

L. TOMINI, S. GREGORUTTI, L. TRIOLO & A. CHIARANDINI

## OSSERVAZIONI IN VITRO SULL'EFFETTO DI ALCUNI FARMACI SULLE CELLULE DI MACROMICETI COMMESTIBILI E TOSSICI

**Riassunto** - L. TOMINI, S. GREGORUTTI, L. TRIOLO & A. CHIARANDINI - Osservazioni in vitro sull'effetto di alcuni farmaci sulle cellule di macromiceti commestibili e tossici.

Tutte le cellule fungine del genere *Amanita*, ivi comprese le spore, resistono alle temperature oltre i 120°C, ai succhi gastroenterici ed al trattamento con farmaci quali la penicillina, gli steroidi, il destrano, il lisozima, lo UDPG ed a vari dei cosiddetti epatoprotettori.

Le cellule sporali e somiali, ad eccezione delle spore immature, risentono, con modalità diverse, dell'acido tioctico e dell'alfa-mercapto-propionil-glicina.

Le nostre prove in vitro traggono origine da un'osservazione casuale fatta nell'espletamento di un'indagine peritale, volta a confermare la presenza di funghi velenosi in due casi occorsi all'estero, e pubblicati ancora nel 1969.

Si trattava di due persone decedute, e nelle quali si riscontrarono in buon numero spore di *Amanita phalloides*.

Nei campioni da sezione medicolegale, e consistenti in elementi di stomaco, tenue e crasso delle due persone decedute, ed in quello costituito da un frustolo di deiezione trovato adeso all'esterno, le spore non si presentavano uguali.

Nella prima paziente, deceduta al momento del ricovero, le spore reperite in tutti e tre gli organi erano perfettamente conservate. La seconda persona invece presentava spore alterate sia nell'aspetto del citoplasma che dei profili

(pattern). Erano invece normali quelle del frustolo esterno. Apparve dalle cartelle cliniche che solo la seconda paziente, sopravvissuta per circa 24 ore, era stata trattata con acido tiocistico (AT).

Si ipotizzò essere responsabile della differenza questa sostanza. Il frustolo avrebbe potuto essere emesso prima dell'inizio della terapia. Si misero a contatto spore di *A. phalloides* con due prodotti contenenti AT, e precisamente il Tioctidasi dell'Istituto Sieroterapico Italiano, ed il solvente del Syntepar forte, dell'Unione Chimica Belga. In tutti e due i casi le spore assunsero in breve l'aspetto notato nella seconda persona. Alle osservazioni successive, e che miravano a dimostrare fino a quale diluizione le spore reagissero, si appurò che a temperatura ambiente, e fino alla concentrazione di 1:400, l'AT provocava nelle spore danneggiamento progressivo fino a giungere, in alcuni casi, alla rottura della spora stessa. Il danneggiamento iniziava con la perdita della caratteristica brillantezza e l'accentuazione della trama della sepimentazione interna. Nello stesso tempo la spora iniziava a perdere il caratteristico profilo, arrotondandosi sempre più ed aumentando il diametro.

La cuticola sporale, da rifrangente diventava grigia ed infine nera, e la attività terminava con l'esplosione della spora, che proiettava nella zona adiacente sferule nerastre di citoplasma.

La spora rimaneva in un atteggiamento da noi definito «a C maiuscola», essendosi spaccata lungo la linea equatoriale per tutta la circonferenza, pur rimanendo un minimo lembo a trattenere le due metà, come si trattasse di una cerniera.

Ben diverso dunque questo atteggiamento da quello della spora rotta per sollecitazione meccanica, e che è ben nota.

L'esperimento fu ripetuto più volte, e sempre i particolari apparvero nella successione osservata. Il risultato ultimo si otteneva usando concentrazioni di 1:400 di AT, entro mezz'ora.

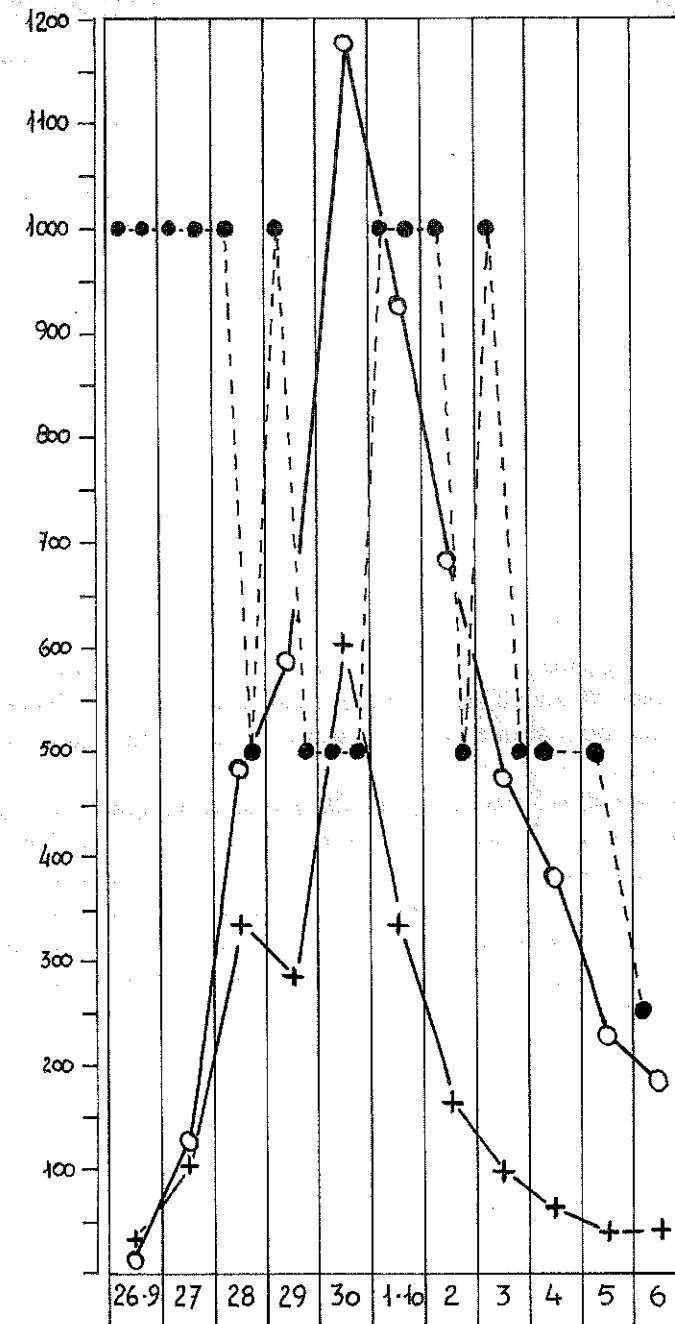
Osservando le spore fissate senza coprioggetto, e con obiettivo ad immersione direttamente nell'AT, più volte vennero viste nel preciso momento della rottura.

Apparve però che le spore a diametri minori non reagivano. Sospettando che si trattasse di immaturità, si provvide a raccogliere da un fungo le spore cadute spontaneamente e successivamente, per azione meccanica dell'acqua, quelle rimaste sulle lamelle.

In prove parallele si poté notare che le spore mature reagivano nella quasi totalità, mentre solo in piccola parte lo facevano quelle prelevate, ed in tutti i casi solo quelle a diametri maggiori.

Le spore più piccole non reagivano affatto anche aumentando la concentrazione dell'AT, la temperatura, od incubandole per periodi fino a tre mesi.

Alcune spore di misura intermedia reagivano parzialmente presentando oscuramento del citoplasma ma non della cuticola, oppure macchie nerastre dissemi-



CASO T. L. 1988

GPT ○—○ GOT +—+ ATmg ●---●

nate che noi definimmo «spore a pelle di leopardo». Si notò in alcuni casi aumento volumetrico dei vacuoli.

Rimanevano da provare verna e virosa. Prova positiva.

Reagirono del pari le spore della muscaria e della pantherina, nonché quelle della rubescens. Essendo però quest'ultima provvista di sostanze emolitiche ma termolabili come l'Amanitopsis, si provò anche con questa.

La reazione fu pronta, e più rapida che nelle Amanite. Dopo una serie di prove condotte su funghi di altri generi, commestibili o tossici che fossero, con particolare riguardo a quelle specie che sono riconosciute disporre di sostanze amanitinosimili, si poté concludere che solo il genere Amanita, con tutte le sue specie, reagiva all'AT.

Era stato riferito che erano i sulfidrili a rendere attiva questa sostanza, e che pertanto si sarebbero avute prestazioni migliori con un prodotto giapponese molto più ricco di sulfidrili.

Le prove furono condotte solo su *A. phalloides*. Apparve che anche questa sostanza era attiva, ma che il fenomeno che si poteva osservare era esattamente opposto a quello prodotto dall'AT. Mentre questo infatti si comportava come una soluzione ipotonica, il Thiola lo faceva come una soluzione ipertonica. La spora iniziava a raggrinzirsi, e si notava che il citoplasma usciva attraversando la membrana sotto forma di goccioline, e rimanendo nei pressi. Nello stadio finale si aveva una spora simile ad una prugna secca, ma che manteneva intatta la sua brillantezza.

Ma per tornare all'AT testammo le cellule somatiche della *A. phalloides* con lo AT. La trama cellulare di elementi provenienti da diverse parti del fungo era in breve scompaginata. Un po' minore appariva il danno alle cellule dell'anello, ed appena percettibile in quelle della volva. Quanto interesse possa rivestire all'atto pratico questa osservazione non l'abbiamo ancora accertato. Abbiamo però notato che il danneggiamento sporale nelle deiezioni del paziente è proporzionale alla quantità di AT usata per unità di tempo tanto che, in casi favorevoli, i primi segni si sono notati entro un'ora dall'inizio della somministrazione del farmaco.

Rimaneva da provare l'attività degli altri medicinali descritti in letteratura. Nessuno dimostrò di influire sulle spore o sulle cellule del soma.

Un caso recentissimo dimostra che l'andamento dei parametri bioumorali può essere correlato con la dose di AT somministrata, in quanto alla riduzione di questa si ebbe una ricaduta, prontamente riparata dall'aumento del farmaco (v. grafico).

Tutto merito dell'acido tioctico? È presto per dirlo, ma l'ipotesi è affascinante.

Indirizzo degli autori:

L. Tomini - S. Gregorutti & A. Chiarandini: Centro di Studi Tossicologici,  
Sezione Micologica - C.P. 3419 - 34100 Trieste

L. Triolo: USL n. 1 - Triestina, Servizio di Medicina d'Urgenza  
34100 Trieste