

La sindrome coprinica ha compiuto 100 anni

The coprinic syndrome has turned 100

Guido Valle * Marco Carmignani ° Serena Michelini • Arianna Battaglia # Alessandro Parisi §
Antonio Facciorusso ◇ Rosa Corretti △ Mario Stanislao † Anna Rita Volpe ∞



Riassunto - L'assunzione concomitante del fungo *Coprinus atramentarius* ed etanolo origina la cosiddetta sindrome coprinica. Questa, descritta per la prima volta da Chiffлот nel 1916, si caratterizza con iperemia della cute del volto e del collo (con estensione eventuale al torace ed agli arti superiori), sensazione di soffocamento, cefalea pulsante, ipotensione arteriosa associata a tachicardia o ad altre aritmie, ansia, parestesie e, nei casi più gravi, anche a nausea, vomito ed ipotermia. La sindrome coprinica si configura in termini molto simili a quelli della “disulfiram-ethanol reaction” (DER), sindrome occorrente negli etilisti in trattamento con disulfiram in caso di assunzione di etanolo. Le analogie di azione tossicodinamica (inibizione dell'acetaldeide-deidrogenasi) tra disulfiram e coprina, principio attivo di *Coprinus atramentarius*, avevano indotto a ritenere che coprina o suoi derivati potessero essere impiegati nel trattamento dell'etilismo. Peraltro, l'elevata tossicità della coprina ha precluso questa possibilità. Altre specie fungine non appartenenti al genere *Coprinus*, peraltro, possono determinare, se assunte con etanolo, un quadro clinico (cosiddetta “coprine-like syndrome”) analogo alla sindrome coprinica. I principi attivi di queste specie (*Clitocybe clavipes*, *Boletus luridus*, *Verpa bobemica*, *Pholiota squarrosa*, *Tricholoma auratum* e *Lepiota aspera*) non sono stati ancora oggetto di studio e potrebbero potenzialmente risultare utili nella terapia dell'alcolismo.

Parole chiave: **Sindrome coprinica, alcolismo, Disulfiram, Fomepizolo, Coprina.**

Summary - The combined ingestion of mushroom *Coprinus atramentarius* and alcohol causes what is known as “coprinic syndrome”, which was initially described by Chiffлот in 1916 as characterised by face and neck flush (possibly extending to the chest and the arms), throbbing headache, systemic arterial vasodilatation (with hypotension, tachycardia and other arrhythmias), anxiety and paraesthesia. Vomiting and hyperthermia can be observed in the most severe cases. The coprinic syndrome therefore appears to be very similar to the “disulfiram-ethanol reaction” (DER), which occurs following alcohol intake by alcoholics on disulfiram. As both coprine and disulfiram inhibit acetaldehyde-dehydrogenase activity, coprine and related compounds have been considered as possible anti-alcoholic agents. However, such possibility was ruled out due to coprine toxicity. On the other hand, other mushrooms not belonging to the *Coprinus* genus may induce, if ingested together with alcohol, clinical patterns similar to that of the coprinic syndrome, known as coprine-like syndromes. The active principles of these species (*Clitocybe clavipes*, *Boletus luridus*, *Verpa bobemica*, *Pholiota squarrosa*, *Tricholoma auratum* and *Lepiota aspera*) have not yet been studied yet, but they could be useful in treating alcoholism.

Key words: **Coprinic syndrome, alcoholism, Disulfiram, Fomepizole, Coprine.**

* Dott. Prof., Unità di Medicina Nucleare, IRCCS “Casa Sollievo della Sofferenza”, San Giovanni Rotondo - Foggia (FG).

° Dott. Prof., Laboratorio di Farmacologia e Tossicologia, Dipartimento di Medicina Clinica, Sanità Pubblica e Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università degli Studi dell'Aquila, Coppito (AQ).

• Dott.ssa, Medico in Formazione Specialistica. Medicina Generale ASL RM/C.

Dott.ssa Spec. Pediatria Università di Roma “Tor Vergata” - Roma.

§ Dott. Scuola Spec. Oncologia Medica - Università L'Aquila - Ospedale S. Salvatore.

◇ Dott., Unità di Cardiologia, IRCCS “Casa Sollievo della Sofferenza”, San Giovanni Rotondo - Foggia.

△ Dott.ssa Specialista in Mal. App. Cardiovascolare, già Dirigente Medico della Polizia di Stato - Roma.

† Dott., Unità di Cardiologia, IRCCS “Casa Sollievo della Sofferenza”, San Giovanni Rotondo - Foggia.

∞ Dott.ssa Prof.ssa, Laboratorio di Farmacologia e Tossicologia, Dipartimento di Medicina Clinica, Sanità Pubblica e Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università degli Studi dell'Aquila, Coppito (AQ).

Introduzione

Nel 1916 M.J.Chiffot, uno studioso francese, pubblicò una breve nota su un caso di arrossamento del viso con tendenza alla diffusione al resto del corpo a seguito dell'ingestione del fungo *Coprinus atramentarius*, un basidiomicete già noto per essere stato impiegato nella produzione di inchiostro (**Fig. 1**).



Fig. 1 - *Coprinus atramentarius*.

È un basidiomicete saprofita e lignicolo. Si osserva spesso in gruppi di esemplari ai bordi dei ceppi di alberi isolati. Immagine tratta dall'opera "Pilze der Heimat" di Eugen Gramberg, Duelle & Mayer Editori, Lipsia, 1921.

"Atramentum" è, infatti, il termine latino per inchiostro ed il fungo è denominato, nel linguaggio inglese corrente, come "ink cap" od "inky cap". La breve nota di Chiffot descriveva tre casi di una sindrome in seguito denominata "sindrome coprinica", entità clinica riconducibile all'assunzione associata del fungo *Coprinus atramentarius* ed etanolo entro un intervallo temporale di

ore/giorni (Saviuc & Flesch, 1965).

Dall'iniziale osservazione di Chiffot è trascorso quasi un secolo e gli studi sulla sindrome coprinica hanno consentito di pervenire a compiuta conoscenza dei meccanismi tossicodinamici responsabili del quadro clinico. Da molte decadi un farmaco non strutturalmente correlato alla coprina (**Fig. 2**), principio attivo di *Coprinus atramentarius*, ma ad essa funzionalmente analogo, il disulfiram (**Fig. 3**), è comunemente impiegato, pur gravato da non trascurabili effetti collaterali, per distogliere dal bere soggetti alcol-dipendenti.

I tentativi di impiegare la coprina o suoi derivati nel trattamento dell'etilismo sono stati vani perchè anche questi composti presentano tossicità elevata. Rimangono però da studiare altre specie fungine che, in associazione ad etanolo, sono responsabili di quadri clinici analoghi alla sindrome coprinica. Questi funghi potrebbero rappresentare fonte di nuove molecole, in alternativa alla coprina, utilizzabili nel trattamento della dipendenza da alcol etilico.

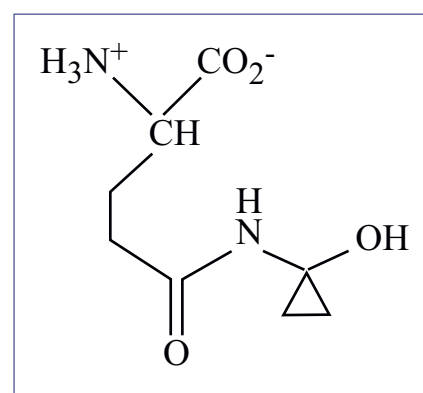


Fig. 2 - Coprina, formula di struttura.

La coprina, principio attivo di *Coprinus atramentarius*, inibisce "in vivo", ma non "in vitro", l'aldeide-deidrogenasi. È stato pertanto proposto che l'azione inibitoria su tale enzima sia in realtà svolta da metaboliti della coprina stessa (cfr. fig. 6). La coprina non è strutturalmente correlata al disulfiram (fig. 3), inibitore dell'acetaldide-deidrogenasi usato per lo svezzamento degli alcolisti.

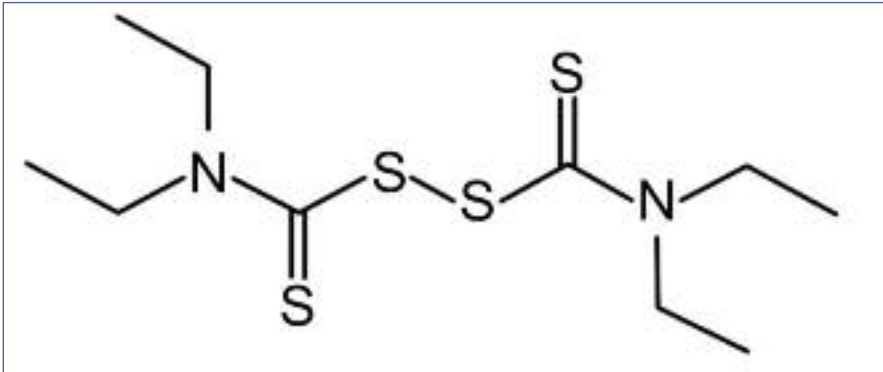


Fig. 3 - Disulfiram (diethylthiocarbamate), formula di struttura.

Il disulfiram ha formula grezza C₁₀H₂₀N₂S₄ e peso molecolare pari a 296.53. E' formulato come Antabuse, Antabus od Etiltox.

Coprinus atramentarius

Coprinus atramentarius (**Fig. 1**) è un basidiomicete saprofito e lignicolo. Il cappello, dal diametro di 3-7 cm, è campanulato, grigio chiaro, talvolta con piccole squame nella parte apicale, più scura. A maturazione il margine, molto lacerato radialmente, si ripiega verso l'alto. Le lamelle, fitte ed alte, sono inizialmente bianche ma, successivamente, assumono colorazione brunastra e poi nera con fenomeni di deliquescenza e produzione di un liquido nerastro. Il gambo, di forma cilindrica, è affusolato e cavo raggiungendo una lunghezza variante da 5 a 18 cm. Cresce in primavera in boschi di latifoglie, in piccoli gruppi. La commestibilità è mediocre, l'odore scarso ed il sapore debole (Bielli, 1997).

Fisiopatologia

In via principale, il metabolismo dell'etanolo implica azione di alcoldeidrogenasi (ADH), famiglia di enzimi citosolici localizzati massimamente nel fegato e convertenti l'alcol in acetaldeide (**Fig. 4 e 5**). Tale reazione di ossidazione è NAD⁺-dipendente con formazione di NADH ed un eccesso di tali

equivalenti riducenti sembra implicato nelle alterazioni metaboliche dell'etilismo cronico (ivi comprese l'acidosi lattica e l'ipoglicemia). L'etanolo viene biotrasformato, a seguito di assunzione cronica, anche da parte del sistema microsomiale delle ossidasi a funzione mista (MEOS) utilizzando NADPH come cofattore, sistema costituito soprattutto dai citocromi P450E1, 1A2 e 3A4. Ne deriva che l'etilismo cronico determina aumento del metabolismo di altri xenobiotici catabolizzati dai citocromi del sistema MEOS con incremento di metaboliti tossici tra cui radicali liberi. Gli isoenzimi ADH variano geneticamente in maniera considerevole con riflessi sulla velocità di metabolismo dell'etanolo e sull'entità dei disturbi da abuso di alcol. Ad esempio, l'allele ADH1B* comporta veloce conversione di alcol ad acetaldeide con effetti protettivi contro la dipendenza da etanolo in gruppi etnici dell'Asia orientale. La maggior parte dell'acetaldeide proveniente dal metabolismo dell'alcol subisce ossidazione epatica da parte dell'aldeide-deidrogenasi mitocondriale NAD-dipendente (ALDH) (**Fig. 4**). Si forma, in tal modo, acetato, a sua volta degradabile a CO₂ ed H₂O od utilizzabile per formare acetil-CoA. *Coprinus atramentarius* inibisce

ALDH con accumulo di acetaldeide che è responsabile della detta sintomatologia caratterizzante la sindrome coprinica. E' da notare come diversi farmaci (ad es. metronidazolo e cefotetan) inibiscano ALDH potendo causare una sindrome disulfiram/coprino-simile se associati ad etanolo. Una carenza genetica nell'attività di ALDH mitocondriale (codificata dal gene ALDH2) può determinare, allorchè venga assunto alcol, livelli elevati di acetaldeide con comparsa di sindrome disulfiram/coprino-simile; in ogni caso, tale ALDH ad attività ridotta risulta protettiva nei confronti dei disturbi da etilismo.

La coprina, presente in *Coprinus atramentarius* in concentrazione pari a circa 0.1% del peso secco, è una molecola correlata all'acido glutammico (**Fig. 2**) (Hatfield & Schaumberg, 1975; Tottmar & Lindberg, 1977). Concentrazioni inferiori di coprina sono state rilevate anche in altri funghi del genere *Coprinus* quali *C. quadrifidus* Peck e *C. variegatus* Peck.

L'acetaldeide è un composto ad elevata reattività biologica che può interagire con molte molecole e sistemi enzimatici (Fried, 1980) essendo, tra l'altro, fornita di azioni adrenergiche dirette (recettoriali) quali agonismo beta-adrenergico (Benjamin, 1995) ed "indirette" quali attivazione del rilascio esocitosico di catecolamine. L'inibizione di ALDH ostacola anche l'ossidazione di altre molecole aldeidiche come quelle prodotte dall'azione delle MAO (monoammino-ossidasi) sulle catecolamine stesse (Fried 1980; Korsten et al., 1975; Raskin, 1975; Rawat, 1976; Condouris & Havelin, 1987; Chiba & Tsukada, 1988).

L'azione inibitoria della coprina su ALDH si esercita soltanto "in vivo". Infatti, in esperimenti "in vitro", la

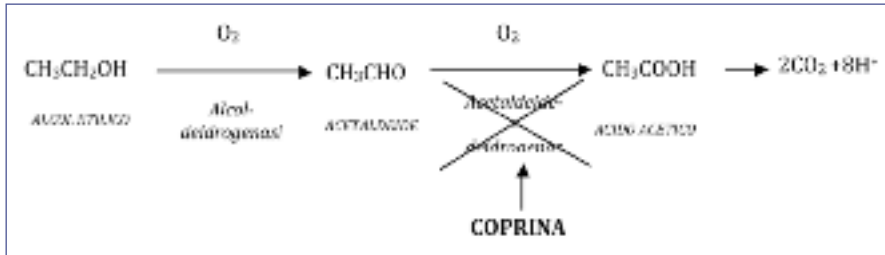


Fig. 4 - La coprina inibisce l'acetaldeide-deidrogenasi con conseguente accumulo di acetaldeide.

coprina non è in grado di inibire tale enzima (Wiseman & Abeles, 1979). Al riguardo, è stato proposto che la sindrome coprinica sia indotta da metabolita/i della coprina. In particolare, si è dato rilievo al fatto che “in vivo” la coprina venga idrolizzata con formazione di ciclopropanone emiaminale (composto instabile ma dotato di attività inibitoria su ALDH) e, quindi di ciclopropanone idrato (**Fig. 6**). Quest’ultimo viene deidratato da ALDH a ciclopropanone il quale, legandosi ad un gruppo tiolico a livello del sito attivo dell’enzima, forma un tioemichetale stabile. E’ da notare come tale tioemichetale sia analogo al tioemiacetale costituente un intermedio nell’ossidazione delle aldeidi da parte di ALDH. Il ciclopropanone idrato è poi rilasciato invariato dall’enzima, dopo inibizione reversibile dello stesso, essendo noto quale inattivante i gruppi tiolici di numerosi altri enzimi e presentando azioni analoghe a quelle della coprina sul metabolismo dell’etanolo tra cui inibizione di ALDH anche “in vitro”. Derivati del ciclopropanone, inoltre, hanno costituito inibitori enzimatici di rilievo (ad esempio, ciclopropilamina per aminossidasi plasmatica previa sua ossidazione a ciclopropanone-imina) (Wiseman & Abeles, 1979).

Come detto, le analogie farmaco/tossicodinamiche e funzionali tra coprina e disulfiram hanno incoraggiato in passato tentativi di impiego di coprina e suoi derivati nel trattamento dell’alcolismo (Carlsson et al., 1978). Tali tentativi non hanno comportato ricadute operative poichè studi sperimentali preliminari in animali di laboratorio hanno dimostrato come coprina e benzcoprina inducano gravi danni testicolari con deplezione degli spermatozoni ed atrofia della ghiandola (Jönsson et al., 1979).

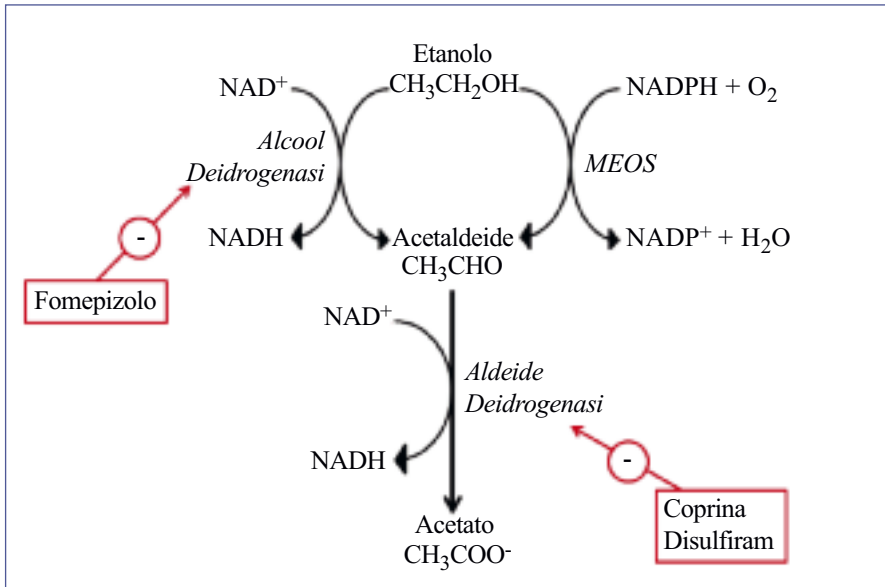


Fig. 5 - Catabolismo dell’alcol etilico e siti d’azione di coprina, disulfiram e fomepizolo. Coprina e disulfiram, inibendo l’aldeide-deidrogenasi, provocano accumulo di acetaldeide (aldeide acetica). Al contrario, il fomepizolo, inibitore dell’alcol-deidrogenasi, previene la formazione di acetaldeide.

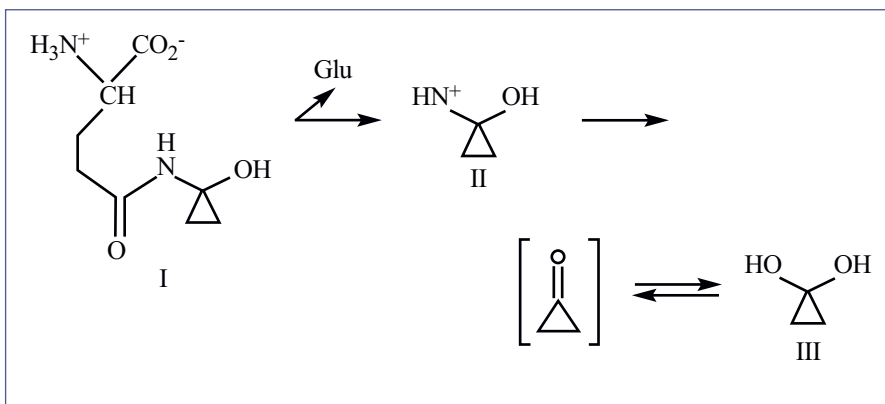


Fig. 6 - Catabolismo della coprina e suoi cataboliti attivi.

Secondo un accreditato studio di Wiseman e Abeles (1979), dal cui è tratta la figura, la biotrasformazione della coprina (I) implica sua idrolisi con rilascio di ciclopropanone emiaminale (II) che, per eliminazione di ammoniaca, forma ciclopropanone idrato (III) inibente l’aldeide-deidrogenasi. Tale eliminazione di ammoniaca è piuttosto lenta con $t_{1/2}$ di 30 minuti a temperatura di 27°C, pH 7,4. E’ stata riportata un’azione inibitoria *in vitro* su aldeide-deidrogenasi da parte di ciclopropanone emiaminale (Tottmar & Lindberg, 1977) il quale, peraltro, dà luogo a rapida formazione di cloroacetone.

Sintomatologia

Il quadro sintomatologico della sindrome coprinica dipende dalle quantità di *Coprinus atramentarius* e di alcol assunte, dal tempo intercorso tra dette assunzioni e da caratteristiche individuali. I sintomi si presentano anche nel caso in cui l'alcol sia stato assunto diverse ore prima del fungo. E' il caso di ricordare che il metabolismo epatico dell'etanolo segue una cinetica di ordine zero (ovvero una quantità costante di alcol viene biotrasformata nell'unità di tempo); in particolare, nell'uomo, tale quantità si aggira, pur con discrete variazioni individuali, intorno a circa 7 g/ora.

La sintomatologia, di solito insorgente da pochi minuti ad un'ora dall'associazione di *Coprinus atramentarius* ed alcol, è caratterizzata da iperemia della cute del volto e del collo (eventualmente estesa al torace ed agli arti superiori), da sensazione di soffocamento e da cefalea pulsante. A livello degli arti possono comparire parestesie di tipo puntorio. E' presente ipotensione arteriosa associata a tachicardia ed aritmie. Possono essere presenti nausea e vomito, più raramente dolori a tipo colica e diarrea. Non infrequentemente i pazienti riferiscono di avvertire una sensazione di "sapore metallico" (Michelot, 1992). Nei casi più gravi, dovuti generalmente all'assunzione di quantità elevate, è stata osservata ipotermia (35.6 C°) con brividi (Roch, 1948).

La sintomatologia regredisce spontaneamente entro poche ore ma il quadro clinico può ripresentarsi se il paziente torna ad assumere alcol, anche in quantità minime, nelle ore o nei giorni immediatamente successivi. Infatti, anche modestissime quantità di alcol sono in grado di riaccendere il quadro clinico. E' riportato in Letteratura che anche l'impiego di lozioni cutanee di tipo alcolico è stato sufficiente a riprodurre la sintomatologia.

Trattamento terapeutico

La gestione del paziente con sindrome coprinica è basata su assoluta astensione dall'alcol e prodotti alcolici (inclusi sciroppi, caramelle, cioccolatini e quant'altro contenente alcol) per 4-5 giorni evitando, ovviamente, ogni altra assunzione di *Coprinus atramentarius*. Ove la gravità della sindrome lo renda necessario, è stato proposto l'impiego di difenidramina cloruro (per ridurre l'iperemia cutanea), di amine simpaticomimetiche (per innalzare la pressione arteriosa), di plasma expanders o reidratazione (per le parestesie degli arti e l'ipotensione arteriosa), di cisteina (contro l'iperventilazione), di beta-bloccanti (per ridurre la tachicardia e contrastare le turbe del ritmo cardiaco) e di vitamina C ad alte dosi per via endovenosa (come fattore "redox") (Michelot, 1992). L'impiego della lavanda gastrica è spesso superfluo per la presenza di vomito.

Un certo interesse, sia pure solo teorico, nella terapia della sindrome coprinica è stato suscitato dal fomezizolo (Antizol®) la cui formula di struttura è riportata in **figura 7**. Questo farmaco è un inibitore reversibile di ALDH ed è indicato nella terapia dell'intossicazione da glicole etilenico e da metanolo ove previene la formazione di cataboliti tossici e di formaldeide, rispettivamente. Il fomezizolo, inibendo ALDH, previene anche la produzione di aldeide acetica responsabile della sindrome coprinica (Saviuc & Flesch, 1965). Il farmaco, tuttavia, non è in commercio in Italia ed anche nei paesi, come gli USA, in cui è disponibile viene impiegato in modo piuttosto limitato a causa del prezzo molto elevato, pari a circa 1000 dollari/fiala. Mancano, comunque, a tutt'oggi segnalazioni relative al suo impiego nel trattamento della sindrome coprinica.

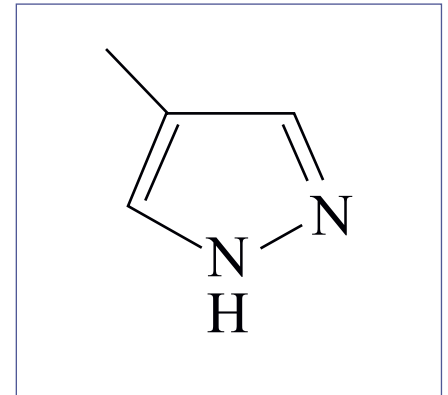


Fig. 7 - Fomezizolo (4-metilpirazolo), formula di struttura. Il fomezizolo ha formula grezza C₄H₆N₂ e peso molecolare pari a 82.1.

Conclusioni

Gli articoli scientifici relativi alla coprina ed alla sindrome coprinica, reperibili nelle banche dati, non sono particolarmente numerosi e sono piuttosto datati ad indicare uno scarso interesse per questo tipo di intossicazione piuttosto rara, generalmente non grave, ben studiata e conosciuta da alcune decadi nei suoi tratti essenziali.

Per quanto la sindrome coprinica costituisca sicuramente un argomento "di nicchia", nondimeno dovrebbe essere correttamente diagnosticata soprattutto dai medici di pronto soccorso e da quelli che operano in aree rurali.

Quadri sintomatologici analoghi alla sindrome coprinica (cosiddette "coprine-like syndromes") conseguono anche all'assunzione di alcol e di specie di funghi del genere *Coprinus* diverse da *Coprinus atramentarius*. Peraltro, altri basidiomiceti inducono sindromi analoghe a quella coprinica a seguito di interazione con etanolo (Michelot, 1992): *Clitocybe clavipes* (Cochran & Cochran, 1978; Yamaura et al., 1986), *Boletus luridus* (Budmiger & Kocher, 1982), *Verpa bohemica* (Groves, 1964; Bornet,



1980), *Pboliota squarrosa* (Shaffer, 1965; Pegler & Watling, 1982), *Tricholoma auratum* (Herrman, 1966). In epoca più recente è stata aggiunta *Lepiota aspera* (Ludwig, 2009; Haberl et al., 2011).

Non è ancora noto quali siano i principi attivi (o loro metaboliti) delle precedenti specie fungine che, alterando il metabolismo dell'etanolo, provocano sindromi coprino-simili. Lo studio di tali specie, dei principi attivi in esse contenuti e dei relativi meccanismi d'azione potrebbe rappresentare un approccio interessante per l'individuazione di nuovi farmaci più vantaggiosi rispetto al disulfiram per il trattamento della dipendenza da etanolo, condizione patologica stimata essere implicata in circa il 4% di tutti i decessi attualmente ricorrenti su base mondiale (Saieva et al., 2012).

Bibliografia

- Benjamin DR:**
Mushrooms poisons and panaceas.
WH Freeman and Company, New York, 1995.
- Bielli E.:**
Funghi.
Guide Compact DeAgostini, Istituto Geografico De Agostini S.p.A. Editore, Novara, 1997.
- Bornet A.:**
Intoxications par champignons autres que l'Amanite phalloïde.
Tesi Facoltà di Medicina, Zurigo, Svizzera, pp 149-170 (1980).
- Budmiger H., Kocher F.:**
Hexenröhrling (Boletus luridus) mit Alcohol. Ein kasuistischer Beitrag.
Schweiz Med Wschr 112: 1179-1181, 1982.
- Carlsson A., Henning M., Lindberg P., Martinson P., Trolin G., Waldeck B., Wickberg B.:**
On the disulfiram-like effect of coprine, the pharmacologically active principle of Coprinus atramentarius.
Acta Pharmacol Toxicol 42: 292-297, 1978.
- Chiba S., Tsukada M.:**
Possible mechanism of acetaldehyde-induced noradrenaline release from sympathetic nerve terminals in isolated blood vessels.
Br J Pharmacol 95: 177-182, 1988.
- Cochran KW, Cochran MW:**
Clitocybe claviceps: Antabuse-like reaction to alcohol.
Mycologia 70: 1124-1126, 1978.
- Condouris GA, Havelin DM:**
Acetaldehyde and cardiac arrhythmias.
Arch Int Pharmacodyn Théor 285: 50-59, 1987.
- Fried R.:**
Biochemical actions of anti-alcoholic agents.
Subst Alcohol Actions Misuse 1: 5-27, 1980.
- Groves JW:**
Poisoning by morels when taken with alcohol.
Mycologia 56: 779-780, 1964.
- Haberl B., Pfab R., Berndt S., Greifenhagen C., Zilker T.:**
Clin Toxicol 49: 113-114, 2011.
- Hatfield GM, Schaumberg JP:**
Isolation and structural studies of coprine, the disulfiram-like constituent of Coprinus atramentarius.
Lloydia 38: 489-496, 1975.
- Hermann M.:**
Bemerkenswerter, nicht alltägliche Pilzvergiftungen.
Mykol Mitt bl 10: 39-44, 1966.
- Jönsson M., Lindquist NG, Plöen L., Ekvärn S., Kronevi T.:**
Testicular lesions of coprine and benzcoprine.
Toxicology 12: 89-100, 1979.
- Korsten MA, Matsuzaki S., Feinman L., Lieber CS:**
High blood acetaldehyde levels after ethanol administration.
New Engl J Med 292: 386-389, 1975.
- Ludwig E.:**
Enthält der "Große Stachelschirmling" – Lepiota aspera- Antabus?
Tintling 14: 69, 2009.
- Michelot D.:**
Poisoning by Coprinus atramentarius.
Nat Toxins 1: 73-80, 1992.
- Pegler DN, Watling R.:**
British toxic fungi.
Bull Br Mycol Soc 16: 66-75, 1982.
- Raskin NH:**
Alcoholism or acetaldehycism?
New Engl J Med 292: 422-423, 1975.
- Rawat AK:**
Neurochemical consequences of ethanol on the nervous system.
Int Rev Neurobiol 19: 124-172, 1976.
- Roch M.:**
Syndrome nitroïde causée par un champignon du genre Coprinus.
Rev Med Suisse Rom 68: 280-288, 1948.
- Saieva C., Bardazzi G., Masala G., Quartini A., Ceroti M., Iozzi A., Gelain E., Querci A., Allamani A., Palli D.:**
General and cancer mortality in a large cohort of Italian alcoholics.
Alcohol Clin Exp Res 36: 342-350, 2012.
- Saviuc P., Flesch F.:**
Intoxications aiguës par les champignons supérieurs et leur traitement.
Presse Med 32: 1427-1435, 2003.
- Shaffer RL:**
Poisoning by Pboliota squarrosa.
Mycologia 57: 318-319, 1965.
- Tottmar O., Lindberg P.:**
Effects on rat liver acetaldehyde dehydrogenases in vitro and in vivo by coprine, the disulfiram-like constituent of coprinus atramentarius.
Acta Pharmacol Toxicol 40: 476-481, 1977.
- Wiseman JS, Abeles RH:**
Mechanism of inhibition of aldehyde dehydrogenase by cyclopropanone hydrate and mushroom toxin coprine.
Biochemistry 18: 427-435, 1979.
- Yamaura Y., Fukuhara M., Kawamata S., Satsumabayashi H., Takabatake E., Hashimoto T.:**
Effects of Clitocybe claviceps extract on the components and enzymes related to ethanol metabolism in mice.
J Food Hyg Soc Jpn 27: 522-527, 1986.

The coprinic syndrome has turned 100

Guido Valle * Marco Carmignani ° Serena Michelini • Arianna Battaglia # Alessandro Parisi §
Antonio Facciorusso ◇ Rosa Corretti △ Mario Stanislao † Anna Rita Volpe ∞

Introduction

1916 saw M.J.Chiffnot, a French scientist, published a brief note on a face redness case showing a tendency to spread to the rest of the body after the ingestion of mushroom *Coprinus atramentarius*, a basidiomycete used in the production of ink (**Fig. 1** - *Coprinus atramentarius*. This mushroom is a saprophytic tree basidiomycete. It can be often observed in small groups around isolated trees. - Image taken from "Pilze der Heimat" by Eugen Gramberg, Duelle & Mayer Editori, Leipzig, 1921). "Atramentum" is indeed the Latin term for ink, and the mushroom is known in English as "ink cap" or "inky cap". Chiffnot's brief note described three cases of syndrome, to be called "coprinic syndrome", linked to the ingestion of mushroom *Coprinus atramentarius* and ethanol within a few hours/days. (Saviuc & Flesch, 1965).

Almost a century has passed since Chiffnot's initial observation, and studies on the coprinic syndrome have led to the discovery of the toxic-dynamic mechanisms causing this clinical pattern. A medicine structurally unrelated but functionally

similar to coprine (**Fig. 2** - *Coprine, structural formula. Coprine, active principle of Coprinus atramentarius, inhibits aldehyde-dehydrogenase "in-vivo", but not "in-vitro". The inhibiting action on such enzyme has been thought to be carried out by coprine itself (see fig. 6). Coprine is not structurally related to disulfiram (fig. 3), inhibitor of aldehyde-dehydrogenase used to treat alcoholics*), the active principle of *Coprinus atramentarius*, called Disulfiram (**Fig. 3** - *Disulfiram (diethylthiocarbamate), structural formula. Disulfiram's gross formula is C₁₀H₂₀N₂S₄, and its molecular weight is 296.53. It is sold under the trade names of Antabuse, Antabus or Etiltox*), is today widely used, albeit with significant collateral effects, to divert alcoholics from drinking.

Attempts to use coprine or its derivatives in treating alcoholism proved ineffective due to the high toxicity of these compounds. Other mushroom species are yet to be studied, as the clinical patterns they cause are similar to that of the coprinic syndrome when associated with ethanol. Such mushrooms could contain new molecules which could be used to treat alcohol addiction, thereby replacing coprine.

Coprinus atramentarius

Coprinus atramentarius (**Fig. 1**) is a saprophytic tree basidiomycete. The pileus, the diameter of which is 3-7 cm, is campanulate, light grey, with small scales in the top, darker portion. Once ripe, the edge folds upwards. The gills, thick and high, are initially white, but turn brown first and then black with deliquescence and black liquid secretion. The cylinder-shaped stem is taper and hollow, and it can measure from 5 to 18 cm. The mushroom grows in spring in broad-leaved woods, in small groups. It is almost inedible, odourless, and tasteless (Bielli, 1997).

Physiopathology

Generally, ethanol metabolism includes the action of alcohol dehydrogenase (ADH), family of cytosolic enzymes found in the liver turning alcohol into acetaldehyde (**Fig. 4** - *Coprine inhibits acetaldehyde-dehydrogenase with subsequent acetaldehyde accumulation* and **Fig. 5** - *Ethyl alcohol*

* Dott. Prof., Nuclear Medicine Unit, IRCCS "Casa Sollievo della Sofferenza", San Giovanni Rotondo (FG), Italy.

° Dott. Prof., Pharmacology and Toxicology Laboratory, Department of Clinical Medicine, Public Health and Environmental and Life Science, University of L'Aquila, Coppito (AQ), Italy.

• Dott.ssa, Doctor in specialist training General medicine ASL RM/C. Rome, Italy.

Dott.ssa, Spec. Pediatrician University of Rome "Tor Vergata", Rome, Italy.

§ Dott., Specialized medical oncology School. University of L'Aquila. Hospital San Salvatore (AQ), Italy.

◇ Dott., Cardiology Unit, IRCCS "Casa Sollievo della Sofferenza", San Giovanni Rotondo (FG), Italy.

△ Dott.ssa, Specialist in Cardiovascular Diseases, former State Police Medical Director, Rome, Italy.

† Dott., Cardiology Unit, IRCCS "Casa Sollievo della Sofferenza", San Giovanni Rotondo (FG), Italy.

∞ Dott.ssa Prof.ssa, Pharmacology and Toxicology Laboratory, Department of Clinical Medicine, Public Health and Environmental and Life Science, University of L'Aquila, Coppito (AQ), Italy.

catabolism and coprine, disulfiram and fomepizole action sites. Coprine and disulfiram, cause acetaldehyde (acetic aldehyde) accumulation by inhibiting aldehyde-dehydrogenase. On the other hand, fomepizole, alcohol-dehydrogenase inhibitor, prevents acetaldehyde from being formed. Such oxidation reaction is NAD⁺-dependent and produces NADH. An excess of such reducing agents seems to be part of the metabolic alterations of chronic alcoholism (including lactic acidosis and hypoglycaemia). Ethanol is transformed, after chronic consumption, by part of the mixed-function oxidase microsomal system (MEOS) using NADPH as cofactor. Such system is mainly composed of cytochromes P4502E1, 1A2 and 3A4. Therefore, chronic alcoholism leads to an increased metabolism of other xenobiotics catabolised by the cytochromes of the MEOS system, with an increase in toxic metabolites such as free radicals. ADH isoenzymes genetically vary with significant effects on the speed of ethanol metabolism and the severity of alcohol-related disorders. For instance, the ADH1B* allele leads to a fast conversion of alcohol into acetaldehyde with protective effects against ethanol-addiction in ethnical groups of Eastern Asia. Most of the acetaldehyde produced by alcohol metabolism is hepatically oxidised by part of the NAD⁻ dependent mitochondrial aldehyde-dehydrogenase (ALDH) (fig. 4). Acetate, which can be broken down into CO₂ and H₂O or used to form acetyl-CoA, is therefore formed. *Coprinus atramentarius* inhibits ALDH with acetaldehyde accumulation, which is responsible for the abovementioned symptoms characterising the coprinic syndrome. It is worth noting that certain medicines (such as metronidazole and cefotetan) inhibit ALDH, thus causing a

similar disulfiram/coprine syndrome when taken with ethanol. Genetic deficiency as far as the activity of mitochondrial ALDH (codified by the ALDH2 gene) is concerned can determine, in case of alcohol intake, high levels of acetaldehyde with a syndrome similar to the disulfiram/coprine one; in any case, such inhibited ALDH can help with alcohol-related disorders.

Coprine, found in *Coprinus atramentarius* with a concentration equal to 0.1% of the dry weight, is linked to glutamic acid (fig. 2) (Hatfield & Schaumberg, 1975; Lindberg et al., 1977). Lower coprine concentration has been detected in other mushrooms of the *Coprinus* kind, such as *C. quadridus* Peck and *C. variegatus* Peck.

Acetaldehyde is a highly biologically-reactive compound able to interact with many molecules and enzymatic systems (Fried, 1980), being provided with “direct” (receptive) adrenergic actions, such as beta-adrenergic agonism (Benjamin, 1995), and “indirect ones”, such as catecholamine esocystic release activation. ALDH inhibition hinders other aldehyde molecules, such as those produced by MAOs (monoamine oxidases) on catecholamine themselves from oxidizing (Fried 1980; Korsten et al., 1975; Raskin, 1975; Rawat, 1976; Condouris & Havelin, 1987; Chiba & Tsukada, 1988).

The inhibiting action of coprine on ALDH takes place only “in-vivo”. Indeed, coprine is not able to inhibit such enzyme “in-vitro” (Wiseman & Abeles, 1979). The coprinic syndrome is thought to be caused by coprine metabolites. More in detail, “in-vivo” coprine is hydrolysed with subsequent formation of hemiaminal cyclopropanon (unstable compound inhibiting ALDH) and hydrate cyclopropanon (**Fig. 6 - Coprine catabolism and its active catabolites. According**

to a well-known study by Wiseman and Abeles (1979), which the figure is taken from, coprine biotransformation (I) includes its hydrolysis with subsequent hemiaminal cyclopropanon release (II), which forms hydrate cyclopropanon (III) inhibiting aldehyde-dehydrogenase through ammonia elimination. Such ammonia elimination is quite slow with its 30 minute t_{1/2} at 27°C, pH 7.4. An in-vitro inhibiting action on aldehyde-dehydrogenase by hemiaminal cyclopropanon rapidly leading chloroacetone formation has been recorded (Tottmar & Lindberg, 1977). The latter is dehydrated from ALDH to cyclopropanon, which forms a stable tiohemiketal in correspondence of the active site of the enzyme by binding to a thiol moiety. Such tiohemiketal is similar to the tiohemiacetal produced by aldehyde oxidation by ALDH. Hydrated cyclopropanon is then left unmodified by the enzyme, after reversible inhibition, being known as inactivating agent of the thiol moieties of many other enzymes, with actions similar to that of coprine on ethanol metabolism, including “in vitro” ALDH inhibition. Cyclopropanon derivatives were effective enzyme inhibitors (e.g. cyclopropylamine for plasma amino oxidase after imine cyclopropanon oxidation) (Wiseman & Abeles, 1979).

As stated above, pharmacodynamic/toxicodynamic and functional analogies between coprine and disulfiram enabled coprine and its derivatives to be used as alcoholism-treating substances in the past. Such attempts led to no operational consequences, as preliminary experimental tests carried out on laboratory animals showed how coprine and benzcoprine severely damage testicles by depleting spermatogonial cells and atrophying the gland (Jönsson et al., 1979).

Symptomatology

The symptoms of the coprine syndrome vary according to how much *Coprinus atramentarius* and alcohol have been ingested, how much time passed between such ingestions, and individual features. The symptoms show also when alcohol has been ingested several hours before the mushroom. It is worth remembering that the hepatic metabolism of ethanol follows zero-order kinetics (namely a constant quantity of alcohol is biologically transformed within the time unit); such quantity is around 7g/hour, though with significant individual variations.

The symptoms, which usually appear an hour after *Coprinus atramentarius* and alcohol ingestion, is characterised by face and neck skin hyperaemia (which can also spread to the chest and upper limbs), choking and throbbing headache. Stinging paraesthesias can occur as far as limbs are concerned. Arterial hypotension associated with diarrhoea and tachycardia can occur. Colic-like pain can be experienced, though less frequently than nausea and vomiting. Frequently, patients claim they have a “metallic taste” in their mouth (Michelot, 1992). The most severe cases, generally due to the ingestion of high quantities, saw the presence of hypothermia (35.6 C°) and shivering (Roch, 1948).

Symptoms spontaneously disappear within few hours, but may reappear if the patient ingests even small quantities of alcohol hours or days afterwards. Indeed, small quantities of alcohol can cause the symptoms to reappear. Literature also has it that using alcohol-based skin lotions can cause the symptoms to reappear.

Therapeutical treatment

Coprine syndrome treatment includes abstention from alcohol and alcoholic products (including syrups, sweets, chocolates and so forth) for 4-5 days, also avoiding the ingestion of *Coprinus atramentarius*. Should the syndrome be severe, chloride diphenhydramine is used for skin hyperemia, sympathomimetic amines are used to increase blood pressure, plasma expanders or rehydration is used for limb paraesthesias and arterial hypotension, cysteine is used to prevent hyperventilation, beta blockers are used to reduce tachycardia and counter heart arrhythmia, and high doses of intravenous vitamin C are used as a redox factor (Michelot, 1992). Gastric lavage is superfluous as far as vomiting is concerned.

Fomepizole (Antizol®), the structural formula of which is shown in **fig. 7 - Fomepizole (4-methylpyrazole), structural formula. Fomepizole's gross formula is C₄H₆N₂. Its molecular weight is 82.1** - proved theoretically interesting as far as coprine syndrome treatment is concerned. Such a medicine is an ALDH reversible inhibitor and is indicated in ethylene glycol and methanol intoxication treatment, as it prevents the formation of respectively toxic catabolites and formaldehyde. Fomepizole also prevents the formation of acetic aldehyde, which causes the coprine syndrome, by inhibiting ALDH (Saviuc & Flesch, 1965). However, such medicine is not sold in Italy and other countries, such as the USA, where it is limitedly used due to its high price, amounting to 1000 dollars a vial. Data involving its use in coprine syndrome treatment are currently lacking.

Conclusions

The few scientific articles on coprine and the coprine syndrome found in databases are quite old, which shows the little importance attached to this rare, minor kind of intoxication, the main features of which have been known for decades.

Albeit an “underground” topic, the coprine syndrome should be properly diagnosed by first-aid doctors, as well as those who work in rural areas.

Clinical pictures similar to that of the coprine syndrome (known as “coprine-like syndromes”) are caused by alcohol intake combined with the ingestion of mushrooms of the *Coprinus* kind different from *Coprinus atramentarius*. Moreover, other basidiomycetes cause syndromes similar to the coprine one when interacting with ethanol (Michelot, 1992): *Clitocybe clavipes* (Cochran & Cochran, 1978; Yamaura et al., 1986), *Boletus luridus* (Budmiger & Kocher, 1982), *Verpa bobemica* (Groves, 1964; Bornet, 1980), *Pholiota squarrosa* (Shaffer, 1965; Pegler & Watling, 1982), *Tricholoma auratum* (Herrman, 1966). *Lepiota aspera* (Ludwig, 2009; Haberl et al., 2011) was recently added.

The active principles (or metabolites) of the previous mushrooms species altering ethanol metabolism, thereby causing coprine-like syndromes, are not known yet. Studying such species, the active principles they contain and their action mechanisms could be interesting so as to create medicines better suited than disulfiram to treat ethanol addiction, which is thought to be the cause of the death of 4% of the world population (Saieva et al., 2012).



STATO MAGGIORE DELLA DIFESA
Ispettorato Generale della Sanità Militare

“La valutazione del danno in tema di vittime del terrorismo, della criminalità organizzata, del dovere ed equiparate ed attualità medico-legali in tema di idoneità al servizio nelle Forze Armate/Arma dei Carabinieri e Corpi di Polizia”

WORKSHOP

Roma, 21 aprile 2016 — Casa dell'Aviatore

PROGRAMMA DELLA RIUNIONE

- 08.30 Ingresso dei partecipanti.
- 09.00 - 09.30 **Apertura lavori:** Saluto dell' Ispettore Generale della Sanità Militare **Gen. Isp. Capo CSArm Enrico TOMAO** e delle altre **Autorità** presenti.
- 09.30 - 10.00 **Moderatori :** Brig. **Gen. Nicola SEBASTIANI, C.A. (SAN) Gerardo ANASTASIO**
Le Vittime del terrorismo, della criminalità organizzata, del dovere ed equiparate: profili giuridici e medico-legali alla luce del recente parere del Consiglio di Stato.
Col. me. Luigi LISTA
- 10.00 - 10.30 Correlazione tra valutazioni medico-legali e provvedimenti amministrativi in tema di "vittime". **Dott.ssa Antonella ISOLA**
- 10.30 - 11.20 DISCUSSIONE
- 11.20 - 11.45 Coffee break
- 11.45 - 12.00 **Moderatori:** **Col. me. Luigi LISTA, Col. CSArm Francesco GUADALUPI**
Il Modello "C": nuovi aspetti medico-legali e procedurali nel Codice dell'Ordinamento Militare.
Ten Col. me. Giuseppe MARCHI
- 12.00 - 12.15 Il Disturbo post-traumatico da stress nella valutazione medico-legale del danno
Cap. me. Marco CANNAVICCI
- 12.15 - 12.30 Vittime del dovere equiparate ed esposizione all'amianto.
C.F. (SAN) Francesco ORISTANIO/ CC (SAN) Marisa GIANVECCHIO
- 12.30 - 12.45 "Rilevamento epidemiologico sul personale militare dell'A.D. nelle attività medico-legali dei D.M.M.L."
Col. CSArm Claudio DE ANGELIS
- 12.45 - 13.15 DISCUSSIONE
- 13.15 - 14.30 COLAZIONE DI SERVIZIO
- 14.30 - 16.30 TAVOLA ROTONDA Specificità dell'accertamento dell'idoneità al servizio nelle FA/CC e nelle Forze di Polizia /VV.FF.
Moderatori : **C.A. (SAN) Gerardo ANASTASIO— Col. me. Luigi LISTA**
Intervento preordinato: **Dott. Franca FRANCHI**
FA/CC: **Col. me. P. MONTINI, C.A. (SAN) R. GUARDUCCI, Gen. Isp. CSArm P. MANFRONI, Gen. D. RTL V. FERRARA**
Forze di polizia: **Dott. F. CIPRANI, Dott. D. SBARDELLA, Dott. B. COLAGROSSO,**
- 16.30 - 17.30 DISCUSSIONE