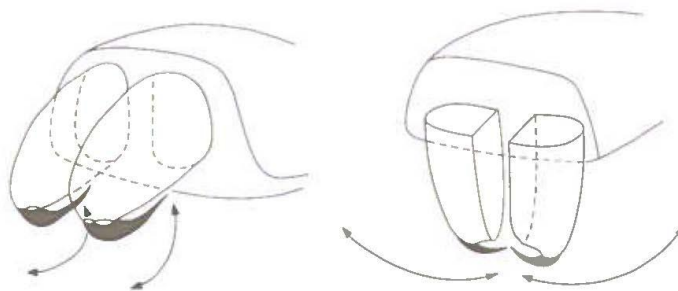
Tělo pavouků se dělí na dvě hlavní části, prosoma (hlavohrud') a opisthosoma (zadeček), které jsou spojené stopkou (Herberstein, 2011). Některé druhy čeledi Linyphiidae nesou na hlavohrudí až bizarní výrůstky, růžky, hrbolky a podobně. V přední části hlavohrudí se nacházejí chelicery složené ze dvou článků. První článek, spojen s hlavohrudí, má kuželovitý či kulovitý tvar a je vždy kloubně spojen s druhým článkem, který je tvořen špičatým zahnutým drápkem. Přední část základního článku je často vybaven řadou malých zoubků, které pomáhají přidržit kořist (Obrtel, 2005) (viz obrázek č.2)



Obrázek č.2: a) ústní části slíďáka z ventrální strany, b) schematický náčrt chelicery, (zdroj Foelix, 2011)

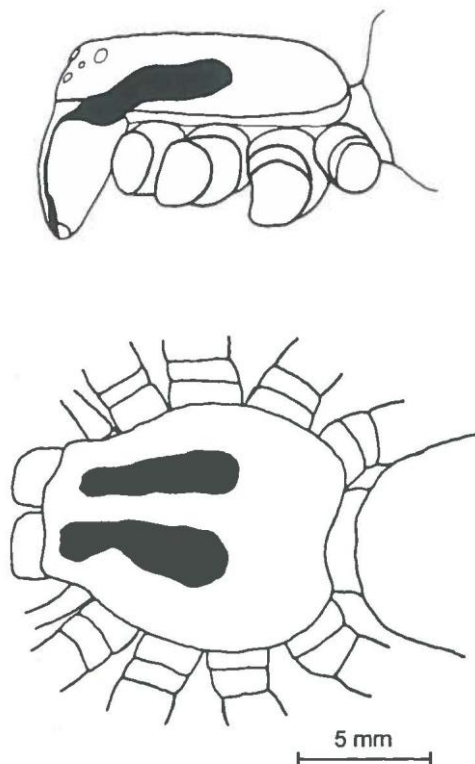
Sklípkoši a sklípkaní mají chelicery namířené dopředu. Ty pracují nezávisle na sobě, každá samostatně. Kořist je chytána do prostoru mezi drápkem a bazálním článkem. Takové chelicery se nazývají ortognátní. Naopak labidognátní chelicery u ostatních pavouků směřují většinou dolů a pracují proti sobě jako kleště (Kůrka a kol., 2015) (viz obrázek č.3). Někteří pavouci, jako například křížáci (čeleď Araneidae), mají chelicery poměrně slabé, ale jejich jed je pro kořist značně neurotoxický a paralyzující. Drápky chelicer jsou u většiny pavouků duté a slouží k aplikaci jedu z jedových žláz, které se nacházejí v základním článku (Obrtel, 2005).

Základní typy chelicer pavouků (vlevo sklípkaní, vpravo vyspělejší čeledi)



Obrázek č.3: Zdroj Motyčka & Roller, 2001

Zvláštností mezi pavouky je čeleď Uloboridae, která se vyznačuje absencí jedové žlázy a ani v drápku chelicer není sebemenší stopa po jejím někdejším vývodu. V této čeledi se nachází zhruba 200 druhů, z nichž většina žije v tropech. Na našem území můžeme nalézt dva zástupce, *Uloborus walckenaerius* Latreille, 1806, který žije na jižní Moravě v okolí Bzence, a *Hyptiotes paradoxus* (pakřížák smrkový, C.L.Koch, 1834), jenž se vyskytuje po celém našem území (Buchar, 1988)



Obrázek č.4: Jedové žlázy u dospělé samice rodu *Cupiennius*, (zdroj: Barth, 2002)

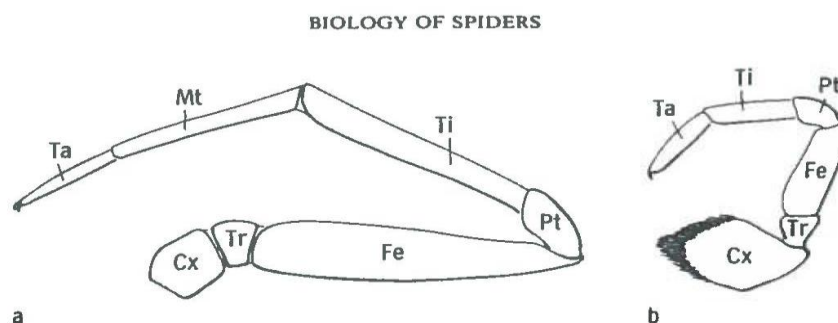
Jak Kůrka a kol. (2015) uvádí, že na povrchu jedových žláz je svalová vrstva zajišťující injekci jedu. U sklípkošů a sklípkanů jsou malé, celé se nacházejí v bazálních člancích

chelicera, u ostatních pavouků jsou jedové žlázy větší a zasahují až do hlavohrudi (viz obrázek č.4). Speciálním případem jsou velké žlázy lepovek (Scytodidae), jejichž jed je produkován pouze v přední části, zadní část vytváří proteiny tvořící jekési lepidlo. Lepovka chytí svou kořist a rychle na ní nanese tento lepivý extrakt, čímž jí zafixuje k zemi, než začne působit jed (Foelix, 1996). Rychle působící jed mají zejména druhy lovcí nebezpečnou kořist, jako jsou například ostníci (Mimetidae) lovcí výlučně jiné pavouky nebo běžníci (Thomisidae) lovcí velký blanokřídlý hmyz se žihadlem. Méně efektivní jed produkují převážně druhy, které znehybňují kořist balením do vláken, například křížáci nebo čelistnatky (Tetragnathidae). U pakřížáků (Uloboridae), kteří jako jediní jed neprodukují, je toto jediným způsobem znehybnění kořisti (Kůrka a kol., 2015).

Sekreční epitel jedových váčků je charakteristický apokrinními buňkami (uvolňuje se i část sekreční buňky), nebo dokonce holokrinními buňkami (dojde k destrukci celé buňky). Přirozeně se tedy musí části buněk vyskytovat v jedu, nicméně jejich funkce v něm doposud není známa (Vassilevski et al., 2009).

Za chelicerami se nachází druhý pár končetin, který je přeměněn na makadla, tedy pedipalpy. Značně připomínají nohy kráčivé, jsou však kratší a jen šestičlankové, chybí u nich předposlední článek zvaný metatarzus (Kůrka a kol., 2015) (viz obrázek č.5). Kyčle pedipalp se směrem k tělu rozšiřují a mezi nimi, na spodní straně hlavohrudi, leží ústní ústrojí (Foelix, 1996).

Samotná makadla napomáhají zorientovat se v prostoru a uchopit kořist. Navíc u dospělých samců jsou na jejich koncovém článku umístěny kopulační orgány. Vedle předání spermií je samci také využívají k detekci samičích feromonů na vláčknech a u druhů s dobrým zrakem (slíd'ák, skákavky) k signalizaci během zasnubních tanců (Kůrka a kol., 2015).



Obrázek č.5: a) kráčivá končetina, b) makadlo (zdroj: Foelix, 2011)

Kromě chelicer a pedipalp mají pavouci ještě 4 páry kráčivých končetin, jejichž délka a vzhled bývají velmi různorodé. Například chránění pavouci rodu *Eresus* (Eresidae) mají nohy krátké a zavalité, podobně jako některé skákavky (Salticidae), naopak dlouhé a tenké nohy mají například třesavky rodu *Pholcus* (Pholcidae) (Obrtel, 2005). Kráčivé končetiny se skládají z kyčle (koxa), předkyčlí (trochanter), stehna (femur), kolene (patela), holeně (tibia) a chodidla, které se ještě dělí na zánártí (metatarsus) a přednártí (tarsus). U všech pavouků je na konci nohy pár většinou hřebenitých drápků, které slouží k zachycení k podkladu.

U pavouků pohybujících se na sítích je navíc mezi těmito drápků hladký drápek, sloužící společně s proti němu stojícími zubatými chlupy k zachycení nohy na vlákne (Kůrka a kol., 2015).

Pavouci mají původně 4 páry očí. Fylogeneticky původní pavouci mají ve středu přední části hlavohrudí pár předních středních očí, zbývající oči jsou uspořádány ve trojicích po stranách hlavohrudí. U odvozených skupin jsou oči často uspořádány do dvou příčných řad, a pak se označují jako přední střední, přední postranní, zadní střední a zadní postranní. Přední střední oči mají odlišnou stavbu od ostatních párů a označují se jako oči hlavní. Slouží zejména k rozeznávání tvarů. Nemají vnitřní reflexní vrstvu, proto se jeví jako černé. U některých skupin mají tyto oči akomodační čočku ovládanou speciálními svaly, které slouží k rozšiřování zorného pole. U skákavek jsou hlavní oči zvětšené, u šestioček, segester, vzokanů a lepovek naopak zcela chybí. Ostatní páry očí se označují jako oči vedlejší. Uvnitř se nachází světlo odrážející vrstva zvaná *tapetum lucidum*. Vedlejší oči jsou většinou citlivější na světlo než oči hlavní (Kůrka a kol., 2015).

Druhy, které slídí po potravě, číhají na rostlinstvu či na květech, mají zrak dobrý. Za zmínku stojí běžníkovití (Thomisidae), jejichž hlavní pár očí se může mírně natáčet a měnit směr pohledu, proto jsou schopni svou přibližující se kořist pozorovat, aniž by museli měnit polohu těla. Běžníci jsou pavouci, kteří číhají na svou kořist na květech rostlin. Mnohá pozorování ukázala, že si jsou schopni zvolit podklad, na kterém budou nehybně čekat, podle zbarvení svého těla. S kvalitou zraku jsou na tom nejlépe skákavkovití (Salticidae). Mají velmi dobré prostorové vidění, díky kterému jsou schopny rychle a přesně skočit na svou kořist a mají schopnost rozpoznávat barvy (Obrtel, 2005).

Jackson & Hallas (2012) udávají, že skákavkovití (Salticidae) mají jeden pár velkých očí směřujících dopředu a 3 páry menších očí, které reagují na pohyb a pomáhají při orientaci v prostoru. Zadní pár očí je podstatně menší a jejich funkce zatím není známá.

Za hlavohrudí se nachází zadeček, který je oddělen štíhlou stopkou (1. zadečkovým článkem), kterou prochází céva, nervy a střevo. V zadečku je umístěna část trávicí, většina

dýchací a oběhové soustavy, vylučovací ústrojí, rozmnožovací orgány a snovací žlázy (Kůrka a kol., 2015).

Dýchání pavouků může mít rovnou několik podob. Nejprimitivnější čeledi, jako jsou Mesothelae (sklípkoši) a Mygalomorphae (sklípkaní), mají dva páry plicních vaků, přičemž mezi prvním párem leží pohlavní otvor (Nentwig, 1987). Plicní vaky jsou tělní dutiny, ve kterých vzduch prochází přes velké množství dýchacích lupínek, které se podobají žábřám a jsou v dutině seskládány tak, aby byla se vzduchem v kontaktu co největší plocha (Obrtel, 2005). Vyspělejší pavouci mají přeměněný nejčastěji druhý pár plicních vaků na síť průdušnic (tracheí), které, u některých druhů, zasahují až do hlavohrudí. Zvláštností je druh *Telema tenella* Simon, 1882, u kterého byli oba dva páry plicních vaků nahrazeny systémem tracheí. Na rozdíl od hmyzu, průdušnice pavouků nepřicházejí do kontaktu s buňkami, tudíž jako hlavní přenašeč kyslíku stále slouží hemolymfa (Nentwig, 1987).

Obrtel (2005) popisuje srdce pavouků jako trubicovitý orgán, který se nachází na hřbetní straně opisthosomy a u mláďat je celkem dobře viditelné jako pulsující skvrna. Trubice se prudce a rytmicky stahuje a vhání hemolymfu do tepny, která prochází stopkou. V hlavohrudí se hemolymfa vylévá a průtokem kolem orgánů je zásobuje kyslíkem. Následně se volně vrací do zadečku k plicním vakům, kde odevzdá oxid uhličitý a znovu naváže kyslík. Po té je opět nasáta otvory v trubicovitém srdci.

Centrální nervová soustava pavouků se nachází v přední části hlavohrudí. Skrz vede jícnem, který ji dělí na část nadjícnovou a podjícnovou. Z horní nadjícnové části (protocerebrum) jsou inervovány oči, z dolní nadjícnové části (tritocerebrum) chelicery, z podjícnové části makadla, nohy a zadeček (Kůrka a kol., 2015).

Trávicí trubice prochází celou hlavohrudí i zadečkem. Začíná ústním otvorem, který se nachází na ventrální straně hlavohrudí mezi kyčlemi pedipalp a pokračuje hltanem, jícnem a žaludkem. Všechny tyto části, které jsou spojeny se svaly, slouží k nasávání tekuté potravy, která následně putuje do střeva a dostává se do zadečku, kde se střevo rozvětňuje na několik laloků a zde probíhá samotné trávení. Trávicí šťávy, které se zde tvoří, se dostávají zpět až do dutiny ústní, odkud je pavouk aplikuje do své kořisti. Na konci zadečku se nachází dutina, kam ústní střevo a malpighické trubice, hromadí se zde odpadní látky vzniklé trávením. Tato dutina se nazývá kloaka a vyúsťuje řitním otvorem, který je situován na hrbolku těsně nad snovacími bradavkami (Obrtel, 2005).

Hlavním orgánem pro vylučování jsou malpighické trubice, párové trubicovité vychlípeniny na zadním konci střeva ústící do kloaky (Kůrka a kol., 2015).

Obrtel (2005) tvrdí, že žádný sluchový orgán u pavouků zatím nebyl prokázán. Existuje domněnka, že pavouci jsou schopni vnímat zvuky pomocí trichobotrií, což jsou velmi jemné a dlouhé vláskovité brvy, které mají pavouci na nohách. Trichobotrie jsou do pokožky zasazené kolmo k povrchu nohy a tkví ve zvláštních pohárkovitých prohlubních, ve kterých se nachází velké množství nervových zakončení. Tyto smyslové chloupky se vyskytují převážně na nohách a makadlech, a jsou velmi citlivé na vibrace o frekvenci 40-600 Hz, přičemž kratší chlupy vnímají vyšší frekvence (Herberstein, 2011)

Hmatové schopnosti pavouků jsou nejlépe vidět u druhů budujících sítě, musí totiž přesně vnímat napětí mezi jednotlivými úseky. Centrum hmatu u pavouků doposud není známo. Čichový orgán je situován na přední části chodidla předních a středních noh, který se skládá z dutinky, ve které se nachází množství čípků, které jsou zakončením smyslových buněk. Chuťové receptory jsou situovány ve stěnách hltnu a pomáhá pavoukovi určit, zda-li se jedná o vhodnou kořist (Obrtel, 2005).

3.1.1 Evoluce

Evolučně nejstarší skupinou pavouků jsou sklípkoši (Mesothelae), vyskytují se pouze v jihovýchodní Asii a jejich jedové žlázy jsou velmi malé, takže při získávání potravy pravděpodobně nehrají významnou roli. Další prastarou skupinou jsou sklípkani (Mygalomorphae), kteří se vyskytují i ve střední Evropě. Evolučně nejvíce diverzifikovaní jsou pavouci dvouplícní (Araneomorphae), kteří tvoří 93% současných druhů (Míková a kol., 2015).

Jak tvrdí Herberstein (2011), dodnes známe přes 1000 fosilních druhů. Nejstarší dochovanou fosilií je *Palaeothele*, datována do dob před 300 miliony let a je řazen mezi Mesothelae. Z období permu známe dva exempláře, a to *Permarachne* a *Arthrolycosa*, oba řazené mezi Mesothelae. Z období triasu jsou dochovány nejen pozůstatky Mesothelae, ale jsou evidovány již první nálezy mygalomorfních a araneomorfních pavouků. V juře již byli tyto tvorové plně vyvinutí, dokonce je prokázána velká diverzita sítí splétajících druhů. Jak se zdá, pavouci byli rezistentní vůči několika obdobím vymírání, včetně nejznámějšího hromadného vymírání druhů na přelomu křídly a třetihor, tedy před 65 miliony let. Za celou evoluci pavouků došlo k vyhynutí pouze několika málo čeledí, které dnes známe jen díky fosiliím.

3.2 Lov

Ačkoliv většina pavouků jsou carnivorní, je doposud evidováno více jak 90 druhů herbivorních, které se vyskytují na všech kontinentech, kromě Antarktidy. Největší část se živí nektarem, dále pak listy, pylovými zrny, semeny a výtrusy (Nyffeler, 2016).

Carnivorní pavouci nejsou vybíraví a většinou nepohrdnou ničím, co se naskytne. Výjimkou mohou být snad jen brouci vybaveni pevným krunýřem, sršni či páchnoucí ploštice. Existují však skupiny či druhy pavouků, které se specializují na užší spektrum kořisti. Například stepníci rodu *Eresus*, loví hlavně brouky lezoucí po zemi, jako jsou například vrubounovití (Scarabaeidae), hbití svižníci (Cicindelidae) a další. Mravčík teplomilný *Zodarion germanicum* (C.L.Koch, 1837) loví mravence, stejně jako snovačka břehová *Cryptachaea riparia* (Blackwall, 1834). Šestiočky rodu *Dysdera* loví hlavně stínky (Oniscidae), což jsou suchozemští korýši. Nicméně i mezi pavouky se najde lovec pavouků. Je jím ostník pavoukožravý *Ero furcata* (Villers, 1789) z čeledi Mimetidae. Jedná se o poměrně malého pavouka vyzbrojeného řadou silných ostnů na předních nohách, který je schopen se vkrást do sítí snovaček (například rodu *Theridium*) a tam je usmrtit a pozřít (Obrtel, 2005).

Obecně můžeme pavouky rozdělit na lovce bez sítě a na lovce používající pavučinu. Do první skupiny patří například čeleď slíd'ákovití (Lycosidae), která se vyznačuje tím, že zástupci mají vysokou denní prostorovou aktivitu a pokud spatří kořist, rychlým výpadem se na ni vrhne. Podobně loví i pavouci z čeledi lovčikovitých (Pisauridae) nebo druhy rodu *Oxyopes* z čeledi paslíd'ákovitých (Oxyopidae). Skákavkovití (Salticidae) jsou aktivní přes den a při zpozorování kořisti se snaží co nejbližší připlížit, pojistí se dvojitým pavučinovým vláknem a ve vhodnou chvíli na oběť skočí. Naopak běžníkovití (Thomisidae) můžeme potkat číhající nejčastěji na květech rostlin, kde díky mimikrám výborně unikají pozornosti. Když na květ usedne nějaký hmyz, běžník ho velmi pomalu obklídá svým prvními dvěma páry kráčivých končetin, z nichž první je vybaven silnými ostny, které pomáhají po náhlém výpadu kořist přidržet. Podobně loví i maloočka smaragdová *Micrommata virescens* (Clerck, 1757), která číhá na rostlinách a po uchvácení úlovku se schová mezi listy, kde ji v klidu pozře. Samotné usmrcení probíhá tak, že pavouk vsekne drápky chelicer do oběti na místě, kde má slabší tělní pokryv (často za krkem), tudíž drápky mohou snáze proniknout a vypustit jed (Obrtel, 2005).

Naším nejnámějším stavitelem sítí je křižák obecný *Araneus diadematus* Clerck, 1757. Tento druh staví svislé sítě a nejčastěji spočívá uprostřed, zavěšen hlavohrudí dolů a nohama

se dotýká všech jednotlivých paprsků sítě. Často si také vytvoří úkryt u jednoho z rohů, třeba někde v listí nebo v dutině stromu, a od středu sítě si do úkrytu natáhne signální vlákno, které drží a ve chvíli, kdy se do sítě lapí kořist, útočí. Nicméně ne všechny druhy křížáků si staví sítě svislé. Například křížák rákosní *Larinioides cornutus* (Clerck, 1757) si buduje vodorovné sítě na pobřežním rostlinstvu, na straně přikloněné k vodě, křížák zelený *Araniella cucurbitina* (Clerck, 1757) tvoří malé sítě přes prohnuté listy stromu či keře. Síť křížáka pruhovaného *Argiope bruennichi* (Scopoli, 1772) můžeme nalézt zhruba 30 centimetrů nad zemí, tento druh patří mezi stavitele tzv. stabiliment. Stabilimentum je silný pás vláken, často na síti vytváří různé tvary (Obrtel, 2005).

Jak uvádí Blackledge a Wenzel (1999), stabilimenta budují hlavně pavouci s denní aktivitou a spočívající uprostřed sítě. U takovýchto druhů je veliká šance, že budou upozorováni nějakým predátorem, často ptákem. Bylo tedy demonstrováno, že stabilimenta jsou prevencí predace a stabilimenta papírové struktury redukuje poničení sítě. Byla dokonce prokázána snížená frekvence stavění stabiliment v závislosti na chybějící predaci ptáky u ostrovní populace *Argiope* spp. Nicméně využití stabiliment je často i druhově specifické, proto má i několik dalších, avšak nepotvrzených funkcí.

3.3 Pavoučí jedy

Mnoho organismů užívá jedy a toxiny pro lov či obranu. Od bakterií, přes žahavce (korály, medúzy), měkkýše (homolice), členovce (pavouci, štíři, hmyz) až k obratlovcům (hadi, ještěři, někteří savci) (Escoubas, 2006). Pavouky řadíme mezi aktivně jedovaté živočichy, což znamená, že využívají svůj jed k paralyzování kořisti. Znehybnění je funkce primární, smrt je sekundární (Foelix, 1996). Jako u jiných jedovatých zvířat, i jed pavouků je heterogenní, avšak rozdíly nejsou jen mezi druhy, ale i v rámci jednoho druhu (Rash & Hodgson, 2001). Složení jedu ovlivňuje výživa, prostředí, klima a podobně (Vassilevski et al., 2009). Nentwig (1987) dokonce udává, že například u rodu *Latrodectus* jsou toxické pouze samice, které jsou několikanásobně větší než samci. U rodu *Loxosceles* jsou obě pohlaví stejně toxická a dokonce u *Atrax robustus* O. Pickard-Cambridge, 1877, kde je samice větší, je samec až 6x více toxický než samice.

Obrovská většina pavouků využívá svůj jed k přemožení své kořisti, která bývá často stejně velká, jako jsou oni sami. Z řady tvorů, kteří využívají jed pro přežití, jsou pavouci asi těmi nejúspěšnějšími, mají největší geografické rozšíření a pravděpodobně i největší různorodost lovené kořisti. Nejčastěji se na pavoučím jídelníčku objevují další členovci, malé rybky, plazy, obojživelníci, ptáci i savci (Saez et al., 2010).

Samotný jed je komplex biologicky aktivních a inaktivních látek. Nevětší zastoupení mají proteiny, enzymy, nukleové kyseliny, volné aminokyseliny, monoaminy a anorganické soli (Rash & Hodgson, 2001). Avšak nejširší část toxinů tvoří malé polypeptidy, které jsou specializované na různé receptory nervového systému (Escoubas, 2006), některé druhy dokonce produkují jedy obsahující více jak 1000 různých peptidů o celkové hmotnosti 2-8kDa (Saez et al., 2010). Rash & Hodgson (2001) tvrdí, že primárním účelem pavoučího jedu je paralyzovat a zabít kořist, slouží k obraně před většími predátory a má svůj význam i při trávení kořisti. Bylo ale dokázáno, že někteří pavouci svůj jed nepoužívají k zabítí kořisti, ale jen při obraně.

Je známo, že pavouk si uvědoměle šetří jed a propočítá si množství potřebné na ulovení určité velikosti kořisti. Pokud by potřeboval více jedu, než má k dispozici, ustoupí (Vassilevski et al., 2009).

Ať je použití jedu jakékoliv, má pravděpodobně v evoluci pavouků větší význam, než používání sítí. Obecně je jed, zvláště u sklípkanů, čirá bezbarvá tekutina, která je ve vodě snadno rozpustná. Většina jedu je neutrální či alkalická, ačkoliv některé druhy mají i jedy kyselé (například *Atrax robustus* nebo *Eurypelma californicum* (Ausserer, 1871). Po lyofilizaci byly jedy popsány jako bělavé, bělavo-růžové, žluté či šedé. Vysušený jed dvojplicních Araneomorphae je údajně stabilní po celá léta ve vakuu, zatímco jed Mygalomorphae je hydrokopický a zkapalní při delším kontaktu se vzduchem, ve vakuu však vydrží několik měsíců (Rash & Hodgson, 2001).

Pavoučí jed tedy obsahuje spoustu toxinů, které napadají různé receptory, kanály a enzymy u různých druhů bezobratlých i obratlovců (Saez et al., 2010).

Jed živočichů byl studován kvůli častým negativním vlivům na lidské zdraví. Studie byla zaměřena na nebezpečná zvířata, jako jsou severoafričtí štíři, hadi a velmi nebezpeční pavouci, jako jsou například tzv. černé vdovy *Latrodectus* spp. nebo australské sklípkaní rodu *Atrax* a *Hadronyche*, tedy na všechny, kteří jsou spojováni s úmrtím lidí (Escoubas, 2006). Nicméně pavouků skutečně nebezpečných pro lidi je jen hrstka a právě tato malá skupina dovedla vědce k tomu, aby začli zhruba před půl stoletím, studovat farmakologickou diverzitu pavoučích jedů. Ačkoliv bylo farmakologicky popsáno jen málo jedových peptidů, jejich účinky jsou velmi zajímavé. Zatím jsou známé antiarytmické, antimikrobiální, analgetické, antiparazitické, cytolytické, haemolytické a vůči enzymům inhibiční účinky. Dokonce jed *Macrothele raveni* Zhu, Li & Song, 2000, má protinádorový účinek, ovšem komponenty za to zodpovědné zatím nebyly identifikovány (Saez et al., 2010).

Vzhledem k počtu doposud popsaných druhů a relativně mírnému odhadu složitosti jejich jedů je pravděpodobné, že potenciální číslo jedinečných pavoučích peptidů je více jak 12 milionů. V nedávných letech počet zjištěných toxinů vzrostl exponenciálně, avšak předpokládané množství peptidů, které bylo izolováno a studováno, se rovná 0.01% z celku (Saez et al., 2010).

Vassilevski et al., (2009) se domnívá, že vznik jedů různého chemického složení během evoluce, je důsledkem minimálně 4 faktorů:

1. Funkční diverzita založená na produkci molekul napadající různé cíle.

To zajišťuje ostrý nárůst počtu potenciálních obětí a snižuje pravděpodobnost rozvinutí rezistence vůči jedu. Například australský sklípkan *Agelopsis aperta* (Gertsch, 1934) produkuje α -agatoxiny, tedy acylpolyaminy inhibující glutamátové receptory a zabraňují kontrakcím svalů hmyzu; μ – agatoxiny, peptidické neurotoxiny modulující/aktivující sodíkové kanály v membránách nervových buněk hmyzu, což vyvolává sekreci neuromediátorů, a dále pak množství ω -agatoxinů, což jsou také peptidické neurotoxiny, které inhibují vápníkové kanály v nervových buňkách a zabraňují uvolnění neuromediátorů.

2. Výběr toxinů jako velmi přesné zbraně vykazující velmi specifické a silné účinky.
3. Synergismus, tedy vztah, kdy dva komponenty rozdílné struktury a mechanismu, zlepšují svou účinnost navzájem během kombinovaného působení. Díky tomu je potřebná koncentrace jednotlivých komponentů podstatně nižší. Jako příklad můžeme uvést jed palovčíka *Cupiennius salei* (Keyserling, 1877), kde je synergismus patrný při působení draslíkových solí, histaminu a cytolytických a neurotoxických komponentů.
4. Vysoká bimolekulární diverzita naznačuje produkci obrovského množství komponentů se stejnou strukturou a funkcí, ale se specifickým mechanismem působení.

3.3.1 Rozdělení

Samotné jedové peptidy a složky jedu můžeme rozdělit do několika skupin, například podle své hmotnosti na skupinu s nízkou molekulovou hmotností (<1kDa), peptidy (1-10kDa) a skupinu s vysokou molekulovou hmotností (>10kDa) (Vassilevski et al., 2009). Escoubas (2006) udává, že spektrometrie v kombinaci s cDNA studií ukázala strukturní variabilitu jedových peptidů, kdy při mapování 55 jedů sklípkanů (Theraphosidae) bylo zjištěno, že

57,8% patřilo do hlavní skupiny při délce 3500-4500Da a dalších 6,9% patřilo do skupiny o délce 6500-7000Da, z čehož vyplývá, že hlavní peptidy v jedech sklípkanů se skládají 31-40 aminokyselin, zatímco druhá skupina peptidů je složena z 58-63 aminokyselin. Podobné výsledky byly zjištěny jinou metodou, konkrétně tekutou chromatografií a MALDI-TOF MS analýzou, kdy byly studovány jedy australských sklípkanů a čeledi Hexathelidae. Bylo zjištěno, že více jak 70% peptidů spadá do skupiny o délce 3000-5000Da a ostatní do skupiny o délce 6500 – 8500Da. Z těchto jedů bylo popsáno zhruba 60 peptidických sekvencí, což je ale stále jen malá část z celkového počtu peptidů obsažených v pavoučím jedu.

Saez et al. (2010) rozdělují peptidy podle cíle působení. Jelikož pavouci používají svůj jed jako primární zbraň k paralyzování své kořisti, není překvapení, že obsahují velké množství peptidů, které moduluje aktivitu neuronových iontových kanálů a receptorů.

Velká většina doposud zjištěných peptidů se soustředí na napadání napětově řízených draslíkových (K_v), vápníkových (Ca_v) a sodíkových (Na_v) kanálů. U nově objevených peptidů bylo zjištěno, že některé z nich dokonce působí na ligandem řízené kanály (např. purinergní receptory) a na nově objevené kanály, jako jsou například iontové kanály sensitivní na kyselost a kanály mechanosenzitivní. Kořist je pak sklíčena mnoha neurofyziologickými procesy, jako je například bolest (Escoubas, 2006). Nejen, že většina z těchto peptidů má účinek jen na určitou třídu iontových kanálů, mohou mít dokonce mírnou až velmi výraznou selektivitu vůči subtypům kanálů. Tento potenciál k vysoké afinitě a selektivitě dělá z pavoučích peptidů výborný přírodní zdroj pro objevování nových léčebných metod (Saez et al., 2010).

3.3.2 Komponenty jedu

3.3.2.1 Komponenty s nízkou molekulovou hmotností

Komponenty s nízkou molekulovou hmotností jsou anorganické i organické substance, jako jsou například soli, karbohydráty, aminokyseliny či biogenní aminy. Biogenní aminy (serotonin, histamin, noradrenalin a podobně) stejně jako aminokyseliny (glutamát, taurin či γ -aminomáselná kyselina), jsou přítomné v jedech mnoha pavouků, často v koncentraci desítek milimolů a výše. Většina těchto látek zastává roli neuromediátorů a neuromodulátorů v nervovém systému členovců, proto není divu, že se vyskytují právě v jedech pavouků. Například jed zástupců čeledi Araneidae a Nephilidae, jako jsou například druhy *Argiope lobata* (Pallas, 1772), *Nephila clavata* L.Koch, 1878, nebo *Araneus gemma* (Mc.Cook, 1888),

je schopen rozrušit u členovců neuro-muskulární transmissi blokováním glutamerních synapsí (Vassilevski et al., 2009).

Argiopin patří do velké skupiny toxinů označujících se jako acylpolyaminy. Na experimentu s masožravými larvami bylo dokázáno, že již při koncentraci 10^{-8} - 10^{-6} způsobuje inaktivaci glutamátových receptorů. U druhu *A.lobata* bylo zjištěno dalších 8 toxinů (argininy a pseudoargiopiny) působících na glutamátové receptory. Všechny mají stejný mechanismus, ale liší se rozdílnou afinitou vůči receptorům. Polyaminový řetězec je strukturně podobný známým polyamidům, jako je například spermin, spermidin a putrescin, které můžeme také nalézt v jedech některých druhů. Acylpolyaminových modifikací může být současně v jednom jedu přítomno hned několik, například u *A.aperta* se nachází přes 30 různých acylpolyaminů (α -agatoxiny). Ačkoliv jsou acylpolyaminy produkovány hlavně k paralyzování oběti v podobě bezobratlého živočicha blokováním glutamátových receptorů, je prokázán účinek na glutamátové a acetylcholinové receptory v nervovém systému obratlovců. Doposud není známa funkce některých komponentů. Například citrát byl objeven hned u několika druhů. U včel a hadů funguje tato látka jako inhibitor Ca^{2+} kanálů závislých na fosfolipáse, tudíž slouží jako obrana proti jejich vlastnímu jedu. Po aplikaci jedu do těla oběti je inhibiční proces tedy eliminován. Význam u pavouků doposud není znám (Vassilevski et al., 2009).

3.3.2.2 Lineární peptidy

Lineární peptidy jsou nejčastější složkou jedu. Bylo ukázáno, že některé jedy mohou obsahovat až 1000 jedinečných peptidů. Při velmi skromném odhadu 200 peptidů na jeden jed a možném počtu až 100 000 druhů hovoříme o počtu 20 000 000 peptidů. Většina z nich nepřesahuje délku 4.2kDa, ačkoliv M-zodatoxiny (cytoinsektotoxin) z jedu mravčička *Lachesana tarabaei* Zonstein & Ovtchinnikov, 1999, dosahují délky až 8.6kDa (King & Hardy, 2013).

Tyto krátké peptidy podobné bradykininům jsou společně s inhibitory enzymů transformujících angiotensin k nalezení u mnoha zvířat. Lineární peptidy pravděpodobně narušují psychický stav oběti a tím napomáhají celkové toxicitě jedu. Nekrotický účinek je znám již dlouho, nicméně až nedávno bylo zjištěno, že za nekrózu můžou dva typy komponentů – lineární peptidy a velké proteiny s aktivní fosfolipázou. Cytolytický účinek byl v roce 1998 objeven u 26 druhů, následně byla zjištěna i sekvence aminokyselin dvou cytolytických peptidů u severoamerického slíďáka *Hogna carolinensis* (Walckenaer, 1805)(Vassilevski et al., 2009). Tyto peptidy jsou amfipatické a ve vodním roztoku jsou

strukturálně neuspořádané, ačkoliv při kontaktu s negativně nabitou lipidovou membránou zaujímají strukturu α -helixu (King & Hardy, 2013).

(Vassilevski et al., 2009) tvrdí, že hlavním cílem cytolytických peptidů je cytoplasmatická membrána, kam se díky pozitivnímu náboji a tedy vzniklé elektrostatické vazbě navážou a amfifilní charakter dovolí peptidům zařazení do dvouvrstvy fosfolipidů. Právě díky narušení dvouvrstvy dojde k buněčné smrti. Cytolytické peptidy v jedech pavouků se vyznačují širokým spektrem buněk, které napadají u prokaryotických i eukaryotických organismů v mikromolární koncentraci, nicméně oproti neurotoxinům jsou méně specifické a účinné. Úloha cytolytických peptidů v pavoučím jedu je hlavně rozpouštění membrán, avšak jejich účinnost záleží na složení membrány a jejím potenciálu. V jedu se cytolytické peptidy vyskytují ve struktuře α -helical a jsou charakterizovány několika vlastnostmi. Převládají u nich zbytky lysinu nad zbytky argininu, důvod není doposud známý, neboť nahrazení aminokyseliny jinou kyselinou nemění funkci peptidu.

(Vassilevski et al., 2009) uvádí několik možností funkce cytolytických peptidů v jedu:

- Nejčastěji je uznáván názor, že tyto peptidy slouží k přímému toxickému efektu. Nutno zmínit, že byla pozorována cyto- nebo celková toxicita u různých cytolytických peptidů s různým mechanismem působení. Každopádně účinek je patrný pouze tehdy, pokud tvoří peptidy hlavní složku jedu, v opačném případě jejich vliv na toxicitu nemá význam.
- Synergismus s neurotoxiny. Přesný mechanismus není znám, pravděpodobně cytolytický peptid funguje jako „usměrňovač“ a neurotoxin jako „šířitel“. Díky cytolytickému efektu peptidy uvolňují cestu k neuronům skrze buněčnou bariéru.
- Přímý antimikrobiální efekt. Mnoho členovců žije ve velkých společenstvích či koloniích, kde stoupá riziko vzniku epidemií. Je tedy možné, že cytolytické peptidy působí antisepticky. Kromě toho, koncentrace cytolytických peptidů vpravených do těla oběti je zpravidla v takovém množství, aby dokázala zabít všechny mikroorganismy a mohou také sloužit jako konzervanty. Mimo jiné, mohou tyto peptidy působit jako přímá ochrana jedových vaků proti infekci.

Doposud u sklípkanů nebyly zjištěny žádné cytolytické peptidy, zatím ale není jasné, zda-li to je v důsledku nedostatku vzorků, nebo se skutečně jedná o inovaci pavouků z infrařádu Araneomorphae (King & Hardy, 2013).

Antibakteriální a antimykotické účinky lineárních peptidů

Od dob objevení antibiotik, což bylo ve 30. a 40. letech 20. století, dramaticky poklesla čísla úmrtnosti na přenosné nemoci. Avšak bakterie jsou zdatné a přizpůsobivé organismy, proto si vyvinuly nejméně jeden obranný mechanismus na všech 17 druhů antibiotik, která byla do dnešního dne objevena. Nedávný rozšířený výskyt antibiotické resistance u významných patogenů, jako je například *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* a *Enterococcus faecalis*, vedlo k zamyšlení, zda-li vzhledem ke klesajícímu tempu objevů nových antibiotik, není potřeba se přesunout do post-antibiotické éry. Ačkoliv situace není velmi vážná, není jistě od věci začít vyvíjet nové zdroje antibiotik. Bylo doposud izolováno 40 membránových antimikrobiálních peptidů (MAMPs) z jedů 4 rozdílných čeledí pavouků, což nasvědčuje tomu, že mikrobiální aktivita v jedech je u těchto organismů poměrně častá. MAMPs mají často široké pole antimikrobiální působnosti, některé toxiny napadají G+ nebo G- bakterie či mykotické patogeny jako například *Candida albicans*, některé dokonce mají i anti-trypanosomovou aktivitu (Saez et al. 2010).

Z léčebného hlediska může být problém fakt, že MAMPs působí na buňku cytolyticky a interagují nespecificky, proto si vědci myslí, že tyto složky jedu má pavouk jako ochranu jedového aparátu proti infekci, ale pravděpodobnější je domněnka, že fungují spíše jako narušitelé membrán, aby se mohly disulfidické neurotoxiny rychleji šířit. Jejich nevýhodou je vysoká citlivost vůči proteolýze, nicméně to může být řešeno například přeměnou na stabilnější ICK strukturu (viz.kapitola Disulfidické peptidy). Antibakteriální účinek pavoučích toxinů se nevztahuje jen na bakterie a houby, ale i na parazita způsobujícího malárii. Malárii způsobuje prvok *Plasmodium* (česky zimnička) a je přenášena samicemi komárů rodu *Anopheles*. Existuje 5 druhů zimniček, nejvyšší virulenci má *Plasmodium falciparum*, které také způsobuje nejzávažnější formu malárie. Rozsáhlá resistance vůči chlorochinu učinila tento lék značně neúčinným v zamořených oblastech a existuje jen málo levných alternativ. U₁ -TRTX-Pc1a (Psalmopeotoxin I) a U₂ -TRTX-Pc1a (Psalmopeotoxin II) jsou ICK peptidy izolované z jedu sklípka *Psalmopoeus cambridgei* Pocock, 1895 a jsou účinné vůči intraerytrocytní fázi *P.falciparum*. U₁ -TRTX-Pc1a a U₂ -TRTX-Pc1a jsou nepříbuzné peptidy mající 33 a 28 zbytků a inhibují vývoj plasmodia uvnitř erytrocytu, ale oproti většině MAMPs, nemají hemolytickou, antibakteriální či antifungní aktivitu. Průběh působení není znám, je však nepravděpodobné, že se toxiny zaměřují přímo na parazita, to by totiž obnášelo prožránou membránou erytrocytu a následně i membránou vakuoly, která zapouzdřuje parazita. Jednou z možností je ta, že toxiny působí na nově vzniklé cysty v erytrocytu

způsobené napadením cizího organismu, nicméně se stále jedná o naději v boji proti malárii (Saez et al. 2010).

3.3.2.3 Disulfidické peptidy

Disulfidicky bohaté peptidy jsou hlavní složkou většiny pavoučích jedů a slouží jako jedny z nejdůležitějších činitelů insekticidní aktivity. Jen několik netypických jedů popírá toto paradigma, jako například jedy rodu *Latrodectus*, které obsahují vysoký poměr presynaptických neurotoxinů, a jed pokoutníka *Tegenaria agrestis* (Welckenaer, 1802), kde nejméně 50% hmotnosti vysušeného jedu tvoří sulfátované nukleosidy (King & Hardy, 2013).

Zatím je charakterizováno přes 500 peptidů v jedech zhruba 60 druhů pavouků, patřící do 20 čeledí, což je prozatím jen velmi malá část obrovské diverzity. Většina těchto peptidů obsahuje disulfidické vazby a vykazují vlastnosti neurotoxinů (Vassilevski et al., 2009).

Neurotoxiny se skládají z proteinů, peptidů nebo polyaminů a mají různá pole působnosti v nervovém systému. Základní vlastností nervové tkáně je vzrušivost buněčné membrány a přenos vzruchu přes synapsi (Rash & Hodgson, 2001). Velká část disulfidických peptidů tedy napadá presynaptické ionové kanály, nebo postsynaptické receptory na periferních neuromuskulárních spojeních (NMS), nebo v synapsích v centrální nervové soustavě (CNS) hmyzu. Individuálně, nebo v kombinacích, mohou buď tlumit nervový systém hmyzu a působit tak ochablou paralýzu, nebo naopak nervový systém aktivovat a způsobit tak paralýzu křečovitou. Obojí způsob má zapříčinit rychlé ochromení kořisti (King & Hardy, 2013). Množství působících látek je skutečně obrovské a zahrnuje například lektiny, inhibitory proteázy a modulátory mechanosenzitivních kanálů, iontových kanálů reagujících na kyselost, ionotropních glutamátových receptorů, glutamátových transportérů, vápníkem aktivované draslíkové kanály (King & Hardy, 2013), vápníkové (Ca^{2+}), sodíkové (Na^+), draslíkové (K^+) a chloridové (Cl^-) kanály, toxiny stimulující uvolnění transmiterů a toxiny blokující postsynaptické cholinergické receptory (Rash & Hodgson, 2001).

Mezi prvními se pravděpodobně objevil mechanismus pro napadání sodíkových kanálů a to již před stovkami milionů let (King & Hardy, 2013).

Cíl působnosti toxinů udávají řecká písmena, která můžeme nalézt před názvem samotného toxinu. Vassilevski et al.(2009) zmiňuje nejčastěji používané symboly, tedy: α – cílem je chemicky vzrušivý ionotropní receptor na postsynaptické membráně, κ – působí na K^+ kanál, μ – působí na póry Na^+ kanálu, δ – je modulátor Na^+ kanálu a ω – působí na Ca^{2+} kanály.

Neurotoxiny zpravidla účinkují proti korespondujícím receptorům již v nanomolárních koncentracích a s velmi přesným zaměřením cíle. Oproti neselektivním substancím, jako jsou například cytolytické peptidy, neurotoxiny jsou efektní v podstatně nižších dávkách. Oproti conotoxinům, pavoučí peptidické toxiny zřídka obsahují modifikovaná aminoacidická residua. Standardní biosyntetické transformace v říši eukaryot zahrnuje rozsáhlé posttranslační změny, jako je C-terminální amidace a odštěpení C-terminálních pozitivně nabitých aminoacidických zbytků. Ojedinělou výjimkou je PLTX-II z jedu *Plectreurys tristis* Simon, 1893, a ω -agatoxin IVB z jedu *A.aperta*. V prvním případě je C-terminální aminokyselinový zbytek modifikován kyselinou palmitovou, v druhém případě je chiralita jednoho z aminokyselinových zbytků změněna, což má za následek významné zvýšení aktivity toxinu a jeho stability (Vassilevski et al., 2009).

Disulfidické peptidy jsou charakteristické vysokou variabilitou účinku. Jedním z prvních zkoumaných toxinů byl například ω -agatoxin od *A.aperta*, který napadá vápníkové kanály. Hlavním cílem účinku těchto peptidů jsou proteinové komponenty elektricky vzrušivých buněčných membrán, hlavně neuronů a myocytů. Toxiny působí na různé napětím řízené kanály (sodíkové, draslíkové, vápníkové), ale i na chemo-, termo- a mechanosenzitivní ionotropické receptory (Vassilevski et al., 2009).

Účinky některých jedů ale napovídají, že smyslem je spíše zastrašit predátora, než polapit kořist. Například byly izolovány peptidy aktivující receptory TRPV1 („transient receptor potential“), které se nacházejí na periferních terminálech senzoričtých neuronů obratlovců a vnímají bolestivé podněty, jako je například obrovská horečka nebo kyselé pH. Aktivace těchto receptorů způsobuje bolest envenomovaného obratlovce. TRPV1 je receptor pro kapsaicin, aktivní složku chilli papriček, takže je předpoklad napadání tohoto receptoru jako obranný mechanismus. TRPV1 receptor se nenachází u hmyzu, zdá se tedy, že některé disulfidické peptidy, společně s některými enzymy, se vyvinuli specificky pro obranu před predací ze strany obratlovců více, než pro pomoc při lovu kořisti (King & Hardy, 2013).

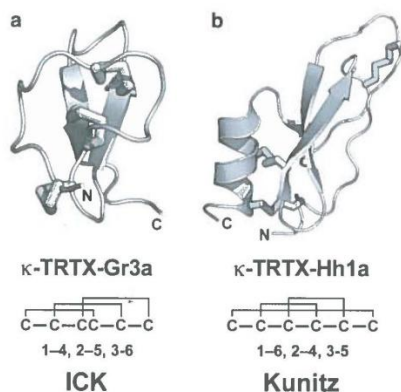
Díky velikosti těchto peptidů je jejich 3D struktura nejčastěji studována metodou NMR, tedy nukleární magnetickou resonancí. Nyní můžeme definitivně hovořit o 3 základních strukturách disulfid-obsahujících peptidů, které se nenacházejí pouze u pavouků, ale u většiny dalších organismů (Vassilevski et al., 2009).

Jak píše Saezat al. (2010), peptidy obecně jsou obvykle považovány za špatné kandidáty na farmakologické využití kvůli jejich citlivosti na proteolytickou degradaci *in vivo* a jejich omezenou průchodnost střevní sliznicí. Avšak peptidy se strukturou inhibičního cysteinového uzlu (inhibitor cysteine knot = ICK) (viz obrázek č.6), které jsou přítomny ve

většině pavoučích jedů, jim poskytuje mimořádnou stabilitu. ICK je struktura složená ze dvou antiparalelních β desek stabilizovaných cysteinovým uzlem. V pavoučích jedech je β deska tvořena dvěma β vlákny, ačkoliv někdy je přítomno i třetí N-vlákno. Cysteinový uzel zahrnuje kolo formováno dvěma disulfidy a prostupující částí polypeptidické opory. S třetím disulfidem pronikající kruhem tvoří pseudo-uzel. Kompaktní hydrofobické jádro se skládá ze dvou centrálních disulfidických mostů, které vycházejí ze dvou β desek a charakterizují tak ICK strukturu, která činí z toxinů velmi stabilní proteiny mající mimořádnou teplotní, chemickou i biologickou stabilitu, jsou odolné vůči pH extrémům, organickým rozpouštědlům a vysokým teplotám, nicméně z léčebného hlediska jsou nejzajímavější svou odolností vůči proteáze.

Až několik stovek ICK molekul se stejnou prostorovou strukturou můžou být v jedu přítomné, jejich rozlišnost v působnosti činí unikátní kombinace variabilních aminokyselinových zbytků, které jsou lokalizovány ve smyčce mezi dvěma disulfidickými mosty. Tato struktura je k nalezení v řadě peptidů s různorodou funkcí a u mnoha různých organismů, jako jsou zvířata, rostliny, houby i viry. Nyní známe stovky peptidů s ICK strukturou a s obrovskou variabilitou biologických funkcí, jako například inhibice proteázy, antimikrobiotické, insekticidní a antihelmitické peptidy, neurotoxiny, humorální regulátory a podobně (Vassilevski et al., 2009).

Další strukturou je PSM („principal structural motif“), která je k nalezení v každém doposud studovaném jedu pavouků, a lze tedy předpokládat, že jejich účinek je neurotoxický. Naopak u struktury ESM („extra structural motif“) tento účinek potvrzen nebyl. DDH („disulfide-directed β -hairpinmotif“) struktura je pravděpodobně evolučně poměrně časná a od ní se odvíjela struktura ICK. DDH je typické pro huwentoxin-II od asijského sklípka *Haplopelma schmidti* von Wirth, 1991. Oproti tomu huwentoxin-XI, který můžeme také nalézt u *H.schmidti*, je struktura Kunitzova. Peptidy s touto strukturou jsou nejčastěji inhibitory proteázy či blokuji draslíkové kanály (Vassilevski et al., 2009).



Obrázek č.6: struktura ICK a Kunitzova (zdroj: Nentwig, 2013)

Jak zatím víme, strukturní a farmakologická různorodost pavoučích jedů je oproti jejich obrovskému počtu vlastně bezvýznamná. Diverzita také často vzrůstá díky používání jedné základní struktury, avšak v trochu pozměněné podobě (jiný povrch, tvar) a také různými typy interakcí mezi peptidem a receptorem (Escoubas, 2006).

Doposud studované neurotoxiny můžeme rozdělit do dvou velkých skupin. Do první skupiny patří peptidy přímo blokující póry. Můžeme sem zařadit PhTx1 od palovčíka *Phoneutria nigriventer* (Keyserling, 1891), který blokuje sodíkové kanály, stejně jako huwentoxin-IV z jedu *H.schmidti*, který kromě sodíkových kanálů inhibuje i kanály draslíkové (Vassilevski et al., 2009).

Druhá skupina je tvořena modulátory ovlivňující aktivaci a deaktivaci příslušných cílů. Například hanatoxiny 1 a 2 z jedu *Grammostola spatulata* (Walckenaer, 1837) interagují s oblastí draslíkového kanálu a zasahuje do jeho aktivace. Z jedu stejného pavouka známe ještě například ω -grammotoxin SIA, který inhibuje kanály pro vápník. Protoxiny I a II z jedu sklípka *Trioxipelma pruriens* Schmidt, 1998, působí na sodíkové kanály (Vassilevski et al., 2009).

3.3.2.3.1 Vápníkové kanály

Rash & Hodgson (2001) uvádí, že vápníkové kanály najdeme v mnoha tkáních napříč celým tělem. Hrají velkou roli, jelikož bez vstupu Ca^{2+} do neuronu by nedošlo k vylití transmiterů do synaptické štěrbiny. Známe 6 podtypů vápníkem ovládaných receptorů: T-, L-, N-, P-, Q-, a R-, které jsou rozděleny na základě jejich elektrofyziologických vlastností a citlivosti na různé aktivátory, inhibitory a ionty. V některých buňkách je problém rozeznat P- a Q- typ receptoru, proto se často používá pojem P-/Q-. T-typ kanál je aktivován malou depolarizací a má velký podíl na činnosti srdce. L- a N-kanály jsou typické aktivací při vysokém napětí a rychlou deaktivací. L-kanály jsou blokovány dihydropyridiny a vyskytují se v srdeční a cévní svalovině, na těle neuronů a na proximálních dendritech centrálních neuronů. Oproti tomu N-kanály jsou typické svou citlivostí na ω -conotoxin GVIA (z homolice *Conus geographus* Linnaeus, 1758) a zprostředkováním vylití transmiterů na konci synapse. P- a Q-kanály jsou aktivovány mírným napětím s rychlou deaktivací, můžeme je nalézt v centrálním i periferním nervstvu a jsou také zapojeny do vylití transmiteru. P-kanály se oproti Q- nedají deaktivovat. R-kanál je také aktivován mírným napětím a je resistentní některým

farmakologickým činitelům. ω -Agatoxiny byly první popsané toxiny, které blokují N a P/Q – typy vápníkových kanálů (Escoubas, 2006).

Rash & Hodgson (2001) dále udává, že ω -Agatoxin IIIA o délce 8.5kDa, je peptid, který blokuje L- a N- kanály a také způsobuje částečné blokování P-kanálu. ω -AgaIVA je zase silný inhibitor P/Q kanálů v systémech savců, ale nemá žádný efekt na T-, L-, či N-kanály. ω -Grammotoxin SIA je peptid složený z 36 aminokyselin, má 3 disulfidické můstky a byl izolován z jedu sklípka *G. spatulata*. Způsobuje inhibici závislou na množství K^+ , vyvolanou přílivem Ca^{2+} v mozku potkanů a slepic což naznačuje, že blokuje N- a P- kanály ovlivňované napětím u obratlovců. Napadá také Q-kanály, ale L- na něj nijak nereagují. Escoubas (2006) tvrdí, že moduluje aktivaci kanálu přes změnu charakteru napětí, čímž ovlivňuje schopnost odpovědět na depolarizační pulz. Způsobuje také snížení odpovědi kanálu ovlivněním kanálových vstupů. Všechny toxiny působící na vápníkové kanály od jiných rodů se podobají obecnému inhibičnímu cysteinovému uzlu (ICK), avšak nemají stejnou 3D strukturu. Ačkoliv existují jisté známky stejného vlivu na brány kanálů, strukturní a toxikologické rozdíly velmi napovídají tomu, že jejich způsob působení na vápníkové kanály jsou jiné.

Pavouci rodu *Phoneutria* však mají jinou skupinu peptidů působící na Ca^{2+} kanály. Z *P.nigriventer* byl izolován toxin PhTx1, 2 a 3. PhTx3 byl dále rozdělen na 6 neurotoxických peptidů (Tx3-1-6), které se liší typem a stupněm ochrnutí při intracerebroventrikulární injekci do myši. Tx3-3 a Tx3-4 silně potlačují příliv Ca^{2+} do cerebrokortikálních synaptomů potkana přes kanály citlivé na ω -AgaVIA. Toxiny Tx3-2 a Tx3-5 nemají žádný efekt na T-kanály, avšak nevratně inhibuje L-kanály. Jed od segestry *Segestia florentina* (Rossi, 1790) obsahuje toxin SNX-325, který sice nijak nepůsobí na Na^+ a K^+ kanály, ale za to inhibuje většinu Ca^{2+} kanálů v mikromolárních koncentracích, přičemž na N-kanál působí i v nanomolárních koncentracích. Agelenin, izolován z jedu pokoutníka *Allagelena opulenta*(L.Koch, 1878), je peptid z 35 aminokyselin, obsahující 6 cysteinových zbytků, který blokuje P-kanály, zatímco DW13.3 je poměrně nově objevený peptid od filistaty *Kukulcania hibernalis* (Hentz, 1984), který blokuje většinu Ca^{2+} kanálů s výjimkou T-typu. Skupina ω -atracotoxinů, tedy peptidických neurotoxinů skládající se z 36-37 aminokyselin, která byla izolována od sklípka *Hadronyche versuta* (Rainbow, 1914), je charakteristická schopností blokovat na napětí závislé vápníkové kanály hmyzu, což z nich dělá hlavní složku pro vytvoření nových pesticidů (Rash & Hodgson, 2001).

3.3.2.3.2 Napětově řízené sodíkové kanály

Napětově řízené sodíkové kanály (Na_v^+) jsou nejčastěji zastoupené kanály v nervových a svalových buňkách (Rash & Hodgson, 2001). Zajišťují dráhu pro prudkou depolarizaci vzruchových buněk, která je potřebná ke vzniku akčního potenciálu. Kanály jsou tvořeny póry, které se skládají z α -podjednotek, které spolupracují s jednou ze 4 β -podjednotek. α -podjednotky jsou rozděleny do 9 podtypů, označovány $\text{Na}_v1.1$ – $\text{Na}_v1.9$ (Saez et al., 2010).

Většina známých Na_v^+ kanálů je selektivně a reverzibilně blokována nanomolárními koncentracemi tetrodoxinu (TTX) a saxitoxinu (STX). Nicméně existuje několik isoform Na_v^+ kanálů, které jsou relativně rezistentní vůči TTX, a to například srdeční Na^+ kanál NaH1 , a dva kanály, SNS a NaN , které se nacházejí v senzoryckých neuronech potkaního, myšího a lidského *ganglion spinale* (Rash & Hodgson, 2001).

Jak informuje Saez et al. (2010), $\text{Na}_v1.5$, $\text{Na}_v1.8$ a $\text{Na}_v1.9$ jsou vůči tetrodoxinu rezistentní, zatímco ostatní podtypy jsou citlivé. Z 9 podtypů je pouze $\text{Na}_v1.3$, $\text{Na}_v1.7$ a $\text{Na}_v1.8$ zapojené do signalizace bolesti, přičemž $\text{Na}_v1.7$ se na základě rozsáhlých genetických studií na člověku jeví jako nejideálnější pro výzkum. Je lokalizován na konci senzoryckých neuronů, kde je v ideální pozici pro svou roli prahového kanálu, který zesiluje signály bolesti a díky přednostní expresi v periferních senzoryckých a sympatických neuronů z něj dělá ideální subjekt pro nová analgetika.

Modulace Na_v^+ kanálů je hlavním cílem většiny pavoučích jedů, což dokazuje, že pavouci si již kdysi dávno vytvořili tento mechanismus pro likvidování svojí kořisti. Vzhledem k tomu, že Na_v kanály hmyzu jsou z 55-60% stejné jako u obratlovců není divu, že většina pavoučích toxinů byla izolována právě při útoku proti kanálům obratlovců, avšak byly zatím zjištěny jen 3 toxiny inhibující kanál $\text{Na}_v1.7$ a jen 6 toxinů inhibující $\text{Na}_v1.3$, $\text{Na}_v1.7$ nebo $\text{Na}_v1.8$. Všechny tyto toxiny byly získány od zástupců čeledi Theraphosidae. Zatím nejvíce účinný inhibitor kanálu $\text{Na}_v1.7$ je β -TRTX-Tp2a (Protoxin II), 30zbytkový peptid izolovaný z jedu *T. pruriens*. Tento toxin má 100 násobnou selektivitu vůči lidskému $\text{Na}_v1.7$ kanálu ve srovnání s $\text{Na}_v1.2$, $\text{Na}_v1.3$, $\text{Na}_v1.5$, $\text{Na}_v1.6$ a $\text{Na}_v1.8$. Nicméně, β -TRTX-Tp2a má stále poměrně vysokou účinnost vůči $\text{Na}_v1.2$ a $\text{Na}_v1.5$ a proto byl při injekční aplikaci intravenózně (1.0mg/kg) a intratekálním podání (0.1mg/kg) pro potkany smrtelný.

Je zvláštní, že při intratekálním podání toxinu β -TRTX-Gr1b od sklípkana *Grammostola rosea* (Walckenaer, 1837) (viz obrázek č.7), který je z 89% identický s β -TRTX-Tp2a, nedocházelo u potkanů k žádným vedlejším účinkům a tento peptid ani nejevil známky zkřížené tolerance s morfinem (Saez et al., 2010).



Obrázek č.7: *Grammostola rosea*, autor: Michaela Velánová, 2017

Jak Rash & Hodgson (2001) uvádí, dalším testovaným toxinem je PhTx2, který je toxický pro myši a vyvolává slinění, slzení, priapismus, křeče, celkovou paralýzu končetin a smrt po intracerebroventikulární injekci. Morfologické změny vyvolané PhTx2, zahrnující otok sarkoplasmatického retikula, poškození mitochondrií, dezorganicesarkomer a rupturu plazmatické membrány, dokazují, že schopnost tohoto toxinu zvýšit propustnost Na^+ kanálů se podílí na myonekroze.

O dalších toxinech se zmiňuje Escoubas (2006), který tvrdí, že také huwetoxiny a hainatoxiny od sklípkana *Haplopelma hainanum* (Liang et al., 1999) a *H. schmidti* omezují proudění sodíku, stejně jako ceratotoxin a phrixotoxin 3 v jedu sklípkana *Ceratogyrus marshalli* Pocock, 1897. Všechny tyto toxiny mají velmi podobnou strukturu založenou na inhibičním cysteinovém uzlu a jejich selektivita vůči rozdílným sodíkovým kanálovým podtypům je, jak se zdá, modulována nepatrnými variacemi na jejich povrchu.

Další pavoučí toxiny, jako například δ -palutoxin, se ukázaly jako inaktivátory kanálů podobným způsobem (ale ne stejným), jako jsou štíří α -toxiny, přestože ve vazebném experimentu soutěžily se štířím β -toxinem v napadnutí kanálu. Ačkoliv některé z toxinů (jingzhaotoxin III, štíří β -toxiny) posunou míru reakce na napětí u kanálů, můžou to dělat i v jiných směrech, což poukazuje na jejich rozdílnou možnost působení (Escoubas, 2006).

3.3.2.3.3 Draslíkové kanály

Ve sklípkaním jedu bylo zjištěno mnoho toxinů působících na draslíkové kanály a to se zaměřením na Kv2.1, Kv 2.2, Kv3.4 a Kv4.x kanální podtypy s rozdílnou selektivitou. Hanatoxin od *G.spatulata* byl první popsaný inhibitor Kv2.1 s vysokou afinitou. Následně bylo zjištěno, že hanatoxin mění otevírání kanálů na větší depolarizační napětí a také bylo poprvé demonstrováno, že je schopen působit prostřednictvím obsazení rovnou několika míst na kanálu. Stromatoxiny a heteroscodratoxiny z jedů sklípkanů *Stromatopelma calceatum* (Fabricius, 1793) (ScTx1) a *Heteroscodra maculata* Pocock, 1899 (HmTx) mění charakter kanálových bran u Kv2.x a Kv4.x stejně jako toxiny působící na vápníkové kanály a nejčastěji působí na oblast vnímání napěťové senzitivity kanálu (Escoubas, 2006).

3.3.2.3.4 Toxiny působící na glutamátové kanály

L-glutamát (kyselina glutamová) je hlavní excitační transmitter v centrální nervové soustavě (CNS) savců. Je uchováván v synaptických vesiklech a uvolňuje se exocytosou, vyvolanou Ca^{2+} . Působení glutamátu je ukončeno vyjmutím ze synapse díky transportérům s vysokou afinitou, které jsou umístěni na obou stranách neuronů a gliových buněk. Existuje několik typů glutamátových receptorů, široce dělené na ionotropické (iGluR) a metabotropické (mGluR). Ionotropní receptory se dále dělí na NMDA (N-methyl-D-aspartát) a non-NMDA (skládající se z AMPA (α-amino-3-hydroxy-5-methyl-isoxazol) a kainátu) podtypy, které jsou pojmenovány podle jejich senzitivity na určité agonisty. Ionotropní receptory jsou ligandem řízené iontové kanály, tedy oligomerní sestavy složené ze 4 nebo 5 podjednotek, přičemž každá má 3 transmebránové oblasti a jsou vysoce senzitivní na kationty (K^+ , Na^+ a Ca^+) NMDA receptory se skládají z NR_1 a NR_2 podjednotek, mají pomalou kinetiku, jsou vysoce propustné Ca^{2+} , modulační místo je citlivé na endogenní sperminy a spermidiny, jejichž přítomnost zesiluje reakci na glutamát. AMPA a kainátové receptory jsou tvořeny GluR1-7 a KA1-2 podjednotkami, obě jsou senzitivní a mají rychlou kinetiku a malou propustnost pro Ca^{2+} . NMDA a AMPA receptory jsou obvykle kolokalizovány a široce rozloženy, zatímco kainátové receptory jsou rozprostřeny velmi omezeně. U bezobratlých je glutamát důležitým transmitterem v CNS a hlavním transmitterem v neuromuskulárním spojení s jak excitační, tak inhibiční funkcí. Začátkem 80.let 20.století byl izolován JSTX (Jorospider toxin) z křižáka *N. clavata*, který v neuromuskulárním spoji humra nevratně potlačil excitaci post-synaptického potenciálu a byla zjištěna jeho schopnost blokovat glutamatergní synapsi i v mozku savců. Vestejném období byl objeven i jed od *A.lobata*, zvaný argiopin, který nevratně blokuje glutamátové receptory ve svalech sarančete a je velmi podobný JSTX. Od té

doby bylo zjištěno několik dalších antagonistů glutamátového receptoru, a to konkrétně od severoamerických křížáků *Argiope trifasciat* (Forsskål, 1775) *Argiope florida* Chamberlin & Ivie, 1994, a *A. gemma*, nicméně postsynaptická inhibice glutamatergní transmise v neuromuskulárním spojení byla popsána jako základní charakter jedu u 8 dalších druhů Araneidae (Křížákovití) Rash & Hodgson (2001).

3.3.2.3.5 Modulace P2X receptorů

P2X jsou purinergní ATP-řízené neselektivní iontové kanály přístupné Na^+ , K^+ a Ca^{2+} . Doposud známe 7 podjednotek, které označujeme P2X₁₋₇ a funkční kanály P2X jsou formovány spojením těchto podjednotek v homomerickou či heteromerickou trojici, takto známe 6 různých heteromerických kanálů. Z těchto podjednotek jsou P2X₃, P2X₄ a P2X₇ zapojeny do pocíťování bolestivých stavů. Několik antagonistů těchto receptorů jsou již známy a dokonce P2X₇ již vstoupil do fáze I i II léčebných studií. P2X₃ je nejlépe prostudovaný podtyp se vztahem k bolesti. V souladu s lokalizací na vzestupných nociceptivních sensorických neuronů bylo zjištěno, že je zodpovědný za pocit akutní bolesti, zánětlivé bolesti, chronické neuropatické bolesti, viscerální bolesti a bolesti při migréně a nádorech. Nicméně známe jen velmi málo antagonistů pro tento receptor, avšak nedávno byl izolován selektivní a účinný modulátor od *Geolycosa sp.* A byl pojmenován purotoxin-1 (PT1). Pt1 je 35 zbytkový peptid se 4 disulfidickými vazbami, 3 z nich formují ICK strukturu. Tento analgetický potenciál PT1 byl měřen na potkaních trpící akutní i chronickou zánětlivou bolestí v zadní končetině. Latence byla měřena po indukci tepelné hyperalgezie způsobené injekcí karagenu. Tento toxin projevoval podobný analgetický efekt jako antagonist P2X₃ A-317491, avšak potřebné množství PT1 bylo o 3 řády nižší a byl taky velmi účinný při redukci odpovědi na bolest po aplikaci kapsaicinu či formalinu, proto bude PT1 využíván pro vývoj nových analgetik, které budou působit na P2X₃. Jedná se o první modulátor P2X sensorů izolovaný z pavoučího jedu a jistě bude velmi důležitý při dalších studiích. Nicméně existují i další receptory, které jsou sledovány a zkoumány ve spojitosti s analgetiky. Například Ziconitide (Prialt®) je analgetický peptid získaný z homolice, cílí na Cav2.2 kanál, zatímco jiný peptid cílí na noradrenalinový transporter a je zatím jen ve 2. fázi testování na léky pro tlumení pooperačních bolestí. Blokování Ca_v kanálů je jeden z dominantních účinků pavoučího jedu, více než 65 látek blokuje Ca_v kanály u obratlovců, z toho 17 blokuje právě Ca_v2.2 (Saez et al., 2010).

3.3.2.4 Proteinové složky

Diverzita proteinových komponentů byla zkoumána používáním proteomiky a genomiky pouze u pěti pavoučích druhů. Proteomický výzkum jedu pavouka *Chilobrachys guangxiensis* (Yin & Tan, 2000) a *H.schmidti* ukázal přítomnost minimálně 90 a 300 proteinů, mezi nimiž bylo několik enzymů, transportních a stavebních proteinů. Většina z nich byla charakterizována intracelulární lokalizací, kde vykonávají mnoho určitých funkcí. Výskyt těchto proteinů je pravděpodobně vázán na apokrinní a holokrinní sekreci jedových váčků, mohly se tam také dostat společně se sekretovanými toxiny, došlo ke znečištění vzorků s jedem nebo skutečně mají určitou funkci. Mnoho dosavadních publikací se zabývá charakterizováním enzymů v jedu, jako jsou proteázy, nukleázy, lipázy, glykosidázy a další, ale často si ve výsledcích výzkumu protirečí, což může být způsobeno různými kontaminacemi, například trávicími šťávami. S tím jsou spojeny proteolytické enzymy, neboť proteolytická aktivita v čistých preparátech buď zcela chybí nebo je velmi nízká, až na některé výjimečné případy. Nicméně jak už bylo zmíněno u cytolýtických peptidů, jedna z funkcí složek jedu může být účast při mimotělním trávení a hlavní roli v tomto procesu mohou mít právě enzymy. Hyaluronidáza je v pavoučím jedu velmi častým komponentem. Vzhledem ke schopnosti ničit strukturu extracelulárního matrixu, je považována za „rozšiřující“ faktor jedu; stejná funkce může být prováděna proteázou (Vassilevski et al., 2009).

Hyaluronidáza rozkládá kyselinu hyaluronovou, což je polymerický glykosaminoglykan, a nachází se ve všech pojivových, epitelových i nervových tkáních obratlovců. Používá se léčebně v kombinaci s dalšími léčivy pro urychlení jejich účinku, podobně funguje i u hadů jako rozšiřující látka. Kyselina hyaluronová se vyskytuje pouze u obratlovců a bakterií, tudíž pravděpodobně nehraje roli při predaci hmyzu. Je tedy jasné, že slouží spíše k obraně proti predátorům, kde může působit nejen jako „rozšiřující“ faktor, ale i jako alergen (King & Hardy, 2013).

Vassilevski et al., (2009) uvádí, že pavouci, oproti například včelám či hadům, jen velmi zřídka produkují fosfolipázy typu A, ačkoliv i takové případy byly popsány. Bílkovinným komponentům je často přisuzována spíše funkce pomocná. Jiná situace je ale u pavouků rodu *Loxosceles*, který je rozšířen hlavně na západní polokouli. Jejich jed obsahuje velké množství různých enzymů, jako jsou například fosfatázy, hyaluronidázy, fosfolipázy a různé proteázy, nicméně hlavní složkou jedu jsou homologní proteinové neurotoxiny zodpovědné za toxickou aktivitu. Molekulární mechanismus působení neurotoxinů a základ

jejich specifčnosti zatím není znám. Například králíci a morčata reagují na jedy rodu *Loxosceles* stejně jako lidé, ale u myši a potkanů nezpůsobují žádnou ulceraci. Velký vliv na rozvoj nekrózy má krevní plasma a složky imunitního systému. Pavouci rodu *Latrodectus*, známí v Rusku a USA jako „karakurt“ nebo „black widows“, tedy černé vdovy, jsou mezi pavouky jedny z nejnebezpečnějších pro člověka, neboť protijedy jsou stále špatně dostupné. Skupina neurotoxinů s vysokou molekulovou hmotností zvané latrotoxiny vykazují silný toxický efekt u mnoha druhů zvířat. Stejně proteiny byly nalezeny i v jedu příbuzného rodu *Steatoda*, ale nebyly zaznamenány případy výskytu mimo čeleď Theridiidae (King & Hardy, 2013).

Nejlépe prostudovaný je α -latrotoxin (α -LIT), který je účinný u obratlovců. Použitím elektrofyziologických metod bylo ukázáno, že tento toxin způsobuje kompletní uvolnění neuromediátorů z terminálů nervových buněk obratlovců a způsobí tak blokadu signální transmise. α -Latrotoxin stimuluje exocytosu a způsobuje sekreci všech známých typů neuromediátorů. Účinek jedu je doprovázen depolarizací membrány a vstupem ionů vápníku do neuronu, nicméně přítomnost Ca^{2+} není nutnou podmínkou, lze ho nahradit Mg^{2+} . Frakcionace jedu *Latrodectus mactans* (Fabricius, 1775) ukázala hned několik bílkovinných komponentů, působících na obratlovce, hmyz a korýše. U tohoto druhu bylo identifikováno minimálně 7 různých toxinů: α -latrotoxin pro obratlovce, 5 toxinů pro hmyz – β -LIT, γ -LIT, δ -LIT, ϵ -LIT a α -latrocrustotoxin pro korýše. Nutno podotknout, že tato nomenklatura se vztahuje pouze na jed snovačky jedovaté a příbuzných druhů, nejedná se o označení peptidických toxinů. Latrotoxiny jsou toxiny s vysokou molekulovou hmotností a všechny toxiny v této skupině podněcují uvolnění neuromediátorů. Latroinsectotoxiny nemají žádný viditelný efekt na obratlovce a korýše, stejně jako latrocrustotoxin nevykazuje žádné účinky u hmyzu a myši (Vassilevski et al., 2009).

Latroinsectotoxiny mají asi největší insekticidní potenciál, nicméně jejich možnost využití jako bioinsekticidy je minimální, kvůli jejich velikosti, komplexnímu působení a náročnosti syntetické a rekombinační produkce (King & Hardy, 2013).

Proteinové složky jedu vykonávají mnoho funkcí: uplatňují se při přímém toxickém efektu (neurotoxiny a nekrotoxiny), působí jako „rozšiřující faktor“ jedu (enzymy likvidující tkáňové struktury) a podílejí se na finálním dozrání toxinů (Vassilevski et al., 2009).

3.3.2.5 Toxinové spolky

Malé molekuly v jedu mohou vytvářet tzv. toxinové spolky. Například volný glutamát vyskytující se v jedu, aktivuje ionotropické receptory v neuromuskulárních spojeních oběti

okamžitě po vpravení jedu do těla, což dovoluje acylpolyaminu, taktéž přítomného v jedu, dostat se k těmto otevřeným kanálům a zablokovat je. Zdá se, že tyto spolký se u pavouků vyvinuli specificky pro delší zachycení kořisti a případného uskladnění. Je velmi důležité, aby jed působil rychle a zapříčinil znehybnění kořisti, ale stejně důležité je, aby znehybnění bylo nevratné a kořist tedy mohla být uchována, pokud by byla potřeba. Například australští sklípkaři rodu *Atrax* a *Hadronyche* vytváří jed obsahující dva různé blokery Ca_v kanálů hmyzu, které mají různé místo i čas působení. Jeden z těchto toxinů způsobuje téměř okamžitou paralýzu, pravděpodobně blokováním Ca_v kanálů neuromuskulárních spojů, ale jeho efekt po několika hodinách odeznívá. Oproti tomu druhý peptid nemá žádný efekt na neuromuskulární spoje, ale způsobuje ochablou paralýzu blokováním Ca_v kanálů v centrální nervové soustavě. Začíná působit 20-30 minut po aplikaci jedu, neboť musí překonat hematoencefalickou bariéru, nicméně jeho efekt je nevratný. Působením těchto dvou peptidů je tedy kořist okamžitě paralyzována a v tomto stavu setrvává až do doby, kdy je pavouk schopen ji zkonzumovat. Detailní průzkumy ukázaly, že jed je extrémně doladěný systém různých komponentů, někdy se zcela jasnými protichůdnými účinky, působících spolu synergicky a časově sladěně tak, aby maximalizovaly účinek jedu. Dokonce některé komponenty způsobující bolest, jako je histamin, serotonin a disulfidické peptidy aktivující TRPV1 receptor, jsou spíše pro defenzivní účely (King & Hardy, 2013).

3.3.3 Získávání jedu

Biochemické průzkumy pavoučího jedu jsou poměrně skrovné v porovnání s jedy hadů. Hadi produkují větší množství jedu a jeho získání je daleko jednodušší než u pavouků. Z jednoho kousnutí pavouka rodu *Latrodectus* získáme 0.02-0.03 mg suchého jedu, zatímco z kousnutí zmije růžkaté *Vipera ammodytes* (Linnaeus, 1758) dostaneme až 20 mg. Z velkých jedovatých hadů, jako je například chřestýš diamantový *Crotalus adamanteus* Palisot de Beauvois, 1799, získáme až 437 mg. Existují 3 základní postupy při získávání jedu od pavouků:

- Odebrání čistého jedu přímo z chelicer žijícího pavouka
- Extrakce z preparovaných jedových váček
- Extrakce z prosomy nebo z přední části, kde se nacházejí jedové váčky.

Čistý jed, který je nejdůležitější pro biochemické analýzy, může být získán vyprovokováním pavouka ke kousnutí do vatového tamponu nebo papíru užívaného k elektroforéze. Jed může být také odebrán přímo z chelicer našťvaného pavouka mikropipetou. Vzhledem k tomu, že

pavouci jsou schopni regulovat množství vyloučeného jedu, jsou tyto metody nedokonalé. K úplnému vyprázdnění jedových váček dojde až na základě elektrostimulace (Nentwig, 1987).

3.4 Jedovatí pavouci

Strach z pavoučího kousnutí je téměř vždy neoprávněný, a pokud k němu dojde, je to z pravidla chyba člověka. Velcí chlupatí sklípkaní mají poměrně malé jedové vaky a proto obvykle kousnutí není pro člověka nebezpečné. Větší riziko je druhotná infekce do rány po mohutných chelicích. Mezi nejméně nebezpečné patří rod *Cupiennius*, naopak nebezpečných druhů je zhruba 30, z toho jen dva jsou k nalezení v oblastech severnějších šířek, a to vodní pavouk *Argyroneta aquatica* (Clerck, 1757) a *Ch. punctorium*. Jejich kousnutí je velice nepříjemné, později může přijít ostrá či pálivá bolest, svalový třes a otok v místě kousnutí, ale zhruba po 3 dnech příznaky odezní (Barth, 2002)

Jak udává Nentwig (1987), většina pavouků není pro člověka nebezpečná z několika důvodů:

- Jejich jed neobsahuje části toxické pro člověka
- Množství jedu vpraveného do těla je nedostatečné
- Jejich chelicery nejsou dostatečně silné k prokousnutí lidské kůže
- Jsou příliš plaší na to, aby došlo ke kontaktu s člověkem
- Nemají příležitost kontaktu následkem jejich způsobu života, střetnutí může být výjimečné, proto jejich toxicita není zdokumentována.

Účinek jedu není závislý na velikosti pavouka. Pravděpodobnost setkání s nebezpečně jedovatým pavoukem je velmi nízká. Jen některé agresivnější druhy útočí sami od sebe, jako například australské sklípkaní. Často nás ale pavouci varují svým postojem, kdy se zvedne a stojí na zadních končetinách. Někteří zástupci dokonce vydávají varovné syčení, které je velmi podobné hadímu. Nejdůležitější složkou jedu většiny pavouků jsou neurotoxiny, postihující autonomní i motorické nervstvo, ale také nekrotoxiny, způsobující nekrotické změny v místě kousnutí (Kazbundová & Patočka, 2006).

Existují jen 4 rody, které jsou skutečně nebezpečné pro člověka. Mají na svědomí několik tisíc kousnutí ročně, z nichž pár stovek končí smrtí (Barth, 2002). Mezi agresivní se řadí pouze rod *Phoneutria* a *Atrax* (Nentwig, 1987)

3.4.1 Rod *Latrodectus* (snovačky)

Černé vdovy mají velký areál rozšíření. V Číně, střední Asii a jižní Evropě můžeme nalézt *L. tredecimguttatus* (Rossi, 1790) (viz obrázek č.8), v severní a jižní Americe *L. mactans* (viz obrázek č.9), *L. geometricus* C.L. Koch, 1841 (viz obrázek č.10), a *L. hesperus* Chamberlin & Ivie, 1935, Indii a Austrálii *L.hasselti* Thorell, 1870 (viz obrázek č.11) (Ushkaryov et al, 2004).



Obrázek č.8: *L.tredecimguttatus*, autor: Hana Neradová, 2017



Obrázek č.9: *L.mactans* z oblasti Mexika, autor: Hana Neradová, 2017



Obrázek č.10: *L.geometricus*, autor: Hana Neradová, 2017



Obrázek č.11: *L.hasselti*, autor: Hana Neradová, 2017

Nejznámějším druhem je *L.mactans*, česky snovačka jedovatá, kterou většina lidí zná pod názvem „černá vdova“. Tento pavouk je celý černý s typickou červenou kresbou na zadečku. Rozpětí nohou je asi 2,5cm. Samice tohoto druhu je jedním z nejjedovatějších pavouků na Zemi a setkat se s ní můžete ve všech teplejších oblastech, především na celém území amerického kontinentu, v Austrálii a na Novém Zélandu. Hlavní složkou jedu je α -latrotoxin, který působí neurotoxicky na vegetativní systém s výrazným parasymptomatologickým účinkem. Snovačky jsou spíše pasivní, žijí při zemi na loukách a pastvinách a útočí jen při vyrušení. Pokud vám do těla vpraví jed, již po několika minutách se

dostavuje nevolnost, slabost dolních končetin, bolesti břicha a hlavy. Následují bolestivé svalové křeče a hypertenze. Symptomy se stupňují po několik hodin a přetrvávají dva až tři dny. V místě kousnutí se objevuje erytém a rána nekrotizuje. Kousnutí tímto pavoukem je vždy nebezpečné. Pacient má teplotu, potí se, na kůži se objevují petechie, dochází k trombocytopenii (snížené množství trombocytů v krvi), hemolýze, hemoglobinurii a následnému selhávání ledvin. Bez lékařské pomoci je úmrtnost až 10% (Kazbundová & Patočka, 2006).

Nentwig (1987) tvrdí, že potkani jsou k toxinům rodu *Latrodectus* přiměřeně citliví. Ze 105 potkanů 75,2% uhynulo během 2 hodin až 13 dní (průměrně však do 32h) na následky kousnutí jednoho či dvěma pavouky. Jsou dvě fáze intoxikace, a to motorický neklid a následná paralýza. Kočky jsou velmi náchylné, ze 22 zvířat o hmotnosti přes 800g přežila pouze dvě, docházelo k úmrtím v rozmezí 1-14dní (průměrně do 115h).

3.4.2 Rod *Loxosceles* (koutníci)

Míková a kol. (2015) udává, že rod *Loxosceles* obsahuje 100 druhů, Gremski et al., (2014) tvrdí dokonce 130 druhů. Tento rod je rozšířen po celém světě, většinou v Americe, některé druhy se vyskytují i v jižní Evropě. Jsou to malí až středně velcí pavouci o velikosti těla 5-12 mm. Ukrywají se ve štěrbinách mezi kameny či kůrou (Míková a kol. 2015). Silva et al. (2004) tvrdí, že F35 protein je hlavní toxickou složkou jedu *L.intermedia* Mello-Leitão, 1934, a začíná se projevovat v plné aktivitě až po 3.svlékání. Za hemolytický efekt, který je charakteristický pro *L. reclusa*, je zodpovědná sfingomyelináza D (Foradori et al., 2005).

Loxoscelse rufescens (Dafour, 1820), *L. laeta* (Nicolet, 1849), *L. intermedia*, *L. gaucho* (Gertsch, 1967) a *L. reclusa* Gertsch & Mulaik, 1940 (viz obrázek č.12), jsou nejčastější druhy zodpovědné za kousnutí člověka. Nemoc způsobená tímto rodem se označuje jako loxoscelismus (Gremski et al., 2014).

Tito samotářští pavouci staví řídké nepravidelné sítě, do kterých loví hmyz hlavně v noci. Jejich sítě lze nalézt ve starých kůlnách a garážích, kde také dochází nejčastěji ke kousnutí. Tento pavouk není agresivní, k incidentu dochází pouze tehdy, cítí-li se pavouk ohrožen. Kousnutí nejsou příliš častá, nicméně způsobují lokální nekrózu spojenou s devastací měkkých tkání. Typická lokální reakce nastupuje až po 12-24 hodinách, kdy kůže zčervená, rána začne bolet a v okolí kousnutí se později objevují puchýřky, které se mohou změnit v ulcerace (vředy) a nekrózu, která může dosáhnout značného rozsahu 10 až 25cm (Kazbundová & Patočka, 2006). Jak tvrdí Míková a kol.(2015) vážné případy mohou vést až

ke 40cm velkým nekrotickým vředům, které se pak hojí i několik měsíců. Poškození je větší u obézních obětí, neboť enzymy snadno ničí slabě prokrvenou tukovou tkáň.

Kousnutí je doprovázeno zvracením, teplotou, křečemi, diseminovanými intravaskulárními koagulacemi, hemolytickou anémií a akutním selháním ledvin. Biochemická analýza prokazuje hematurii, alkalizaci moči, azotemii a zvýšenou hladinu močoviny v krvi. Nekrotizující složka v jedu je spojována s jistou frakcí glykoproteinů a je označována jako „dermonekrotický toxin“. Úmrtí nejsou častá, dochází k nim zejména tehdy, pokud dojde k závažné oportunní infekci nebo k akutnímu selhání ledvin (Kazbundová & Patočka, 2006).

Kousnutí zpočátku nepůsobí bolest, což je pro pavouky neobvyklé, právě proto pacienti často vyhledávají lékařskou pomoc až po prvním dnu při progresi rány. *Loxoscelismus* je nejčastější diagnóza způsobená pavoučím kousnutím v USA a Jižní Americe (Míková a kol., 2015).

Nentwig (1987) udává, že u *L. laeta* nebyla prokázána žádná enzymatická aktivita, naproti tomu u *L. reclusa* byla objevena hyalurodináza, esteráza, lipáza i proteáza. Při intravenózním podání jedu *L. reclusa* psům se objevila trombocytopenie a hemolýza, u králíků se však žádný škodlivý projev neukázal (Nentwig, 1987).



Obrázek č.12: *Loxosceles reclusa*, dostupné z:

http://img.medscape.com/pi/emed/ckb/emergency_medicine/756148-772295-430.jpg

3.4.3 Rod *Phoneutria* (palovčici)

Pavouci rodu *Phoneutria* žijí v Jižní Americe, kde jsou původci mnoha závažných intoxikací s převážně neurotoxickými příznaky. Právě kvůli jejich způsobu života na keřích a stromech se často dostávají s balíky banánů do Evropy i jiných koutů světa, jsou proto označováni jako „banánoví pavouci“. Nejčastěji se na banánovníkách objevuje druh *P. nigriventer* (viz obrázek č.13), známý též jako „brazilský putovní pavouk“. Jedná se o útočného pavouka, nejčastější je pokousání na nohou a rukou. Příznaky intoxikace jsou hlavně bolest (92,1%) a otoky (33,1%), z toho jen 2,3% pacientů muselo být léčeno podáním nescifického pavoučího séra. Jed pavouků obsahuje mnoho polypeptidů, biogenních aminů, polyaminů a acylpolyaminů, které blokuje Ca^{2+} kanály neuronálních membrán (Kazbundová & Patočka, 2006). Kousnutí *P. nigriventer* jsou zaznamenávána hlavně v zimě, kdy pavouci, následkem špatného počasí, vstupují do lidských obydlí (Nentwig, 1987), a protože je často vpraveno do těla jen malé množství jedu, úmrtí jako následek kousnutí se vyskytuje jen zřídka (Barth, 2002).



Obrázek č.13: Výstražné postavení *P. nigriventer*, autor: Danilo Guarda

Dostupné z: http://farm4.static.flickr.com/3769/10951269043_50283de70c.jpg

3.4.4 Rod *Atrax* (sklípkanci)

Pavouci rodu *Atrax* se vyskytují pouze na území Austrálie, kde jsou považováni za velmi nebezpečné tvory. Žijí v trávě a podrostu, kde si staví husté sítě ve tvaru trychtýře, v jehož nejužší části číhají na kořist. Právě díky tvaru jejich sítě se jim anglicky říká „funnel-web spider“. Jedná se o velmi agresivní pavouky, kteří se nebojí napadnout i člověka. Nejznámějším zástupcem je *A. robustus* (viz obrázky č.14, 15), který je považován za jednoho z nejnebezpečnějších pavouků světa a vyskytuje se především v okolí Sydney, kde je znám jako „Sydney funnel-web spider“. Tito pavouci často vnikají do lidských obydlí, schovávají se v prádle a oblečení a při manipulaci s ním mohou člověka kousnout. Samotné kousnutí je bolestivé a v místě vpichu dochází ke krvácení a vzniku erytému, účinek jedu je převážně neurotoxický. Průběh intoxikace je velmi rychlý, bylo zaznamenáno úmrtí již 15 minut po kousnutí. Dochází k oběhové nestabilitě s výraznou hypertenzí a k oběhovému selhání. Hlavní účinnou složkou jedu jsou peptidové neurotoxiny, které působí na nesynaptických zakončených neuronů, kde uvolňují neurotransmitery z autonomního nervového systému a tím jej paralyzují (Kazbundová & Patočka, 2006).



Obrázek č.15: *Atrax robustus*, autor: Stanislav Macík, 2017



Obrázek č.14: *Atrax robustus*, autor: Stanislav Macík, 2017

3.4.5 Kousnutí pavoukem v ČR a Evropě

Ve střední Evropě jsou kousnutí pavouky, ačkoliv jsou všudypřítomní, raritní záležitost. Obecně mají benigní charakter, dochází k nim nejčastěji v letním období.

Předpokládá se, že na každý nahlášený případ kousnutí, připadá 10-100 nenahlášených. Většina u nás žijících druhů svou velikostí nepřesahuje velikost 5mm, nejsou tedy dostatečně velcí na to, aby byli schopni prokousnout lidskou kůži, nežijí v lidských příbytcích a nejsou vůči člověku agresivní (Míková a kol., 2015).

V ČR je dodnes známo 875 druhů řazených do 38 čeledí. Dostatečně velkých pavouků, schopných prokousnout lidskou pokožku, je na našem území jen málo. Mezi takové patří například zápřednice jedovatá *Ch. punctorium*, slíďák tatarský *Lycosa singoriensis* (Laxmann, 1770), vodouch stříbřitý *A.aquatica* a stepníci *Eresus* spp.. Tyto druhy se však nevyskytují synantropně, tudíž ke kontaktu s člověkem dochází jen zřídka. Kousnout člověka dokáží i některé větší druhy pokoutníků, jako například *Tegenaria africa* Lucas 1846, *T.ferruginea* (Panzer, 1804), velké druhy křížáků Araneidae, cedivek (například *Amaurobius ferox* (Walckenaer, 1830), šestiočka ryšavá *Harpactea rubicunda* (C.L.Koch, 1838), nebo zápřednice Mildeova *Cheiracanthium mildei* L.Koch, 1864, která se vyskytuje synantropně uvnitř nebo v blízkosti lidských obydlí. Pokoutníci patří k našim největším druhům, rozpětí nohou může dosahovat až 10cm, nicméně se jedná o poměrně neškodné pavouky. Při experimentech bylo zapotřebí mnoho provokování, aby skutečně kousl (Míková a kol., 2015).

Nejčastějším pavoukem, který je v posledních letech spojován s kousnutím ve střední Evropě, je *Ch. punctorium* (viz obrázek č.16). Tento teplomilný druh se pravděpodobně díky globálnímu oteplování rozšiřuje i na taková místa, kde se dříve nevyskytoval, jako je například na Pardubicku nebo Českém středohoří.

Samice zápřednice dosahují velikosti až 15mm a mají zadeček zprvu zelenavý, v průběhu péče o kokon postupně hnědne. Samci jsou menší a jejich zadeček je žlutý se širším šedavým podélným pruhem. Klepítka mají obě pohlaví výstražné, oranžovo-černě zbarvené (Kůrka a kol., 2015). Jak udává Míková a kol. (2015), charakteristické jsou pro ni různé typy lučních biotopů, většinou málo sečené či nesečené louky, suché stráně a neobhospodařované sady. Začátkem května si samice tohoto druhu vybudují velké zámotky na vrcholcích květenství trav, ve kterých hlídají kokon s vajíčky a následně střeží i vylíhlá mláďata. Malí pavouci zámotek opouštějí na podzim, samice v něm setrvává až do své smrti. Jed tohoto pavouka obsahuje polypeptid CpTx1, který působí na buněčné membráně. Kousnutí se

projevuje okamžitou pálivou bolestí, která dosahuje maximální intenzity do 5-20 minut a trvá od 50minut do 3-6hodin.

Nejčastěji je však reakce lokální (opuchnutí, palčivá bolest, někdy dočasné ochrnutí končetiny), vzácně horečka nebo celkové příznaky otravy, možnost alergické reakce u citlivých lidí nelze vyloučit (Kůrka a kol., 2015). Výjimečně se mohou projevit i systémové příznaky jako bolesti hlavy a nevolnost, případně břišní křeče při kousnutí do dolní končetiny, ojediněle kardiální a respirační obtíže (Míková a kol., 2015).



Obrázek č.16: Zápřednice jedovatá *C. puncturium*, Autor: Jiří Brestovanský, 2009

Dostupné z <http://www.biolib.cz/cz/taxonimage/id97508/?taxonid=587>

Mezi další pavouky, jejichž kousnutí může vyvolat zdravotní problémy, patří vodouch stříbřitý *A. aquatica*, který se vyskytuje pouze ve stojatých čistých vodách bohatě zarostlých vegetací, tudíž se dnes jedná o vzácný druh naší fauny. Jejich biotopy nebývají využívány pro rybolov či koupání, proto je pravděpodobnost střetu s člověkem extrémně nízká. To platí i o stepnicích *Eresus* spp., kteří obývají nory v půdě na posledních zbývajících stepních plochách, nacházejících se převážně na chráněných územích. Projevy po kousnutí stepníkem do prstu byly popsány jako pulzující bolest do paže nahoru, následné silné rozbušení srdce a vznik erytému v obličeji s pocitem horečky. Tento stav trval přibližně hodinu, následně ustal a celý zbytek dne kousnutý trpěl silnou bolestí hlavy. Oblast kousnutí byla citlivá několik týdnů. Slíd'ák tatarský *L. singoriensis* je vzácně k nalezení na jižní Moravě, v posledních desetiletích se však vlivem oteplování šíří především na plochy s řídkou plevelovou vegetací. Jedná se o mírné pavouky, kteří se snaží spíše uniknout. Ke kousnutí může dojít náhodou, například přimáčknutím odhalenou částí těla (Míková a kol., 2015).

Největší evropský pavouk *Lycosa tarantula* (Linnaeus, 1758), který je rozšířen v jižní Evropě a na Balkánském poloostrově, způsobuje jen místní bolestivost bez systémové toxicity (Kazbundová & Patočka, 2006). Nentwig (1987) považuje *L.tredecimguttatus* za nejvíce toxického pavouka v Evropě. Jeho jed má pH 8.2. S nižší teplotou pH klesá a jed se stává méně účinným.

3.4.6 Kousnutí chovatele

Na rozdíl od povinné registrace jedovatých hadů a různých ještěřů, není povinnost hlásit chov pavouků. Ke kousnutí dochází převážně při krmení či čištění terária.

Většina sklípkanů má na hřbetě zadečku žahavé chloupky, které odlamují třením zadníma nohama do směru vnímaného útoku. Žahavé chloupky mohou vyvolat nepříjemnou alergickou a iritativní reakci na kůži, astmatickou bronchitidu nebo při vniknutí do oka až keratokonjunktivitidu (Míková a kol., 2015).

Typy reakcí:

- Lokální – většina kousnutí způsobí jen téměř nepozorovatelné papuly, případně pustulky, zarudnutí se objeví do několika minut. Projevy jsou podobné píchnutí včelou, jen vyjimečně jsou patrné vpichy. Ložisko může svědit či pálit, může se objevit lokální bolestivost – od mírně pichlavého pocitu až k silné bolesti. Většina lokálních projevů mizí do 7-10 hodin.
- Nekrotizující
- Systémové – pouze v menšině případů, projeví se tehdy, kdy jed pronikne do krve v dostatečném množství
- Alergické a iritační – jsou vzácné, ve formě iritačních nebo kopřivkových projevů, může být způsobeno žahavými chloupky ze zadečku, které při pocitu ohrožení vyčesávají často chovaní sklípkaní (Míková a kol., 2015).

4 Praktická část

Pro zajímavost jsem udělala anketu na největší pavoukářské skupině Sklípkaři CZ/SK na sociální síti Facebook ve snaze alespoň trochu zmapovat chované rody v České republice. Účastníci mohli zaškrtnout několik rodů a celkem bylo napočítáno 1357 hlasů. Uvedu zde konkrétně jen ty nejvýznamnější rody, některé z nich několikrát zazněly v textu. Největší zastoupení má rod *Brachypelma* se 173 hlasy. Tito pavouci jsou obecně doporučováni začátečníkům pro svou poměrně klidnou povahu a velmi slabém jedu. Osobně chovám druh *Brachypelma vagans* (Ausserer, 1875), která se řadí z tohoto druhu k těm agresivnějším, a mohu potvrdit, že tyto pavouci se raději schovají, než aby zaútočili. Hned za *Brachypelma* se s 89 hlasy objevil rod *Grammostola*, který je v textu několikrát zmiňován. Dále se umístil rod *Psalmopoeus* s 81 hlasy, *Poecilotheria* se 78 hlasy, *Lasiadora* se 76 hlasy a rod *Avicularia* se 60 hlasy. K mému překvapení se našli i lidé chovající pro člověka nebezpečné rody. Největší zastoupení měl rod *Latrodectus* s 9 hlasy, následoval rod *Phoneutria* a *Loxosceles*, oba měly 3 hlasy a nakonec se objevil i rod *Atrax*, který obdržel 1 hlas.

5 Závěr

Pavouci jsou lidmi vnímáni často jako bezvýznamná skupina členovců chytající mouchy. Nicméně mají velký význam pro ekologickou rovnováhu prostředí, kde jsou hlavním predátorem převážně členovců, které zabíjejí pomocí jedu. Nejen že jsou schopni jím velmi efektivně kořist paralizovat a usmrtit, ale počítají i s možným útokem predátora, proto jsou vybaveni i obrannými složkami, působící pouze na obratlovce. V momentě aplikace jedu do oběti se strhne zcela koordinovaná práce složek jedu, které spolu často kooperují a zajistí tak paralyzaci svalstva pomocí ovlivnění neurotransmiterových receptorů, narušení psychické rovnováhy kořisti či přímý cytolytický efekt a tedy následnou smrt. Dokonce je znám mechanismus, kdy jeden komponent způsobí velmi rychlou, avšak vratnou paralyzaci, a druhý, který začíná působit později, má na svědomí paralyzaci nevratnou a dlouhotrvající. Výzkum jedů pavouků je teprve v začátcích, nicméně již nyní víme, že jsou farmakologickou a insekticidní budoucností lidstva. A to díky své schopnosti zabíjet hmyz, inhibovat bolest, pomáhají při boji s rakovinou, parazity, bakteriemi či houbami.

6 Seznam literatury

- Barth, F. G. 2002. A spider's world: senses and behavior. Springer. New York. P. 394. ISBN 3540420460.
- Blackledge, T. A., & Wenzel, J. W. 1999. Do stabilimenta in orb webs attract prey or defend spiders?. *Behavioral Ecology*, 10(4), 372-376.
- Buchar, J., Kůrka, A. 1998. Naši pavouci. Academia. Praha. 162 s. ISBN 8020003312.
- Da Silva, P. H., Da Silveira, R. B., Appel, M. H., Mangili, O. C., Gremski, W., & Veiga, S. S. 2004. Brown spiders and loxoscelism. *Toxicon*, 44 (7), 693-709.
- Escoubas, P. 2006. Molecular diversification in spider venoms: a web of combinatorial peptide libraries. *Molecular diversity*, 10(4), 545-554.
- Foelix, R. 1996. *Biology of Spiders*. Oxford University Press, USA, p. 336. ISBN 9780195095944
- Foelix, R. 2011. *Biology of Spiders*. Oxford University Press, USA, p. 432. ISBN 978-0199734825
- Foradori, M.J., Smith, S.C., Smith, E., Wells, R.E. 2005. Survey for potentially necrotizing spider venoms, with special emphasis on *Cheiracanthium mildei*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 141, 32-39.
- Gremski, L. H., Trevisan-Silva, D., Ferrer, V. P., Matsubara, F. H., Meissner, G. O., Wille, A. C. M., Vuitika, L., Dias-Lopes, C., Ullah, A., Rogério de Moraes, F., Chávez-Olórtegui, C. 2014. Recent advances in the understanding of brown spider venoms: from the biology of spiders to the molecular mechanisms of toxins. *Toxicon*, 83, 91-120.
- Herberstein, M. E. 2011. *Spider behaviour: flexibility and versatility*. Cambridge University Press. New York. p. 416. ISBN 978-0-521-74927-5.

Jackson, R. R., & Hallas, S. E. 1986. Comparative biology of *Portia africana*, *P. albimana*, *P. fimbriata*, *P. labiata*, and *P. shultzi*, araneophagic, web-building jumping spiders (Araneae: Salticidae): Utilisation of webs, predatory versatility, and intraspecific interactions. *New Zealand journal of zoology*, 13(4), 423-489.

Kazbundová, J. Patočka J. 2006). Jedovatí pavouci a nebezpečí jejich kousnutí. *Voj Zdrav Listy*, 75 (2), 65-69.

King, G. F., & Hardy, M. C. (2013). Spider-venom peptides: structure, pharmacology, and potential for control of insect pests. *Annual review of entomology*, 58, 475-496.

Kůrka, A. 2015. Pavouci České republiky. Praha: Academia, 621 s. ISBN 978-80-200-2384-1.

Míková, K., Hana Jedličková, M. Řezáč a S. Macík. Kousnutí pavoukem v ČR i ve světě. *Česká dermatovenerologie*, Praha: Mladá fronta, 2015, 5 (2), 107-112. ISSN 1805-0611.

Motyčka, V., Roller, Z. Bezobratlí. Ilustroval Dvorský, P. Praha: Albatros, 2001. Svět zvířat (Albatros). ISBN 80-00-00884-x.

Nentwig, W. (Ed.) 1987. *Ecophysiology of Spiders*. Springer-Verlag ; Berlin, Heidelberg, p. 448, ISBN 978-3-642-71552-5

Nentwig, W. (Ed.). 2013. *Ecophysiology of Spiders*. Springer-Verlag ; Berlin, Heidelberg, p. 526, ISBN 978-3642339882

Nyffeler, M., Olson, E. J., & Symondson, W. O. 2016. Plant-eating by spiders. *Journal of Arachnology*, 44(1), 15-27.

Obrtel, R. 2005. *Nebojte se pavouků*. Moravské zemské muzeum. Brno. 156 s. ISBN 80-7028-221-5.

Rash, L. D., & Hodgson, W. C. (2002). Pharmacology and biochemistry of spider venoms. *Toxicon*, 40(3), 225-254.

Saez, N. J., Senff, S., Jensen, J. E., Er, S. Y., Herzig, V., Rash, L. D., & King, G. F. 2010. Spider-venom peptides as therapeutics. *Toxins*, 2 (12), 2851-2871.

Ushkaryov, Y. A., Volynski, K. E., & Ashton, A. C. 2004. The multiple actions of black widow spider toxins and their selective use in neurosecretion studies. *Toxicon*, 43(5), 527-542.

Vassilevski, A. A., Kozlov, S. A., & Grishin, E. V. 2009. Molecular diversity of spider venom. *Biochemistry (Moscow)*, 74(13), 1505-1534.

Internetové zdroje

World Spider Catalog (2017). World Spider Catalog. Natural History Museum Bern, online at <http://wsc.nmbe.ch>, version 18.0, accessed on 20. 4. 2017

7 Slovník cizích výrazů a zkratk

Afinita – schopnost chemických látek slučovat se s jinou látkou nebo částicí

Amfifilní - látky mající současně vlastnosti hydrofilní i lipofilní

$\text{Ca}_{(v)}^{2+}$ - (napětově řízený) vápníkový kanál

Da – jednotka Dalton = jednotka molekulové hmotnosti

Diseminovaná intravaskulární koagulace - je získaný stav vyznačující se patologicky zvýšenou koagulační aktivitou s tvorbou trombů v periferní cirkulaci a postupným vyčerpáním koagulačních faktorů, který následně vede k zvýšení krvácivosti.

Diverzita – rozmanitost, různorodost

Erytém - červené zbarvení kůže způsobené rozšířením krevních cév azvýšeným prokrvením

Ganglion spinale - senzitivní ganglion míšního nervu

Inhibice – překážka, zábrana, zpomalení některých procesů v organismu

$\text{K}_{(v)}^{+}$ - (napětově řízený) draslíkový kanál

Chiralita - označuje asymetrii prostorového rozložení objektu (např. molekuly)

Ligand - je atom, ion nebo molekula, která poskytuje jeden nebo více elektronových párů centrálnímu atomu

Lyofilizace – tedy sušení mrazem je metoda sušení vlhkých materiálů

$\text{Na}_{(v)}^{+}$ - (napětově řízený) sodíkový kanál

Nociceptivní – vnímající bolest

Petechie - drobné krevní výronky do kůže velikosti vpichu špendlíku, často se projevují jako mnohočetné tečkování na kůži

Proteolýza - je částečná nebo úplná degradace proteinů (na menší proteiny, příp. peptidy či jednotlivé aminokyseliny)

Priapismus - dlouhodobé bolestivé ztopoření mužského pohlavního údu nevyvolané pohlavním vzrušením

Synergismus - z chemického a farmakologického hlediska zesilování účinku dvou nebo více současně podávaných látek