

# INTOXICACIONES POR TRICHOLOMA EQUESTRE

## INTRODUCCIÓN

Poseo algunos textos de Micología relativamente recientes, que reconocen como comestible el '*Paxillus involutus*' o el '*Cortinarius orellanus*' e incluso tildan de excelente calidad a la '*Gyromitra esculenta*'. Quiero decir que, a lo largo de no muchos años, se han cambiado los tenedores por la calavera. ¿Es que asistimos lentamente al descubrimiento de secretas ponzoñas fúngicas o nuestros métodos de detección afinan o es que los síntomas sospechosos son cada vez más atribuidos a copiosas degustaciones reiterativas?

Algo de esto último parece entreverse en el artículo que R:BEDRY y col. han publicado en el Número 11 del 13 de Septiembre último en la prestigiosa revista médica "The New England Journal Of Medicine" y que reproducimos a continuación, tanto en su versión inglesa como traducido.

Posiblemente pasaría mas desapercibido si no se tratase de una seta de acervo popular como es la "Seta de los Caballeros", que muchos de nosotros hemos degustado con placer. Pero es que además, los métodos (incluyendo la realización de extractos de dicha seta, como la intoxicación experimental a ratones y el análisis estadístico) están tratados con rigor científico, frío y calculado, terriblemente objetivo en el número de fallecimientos, lo que nos debe obligar a recapacitar.

¿Que hacer a partir de ahora? Posiblemente debamos pensar en las setas mas como condimento que como alimento.

José de Uña y Villamediana

### INTOXICACIÓN POR HONGOS SILVESTRES

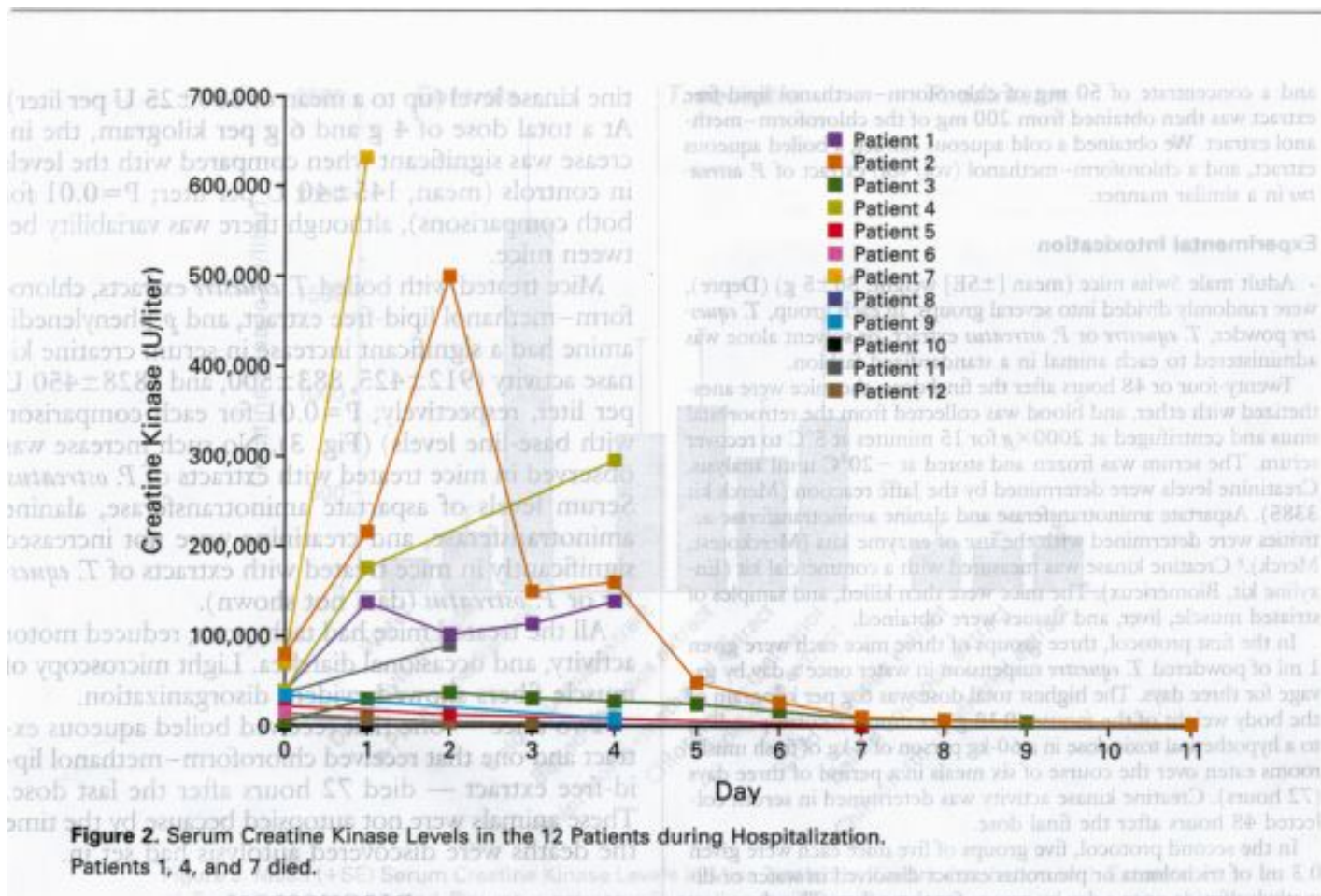
#### COMO CAUSA DE RABDOMIOLISIS

La popularidad creciente en el consumo de hongos silvestres ha llevado a un incremento en la incidencia de envenenamiento por hongos. La mayoría de las muertes son debidas a especies que contienen amatoxina, que causa una fulminante hepatocitolisis, y a especies de cortinarius, que conducen a un daño renal agudo. En un informe de 1966 se describía un paciente con fallo hepático, encefalopatía, y miopatía como consecuencia de la ingestión de *Amanita phalloides*. Desde 1992, 12 casos de rabdomiolisis de acción retardada han ocurrido en Francia después de comidas que incluían grandes cantidades del hongo comestible *Tricholoma equestre*. Las circunstancias de estos 12 casos implican claramente como causa al T. equestre. El hongo fue identificado positivamente, y no fue encontrada ninguna otra causa, como enfermedad bacteriana, viral, fúngica o inmune o exposición a alguna toxina. Tres de los 12 pacientes murieron.

Los hongos implicados fueron recolectados bajo pinos de las costas arenosas del suroeste de Francia, entre el otoño tardío y mediados de invierno. T.equestre está ampliamente distribuido por todo el mundo y es conocido también como T. flavovirens y coloquialmente como "hombre sobre lomo de caballo" (traducción literal) [ en castellano "Seta de los caballeros" o "hongo caballero amarillo" en Estados Unidos. Nosotros investigamos la rabdomiolisis inducida aparentemente en 12 personas por varias comidas consecutivas de T. equestre mediante la administración de dosis equivalentes de extractos del hongo a ratones.

## INFORME DE LOS CASOS

Siete mujeres (de entre 22 y 60 años) y cinco hombres (de entre 24 y 61 años) fueron hospitalizados entre 1992 y 2000 con rabdomiolisis severa aproximadamente una semana después de comer hongos silvestres. Todos los pacientes tomaron al menos tres comidas consecutivas que incluían *T. equestre*, y ninguno tenía una historia de lesión u otras causas conocidas subyacentes, o uso de medicación que pudiera explicar la aparición de la rabdomiolisis. Todos los pacientes presentaron síntomas de fatiga y debilidad muscular acompañados de mialgia, principalmente en la parte superior de las piernas, 24 a 72 horas después de su última comida conteniendo hongos. La debilidad empeoró en tres o cuatro días, conduciendo a rigidez de las piernas y la producción de orina oscura. Estos síntomas fueron acompañados de eritema facial, náusea ligera sin vómito, y transpiración profusa en ocho de los pacientes. No hubo fiebre, y cinco pacientes tuvieron hiperpnea. Los hallazgos del examen físico, que incluyó auscultación pulmonar y examen neurológico, no fueron significativos.



Los tests iniciales mostraron evidencias de rabdomiolisis, con una actividad sero creatina quinasa media de 226,067 U por litro en las mujeres, y 34,786 U por litro en los hombres (fig. 2). No se evidenció daño hepático. Los valores de  $\gamma$ -glutamilttransferasa fueron normales (valor, 5 a 24 U/l), y los niveles máximos promedio de aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa fueron de 8104 y 1392 U por litro, respectivamente, en las mujeres, y 1173 y 325 U por litro, respectivamente, en los hombres. A pesar de la intensidad de la rabdomiolisis clínica, los niveles de electrolitos, incluyendo índices de potasio, fueron normales y no ocurrió fallo renal. Las pruebas de coagulación fueron normales. Estudios adicionales de parásitos u otros microorganismos (coxsackievirus, toxoplasma, toxocara, trichinella, virus de la hepatitis B y C, y virus de la inmunodeficiencia humana) fueron negativos, así como de enfermedades sistémicas (como las evaluadas por tests de fijación del complemento y tests de anticuerpos nucleares circulantes).

Dada la ausencia de evidencia de intoxicación deliberada, los análisis se centraron en la hipótesis de que una intoxicación por hongos causó la rabdomiolisis. Se realizó una electromiografía en cuatro pacientes y reveló daño muscular sin afectar al nervio periférico. Los cambios más grandes estaban en los músculos proximales del muslo. Estaba presente la actividad compleja y generalmente miotónica, sin fibrilación, también en reposo. En estimulación, la actividad contráctil muscular era particularmente importante. Los potenciales motores y sensitivos fueron normales. Se realizó en un paciente una electromiografía diafragmática, que mostró resultados similares, sugiriendo la presencia de rabdomiolisis del diafragma sin

implicación frénica.

En seis pacientes, se obtuvieron muestras del músculo cuádriceps para análisis histológico. Bajo el microscopio óptico, la arquitectura fascicular de los músculos estaba bien preservada, las miofibrillas tenían una apariencia como "mordisqueadas", y en algunos casos estaban separadas unas de otras por edema con ausencia de vacuolas o por la acumulación de glucógeno o grasa -signos de un daño muscular directo. En los tres pacientes que murieron las muestras de los psoas y otros músculos (de los brazos, miocardio y diafragma) también mostraron evidencia de miopatía aguda.

En los 15 días siguientes, en todos los pacientes excepto tres, se normalizaron los valores de enzima sérica gradualmente, y la mayoría de los síntomas desaparecieron, aunque la debilidad muscular persistió durante varias semanas. En los tres pacientes que murieron, el aumento de la disnea en reposo fue el primer síntoma del empeoramiento posterior y fue seguido de un aumento de estertores en ambas bases pulmonares, llevando a la unidad de cuidados intensivos. Los tres pacientes tuvieron hipertermia (una temperatura por encima de los 42 °C); signos de miocarditis aguda, incluyendo arritmia cardíaca, colapso cardiovascular, y aumento del complejo QRS sin acidosis severa (pH, 7,37, con un nivel de bicarbonato sérico de 16 a 20 mmol por litro); y evidencia de disfunción renal, incluyendo niveles elevados de nitrógeno de la urea en sangre (30 a 52 mg por decilitro; 10,7 a 18,7 mmol por litro) y creatinina sérica (1,4 a 2,5 mg por decilitro; 126 a 224 mmol por litro), con hiperpotasemia (potasio, 6,0 a 7,2 mmol por litro) y hipocalcemia (calcio, 5,6 a 8,3 mg por decilitro) y un nivel normal de proteínas totales. Los tres pacientes tuvieron creatinina quinasa con valores de 632,000, 138,900 y 295,700 U por litro, con isoenzima MB acercándose de 0,5 a 0,7 por ciento del total. A pesar del cuidado fisiológico intensivo, incluyendo, en un caso, hemofiltración endovenosa continua, los tres pacientes murieron. La autopsia reveló lesiones miocárdicas idénticas a las lesiones musculares en un paciente, lesiones renales en otro, y ninguna lesión hepática.

## METODOS

Fueron necesarios estudios adicionales para demostrar que '*T. equestre*' fue la causa de la rhabdmiolisis en los 12 pacientes. Como no podría haber sido ético administrar extractos de '*T. equestre*' a seres humanos, nosotros elegimos un modelo verificado de mionecrosis en ratones. Se prepararon extractos de '*T. equestre*' y luego se administraron por intubación gástrica en una dosis equivalente a la ingerida por los pacientes. A los animales se les apreció entonces evidencias de rhabdmiolisis. Se emplearon dos protocolos: un estudio dosis respuesta con solamente '*T. equestre*' y otro en el que los ratones recibieron extractos tanto de '*T. equestre*' como del hongo no tóxico '*Pleurotus ostreatus*'.

### Extracto de los hongos

Los especímenes de '*T. equestre*' recolectados en el suroeste de Francia fueron identificados por micólogos cualificados. La denominación taxonómica de '*T. equestre*' es sinónimo -con la de *T. #lavovirens* (Fries) Lundell. Los Ejemplares de '*P. ostreatus*' obtenidos comercialmente fueron también confirmados como tales por micólogos cualificados. Entonces, 500 g de '*T. equestre*' fueron congelados, triturados y mezclados con 200 ml de agua ultrapura. La mezcla resultante fue liofilizada hasta convertirse en 60g de polvo. Se obtuvieron así los extractos. A partir de 5g de '*T. equestre*' en polvo se obtuvo un concentrado de 1,35g de extracto acuoso frío, y de 5g de '*T. equestre*' en polvo se obtuvo 1,65g de concentrado de extracto acuoso hervido. A partir de 10g de '*T. equestre*' en polvo se obtuvo un concentrado de 1,3g tras la extracción con cloroformo-metanol (vol/vol.), y entonces se obtuvo un concentrado de 50 mg de extracto de cloroformo-metanol libre de lípidos a partir de 200 mg de extracto de cloroformometanol. Obtuvimos un extracto acuoso frío, un extracto acuoso hervido, y un extracto cloroformo-metanol (vol/vol) de '*P. ostreatus*' de una manera similar.

### Intoxicación experimental

Los ratones macho adultos fueron divididos al azar en varios grupos. En cada grupo, el '*T. equestre*' en polvo, el extracto de '*T. equestre*' en polvo o de '*P. ostreatus*', o el disolvente solo fue administrado a cada animal de una forma estándar.

Veinticuatro ó 48 horas después de la dosis final, los ratones fueron anestesiados con éter, y la sangre fue recogida del seno retroorbital y centrifugada a 2000 Xg durante 15 minutos a 5 °C para obtener el suero. El suero fue congelado y almacenado a -

20 °C hasta su análisis. Los niveles de creatinina fueron determinados por la reacción de **Jaffé** (**Merck** kit 3385). Las actividades del aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa fueron determinadas con el uso de kits de enzimas (**Merckotest**, **Merck**). La creatin-quinasa fue medida con un kit comercial (kit **Enzyline**, **Biomérieux**). Los ratones fueron entonces sacrificados, y se obtuvieron muestras de músculo estriado, hígado y tejidos.

En el primer protocolo a tres grupos de tres ratones cada uno se les dio 1 ml de suspensión de '**T. equestre**' en polvo con agua una vez al día durante tres días. La dosis total más alta fue de 6g por kilogramo de peso corporal del ratón (0,18g por ratón), correspondiendo a una dosis tóxica hipotética en una persona de 60kg de 3 kg de hongos frescos consumidos en seis comidas durante el periodo de tres días (72 horas). La actividad creatinin-quinasa fue determinadas en el suero recogido 48 horas después de la dosis final.

En el segundo protocolo, a cinco grupos de cinco ratones cada uno se les dio 0,3ml de extracto de **Tricholoma** o **Pleurotus** disueltos en agua o en dimetilsulfóxido una vez al día durante tres días. Esta dosis correspondía a una dosis total de 0,18g de suspensión de '**T. equestre**' en polvo. El control positivo consistió en p-fenilenediamina (dosis, 70mg por kilogramo por día durante tres días), que es un miotóxico potente combinado en ratones. Los niveles de aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa, creatin-quinasa, y creatinina se determinaron en el suero recogido 96 horas después de la dosis final.

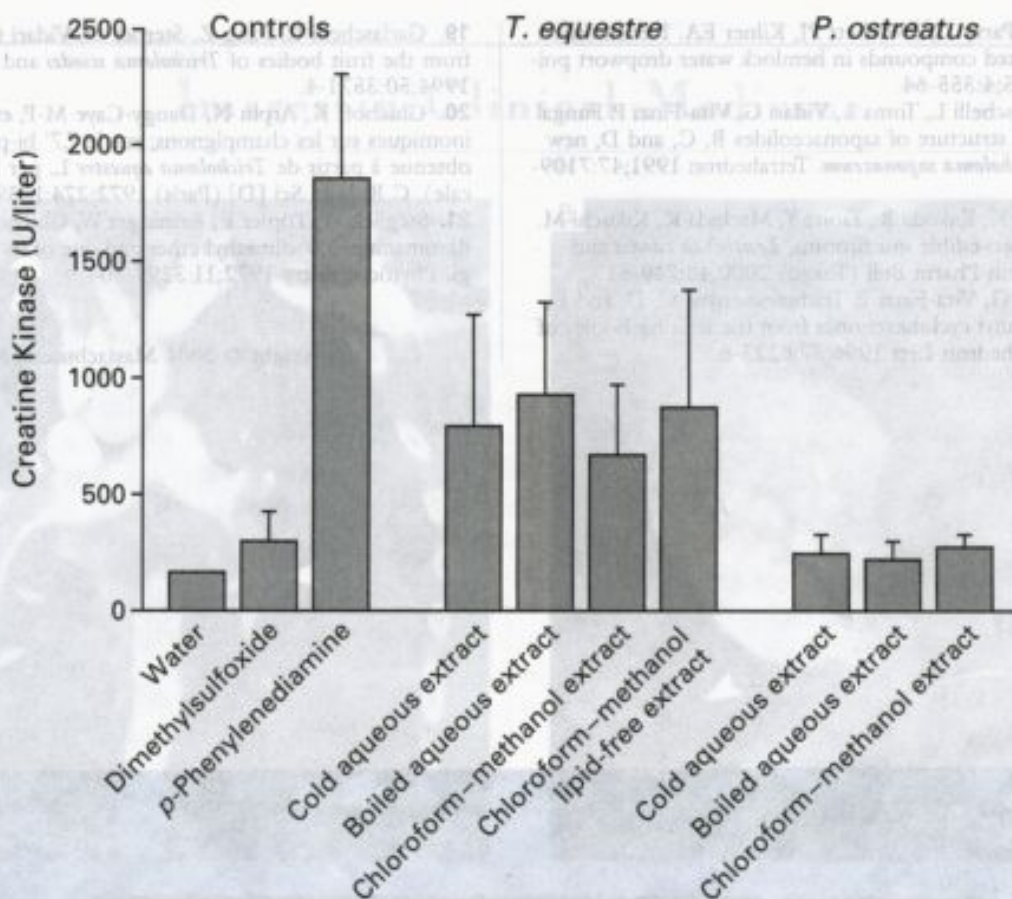
### Análisis estadístico

Los datos son presentados como medias  $\pm$ SE. Los resultados fueron analizados por medio del test Wilcoxon rango-suma, un test estadístico no paramétrico escogido debido al pequeño número de animales.

## RESULTADOS

Los ratones tratados con '**T. equestre**' en polvo (Tabla 1) tuvieron un incremento en la concentración del nivel de creatin-quinasa en el suero (por encima de una media de  $380 \pm 25$ U por litro). A la dosis total de 4g y 6g por kilogramo, el incremento fue significativo comparado con los niveles en los controles (media,  $145 \pm 400$  por litro;  $P=0,01$  para ambas comparaciones), aunque hubo variabilidad entre los ratones.





**Figure 3.** Mean (+SE) Serum Creatine Kinase Levels in Mice Treated by Gastric Intubation with Extracts of *Tricholoma equestre* and *Pleurotus ostreatus* Every Day for Three Days. The total dose of *T. equestre* powder was 6 g per kilogram of body weight.

Los ratones tratados con extractos de '*T. equestre*' hervido, extractos de cloroformo-metanol libre de lípidos, y p-fenilenediamina tuvieron un incremento significativo en la actividad creatin-quinasa del suero ( $912 \pm 425$ ,  $883 \pm 500$ , y  $1828 \pm 4500$  por litro., respectivamente;  $P=0,01$  por cada comparación con los niveles de la línea base) (Figura 3). Tal incremento no se observó en ratones tratados con extractos de '*P. ostreatus*'. Los niveles en suero de aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa y creatinina no aumentaron significativamente en ratones tratados con extractos de '*T. equestre*' o '*P. ostreatus*' (datos no mostrados).

Todos los ratones tratados tuvieron taquipnea, actividad motora reducida, y diarrea ocasional. La microscopía óptica de las fibras musculares mostró desorganización evidente.

Dos ratones -uno que recibió extracto acuso hervido y otro que recibió extracto de cloroformo-metanol libre de lípidos- murieron a las 72 horas después de la última dosis. A estos animales no se les hizo autopsia porque cuando las muertes fueron descubiertas, la autólisis se había puesto en marcha.

## DISCUSIÓN

La rhabdomiólisis es un estado raro pero potencialmente fatal. La causa más común es la compresión muscular, pero ni la isquemia muscular ni la inconsciencia se notó antes de la aparición de los síntomas en nuestros pacientes. La intoxicación deliberada con sustancias incluyendo cocaína, anfetaminas, alcohol, teofilina, fenotiazinas, p-fenilenediamina, antihistamínicos, y drogas antihiperlipidémicas, fueron desechadas. Las medicaciones que podrían causar dermatomiositis o polimiositis (penicilina, fenitoina, levodopa y quinidina) se desecharon por medio de pruebas de rechazo. Finalmente, tanto el filtro

inmunológico como las biopsias musculares no indicaron la presencia de otros desórdenes sistémicos o la enfermedad de McArdle.

La rabdomiolisis tóxica ha sido descrita después de la ingestión de pequeñas aves silvestres que habían tomado cicuta acuática (*Conium maculatum*), una toxina muscular directa. Nuestros pacientes no comieron tales aves. Aunque no se conocía que el envenenamiento por hongos pudiera producir rabdomiolisis, esta serie de casos asocia claramente la rabdomiolisis con la ingestión de '***T. equestre***'.

Aunque el 75 por ciento de los pacientes con grandes incrementos en la creatin-quinasa sobrevivieron, puede ponerse en evidencia una susceptibilidad genética muscular debida al tóxico muscular directo contenido en '***T. equestre***' cuando la cantidad de hongos ingeridos excede cierto umbral. Por tanto, los médicos deberían estar preparados ante la posibilidad de rabdomiolisis severa después del consumo repetido de '***T. equestre***'. En el presente momento, el tratamiento es soportable, y se recomienda la hospitalización para los pacientes con disnea, signos de miocarditis aguda, o también fallo renal leve.

Nuestros experimentos en animales confirmaron la implicación de '***T. equestre***' en la etiología de la rabdomiolisis. Los ratones que recibieron extractos de '***T. equestre***' incrementaron los niveles de creatin-quinasa, mientras que los que recibieron extractos de '***P. ostreatus***' no lo hicieron.

Varios metabolitos han sido aislados de varias especies de *Tricholoma* -Triterpenoides, esteróles, indoles, y compuestos acetilénicos- pero su toxicidad muscular es desconocida. El pigmento amarillo de '***T. equestre***', 7,7'-bi-flicion, ha sido identificado. Sin embargo, como este pigmento es mínimamente soluble en agua, pensamos que es improbable que sea un componente tóxico. Como todos los extractos de '***T. equestre***' fueron tóxicos para los ratones, induciendo aumentos en los niveles de creatin-quinasa, los componentes tóxicos parecen ser extractados tanto por el agua como por el cloroformo-fenol. Hace falta que sean identificados.

Traducción al castellano: D. Carlos Boza

Asesoramiento médico: Dr. José de Uña (Presidente del Grupo Micológico "Caesaraugusta")