



**SITOX**

# 20° Congresso Nazionale

Società Italiana di Tossicologia

**Sostanze  
di origine naturale:  
farmaci, veleni o entrambi**

**BOLOGNA** 25-26-27 Ottobre 2021

[www.sitox.org](http://www.sitox.org)

# miRNA circolanti come marcatori precoci di intossicazione da *Amanita Phalloides*

CRISTINA LUCERI

DIPARTIMENTO DI NEUROFARBA, SEZIONE DI FARMACOLOGIA E TOSSICOLOGIA,  
UNIVERSITÀ DI FIRENZE



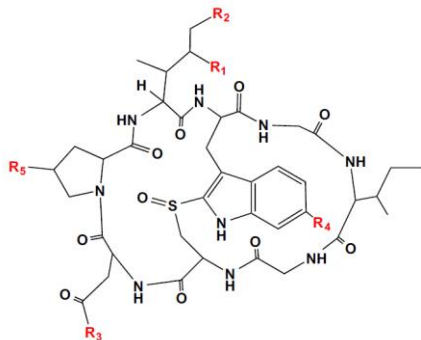
Nonostante la raccomandazione di far sempre esaminare i funghi raccolti da esperti micologi, non sono rari i casi di ingestione accidentale di funghi velenosi per le loro caratteristiche morfologiche che li rendono simili a funghi commestibili.

### **Intossicazioni da *Amanita Phalloides***

Dati Pavia=24 casi/anno

Dati Firenze=40 casi/anno (picco di 80 casi)

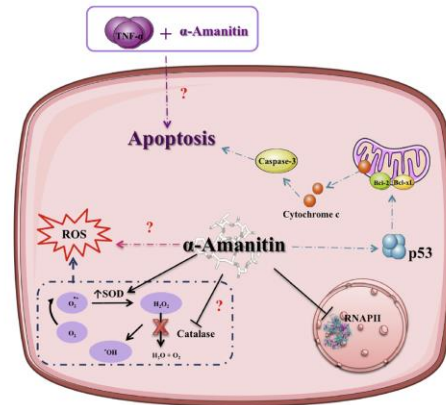
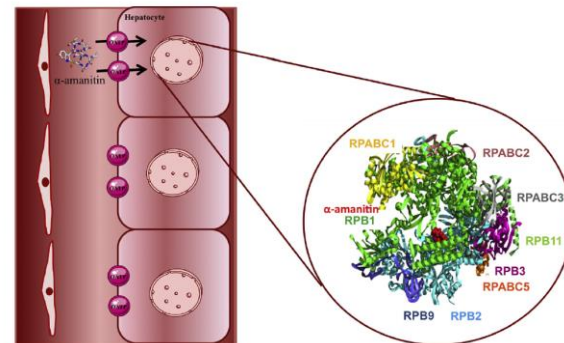
# Amanitine



- Piccole proteine ad 8 amminoacidi (octapeptidi)
- ✓ chimicamente e termicamente **stabili**,
  - ✓ facilmente assorbite a livello gastrointestinale,
  - ✓ la tossina più rappresentativa è la **alfa-amanitina**

La dose letale di amanitine ipotizzata per l'uomo è di 5-7 milligrammi (circa 0,1 mg/Kg di peso).

Quantità contenuta in circa 20-30 grammi di *Amanita phalloides* fresca





**E' di fondamentale importanza un intervento precoce,  
in reparto di emergenza  
entro e non oltre le 30-36 ore dal pasto**

La terapia consiste nella **diuresi forzata** mantenuta fino a 72-96 ore dall'ingestione.

**Benzilpenicillina** (farebbe diminuire la penetrazione intracellulare delle amanitine e **limita il loro circolo enteroepatico per competizione** a livello della secrezione biliare)

..altro

**N-acetilcisteina**, antiossidante e scavenger di radicali liberi

**Silimarina**, antiossidante e scavenger di radicali liberi

**Cimetidina**, per limitarne il metabolismo (è un noto inibitore CYP450)

CLINICAL PRESENTATION IS TRIPHASIC:



**6-24**

HOURS

Dysentery phase



**24-72**

HOURS

False recovery phase



**4-9**

DAYS

Hepatorenal phase

Management of symptomatic patients includes supportive measures, promoting renal elimination of amatoxins, and early consultation with a liver transplant centre.

Maxwell Moor-Smith, BSc, Raymond Li, MSc, Omar Ahmad, MD  
BCMJ 2019;61:20-24

In circolo fino a 36 ore dopo il pasto

**Nelle urine fino a 48 ore dopo il pasto (in tracce fino a 72 ore)**

Nelle secrezioni biliari e nelle feci fino a 5 giorni dopo il pasto

Nel fegato anche dopo 20 giorni (ritrovata nel fegato 2 anni dopo il decesso)

L' identificazione della **amanitina urinaria**, effettuata in laboratorio, conferma la diagnosi clinica.

Kit ELISA basato su un anticorpo policlonale di coniglio, diretto contro alfa e gamma Amanitina

NEGATIVO amanitina < 1 µg/L

BORDERLINE amanitina 1-10 µg/g creatinina

POSITIVO amanitina >10 µg/g creatinina

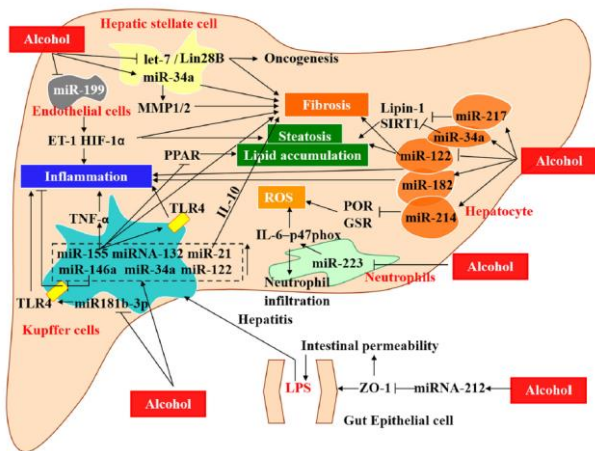


AMANITIN Product Information

|                |                                   |
|----------------|-----------------------------------|
| Method         | ELISA                             |
| Time to Result | 1 h                               |
| Sample Type    | 40 µl urine, serum, plasma (1:25) |
| Standard Range | 1.0-100 ng/ml                     |
| Sensitivity    | 0.2 ng/ml                         |
| Order Code     | EK-AM1 96 wells                   |
|                | CE                                |



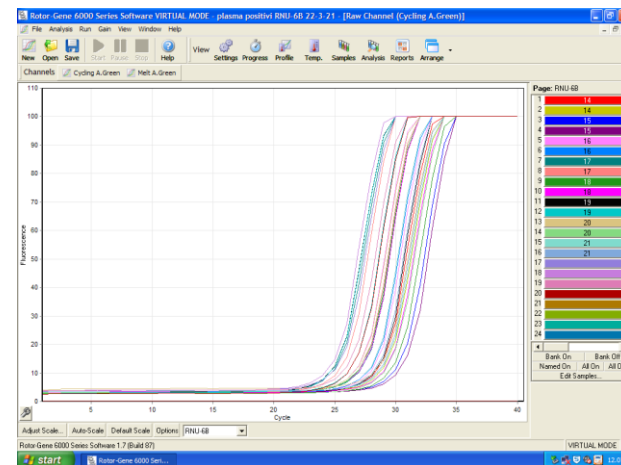
miRNA circolanti possono essere usati come marcatori precoci di intossicazione da *A. Phalloides*?



**Laboratorio Generale AOU Careggi di Firenze  
e Centro Antiveneni di Pavia**

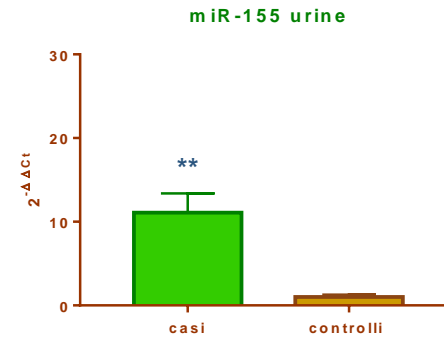
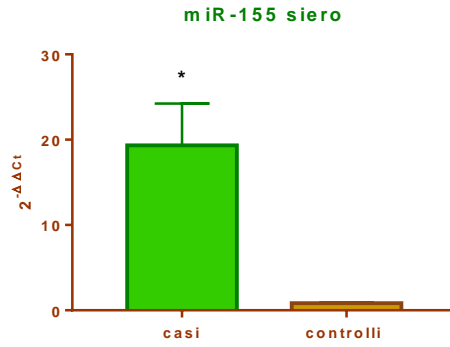
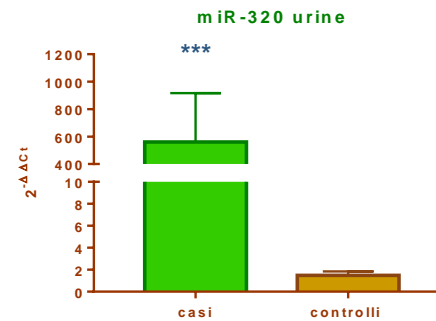
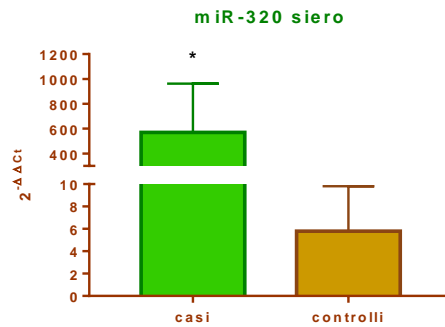
**Casistica**

- 14 sieri di positivi
- 7 sieri+urine di positivi
- 2 sieri di positivi negativizzati
- 24 urine di positivi
- 7 sieri+urine di negativi



|               |             |
|---------------|-------------|
| <b>RNU-6B</b> | miR-29b-3p  |
| miR-122       | miR-192-5p  |
| miR-155       | miR-501-3p  |
| miR-146b-5p   | miR320a     |
| miR-21-5p     | miR-148a-3p |
| miR-223-3p    | miR-200a-3p |





\*p<0.05

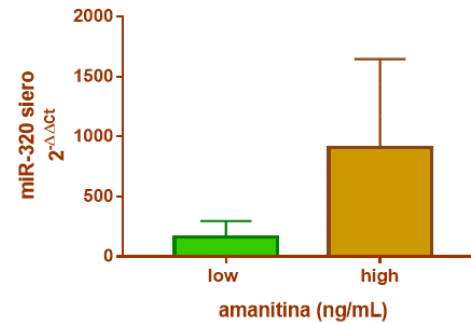
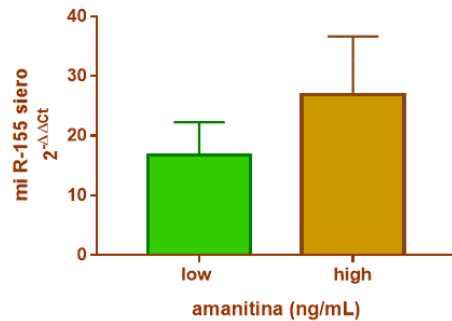
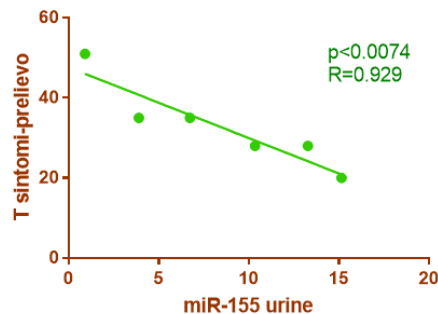
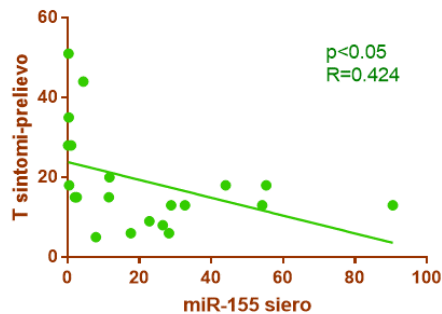
\*\*p<0.01

\*\*\*p<0.001

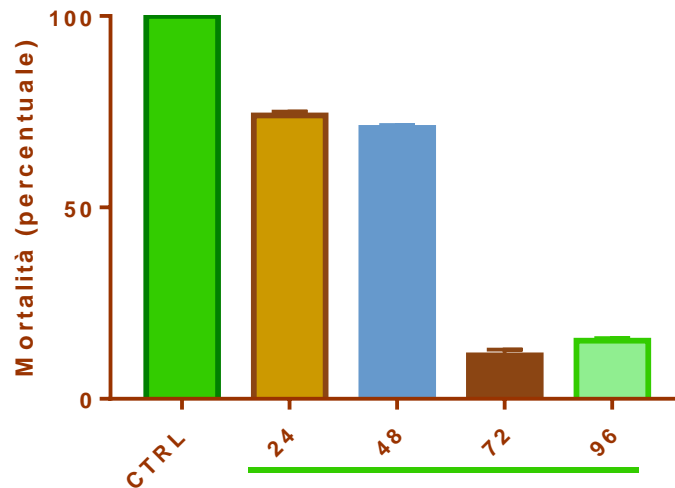
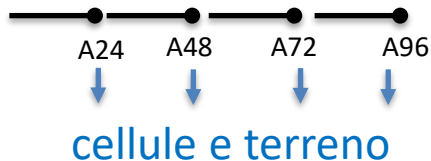
by Mann Whitney test



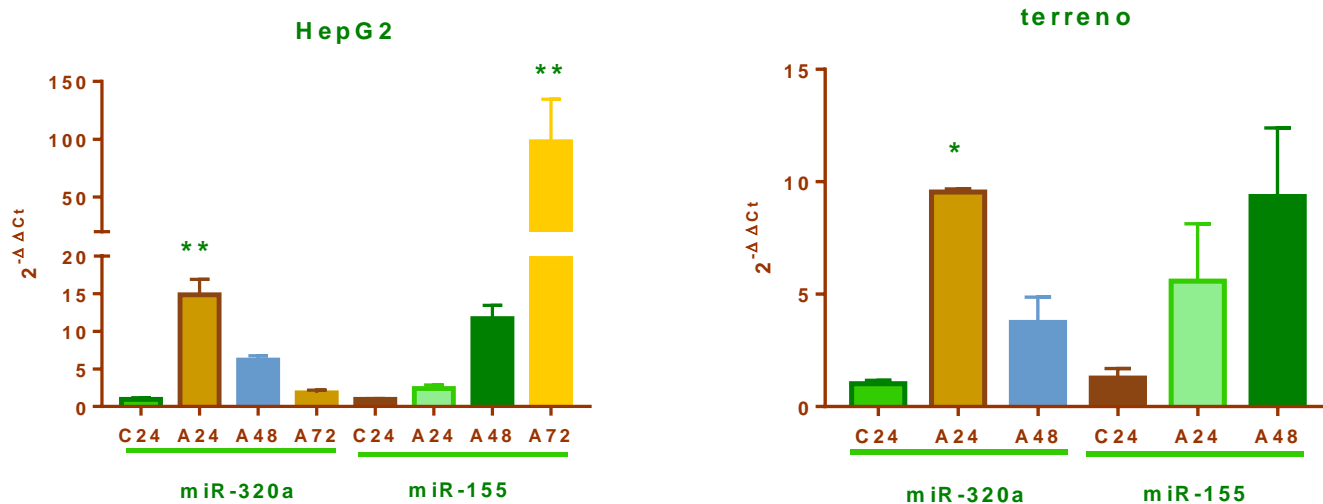
Regressione multipla  
corretto per età,  
amaniturgia e ALT  
 $p=0.0091$



- Cellule HepG2 (epatocarcinoma umano)
- $\alpha$ -amanitina 4ng/ml
- 24-96 ore



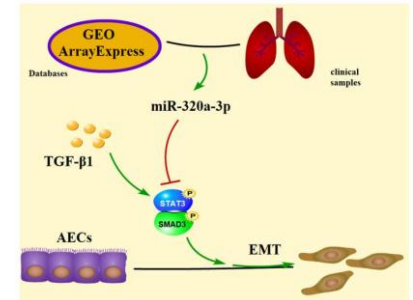
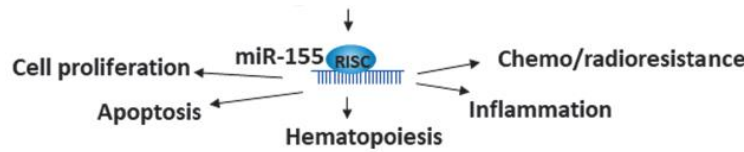
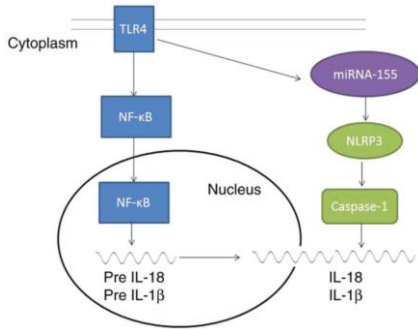
$\alpha$ -amanitina 4ng/ml



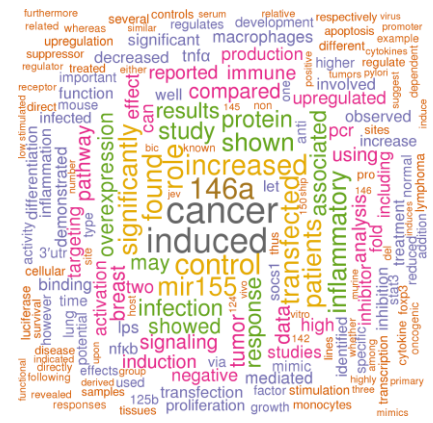
\*p<0.05

\*\*p<0.01

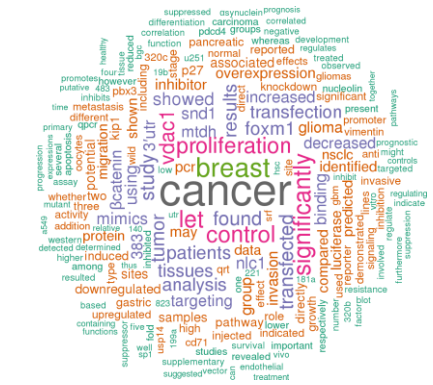
by Kruskal-Wallis test and Dunn's  
multiple comparisons test



### miR-155



### miR-320a



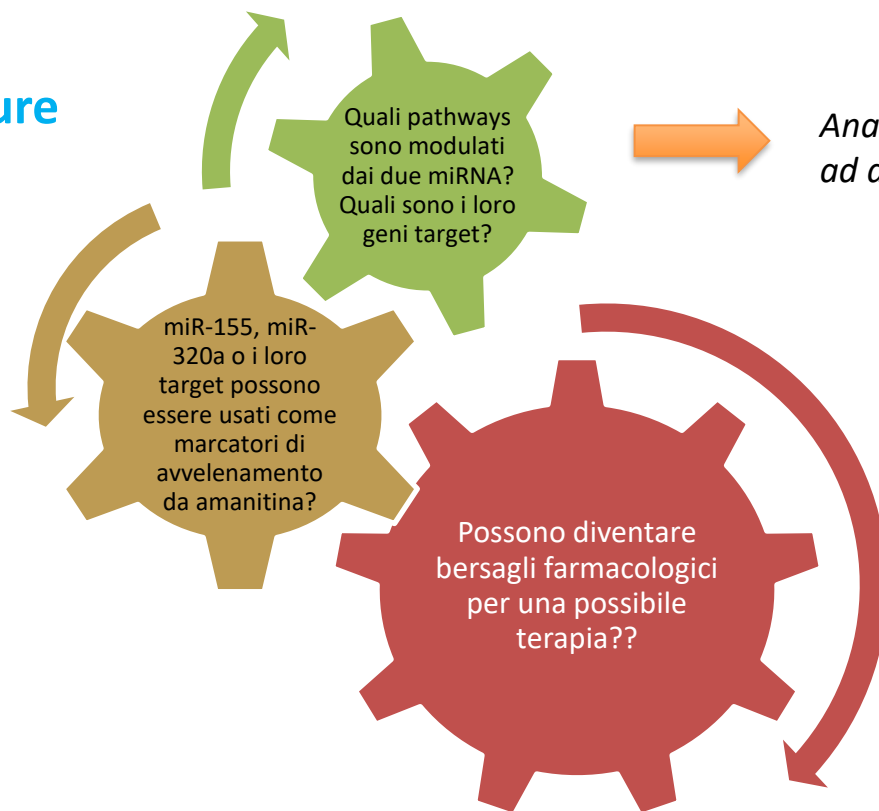
JOURNAL OF INTERFERON & CYTOKINE RESEARCH  
Volume 39, Number 6, 2019  
© Mary Ann Liebert, Inc.  
DOI: 10.1089/jir.2018.0155

### MicroRNA-155: A Master Regulator of Inflammation

Guruswamy Mahesh and Roopa Biswas

REVIEW

## Prospettive future



*Analisi trascrittomica sulle cellule esposte ad amanitina, in progress*

*Trattamenti in presenza di mirna mimetici o antagomir*





### **Dipartimento di NEUROFARBA, Università di Firenze, Firenze**

Lorenzo Cinci  
Elisabetta Bigagli  
Mario D'Ambrosio  
Guido Mannaioni



### **Laboratorio Generale, Dipartimento dei Servizi, Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi, Firenze**

Francesca Luceri  
Nicoletta Cini  
Alessandra Fanelli

### **Centro Antiveneni e Centro Nazionale di informazione Tossicologica, Istituti Clinici Scientifici Maugeri IRCCS, Pavia**

Marco Cirronis  
Valeria Petrolini