

ALFA-LATROTOXIN

Jiří PATOČKA

Katedra radiologie a toxikologie Zdravotně sociální fakulty Jihočeské univerzity, České Budějovice

Souhrn

*Alfa-latrotoxin je 130 kDa proteinový toxin z jedu pavouků rodu *Latrodectus* (snovačka) a je to jediný protein jejich jedu, který účinkuje na savce. Uplynulo již více než 30 let od doby, kdy byl alfa-latrotoxin izolován z jedové žlázy pavouka *Latrodectus tredecimguttatus*, zvaného černá vdova. Je to jeden z nejedovatějších živočišných jedů a je zodpovědný za tisíce otrav způsobených pavouky tohoto rodu. Toxin je široce využíván při studiu uvolňování neurotransmiterů, ale jeho přesný mechanismus účinku není dosud znám.*

Klíčová slova: Biotoxin; Alfa-latrotoxin; *Latrodectus*; „Černá vdova“; Latrodektismus.

Alfa-Latrotoxin

Summary

*Alfa-latrotoxin is a 130 kDa protein toxin from the *Latrodectus* spider venom, and it is the only protein of the venom that affects mammals. It has been more than 30 years since alfa-latrotoxin was first isolated from venom glands of the female spider *Latrodectus tredecimguttatus*, called “black widow”. It is one of the most poisonous animal toxins, and it is liable for thousands of envenomations due to spiders of *Latrodectus* genus. The toxin is widely used to induce and study the neurotransmitter release, but the precise molecular mechanism of its effect is not fully determined.*

Key words: Biotoxin; Alfa-latrotoxin; *Latrodectus*; “Black widow”; Latrodektism.

Úvod

Alfa-latrotoxin je hlavní toxickou komponentou jedu pavouků rodu *Latrodectus* (snovačka), jejichž kousnutí je nebezpečné i pro člověka (24). Kousnutí snovačky vyvolává intoxikaci známou jako latrodektismus. Je velmi nebezpečné a osud intoxikovaného je po dobu několika dnů velmi nejistý. Úplné zotavení může trvat i několik týdnů.

Pavouci vytvářejí svůj jed v žlázách, které ústí do srpovitě zahnutých chelicer, které jsou specializovány pro příjem potravy. Jed se dostává do rány kousnutím a jeho cílem jsou motorické a senzorycké neurony, v nichž stimuluje uvolňování neurotransmiterů na nervových zakončeních. Těmito neurotransmitery jsou zejména acetylcholin, glutamát a kyselina gama-aminomáselná (GABA) (41). Jed snovačky jedovaté (*Latrodectus mactans*, barevná příl. s. IV, obr. 1), tvořený směsí extrémně toxických polypeptidů, je jedním z nejúčinnějších živočišných jedů.

Historie latrodektismu a objevování toxikologicky účinných komponent jedu snovačky představuje zajímavou kapitolu toxikologie přírodních jedů.

Biologie snovačky

Rod *Latrodectus* čítá asi 40 druhů pavouků, rozšířených na celém světě. Mezi nejznámější patří americký druh *Latrodectus mactans* (snovačka jedovatá), známá pod označením „černá vdova“, a její evropská (*L. tredecimguttatus*) a australská příbuzná (*L. mactans hasselti*). Z dalších snovaček jsou známy druhy *L. geometricus* (hnědá vdova) a jihoafrický druh *L. indistinctus*. Pavouk „černá vdova“ (black widow) je celý černý, s typickou červenou kresbou v podobě přesýpacích hodin na zadečku, s rozpětím nohou u samičky asi 2,5 cm. Samečci jsou až 20krát menší. Pavouci jsou spíše pasivní, žijí při zemi na loukách a pastvinách a zaútočí jen při vyrušení. Jejich kousnutí je však vždy nebezpečné a vzhledem k jejich rozšíření představuje celosvětový problém (23).

Kousnutí snovačkou

Latrodektismus začal být intenzivně studován na počátku 30. let 20. století Williamem J. Baerem,

profesorem entomologie, poté co byl sám kousnut černou vdovou do prstu (1). Kousnutí je zpočátku téměř bezbolestné a připomíná bodnutí špendlíkem. Po několika minutách začne místo kousnutí bolet, intenzita bolesti se stále stupňuje a objevuje se otok. Bolest i otok se rozšiřují na další části těla, objevuje se nevolnost, bolesti lymfatických uzlin, ztráta koordinace, pocení, zvýšení krevního tlaku a potíže s dýcháním. Poměrně častý je priapismus (18), mohou se objevit kardiovaskulární problémy (8). Akutní potíže obvykle přetrvávají 2 až 5 dní, ale některé neurologické problémy mohou přetrvávat i několik týdnů. Pokud není podáno specifické antisérum, kousnutí může být smrtelné (33). Zajímavý případ byl popsán Fullerem (12), kdy kousek těla zabité snovačky (*L. hesperus*) se dostal člověku do oka. Nejenže se u něj objevily téměř okamžitě lokální účinky jedu na oko a periorbitální tkáň, ale dostavily se i celkové příznaky.

V roce 1926 popsal Bogen 150 případů kousnutí snovačkou jedovatou z USA a Kanady, z nichž 12 skončilo smrtí. V té době pochopitelně nebylo známo žádné antisérum a terapie byla pouze symptomatická (2). Většina obětí byli muži z Kalifornie, kteří byli kousnuti do penisu a přilehlých částí těla, při sezení v trávě. V roce 1978 bylo analyzováno 2144 případů kousnutí australskou snovačkou *L. mactans hasselti* (red-back spider) na území Austrálie a Nového Zélandu v letech 1963 až 1976. Za posledních devět let se počet kousnutí ustálil na 240 ročně. Většina obětí byla kousnuta do končetin (74 %). Nejvyšší frekvence kousnutí byla v letních měsících v odpoledních nebo večerních hodinách. Většina obětí byli muži (64,4 %) ve věku 18 až 50 let (79 %). Muži byli často kousnuti do hýždí nebo genitálií (9,7 %). U všech se objevily typické příznaky, ale žádná z obětí nezemřela, protože všem bylo podáno antisérum. Dvaadevadesát procentům obětí do 24 hodin a 70 % do dvou hodin. V 11 případech (0,54 %) se objevil anafylaktický šok jako reakce na kousnutí (38). K podobným závěrům dospěla i novější prospektivní studie (22), která hodnotila skupinu 68 pacientů kousnutých snovačkou v různých částech Austrálie v období od února 1999 do března 2002. Podobnou analýzu, tentokrát na dětech, provedli Mead a Jelinek (29). Jejich soubor zahrnoval 241 případů kousnutí dětí (89 %) z celkového počtu 271 případů zaznamenaných v nemocnici Princezny Margarety a nemocnici Fremantle za období let 1979 až 1988 v okolí australského Perthu. Byly vybrány pouze ty oběti, u nichž bylo

jednoznačně potvrzeno kousnutí snovačkou *L. mactans hasselti*. Podobně jako u dospělých, k většině kousnutí došlo v teplých měsících, ve dne (83 %) a většina obětí byli chlapi (68 %). Místem kousnutí byly v 81 % případů končetiny. Symptomy intoxikace byly podobné jako u dospělých a v případě aplikace antiséra bylo také riziko smrti stejné jako u dospělých.

Podání antiséra při kousnutí pavouky se jednoznačně osvědčilo a prakticky zlikvidovalo riziko úmrtí (21). Jeho použití je rozšířeno zejména v Austrálii, USA a Kanadě, kde je množství kousnutí snovačkou největší (42), a prakticky vytlačilo používání intravenózně podávaného kalciumglukonátu a methocarbamolu (25), myorelaxancií a analgetik (34). Antisérum se podává intramuskulárně.

Protože případů kousnutí snovačkami je velké množství a existuje velký počet vědeckých studií věnovaných tomuto problému (např. 28, 30–33, 37, 39), je poměrně dobře znám nejen klinický průběh intoxikace, ale byla vypracována i účinná terapie (4, 5, 11, 13, 38).

Častá jsou také kousnutí zvířat. Velmi citlivé na jed snovaček jsou kočky, pro něž je kousnutí téměř vždy smrtelné (40). Psi jsou sice odolnější, ale otrava má u nich velmi dramatický průběh (33).

Farmakologie jedu

Jak popisují ve své knize Duchen a Gomez (7), první pokusy s jedem snovačky prováděli D'amour, Becker a Van Ripen v roce 1936 (6). Jedové žlázy americké snovačky macerovali fyziologickým roztokem a ten pak injikovali intraperitoneálně dospělým potkanům. Prvními příznaky intoxikace byla strnulá chůze, neobratné pohyby, zejména zadních končetin, slzení a sevření očních víček. Zvířata se stala nepohyblivými, jejich dýchání bylo mělké a všechna uhynula v rozmezí 8 až 36 hodin. Jed snovačky byl 15krát účinnější než jed chřestýše. Později zjistil Sampayo (36), že jed působí na CNS, a Cantore (3) později prokázal, že ruší kontrakce způsobené stimulací frenického nervu izolované bránice potkana a způsobuje ireverzibilní blokádu motorických nervových zakončení. Vliv jedu snovačky na nervosvalový přenos byl studován na žabím preparátu a výsledky byly vyhodnoceny jako přímý vliv jedu na nervosvalovou membránu spojený s uvolněním neuromediátoru a depolarizací nervových zakončení. Uvolnění neuromediátoru bylo nezávislé na

přítomnosti Ca^{2+} iontů (4). Další studie prokázaly, že jed vyvolává depleci neurotransmiterů nejen na cholinergních nervových zakončeních (4), ale také na adrenergických nervových vláknech (9). Způsobuje také masivní exocytózu tím, že inhibuje napětově řízené draslíkové kanály a stimuluje kalciové kanály typu L (27).

Chemické složení jedu

Jed snovačky je pestrá směs nízkomolekulárních i vysokomolekulárních organických sloučenin a brzy bylo zjištěno, že za jeho toxicitu odpovídají látky proteinové povahy (1). Řada výzkumníků se zabývala elektroforetickým dělením směsi proteinů se snahou identifikovat ty, které jsou nositeli toxicity. Čisté a definované proteinové frakce byly získány až technikou gelové filtrace a iontové chromatografie. V jedu bylo identifikováno několik toxikologicky odlišných proteinů (10, 15). Jediným proteinem s toxickým účinkem na savce je α -latrotoxin (130 kDa), který se specificky váže na cholinergní receptory presynaptické membrány v centrálním i periferním nervovém systému, destabilizuje membrány nervových buněk, otevírá iontové kanály a zvyšuje eflux Ca^{2+} dovnitř neuronů (17). Mechanismus toxického účinku α -latrotoxinu není dosud plně objasněn. V roce 1999 byla publikována práce (16), v níž byl podán důkaz, že α -latrotoxin se váže na specifické membránové receptory – neurexiny a latrophilin/CIRL (calcium-independent receptor for α -latrotoxin). Neurexiny jsou jednoduché transmembránové proteiny, které váží latrotoxin, ale váží také proteiny synaptických vezikulů, synaptotagminy. Latrofiliny jsou typické transmembránové proteiny ze skupiny G-proteinů. Akutní toxicita α -latrotoxinu pro savce je vysoká, LD_{50} pro bílého laboratorního potkana při i. p. podání má hodnotu 0,55 mg/kg, pro myš 0,9 mg/kg.

Dále bylo v jedu identifikováno 5 latroinsektotoxinů, které ovlivňují uvolňování neurotransmiterů z presynaptických zakončení u hmyzu a vykazují selektivní toxicitu pro tyto živočichy (14). Podobně působí také latrocrustatoxin, ale pouze u korýšů (*Crustaceae*) (20). Všechny tyto toxické polypeptidy snovaček se skládají z 1000 až 1200 aminokyselin a jejich molekulová hmotnost se pohybuje od 110 do 140 kDa (35). Alfa-latrotoxin má vysokou strukturální homologii se skupinou glukagonu podobných peptidů (17).

Závěr

V 90. letech minulého století se začala snovačka jedovatá ve Spojených státech houfně stěhovat z přírody do měst a vesnic (26) a nebezpečí kousnutí pro obyvatelstvo se zvýšilo. V roce 1997 informovalo American Association of Poison Control Center, že registruje 13 000 kousnutí snovačkou a že úmrtnost je nižší než 1 procento. Existence antiséra významným způsobem snižuje nebezpečí úmrtí, ale pokud není antisérum dostupné nebo je podáno pozdě, nebezpečí smrtelného kousnutí je poměrně vysoké (19).

Literatura

1. BAERG, WJ. Effect of bite of *Latrodectus mactans* (Fabricius). *J. Parasitol.*, 1923, vol. 9, p. 61–63.
2. BOGEN, E. Arachnidism. Spider poisoning. *Arch. Int. Med.*, 1926, vol. 38, p. 623–624.
3. CANTORE, GP. – BETTINI, S. Contribution to the study of the venom of *Latrodectus tredecimguttatus* Rossi. Article in Italian. *Rend. Ist. Sup. Sanit.*, 1958, vol. 21, p. 794–805.
4. CLARK, AW., et al. Effects of black widow spider venom on the frog neuromuscular junction. Effects on the fine structure of the frog neuromuscular junction. *Nature*, 1970, vol. 225, p. 703–705.
5. CLARK, RF., et al. Clinical presentation and treatment of black widow spider envenomation: a review of 163 cases. *Ann. Emerg. Med.*, 1992, vol. 21, p. 782–787.
6. D'AMOUR, FE. – BECKER, FE. – VAN RIPER, W. The blafl widow spider. *Q. Rev. Biol.*, 1936, vol. 11, p. 161–165.
7. DUCHEN, LW. – GOMEZ, S. Pharmacology of Spider Venoms. In TU, AT. (ed.). *Handbook of Natural Toxins*. New York, Marcel Dekker, 1984, p. 483.
8. ERDUR, B., et al. Uncommon cardiovascular manifestations after a *Latrodectus* bite. *Am. J. Emerg. Med.*, 2007, vol. 25, p. 232–235.
9. FRONTALI, N. Catecholamine depleting effect of black widow spider venom on iris nerve fibers. *Brain Res.*, 1972, vol. 37, p. 146–148.
10. FRONTALI, N. – GRASSO, A. Separation of three toxicologically different protein components from the venom of the spider *Latrodectus tredecimatus*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1964, vol. 106, p. 213–218.
11. FRUNDLE, TC. Management of spider bites. *Air Med. J.*, 2004, vol. 23, p. 24–26.
12. FULLER, GK. Spider (*Latrodectus hesperus*) poisoning through the conjunctiva. A case report. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1984, vol. 33, p. 1035–1036.
13. GRAUDINS, A., et al. Clinical and in vitro evidence for the efficacy of Australian red-back spider (*Latrodectus hasselti*) antivenom in the treatment of envenomation by a Cupboard spider (*Steatoda grossa*). *Toxicon*, 2002, vol. 40, 767–775.

14. GRISHIN, EV. Black widow spider toxins: the present and the future. *Toxicon*, 1998, vol. 3, p. 1693–1701.
15. GRISHIN, EV. Isolation and partial structural characteristics of major toxic components of *Latrodectus pallidus* venom. Article in Russian. *Bioorg. Khim.*, 1997, vol. 23, p. 163–167.
16. HENKEL, AW. – SANKARANARAYANAN, S. Mechanisms of alpha-latrotoxin action. *Cell Tissue Res.*, 1999, vol. 296, p. 229–233.
17. HOLZ, GG. – HABENER, JF. Black widow spider alpha-latrotoxin: a presynaptic neurotoxin that shares structural homology with the glucagon-like peptide-1 family of insulin secretagogic hormones. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.*, 1998, vol. 121, p. 1771–1784.
18. HOOVER, NG. – FORTENBERRY, JD. Use of antivenin to treat priapism after a black widow spider bite. *Pediatrics*, 2004, vol. 114, p. 128–129.
19. HOXHA, R. Two Albanians die from black widow spider bites. *BMJ*, 2006, vol. 333, p. 278.
20. CHARAKHA, AR., et al. Isolation and partial structural characteristics of major toxic components of *Latrodectus pallidus* venom. Article in Russian. *Bioorg. Khim.*, 1997, vol. 23, p. 163–167.
21. ISBISTER, GK., et al. Antivenom treatment in arachnidism. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, 2003, vol. 41, p. 291–300.
22. ISBISTER, GK. – GRAYE, MR. Latrodectism: a prospective kohort study of bites by formally identified red-back spiders. *Med. J. Aust.*, 2003, vol. 179, p. 620–623.
23. JELINEK, GA. Widow spider envenomation (latrodectism): a worldwide problem. *Wilderness Environ. Med.*, 1997, vol. 8, p. 226–231.
24. KAZBUNDOVÁ, J. – PATOČKA, J. Jedovatí pavouci a nebezpečí jejich kousnutí. *Voj. zdrav. Listy*, 2006, roč. 75, č. 2, s. 66–69.
25. KEY, GF. A comparison of calcium gluconate and methocarbamol (Robaxin) in the treatment of Latrodectism (black widow spider envenomation). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1981, vol. 30, p. 273–277.
26. KOBERNICK, M. Black widow spider bite. *Am. Fam. Physician*, 1984, vol. 29, p. 241–245.
27. LAJUS, S., et al. Alpha-latrotoxin induces exocytosis by inhibition of voltage-dependent K⁺ channels and by stimulation of L-type Ca²⁺ channels via latrophilin in beta-cells. *J. Biol. Chem.*, 2006, vol. 281, p. 5522–5531.
28. LIFSHITZ, M. – ZALZSTEIN, E. Black widow spider envenomation in a 36-year-old man. *Wilderness Environ. Med.*, 2002, vol. 13, p. 285.
29. MEAD, HJ. – JELINEK, GA. Red-back spider bites to Perth children, 1979–1988. *J. Paediatr. Child Health*, 1993, vol. 29, p. 305–308.
30. MILLER, TA. Latrodectism: bite of the black widow spider. *Am. Fam. Physician*, 1992, vol. 45, p. 181–187.
31. MOSS, HS. – BINDER, LS. A retrospective review of black widow spider envenomation. *Ann. Emerg. Med.*, 1987, vol. 16, p. 188–192.
32. MÜLER, GJ. Black and brown widow spider bites in South Africa. A series of 45 cases. *S. Afr. Med. J.*, 1993, vol. 83, p. 399–405.
33. PETERSON, ME. Black widow spider envenomation. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.*, 2006, vol. 21, p. 187–190.
34. RAUBER, A. Black widow spider bites. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, 1983–1984, vol. 21, p. 473–485.
35. ROHOU, A. – NIELD, J. – USHKARYOV, YA. Insecticidal toxins from black widow spider venom. *Toxicon*, 2007, vol. 49, p. 531–549.
36. SAMPAYO, RRL. Pharmacological action of the venom of *Latrodectus mactans* and other *Latrodectus* spiders. *J. Pharm. Exp. Ther.*, 1944, vol. 80, p. 309–311.
37. SAUCIER, JR. Arachnid envenomation. *Emerg. Med. Clin. North Am.*, 2004, vol. 22, p. 405–422.
38. SUTHERLAND, SK. – TRINCA, JC. Survey of 2144 cases of red-back spider bites: Australia and New Zealand, 1963–1976. *Med. J. Aust.*, 1978, vol. 2, p. 620–623.
39. TINGATE, TR. Envenomation by the common black widow spider. *Med. J. Aust.*, 1991, vol. 154, p. 291.
40. TWEDT, DC. – CUDDON, PA. – HORN, TW. Black widow spider envenomation in a cat. *J. Vet. Intern. Med.*, 1999, vol. 13, p. 613–616.
41. USHKARYOV, Y. Alpha-latrotoxin: from structure to some functions. *Toxicon*, 2002, vol. 40, p. 1–5.
42. WHITE, J. Envenoming and antivenom use in Australia. *Toxicon*, 1998, vol. 36, p. 1483–1492.

Korespondence: Prof. RNDr. Jiří Patočka, DrSc.
Jihočeská univerzita
Zdravotně sociální fakulta
Katedra toxikologie a radiologie
Matice školské 17
370 01 České Budějovice
e-mail: prof.patocka@gmail.com

Do redakce došlo 16. 7. 2007