

PRIKAZ SLUČAJA: TROVANJE GLJIVAMA

(Zelena pupavka i RNA polimeraza)

Mikolog amater hospitaliziran zbog bolova u truhu

22-godišnja djevojka prevezena je u bolnicu zbog akutnog zatajenja jetre. Premještena je iz opće bolnice dan nakon trovanja gljivama, koje je sakupljala u obližnjem parku. Pojela je oko 500g gljiva koje je prikupila. 10 sati kasnije pojavile su se mučnine, povraćanje, bol u abdomenu i dijareja. Njezin cimer (koji nije jeo gljive) odveo ju je u bolnicu gdje je utvrđeno da je bila pri svijesti i orijentirana, ali je imala gastrointestinalne simptome. Nije imala žuticu, ali je imala nizak krvni tlak (92/60mmHg), te puls od 114 otkucaja u minuti. Laboratorijski nalazi su pokazali nizak kalij u krvnom serumu i blagu anemiju, ali su jetrene probe bile uredne. Primila je infuziju, te je podvrgnuta ispiranju želuca, s primjenom aktivnog ugljena pomoću nazogastrične sonde. Obaviješten je regionalni centar za kontrolu trovanja, te je preporučeno prebacivanje pacijentice u klinički bolnički centar.

Djevojka nije imala značajnu povijest bolesti: nije pušila niti pila, te je negirala uzimanje nedopuštenih droga. Bila je mikolog amater i botaničar, te je sama brala gljive i jela ih, bez komplikacija do sada. Nije uzimala nikakve lijekove.

Koji je značaj konzumacije gljiva za njezinu kliničku sliku? Možete li nagađati o etiologiji gastrointestinalnih simptoma? Zašto je kalij u serumu nizak? Što je aktivni ugljen i čemu služi?

Djevojka je prebačena u klinički bolnički centar i stanje joj se poboljšalo

Dolaskom u bolnicu, 30 sati kasnije, bila je pospana, ali se lako budila, i bila je svjesna mjesta i situacije. Gastrointestinalni simptomi su popustili. Tlak i brzina otkucaja srca su bili nepromijenjeni. Koža i bjeloočnice nisu bile žute. Nije bilo znakova kronične bolesti jetre. Pregled grudnog koša i srca pokazali su normalan nalaz, izuzev tahikardije. Trbuh je bio mekan sa čujnim muklim tonovima, nije bilo nikakvih opipljivih masa niti hepatosplenomegalije. Neurološki pregled nije pokazao žarišne deficite.

Laboratorijski nalazi ukazuju na jetrenu i bubrežnu disfunkciju

Laboratorijski nalazi su pokazali anemiju i poremećenu koagulaciju krvi. Jetreni testovi također nisu bili uredni. Testovi na virusni hepatitis A, B i C i heterofilna antitijela bili su negativni. Testovi funkcije bubrega: urea i kreatinin bili su povećani. Tretirana je aktivnim ugljenom zbog pretpostavljenog trovanja gljivama. Njezin cimer je donio neke nepojedene gljive za koje se ustanovilo da pripadaju rodu *Amanita phalloides* (zelena pupavka).

Što je mehanizam oštećenja jetre kod trovanja gljivama? Kako djeluje aktivni ugljen? Što su heterofilna antitijela?

Stanje djevojke se pogoršava

Unatoč liječenju, stanje pacijentice se pogoršalo, razvijajući drugi stupanj jetrene encefalopatije s povećanjem pospanosti, dezorijentiranosti, nastavkom porasta jetrenih enzima (AST, ALT i alkalna transferaza) te pogoršanjem koagulopatije i progresivnom abnormalnošću testova funkcije bubrega. Vitamin K je davan subkutano i započeta je terapija penicilinom G, askorbinskom kiselinom i cimetidinom (zaustavlja lučenje želučane kiseline). Bilo joj je sve lošije, s pogoršanjem mentalnog stanja i padom u treći stupanj hepatične encefalopatije. Koagulopatija se također pogoršala usprkos liječenju vitaminom K.

Što je hepatična encefalopatija i koje su njezine faze? Kako penicilin G, askorbinska kiselina i aktivni ugljen djeluju kod zatajenja jetre?

Transplantacija jetre primjenjuje se kod zatajenja jetre

Šestog dana boravka u KBC-u, podvrgnuta je ortotopskoj transplantaciji jetre zbog uznapređovalog zatajenja jetre. Histološkom pregledom jetre ustanovljena je panacinarne nekroza s krvarenjem i toksičnim oštećenjem. Stanje joj se poboljšalo nakon transplantacije jetre, te je nakon tri tjedna bolničkog liječenja puštena kući uz terapiju kortikosteroidima i imunosupresivima. Godinu dana nakon transplantacije stanje je uredno.

DISKUSIJA

Mikologija i *Amanita* vrste

Micetizam, odnosno trovanje gljivama, je rijedak ali ponekad fatalan uzrok akutnog zatajenja jetre i kao takav smatra se hitnim medicinskim slučajem koji zahtijeva hospitalizaciju. Postoji više od 5000 vrsta gljiva, ali manje od 100 vrsta je otrovno za ljude. Nažalost, čak i iskusni mikolog može pogriješiti i pojesti otrovnu gljivu. Vrste roda *Amanita* spadaju među najotrovnije gljive, a smatra se da *Amanita phalloides* čini 90% fatalnih slučajeva trovanja gljivama. Ova gljiva je poznata još pod nazivima „smrtonosna kapa“ (engl. *death cap*), „anđeo smrti“ (engl. *death angel*) ili „anđeo uništenja“ (engl. *destroying angel*). Čak i jako mala količina *Amanite* (5 do 15 mg amatoksina) je dovoljna da izazove smrt čovjeka.

U zapadnoj Europi trovanje gljivama je u porastu, jer se amateri sve više bave gljivarstvom. Zelena pupavka je rasprostranjena u gotovo cijeloj Europi, uključujući time i Hrvatsku. Staništa su svijetle bjelogorične ili crnogorične šume, a može se naći u blizini hrasta, kestena, graba, breze, bora, itd. Otrovnne vrste roda *Amanita* ne razlikuju se u izgledu te se lako mogu zamijeniti s jestivim gljivama ove obitelji. Trovanje otrovnim vrstama gljiva roda *Amanita* se može spriječiti u velikoj mjeri ako iskusni mikolog pregleda gljive prije konzumacije istih. Terenski vodiči nisu dovoljni za razlikovanje otrovnih vrsta od neotrovnih.

Toksini i mjesta njihova djelovanja

Dvije vrste toksina

Amanita phalloides sadrži dvije glavne grupe toksina: falotoksin i amatoksin. Najveća koncentracija toksina je u himeniju, klobuku i prstenu gljiva, a u manjoj mjeri se nalaze u stručku gljive. Falotoksinu, uključujući i ciklički heptapeptid faloidin, se pripisuje izazivanje gastrointestinalnih simptoma koji su povezani s trovanjem gljiva roda *Amanita*. Iako postoje neke sumnje u mehanizam djelovanja toksina, poznato je da su umiješani u polimerizaciju aktina.

Amanitini inhibiraju RNA polimerazu II

Postoji mala dvojba o toksičnosti amatoksina (α -, β -, γ -, ϵ - amanitin), grupe cikličkih oktopeptida, koji se ne razgrađuju kuhanjem, sušenjem ili probavom. Oni, a posebno α - i β -amanitini, su odgovorni za izazivanje bolova i smrtnih slučajeva koji se dovode u vezu sa trovanjem gljivama. Amanitini se nekompetitivno vežu na najveću podjedinicu RNA polimeraze II, koja je kodirana *RPBI* genom i posreduju u sintezi pre-mRNA. Kristalografijom je dokazano da se α - amanitin veže na tzv. premošćujući dio uzvojnice koji obuhvaća vezno mjesto nukleinske kiseline na holoenzimu RNA polimeraze II. Sve ovo, zajedno sa biokemijskim i genetičkim podacima, ukazuje da amanitin inhibira translokaciju DNA i RNA preko holoenzima i na taj način onemogućuje vezivanje nukleotida na rastući RNA lanac. RNA polimeraza III je također zahvaćena amanitinima, ali sa prolaznim efektom i relativno bezazlenim kliničkim posljedicama.

Tako za razliku od staničnih transkripcijskih faktora i represora, koji reguliraju transkripciju vežući se na DNA ili inhibiraju vezanje drugih faktora, amanitini se vežu direktno na polimerazu pored aktivnog mjesta i na taj način inhibiraju enzimsku aktivnost.

Toksični efekti su rezultat smanjene sinteze proteina

Smatra se da su toksični efekti amanitina rezultat blokiranja translacije uslijed manjka mRNA. Zbog nepostojanja translacije, proteini odgovorni za preživljavanje stanice se ne sintetiziraju i stanica naposljetku umire. Najviše su zahvaćeni jetra i bubrezi kao što je bilo i kod djevojke iz ovog slučaja. Amanitini ulaze u enterohepatičku cirkulaciju u kojoj se metaboliti (kao što je bilirubin) sintetiziraju u jetri i izlučuju putem žuči u crijeva. Oni se postepeno razgrađuju u crijevima pomoću bakterijskih enzima pa se apsorbiraju kroz crijevnu sluznicu i vraćaju u jetru.

Amanitini se tako talože u jetri i povećavaju rizik za oštećenjem same jetre. Bubrezi brzo izlučuju amanitine, ali samo toksično djelovanje amanitina na epitelne stanice tubula često rezultira zatajenjem bubrega. Najgore po zdravlje je zatajenje jetre i bubrega zajedno. U takvim slučajevima koji zahtijevaju transplantaciju, patološki pregled jetre otkriva potpunu nekrozu, vaskularnu degeneraciju; i povišene razine kisele fosfataze, odraz povećane kataboličke aktivnosti jetre. Bubrezi često pokazuju znakove akutne tubularne nekroze i hijalinizacije.

Trovanje gljivama – brza progresivna intoksikacija

Postoje četiri klinička stadija

Prvi stadij (inkubacijski stadij) je period bez simptoma koji traje 8-12 sati nakon uzimanja gljiva. Drugi stadij je karakteriziran sa gastrointestinalnim simptomima koji uključuju abdominalnu bol, dijareju i povraćanje što može trajati od 6 do 16 sati. Idealno je da se terapija počne primjenjivati u ovom stadiju, ali to se dešava jedino ako liječnik posumnja na trovanje gljivama. Treći stadij se javlja 24-48 sati nakon uzimanja gljiva i karakteriziran je brzom progresijom kliničkih i biokemijskih dokaza oštećenja jetre.

Terminalni stadij se javlja 4-7 dana nakon ingestije. Bolesnik razvija oligurično (bez produkcije urina) zatajenje bubrega praćeno pogoršanjem stanja jetre te se javljaju rast razine amonijaka, hepatična koma, hemoragija, respiratorno zatajenje i naposljetku smrt. Na jačinu trovanja gljivama utječu doza, broj razvijenih simptoma, ozbiljnost jetrenog oštećenja i starost (visoka smrtnost djece mlađe od 10 godina).

Djevojka iz ovog slučaja jasno prolazi kroz sva četiri klinička stadija. Njezini gastrointestinalni simptomi počinju 10 sati nakon konzumacije gljiva, a nakon kratkog vremena počinje pokazivati znakove oboljenja jetre i bubrega, koji su potvrđeni laboratorijskim nalazima. Pati od progresivne koagulopatije (mnogi faktori zgrušavanja se sintetiziraju u jetri) i razina jetrenih enzima (AST, ALT i alkalna fosfataza) u serumu je povećana. Povišeni bilirubin je sljedeći znak disfunkcije jetre jer se inače normalno izlučuje putem jetre preko žući. Djevojka je također pokazivala znakove jetrene encefalopatije koji su posljedica ozbiljne jetrene disfunkcije. Njezin rad bubrega je također bio poremećen: urea i kreatinin su bili povišeni. Srećom, transplantacija je bila moguća i djevojka je u potpunosti ozdravila.

TERAPIJA

Terapija je usmjerena na uklanjanje toksina

Ne postoji protulijek za trovanje gljivom *Amanita phalloides*. Terapija je usmjerena na što većem uklanjanju toksina. Također treba nadoknađivati izgublenu tekućinu infuzijom i uspostaviti normalnu razinu elektrolita koji su se izgubili zbog dijareje i povraćanja. Jetrene disfunkcija se liječi vitaminom K i svježom plazmom koji su potrebni da bi umanjili rizik od nastanka hemoragije.

Eliminacija toksina je najefikasnija ako se dogodi u ranoj fazi (unutar 30 min od ingestije), međutim većina bolesnika se javlja liječniku kada počnu gastrointestinalne smetnje. Ispiranje želuca i davanje aktivnog ugljena mogu odstraniti neapsorbirane dijelove gljiva i prekinuti ulazak toksina u krv. Aktivni ugljen može apsorbirati 100-1000mg toksina po gramu mase. Isforsirano izmokrivanje također može eliminirati toksin iz cirkulacije.

Pomoćna terapija

Veliki broj farmakoloških pripravaka je predlagan za liječenje trovanja gljivom *Amanita*, ali zbog vrlo rijetkog stanja nema dobro osmišljenih kliničkih studija koje bi pokazale konačnu djelotvornost tih pripravaka. Intravenozni penicilin G se često preporučuje zbog sposobnosti uklanjanja amanitina iz plazme proteina i tako potpomaže njegovoj ekskreciji iz organizma. Penicilin G također može suzbiti upijanje i prodiranje toksina u hepatocite. Pogodni za liječenje mogu biti i cimetidin koji je citokrom P 450 inhibitor i sprječava konverziju toksina u još toksičniji oblik te askorbinska kiselina koja djeluje antioksidativno. Nadalje, silibinin ima protektivan učinak na jetru jer inhibira ulazak amanitina u hepatocite i natječe se s amanitinom u transmembranskom transportu. Silibinin se dosta koristi u Europi, a njegova upotreba u SAD-u je dosta ograničena. Rana hemoperfuzija (24 sata od izloženosti) ugljenom se provodi naročito ako je bolesnik uzeo potencijalno letalnu dozu (>50g). Kada jetra počne otkazivati jedini konačan tretman je transplantacija koja se uzima u obzir pri progresivnom rastu razine jetrenih enzima i poremećaju faktora koagulacije.

**Tekst preveden iz knjige "A Clinical Companion to accompany Biochemistry" (Saltsman K, Berg J, Tomaselli G, 5.izdanje, str. 245-250)*

*** Tekst preveo: Ivana Gunjača, dipl. ing. mol. bio. i Dean Kaličanin, mag. biol. i ekol. mora*