

PREGLEDNI RAD / REVIEW

Toksični učinci mikotoksina: Mehanizam djelovanja i mikotoksikoze

Toxic effects of mycotoxins: Mechanism of action and mycotoxicosis

Jelka Pleadin^{1*}, Tina Lešić¹, Ivana Kmetić², Ksenija Markov², Manuela Zadravec³, Jadranka Frece², Maja Kiš⁴, Bojan Šarkanj⁵

¹ Hrvatski veterinarski institut, Laboratorij za analitičku kemiju, Savska cesta 143, 10 000 Zagreb, Hrvatska

² Prehrambeno-biotehnoški fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Pierottijeva 6, 10 000 Zagreb, Hrvatska

³ Hrvatski veterinarski institut, Laboratorij za mikrobiologiju hrane za životinje, Savska cesta 143, 10 000 Zagreb, Hrvatska

⁴ Hrvatski veterinarski institut, Veterinarski zavod Križevci, Laboratorij za mikrobiologiju hrane i hrane za životinje, Zakmardijeva 10, 48260 Križevci, Hrvatska

⁵ Sveučilište Sjever, Sveučilišni centar Koprivnica, Odjel za prehrambenu tehnologiju, Trg dr. Žarka Dolinara 1, 48000 Koprivnica

*Corresponding author: pleadin@veinst.hr

Sažetak

Mikotoksini predstavljaju prirodne toksine koji učestalo kontaminiraju hranu i hranu za životinje, a primarno ih sintetiziraju plijesni iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* i *Claviceps*. Ove tvari predstavljaju vrlo stabilne spojeve, otporne na različite uvjete proizvodnje, prerade i skladištenja hrane. Mikotoksini mogu prouzročiti niz štetnih učinaka po zdravlje ljudi i životinja, tzv. mikotoksikoze, uključujući karcinogenost, mutagenost, genotoksičnost, imunotoksičnost, neurotoksičnost, hepatotoksičnost, nefrotoksičnost, te druge, pri čemu često istovremeno djeluju na više ciljnih mjesta u organizmu, u ovisnosti o toksičnosti samog mikotoksina te dozi i vremenu izloženosti. Za veliki broj mikotoksina još uvijek nema dovoljno dokaza o njihovim štetnim učincima na ljudsko zdravlje, ali se temeljem utvrđene osjetljivosti različitih životinjskih vrsta pretpostavlja da i u ljudi mogu izazvati slična djelovanja. Ujedno, za većinu mikotoksina koji se učestalo zajednički pojavljuju u hrani i hrani za životinje nisu razjašnjeni njihovi učinci u organizmu koji mogu varirati od antagonističkih do sinergističkih. Ovaj rad daje pregled mehanizama djelovanja mikotoksina od najvećeg javnozdravstvenog značaja i njihovih toksičnih učinaka u organizmu.

Ključne riječi: mikotoksini, mikotoksikoze, mehanizam djelovanja, toksični učinci, hrana i hrana za životinje

Abstract

Mycotoxins are naturally occurring toxins that frequently contaminate food and feed and are primarily synthesized by moulds from the genera *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* and *Claviceps*. These substances are very stable compounds, resistant to different conditions of food production, processing and storage. Mycotoxins can cause a number of adverse effects on human and animal health, so-called mycotoxicoses, including carcinogenicity, mutagenicity, genotoxicity, immunotoxicity, neurotoxicity, hepatotoxicity, nephrotoxicity, and others, often acting simultaneously at multiple target sites in the body, depending on the toxicity of the mycotoxin itself and the dose and time of exposure. A large number of mycotoxins still lack sufficient evidence of their adverse effects on human health, but based on the established susceptibility of different animal species, it is assumed that similar effects can be induced in humans. At the same time, for most mycotoxins that occur frequently in food and feed, their effects in the body have not been elucidated and can vary from antagonistic to synergistic. This paper provides an overview of the mechanisms of action of mycotoxins of major public health importance and their toxic effects in the body.

Keywords: mycotoxins, mycotoxicoses, mechanism of action, toxic effects, food and animal feed

Uvod

Mikotoksini su produkti sekundarnog metabolizma plijesni koji učestalo kontaminiraju hranu i hranu za životinje. S kemijskoga stajališta ovi spojevi su strukturno značajno različiti, ali je u pravilu riječ o organskim spojevima niske molekularne mase (ispod 1000 Da). Toksični učinci mikotoksina počeli su se značajnije proučavati još 1960. godine, kada je u Engleskoj akutno otrovanje aflatoksinom, poznato kao „X bolest purana“, uzrokujući akutnu nekrozu jetre i hiperplazije žučnih kanala, dovelo do uginuća 100.000 purića. Danas je poznato više od 400 različitih mikotoksina, međutim, detaljnije je istraženo svega 50-ak (Pleadin i sur., 2019), a njihova pojavnost je najznačajnija u nerazvijenim zemljama svijeta (Deshpande, 2002). Predstavljaju vrlo stabilne spojeve, otporne na različite uvjete proizvodnje, prerade i skladištenja hrane i hrane za životinje (Pleadin i sur., 2017). Poznato je da mikotoksini mogu izazvati niz štetnih učinaka na ljude i životinje, kao što su kancerogenost, imunotoksičnost, probavne smetnje, neurotoksičnost, hepatotoksičnost, nefrotoksičnost, reproduktivne i razvojne poremećaje i dr., pri čemu često mogu istovremeno djelovati na više mjesta u organizmu i na različite načine, što ovisi o vrsti mikotoksina, dozi i vremenu izloženosti (Bennett i Klich, 2003; CAST, 2003). Termin mikotoksikoze odnosi se na skupinu bolesti ljudi i životinja, alimentarnih trovanja ljudi i životinja, izazvanih izloženosti mikotoksinima i to: putem hrane (oralni put unosa), udisanja spora (respiracijski put unosa) te putem kože (izravni dodir, površinska ili kutana kontaminacija) (Pitt i sur., 2012; Woloshuk i Shim, 2013).

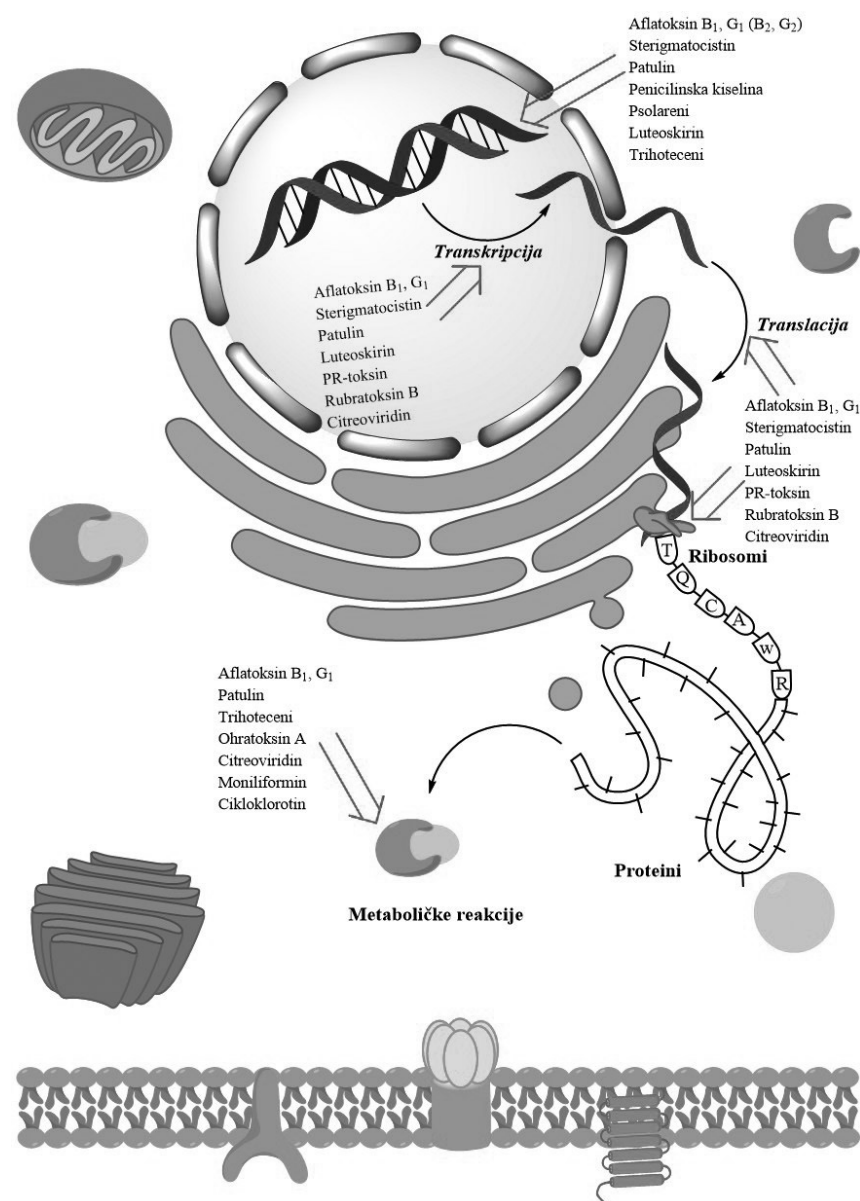
Primarni izvor mikotoksina predstavljaju žitarice, a njihova rasprostranjenost varira u ovisnosti o brojnim čimbenicima (CAST, 2003; Pleadin i sur.,



2018), koji se mogu podijeliti na fizikalne, kemijske i biološke. Fizikalne čimbenike predstavljaju okolišni parametri, poput temperature, vlažnosti, osvjetljenosti, prozračivanja i infestacije insektima. Pritom visoka temperatura i visoki stupanj vlažnosti mogu ubrzati pojavnost plijesni i produkciju mikotoksina, kako na poljoprivrednoj površini, tako i u skladišnim prostorima. Kemijski čimbenici podrazumijevaju utjecaj gnojiva, insekticida i fungicida na usjeve na polju ili u skladišnim prostorima, dok biološki čimbenici uključuju kompeticiju s mikroflorom, primjerice bakterijama ili drugim gljivicama. Uz navedeno, na produkciju mikotoksina može utjecati soj i genotip plijesni, inkulum čiji je glavni izvor tlo, te rezistencija biljke koju plijesan napada (Španić i sur., 2018; 2019).

Osim što su mikotoksini prisutni u nativnim oblicima, u posljednje vrijeme značajna su nova istraživanja na takozvanim maskiranim ili modificiranim mikotoksinima. Ovi mikotoksini nastaju kao posljedica promjene kemijske strukture tijekom metabolizma biljke ili životinje koja se na taj način brani od toksičnog utjecaja mikotoksina ili kao kemijski ili termički produkt tijekom procesiranja hrane, a predstavljaju problem budući da zakonodavstvo nisu regulirani. Primjer je maskirani oblik mikotoksina deoksinivalenola (DON-a) koji se u biljkama prevodi u glukozid (DON-3-Glc). Nakon što ga konzumiramo naša crijevna mikroflora odcjepi glukozu, te smo mi i dalje izloženi nativnom mikotoksinu DON-u (Kovač i sur., 2018).

Budući da je pojavnost mikotoksina i učestalost mikotoksikoza diljem svijeta vrlo rasprostranjena (Chu, 1998; CAST, 2003; Pleadin i sur., 2019), od izrazite važnosti su istraživanja njihovog djelovanja i dijagnostike bolesti te poduzimanje svih mjera u cilju ublažavanja simptoma kao posljedice izloženosti organizmu. U ovom radu dan je pregled mehanizama djelovanja mikotoksina od najvećeg javnozdravstvenog značaja i njihovih toksičnih učinaka u organizmu.



Slika 1. Utjecaj mikotoksina na RNK i sintezu proteina (prilagođeno iz Kiessling, 1986)

Figure 1. Effect of mycotoxins on RNA and protein synthesis (adapted from Kiessling, 1986)

Mehanizam djelovanja

Mikotoksini se u organizmu očituju nizom štetnih učinaka, poput oksidacijskog stresa, apoptoze (programirane smrti stanica), oštećenja DNK-e, blokade staničnog ciklusa, inhibicije sinteze bjelančevina, nekroze (prebrane stanične smrti uslijed autolize), peroksidacije lipida i imunosupresije (Wen i sur., 2016).

Primarni mehanizam djelovanja mikotoksina može biti modifikacija DNK predloška, narušavanje transkripcijskog procesa ili inhibiranje procesa prevođenja u sintezi protein (Slika 1). U određenim slučajevima mikotoksin reagira izravno s enzimskim proteinom ili koenzimom. Navedeni koraci mogu dovesti do sekundarnih učinaka u smislu modificiranih enzimskih aktivnosti, a samim tim i do promjene metaboličke aktivnosti i regulacije u organizmu (Kiessling, 1986).

Mikotoksikoze

Toksični učinci mikotoksina u ljudi i životinja nazivaju se mikotoksikozama. Simptomi mikotoksikoza ovise o vrsti mikotoksina, razini i trajanju izloženosti, dobi, zdravstvenom stanju i spolu domaćina te sinergističkim učincima, koji uključuju genetiku, stanje uhranjenosti i interakciju s drugim toksinima (Bennett i Klich, 2003; Pitt i sur., 2012).

Ukoliko se mikotoksikoze pojave u kombinaciji s manjkom vitamina, pothranjenošću, prekomjernom konzumacijom alkohola i zaraznim bolestima, učinci ovih bolesti mogu imati teške zdravstvene posljedice. Obzirom na težinu bolesti, mikotoksikoze organizam čine podložnim mikrobnim bolestima, pogoršavaju učinke pothranjenosti i djeluju u sinergiji s drugim toksinima. Izravni učinci mikotoksina na ljude i životinje su usporen rast, oslabljen imunitet i smanjena otpornost na infekcije; akutna toksičnost i uginuće zbog izlaganja visokim razinama mikotoksina; smanjena proizvodnja jaja i mlijeka, te kronične bolesti, uključujući i tumore nakon dužeg izlaganja manjim količinama mikotoksina (CAST, 2003). Toksični učinci odabranih mikotoksina u organizmu prikazani su u Tablici 1.

Tablica 1. Toksični učinci odabranih mikotoksina (CAST, 2003; Chu, 2006)

Table 1. Toxic effects of selected mycotoxins (CAST, 2003; Chu, 2006)

Mikotoksini	Toksični učinak*	Mehanizam djelovanja
Aflatoksin B ₁ i drugi aflatoksini	A, K, H, I, M, T	Tvorba DNA adukata i mutacija p53 tumor supresor gena
Alternaria mikotoksini	A, Hr, M	Inhibicija ceramid sintaze
Citrinin	K(?), Nf, M	Inhibicija sinteze proteina
Cikloklorotin	A, K, H	Vežanje na DNK
Ciklopiazonična kiselina	Kv, I, M, Nr	Izmjena hemostaze Ca ²⁺ te inhibicija Ca ²⁺ -ovisne ATPaze
Deoksinivalenol	I, Nr	Inhibicija sinteze proteina
Fumonizini	A, K, Kv, H, Nr, R	Narušavanje sfingolipidnog metabolizma inhibicijom ceramid sintaze
Luteoskirin	A, K, H, M	Vežanje na DNK
Moniliformin	Kv, Nr	Vežanje s piruvat dehidrogenazom i utjecaj na enzime ciklusa trikarboksilnih kiselina
Okratoksin A	A, I, Nf, T	Inhibicija sinteze proteina i nekoliko enzima; povećanje lipidne peroksidacije; narušavanje homeostaze Ca ²⁺ i cAMP
Patulin	K(?), Nr, D, T	Vežanje na –SH skupinu proteina i inhibicija –SH enzima
Penicilinska kiselina	K(?), Nr, M	Inhibicija –SH enzima
Rubratoksin B	A, H, T	Inhibicija sinteze proteina
Sterigmatocistin	H, K, M	Isti kao aflatoksin
T-2 toksin	A, ATA, Kv, D, I, T	Inhibicija sinteze proteina, vežanje s peptidil transferazom, membranskim proteinima i drugim enzimima
Tenuazonjska kiselina	Hr	Inhibicija sinteze proteina
Tremorgenji toksini	Nr	Vežanje na i inhibicija acetilkolinesteraze
Zearalenon	G, M	Vežanje na estrogenski receptor
12-13, epoksi trihoteceni izuzev T-2 toksina i deoksinivalenola	A, D, I, Nr	Isti kao T-2 toksina

*A, apoptoza; ATA, alimentarna toksična aleukija; K, karcinogen; K(?) karcinogeni učinak je još upitan; Kv, kardiovaskularne lezije; D, dermatoksin; G, genitotoksin i estrogenski učinak; H, hepatotoksin; Hr, hemoragičan; I, imuno-modularni učinak; M, mutagen; Nf, nefrotoksin; Nr, neurotoksin; R, respiratorni toksini; T, teratogen.

Toksični učinci

Aflatoksini

Aflatoksini predstavljaju derivate difuranokumarina koje proizvode plijesni *Aspergillus flavus* i *Aspergillus parasiticus*. Klimatski uvjeti koji pogoduju brzom rastu aflatoksina su izrazita sušna razdoblja i visoka temperatura, uz pojavnost oborina prije ili tijekom berbe usjeva, što je glavni razlog epidemija aflatoksikoza velikih razmjera koje se pojavljuju u tropskim područjima (Bennett i Klich, 2003; Pleadin i sur., 2018). Do sada je otkriveno više od 14 različitih vrsta prirodno proizvedenih aflatoksina, a najznačajniji predstavnici su: aflatoksin B₁ i B₂ (AFB₁ i AFB₂), aflatoksin G₁ i G₂ (AFG₁ i AFG₂), aflatoksin M₁ (AFM₁), aflatoksin M₂ (AFM₂), aflatoksikol (AFL₁), aflatoksin Q₁ (AFQ₁), aflatoksin P₁ (AFP₁) i aflatoksin B_{2a} (AFB_{2a}).

U različitim organizmima pokazuju teratogena, mutagena, karcinogena i imunosupresivna svojstva, a klinički simptomi aflatoksikoza uključuju vrućicu, povraćanje, anoreksiju, tahikardiju i edeme. Najčešći put unosa gotovo svih aflatoksina jest ingestija, no AFB₁ u organizam može ući i putem kože ili inhalacijom prašine kontaminirane s aflatoksinima. S izuzetkom AFB₁, sve druge vrste aflatoksina su nekoliko puta manje toksične te su s njima povezane opasnosti po zdravlje tek malobrojne. AFB₁ je toksičniji od AFG₁, ali ukoliko dođe do metaboličke aktivacije AFG₁ putem stvaranja epoksida, toksičnost ovih dvaju mikotoksina se gotovo izjednačuje, dok su AFG₂ i AFG₂ znatno manje toksični jer ne stvaraju epoksidge (Kew, 2008; Lizárraga-Paulín i sur., 2011). Razina toksičnosti najznačajnijih aflatoksina može se prikazati slijedom: AFB₁>AFG₁>AFB₂>AFG₂ (Lee i sur., 2014). AFM₁ predstavlja hidroksilirani metabolički produkt AFB₁ koji nastaje tijekom oksidacijskih procesa u organizmu nakon ingestije kontaminirane hrane, a AFM₂ je hidroksilirani metabolički produkt AFB₂ koji nastaje tijekom oksidacijskih procesa u mlijeku sisavaca koji su hranidbom primali kontaminiranu hranu.

Indukcija toksičnosti AFB₁ iziskuje njegovu konverziju u bioaktivne egzo- i endo-stereoizomere 8, 9-epoksida, koji nastaju zajedno s AFQ₁ posredstvom enzima citokroma P450 (Thelen i Dressman, 2009; Wen i sur., 2016). Posredovanjem enzima CYP1A2 nastaju manje toksični metaboliti



poput hidroksiliranog AFM₁ i AFB₁-endo-8,9-epoksida, koji ne mogu producirati DNK-adukte (Kew, 2008; Lizárraga-Paulín i sur., 2011). Kako bi se spriječilo štetno djelovanje bioaktivnih oblika AFB₁, moguće je provesti konjugaciju egzo-epoksida pomoću reduciranoga glutationa (GSH), kataliziranu glutation-S-transferazom (GST), što rezultira nastankom GSH-konjugata epoksida i u konačnici dovodi do izlučivanja aflatoksina (Deshpande, 2002). Zbog inaktivacije tumor-supresorskoga gena (TP53), genetička mutacija izazvana djelovanjem AFB₁ doprinosi razvoju primarnog hepatocelularnog karcinoma. Ova inaktivacija rezultat je mutacije na kodonu 249 kao posljedice transverzije AGG na AGT (Arg na Ser) (Lizárraga-Paulín i sur., 2011), koje su povezane s kapacitetom vezivanja reaktivnih epoksida na DNK-u i N-7 poziciju gvanina. Ovakve specifične mutacije smatraju se karcinogen-specifičnim biomarkerima budući da do njihove ekspresije dolazi upravo u tumorskim tkivima. Uz navedeno, prisutnost epoksid-N7-gvanin adukta ili AFM₁ u urinu smatra se pouzdanim biomarkerom rane izloženosti AFB₁ (Wild i Turner, 2002; Lizárraga-Paulín i sur., 2011; Šarkanj i sur., 2018). Karcinogeni potencijal AFB₁ može se dovesti u svezu s količinom *in vivo* stvorenih epoksidnih adukata čiju je koncentraciju moguće pratiti i nadzirati u krvi, urinu i mlijeku. Ograničenje ovakvog biomonitoringa jest to da ne daje podatke o širokom spektru izloženosti u određenom vremenskom razdoblju, a najučinkovitiji i najpouzdaniji način dobivanja podataka o izloženosti na duljem vremenskom razdoblju jest analiza razina AFB₁-albumin adukata u krvnom serumu.

Utjecaj AFB₁ na jetru uključuje i smanjenu aktivnost mikrosomalnih enzima glukoza-6-fosfataze i UDP glukoza-glikogen transglukozilaze, što u konačnici dovodi do smanjenja glikogenskih rezervi. Uz navedeno, AFB₁ u krvi može prouzročiti antikoagulacijski učinak, vjerojatno zbog inhibicije sinteze faktora II i VII, koji su od ključnog značaja za sintezu protrombina. Ranije se smatralo da aflatoksini imaju ulogu u etiologiji *Reyeva* sindroma, odnosno da su povezani s nastankom ove akutne bolesti koja se javlja u dječjoj dobi (Ryan i sur., 1979). Međutim, kasnija su istraživanja pokazala da, umjesto *Reyeva* sindroma, aflatoksini mogu prouzročiti pojavu sličnoga sindroma – encefalopatije i masne degeneracije organa, pri čemu se jetra i bubreg povećavaju i bljede te se razvija teški oblik edema mozga (Harwig, 1975).

Okratoksin

Pojavnost okratoksina primarno se povezuje s plijesnima iz roda *Aspergillus*, primarno *Aspergillus ochraceus*, ali i nekim sojevima iz roda *Penicillium*. Visoka razina vlage i umjerena temperatura u pojedinoj zemljopisnoj regiji može stimulirati njihovu produkciju. Okratoksin A se najčešće može naći u ječmu, zobi, pšenici, sušenom voću, žitaricama, kruhu, zrnju kave i određenim vrstama vina proizvedenim od kontaminiranoga grožđa (Speijers i Van Egmond, 1993). Utvrđene su četiri vrste okratoksina: okratoksin A (OTA) - najčešći i najsnažniji toksin; okratoksin B (OTB) - neklorirani analog OTA; okratoksin C (OTC) - etil-esterski analog OTA i okratoksin TA (OTTA) - hidroksilirani analog OTA.

Najtoksičniji među navedenima jest OTA, koji pokazuje nefrotoksičnost, karcinogenost, teratogenost, hepatotoksičnost i neurotoksičnost, a u manjoj mjeri djeluje i kao mutagen te imunosupresor (Mally i sur., 2005; Doi i Uetsuka, 2011). Glavni ciljani organ na koji OTA djeluje je bubreg. Nekada se smatralo da OTA može uzrokovati nefropatiju (BEN – Balkanska endemska nefropatija), a pojavnost ove bolesti dovedena je u vezu sa određenim endemskim područjima i to u Bugarskoj, bivšoj Jugoslaviji i dijelovima Rumunjske (Peraica i sur., 1999). Međutim, novije literaturne spoznaje ne dovode ovaj mikotoksin u poveznicu s BEN-om (Bui-Klimke i Wu, 2015). Prvi znakovi i simptomi bolesti su umor, glavobolja i bljedilo kože, dok se nakon duže izloženosti razvijaju simptomi niskomolekularne proteinurije bez popratne hipertenzije, uz pojavu aplastične (manjak stanica svih krvnih loza zbog aplazije koštane srži) ili normokromne anemije (povećanog broja eritrocita). U slučaju nefropatija koje zahvaćaju proksimalne glomerule, uobičajeni klinički simptomi su glukozurija bez hiperglikemije, mikroalbuminurija,

poremećaj acidifikacije urina i usporen klirens kreatinina.

OTA je i vrlo potentan humani karcinogen, koji u ljudi izaziva hepatocelularne karcinome i renalne adenome. U ljudi se izlučuje u dva glavna koraka, pri čemu je prvi od njih brzo izlučivanje, a drugi predstavlja fazu čišćenja koja određuje brzinu konačne eliminacije spoja (Creppy, 1999). Nakon apsorpcije iz želučano-crijevnoga trakta, OTA se u krvi veže za bjelančevine plazme, poglavito albumin. Jednom kada se stvore OTA-albumin adukti, njihova glavina se prenosi u bubreg, no niske koncentracije ovih adukata prenose se i u jetru i mišiće. U ljudi, glavni metaboliti OTA nastali posredstvom CYP izoenzima uključuju 4(R)-hidroksi-OTA (1A2, 2B6, 2C9, 2D6 i 2A6), 4(S)-hidroksi-OTA (2D6, 2B9) i OTα, koji nastaje posredstvom karboksipeptidaze A nakon hidrolize amidnih veza i ima manju toksičnost u odnosu na izvorni spoj, te se u nativnom ili glukuronidiranom obliku izlučuje iz organizma urinom (Pfohl-Leszkowicz i Manderville, 2007; Wu i sur., 2011; Klapac i sur., 2012).

Iako molekularni mehanizmi OTA-om inducirane karcinogenosti još uvijek nisu poznati, smatra se da ovaj spoj igra ključnu ulogu u smanjivanju antioksidacijskih rezervi te da remeti fiziologiju stanice na nekoliko načina, no primarni način djelovanja u tom smislu jest inhibicija enzima uključenoga u stvaranje fenilalanin - tRNA kompleksa (Marquardt i Frohlich, 1992). Isto je tako poznato da ovaj spoj inhibira stvaranje ATP-a u mitohondrijima, što stimulira peroksidaciju lipida (Wen i sur., 2016). Zbog jakog afiniteta prema Purkinjeovim stanicama u malom mozgu, ventralnom mezencefalonu i hipokampalnim dijelovima mozga, OTA djeluje i kao neurotoksin. Patološke promjene do kojih dolazi u hipokampusu ishode neurodegeneracijom, što se dovodi u vezu s razvojem Alzheimerove bolesti. Budući da je utvrđeno da uzrokuje depleciju dopamina u strijatumu, OTA se dovodi u vezu i s razvojem Parkinsonove bolesti. Zbog svog imunosupresivnog djelovanja, ovaj spoj smanjuje veličinu organa imunološkoga sustava (timusa, slezene, odnosno limfnih čvorova) (Woolf, 1986).

S izuzetkom OTA, drugi okratoksini znatno su manje toksični. Utvrđeno je da izloženost OTB-u ima citotoksične *in vitro* učinke na stanice bubrega i jetre, no stupanj toksičnosti *in vivo* tek je neznatan, što se može pripisati vrlo brzom metaboliziranju ovoga spoja i njegovoj brzom eliminaciji iz tijela. Iako je dokazano da OTB može uzrokovati inhibiciju proliferacije HepG2 stanica, za razliku od OTA ovaj spoj čak ni u višim koncentracijama nema genotoksično djelovanje (Knasmüller i sur., 2004).

Citrinin

Citrinin produciraju plijesni brojnih vrsta iz rodova *Penicillium* (*P. citrinum*) i *Aspergillus* (*A. terreus* i *A. niveus*). Glavni putovi unosa u organizam je konzumacija kontaminirane hrane koja je najčešće dugotrajno uskladištena, najviše pšenice, raži, riže i sira. Apsorbira se i putem kože te inhalacijom (Abramson i sur., 2001). Metabolizam citrinina ovisan je o uvjetima okoliša, poput visoke temperature i vlažnosti. Dosadašnja istraživanja govore o nekoliko metabolita ovoga mikotoksina i to citrininu H1 i H2 (formiliranom, manje toksičnom derivatu), fenolu A (koji se stvara u kiselom mediju), dicitrininu A (dimeru koji se stvara u neutralnom mediju u prisutnosti visokih koncentracija citrinina) i dihidrocitrinonu. Kako se citrinin H1 sastoji od dviju molekula citrinina, ovaj je metabolit toksičniji od samog citrinina. Štetni zdravstveni učinci ovog mikotoksina su nefrotoksičnost, hepatotoksičnost, citotoksičnost, genotoksičnost i karcinogenost (Wen i sur., 2016). Istraživanja pokazuju da izloženost ovome mikotoksinu u miševa povećava težinu jetre i bubrega, dok duže izlaganje dovodi do stvaranja manjih adenoma. Do povećanja težine bubrega vjerojatno dolazi zbog akumulacije toksina unutar bubrežnoga tkiva nakon njegova transportiranja u proksimalne bubrežne tubule. Uz navedeno, utvrđeno je da citrinin u značajnoj mjeri utječe na mitohondrijski respiracijski lanac, budući da dovodi do promjena u tokovima Ca²⁺ iona kroz staničnu membranu i mijenja njezinu propustljivost, čime remeti lanac prijenosa

elektrona.

Za razliku od velikog broja ostalih mikotoksina, citrinin ne uzrokuje oksidacijsko oštećenje DNK nego aneuploidiju (patološki broj kromosoma) i kromosomske aberacije poput hipodiploidije (broj kromosoma manji od normalnog diploidnog). Navedeno dokazuje da ovaj mikotoksin nije mutagen. Drugi mogući toksični učinci izloženosti citrininu uključuju smanjeno stvaranje citokina, inhibiciju sinteze DNK-e i RNK-e i smanjenu ekspresiju gena odgovornog za stvaranje iNOS-a (od eng. *inducible Nitric Oxide Synthase*; enzima potrebnog za sintezu dušikova oksida, inače medijatora upale), izazivanje oksidacijskog stresa i aktivaciju apoptoze u stanicama (Pérez-Rodríguez i sur., 2009; Sugiyama i sur., 2013).

Trihoteceni

Biolška aktivnost trihotecena proizlazi iz 12,13-epoksitrihotecenske strukture, prisutnosti hidroksilne ili acetilne skupine te dvostruke olefinske veze s različitim supstituentima na bočnim lancima (Rocha i sur., 2005). Ovisno o strukturnim modifikacijama, može ih se podijeliti na makrocikličke trihotecene, koji u svojoj strukturi kao supstituent sadrže makrociklički ester i proizvode ih plijesni *Stachybotrys chartarum*, te na trihotecene koji nisu makrociklički, a u svojoj strukturi sadrže ester-eterske veze i proizvode ih plijesni iz roda *Fusarium* (Chu, 1998; Pleadin i sur., 2015). Tip A predstavlja podvrstu trihotecena koji nisu makrociklički, a u strukturi sadrže bočne lance vodikova ili esterskog tipa (npr. T-2 toksin, hidroksil-T-2 (HT-2)), neosolaniol i diacetoksiscirpenol, a tip B u svojoj strukturi sadrži keton (npr. fusarenon-x, nivalenol i deoksinivalenol (DON)). Izvor ovih mikotoksina su primarno kukuruz, ječam, zob, raž, pšenica i sijeno. Glavni put unosa je ingestija, no mogu se unijeti i inhalacijom spora koje mogu rasti na svim vlažnim površinama (zidovima, stropovima, drvenim daskama, ventilacijskim sustavima ili zrakovodima) (Bennett i Klich, 2003). Prodiru i kroz kožu te izravni kontakt može uzrokovati jaku nadraženost kože.

Za razliku od drugih mikotoksina, ostvarivanje biološke aktivnosti trihotecena ne iziskuje nikakvu *in vivo* aktivaciju metaboličkim putem. Glavna značajka toksičnosti trihotecena je sposobnost da remete sintezu bjelančevina slijedom inhibicije aktivnosti peptidil-transferaze, koja se postiže vezivanjem na isto sjelo ribosomske RNK-e (Feinberg i McLaughlin., 1989). Ovo dovodi do indukcije stresa posredovanog fosfokinazom i ekspresije patološkog proinflamacijskog gena, što u konačnici rezultira usporavanjem rasta i apoptoze stanica zbog smanjene ekspresije čimbenika rasta, a ključni dio strukture trihotecena odgovoran za ovakav mehanizam djelovanja jest 12,13-epoksidni dio.

Najtoksičniji predstavnici trihotecena su trihoteceni koji nisu makrociklički. Primjerice, deoksinivalenol (vomitoksin, DON) u životinja uzrokuje tešku mučninu, povraćanje i proljev, što rezultira odbijanjem hrane (Valenta i Dänicke, 2005). Izravna toksičnost DON-a temelji se na epoksidnome dijelu njegove strukture, a ima i negativan učinak na brojne procese povezane s imunošću organizma. Dovodi do supraregulacije mRNA čime se modulira ekspresija nekoliko citokina, kemokina i s imunošću povezanih bjelančevina (Pestka, 2008). Drugi važan utjecaj jest onaj na nekoliko imunoregulacijskih procesa u koje spadaju proliferacija stanica, njihova diferencijacija i apoptoza (Rocha i sur., 2005; Bae i Pestka, 2008). Poznato je nekoliko metabolita DON-a, i to: DON-GSH (adukt glutationa), DON-S-CyS-Gly i DON-S-Cys (konjugat glutationa), MTD (metiltiodeoksinivalenol, koji nastaje Michaelovom adicijom tiola DON-a metanetiola i 9,10-dihidro-10-(metiltio)deoksinivalenola, odnosno, metiliranom tiolskom derivatu DON-SH), sulfati DON-a (DON-3-sulfat, DON-15-sulfat), depoksi-deoksinivalenol (DOM-1), DON-3-O- β -D-glukozid, glukoronidi DON-a (DON-3-GlcA, DON-15-GlcA) (Šarkanj i sur., 2013; Fruhmann i sur., 2014; Guerre, 2015; Warth i sur., 2016).

Drugi trihoteceni koji također nisu makrociklički, poput T-2 i diacetoksiscirpenola, također pokazuju imunosupresivne učinke. Uz to, djeluju i citotoksično, što rezultira smanjenom otpornošću na infektivne mikrobe. U ljudi ova dva trihotecena uzrokuju toksičnu alimentarnu

aleukiju, čiji su rani simptomi upala kože, povraćanje i oštećenje krvotvornih tkiva. U akutnoj fazi dolazi do nekroze usne šupljine i obilnog krvarenja iz nosa, usta i vagine, a zamijećeni su i neurološki poremećaji. Budući da T-2 toksin ima epoksidni prsten i bočne lance na kojima se nalazi nekoliko acetilnih i hidroksilnih supstituenata, karakterizira ga visoka biotoksičnost koja se očituje inhibicijom sinteze DNK i RNK te susljednom indukcijom apoptoze (Torp i Langseth, 1999). T-2 toksin se brzo metabolizira u HT-2 mikotoksin, koji je i njegov glavni metabolit (Wu i sur., 2014).

Zearalenon

Zearalenon je nesteroidni estrogeni sekundarni metabolit *Fusarium graminearum* ili *Gibberella zaea*. Ovaj mikotoksin primarno nastaje na usjevima žitarica, poput kukuruza, zobi, pšenice i riže. Biološki je srodan prirodnom hormonu 17 β -estradiolu te se učinkovito vezuje za estrogene receptore i naziva nesteroidnim estrogenom, mikoestrogenom ili fitoestrogenom (Shier, 1998).

U domaćih životinja njegovo toksično djelovanje može dovesti do neplodnosti, niske porođajne težine mladunčadi i hiperestrogenizma (Hagler i sur., 2001). Uz navedeno, istraživanja pokazuju da zearalenon u ljudi narušava hormonsku ravnotežu, što u muškaraca izaziva smanjenje plodnosti uzrokovano akumulacijom ksenoestrogena te ginekomastiju (Pitt i sur., 2012; Kowalska i Habrowska-Górczyńska, 2016), a može se pripisati činjenici da ovaj spoj djeluje kao kompetitivni supstrat za hidroksisteroidnu dehidrogenazu (HSD), enzim uključen u sintezu i metabolizam steroida. HSD djeluje na način da 6-keto-skupinu zearalenona reducira u hidroksilnu skupinu, pri čemu nastaju α -zearalenol i β -zearalenol. Od ova dva metabolita zearalenona, potencijalno je aktivan α -oblik koji pokazuje pojačanu estrogenu aktivnost (Fink-Gremmels i Malekinejad, 2007; Minervini i Dell' Aquila, 2008). Nakon konjugacije s glukuronskom kiselinom i sulfonacijskih reakcija oba enolna metabolita stvaraju adukte (Guerre, 2015).

Ostali važni derivati zearalenona su zearalanol i zearalanon, koji se povezuju s imunotoksičnošću. Zearalanol (α -zearalanol – zearanol) se koristio kao promotor rasta tovne stoke budući da ima anabolički učinak u organizmu (Kennedy i sur., 1998). U ljudi može doći do promjena u različitim imunološkim odgovorima, što ishodi poremećajem funkcije limfoidnih organa, atrofijom timusa i promjenama fenotipa limfocita koje stvara slezena, kao i smanjenim stvaranjem peroksidaze (Hueza i sur., 2014).

Fumonizini

Fumonizini su hidrofilni mikotoksini koje uglavnom proizvode plijesni *Fusarium verticillioides* i *Fusarium moniliforme*, a poglavito rastu na kukuruzu. Utvrđeno je da nastaju kondenzacijom alanina u acetatni derivat, čime imaju strukturu sličnu sfinganinu (Stockmann-Juvala i Savolainen, 2008). Ovi su spojevi temeljem strukture klasificirani u sljedeće skupine: fumonizin B₁ (FB₁), fumonizin B₂ (FB₂), fumonizin B₃ (FB₃), fumonizin B₄ (FB₄), fumonizin A₁ (FA₁) i fumonizin A₂ (FA₂). FB₁ je najznačajniji od svih fumonizina, ima nefrotoksično i hepatotoksično djelovanje; FB₂ predstavlja deoksi-analog FB₁ i ima citotoksično djelovanje, dok FB₃, FB₄, FA₁ i FA₂ predstavljaju manje toksične spojeve.

Zbog strukturne sličnosti sa sfinganinom, primarna biološka aktivnost fumonizina odnosi se na poremećaj početnih faza sinteze sfingolipida, koji nastaje kao rezultat inhibicije ceramid sintetaze (sfingozin N-acetiltransferaze). Također, dolazi i do poremećaja drugih signalnih puteva ovisnih o ranim produktima sfingolipida, kakvi su ceramidi, sfingoidne baze i fosforilirani sfingozin-1-fosfat (Stockmann-Juvala i Savolainen, 2008; Wen i sur., 2016). Apoptoza uzrokovana poremećajem stanične ravnoteže i mitoze dovodi do karcinogeneze. Utjecaj ovih mikotoksina na putove sinteze sfingolipida uzrokuje leukoencefalomalaciju (u konja), plućni edem (nakupljanje tekućine u plućima), hidrotoraks (nakupljanje tekućine u pleuralnoj šupljini) i



apoptozu stanica jetre (Bucci i sur., 1996; Pozzi i sur., 2001). Budući da su pojedina istraživanja dovela u vezu rak jednjaka u ljudi s visokim razinama fumonizina unesenim u organizam prehranom utemeljenom na kukuruzu, smatralo se da je u zemljama u razvoju, čiji stanovnici uglavnom konzumiraju kukuruz kao temeljnu sastavnicu prehrane, rizik obolijevanja od raka veći negoli u stanovnika drugih dijelova svijeta. Međutim, daljnja istraživanja su to opovrgnula dokazujući da između serumske razine sfingolipida i rizika obolijevanja od raka nema statistički značajne korelacije (Sydenham i sur., 1991).

Konzumaciju hrane kontaminirane fumonizinima tijekom trudnoće smatra se čimbenikom od ključnoga značaja za pojavu defekata neuralne cijevi (anencefalije i *spinae bifidae*) koje je moguće pripisati manjku sfingolipida. Ovaj manjak, kao posljedica oštećenja folatnih receptora, dovodi do snižavanja razina folata (vitamina B9), kao glavne hranjive tvari koja se koristi za stvaranje novih stanica i sintezu DNK-e i RNK-e (Pitt i sur., 2012; Imbard i sur., 2013).

Patulin

Patulin je poliketidni lakton koji proizvode različite plijesni iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium* i *Byssoschlamys*. U prošlosti se patulin prepisivao kao antibiotik u obliku spreja za nos i grlo, kojim se liječilo prehladu, te u obliku masti kojom se liječilo gljivične infekcije kože. No kasnije, 60.-ih godina prošloga stoljeća, nakon opsežnog istraživanja njegove toksičnosti, patulin je klasificiran kao mikotoksin (Bennett i Klich, 2003). Patulin se primarno pojavljuje u povrću i voću, npr. u jabukama i jabučnim proizvodima, kruškama, trešnjama, šljivama i grožđu. Međutim, tijekom procesa fermentacije koji se koristi pri proizvodnji jabukovače, ovaj toksin se razgrađuje. Sa strukturnoga stajališta, patulin dobro reagira sa sumpornim dioksidom stvarajući derivat, što ga čini podložnim detoksikaciji antioksidansima i antimikrobnim tvarima (Puel i sur., 2010; Wen i sur., 2016). Uz navedeno, zbog njegova visokog afiniteta prema sulfhidrilnim skupinama, ovaj toksin može inhibirati enzime, što ishodi akutnim toksičnim učincima poput želučano-crijevnih simptoma, neurotoksičnih učinaka, plućne staze, ulceracija i edema. Drugi toksični učinci uključuju teratogenost, genotoksičnost i karcinogenost (Wen i sur., 2016). Patulin ima i mutageno djelovanje te je svrstan u klastogene, a djeluje i imunotoksično u smislu smanjenja stvaranja citokina te povećanog stvaranja neutrofila i T-limfocita u slezeni (Puel i sur., 2010).

Ergot alkaloidi

Ergot alkaloidi su produkti različitih plijesni od kojih je u Europi najrasprostranjenija vrsta *Claviceps purpurea* (glavnica ili glavica raži), a neki nastaju i kao sekundarni metaboliti plijesni iz rodova *Penicillium* i *Aspergillus*. Glavnica raži, kako i sami naziv kaže, najviše napada raž, ali i ostale žitarice kao što su pšenica, pšenoraž (tritikal), ječam, proso i zob. U oboljeloj biljci, glavica raži zamjenjuje zdrava zrna s crnom, srpastom tvorevinom (tzv. sklerocijem), koja u sebi sadrži ergot alkaloidne. Sklerocij od *Claviceps* vrsta se naziva *ergotte* te otuda i ime za ovu vrstu alkaloida. Poznato je preko 50 ergot alkaloida, a posebno su značajni ergot alkaloidi *Claviceps purpureae*: ergometrin, ergotamin, ergozin, ergokristin, ergokriptin, ergokornin te njihovi odgovarajući –inini epimeri (EFSA, 2012). Ovisno o kemijskoj strukturi, do sada ekstrahirani alkaloidi dijele se u tri glavna tipa derivata: lizerginske kiseline, izolizerginske kiseline i dimetilergolina (Bennett i Klich, 2003). U svih životinja koje pasu, poput ovaca, goveda, peradi i svinja, rizik od negativnih toksičnih učinaka ergot alkaloida je visok. Uobičajeni klinički simptomi ergotizma su gangrena, konvulzije, kontrakcije mišića, preosjetljivost, pobačaj i ataksija (gubitak kontrole nad pokretima tijela) (Bennett i Bentley, 1999; Bennett i Klich, 2003). Simptomi konvulzivnog oblika ergotizma uključuju epileptičke napadaje, proljev, parestezije (trnce koji se javljaju kao posljedica oštećenja perifernih živaca), svrbež, mučninu i učinke na mentalno zdravlje, poput psihoze, glavobolja ili pospanosti. Utjecaj na središnji živčani sustav očituje se nakon simptoma želučano-crijevnog trakta. Suha gangrena obično se javlja kao posljedica

vazokonstrukcije (stezanja krvnih žila koje dovodi do povišenja krvnoga tlaka) izazvane djelovanjem alkaloida ergotamina-kristina. Glavna ciljna tkiva su ona lošije prokrvljena, poput okrajina (prstiju ruku i nogu). Simptomi uključuju deskvamaciju (ljuštenje kože), gubitak perifernog osjeta, edeme (nakupljanje prekomjernih količina tekućine u intersticiju i tjelesnim šupljinama) te u konačnici odumiranje ciljnih tkiva (Tudzynski i sur., 2001; Eadie, 2003).

U medicini se ergot alkaloidi primjenjuju u niskim koncentracijama u svrhu smanjenja krvarenja tijekom mjesečnice ili pobačaja, kao poticaj izbacivanju posteljice nakon porođaja do kojega dolazi zbog kontrakcija mišića zida maternice, u liječenju akutne migrene, Parkinsonove bolesti i cerebrovaskularne insuficijencije i inhibicije prolaktina (Cabellero-Granado i sur., 1997; Bennett i Bentley, 1999).

Zaključci

Mikotoksini kao učestali kontaminanti hrane i hrane za životinje imaju brojne štetne utjecaje na zdravlje životinja i ljudi. Analitika ovih tvari omogućuje procjenu izloženosti potrošača te procjenu rizika kao posljedicu konzumacije različitih vrsta kontaminiranih namirnica. Od velikog su značaja studije sinergističkih učinaka različitih mikotoksina u organizmu, uz istovremeni razvoj analitičkih tehnika sposobnih za detekciju vrlo niskih razina ovih tvari u hrani i hrani za životinje. Također, potrebna su daljnja istraživanja toksičnih učinaka zakonodavstveno nereguliranih mikotoksina, naročito kada se uzme u obzir utemeljena pretpostavka da će u budućnosti klimatske promjene još značajnije utjecati na njihovu pojavnost te globalnu distribuciju.

Zahvala

Ovaj rad je financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom „Mikotoksini u hrvatskim tradicionalnim mesnim proizvodima: molekularna identifikacija plijesni producenata i procjena izloženosti potrošača“ (IP-2018-01-9017).

Literatura

- Abramson D., Usleber E., Marlbauer E. (2001) Immunochemical method for citrinin. *Methods in Molecular Biology*, 157 195-204.
- Bae H.K., Pestka J.J. (2008) Deoxynivalenol induces p38 interaction with the ribosome in monocytes and macrophages. *Toxicological Sciences*, 105 (1) 59-66.
- Bennett J.W., Bentley R. (1999) Pride and prejudice: The story of ergot. *Perspectives in Biology and Medicine*, 42 (3) 333-355.
- Bennett J.W., Klich M. (2003) Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16 (3) 497-516.
- Bucci T.J., Hansen D.K., LaBorde J.B. (1996) Leucoencephalomalacia and hemorrhage in the brain of rabbits gavaged with mycotoxin fumonisin B1. *Natural Toxins*, 4 (1) 51-52.
- Bui-Klimke T.R., Wu F. (2015) Ochratoxin A and human health risk: A review of the evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55 (13) 1860-1869.
- Cabellero-Granado F.J., Viciano P., Cordero E., Gomez-Vera M.J., del Nozal M., Opez-Cortes L.F. (1997) Ergotism related to concurrent administration of ergotamine tartrate and ritonavir in an AIDS patient. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41 (5) 1297.
- Chu F.S. (1998) Mycotoxins—Occurrence and toxic effect. U: Strain J.J., Caballero B., Sadler M.J. (ed): *Encyclopedia of human nutrition*, str. 858-869. Academic Press, New York, USA.
- Chu F.S. (2006) Mycotoxins and alimentary mycotoxicoses. *Foodborne Infections and Intoxications*, 3e, 583-629.
- CAST, Council for Agricultural Science and Technology (2003) Mycotoxins: Risk in Plant, Animal and Human Systems. In: Council for Agricultural Science and Technology, Task Force Report No. 139. Ames, Iowa, USA.
- Creppy E.E. (1999) Human ochratoxicosis. *Journal of Toxicology: Toxin Reviews*, 18 (3-4) 277-293.
- Deshpande S.S. (2002) Fungal toxins. U: Deshpande S.S. (ed): *Handbook of Food Toxicology*, str. 387-456. Marcel Dekker, New York.
- Doi K., Uetsuka K. (2011) Mechanisms of mycotoxin-induced neurotoxicity through oxidative stress-associated pathways. *International Journal of Molecular Science*, 12 (8) 5213-5237.
- Eadie M.J. (2003) Convulsive ergotism: Epidemics of the serotonin syndrome? *The Lancet Neurology*, 2 (7) 429-434.
- EFSA, European Food Safety Agency (2012) Scientific Opinion on Ergot alkaloids in food and feed. EFSA, Parma.
- Feinberg B., McLaughlin C.S. (1989) Biochemical mechanism of action of trichothecene mycotoxins. U: Beasley V.R. (ed): *Trichothecene mycotoxicoses: Pathophysiological effects*, str. 27-35. CRC Press, Boca Raton, USA.
- Fink-Gremmels J., Malekinejad H. (2007) Clinical effects and biochemical mechanisms associated with exposure to the mycoestrogen zearalenone. *Animal Feed Science and Technology*, 137 326-341.
- Fruhmann P., Weigl-Pollack T., Mikula H., Wiesenberger G., Adam G., Varga E., Berthiller F., Krska R., Hametner C., Fröhlich J. (2014) Methylthio-deoxynivalenol (MTD): Insight into the chemistry, structure and toxicity of thia-michael adducts of trichothecenes. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 12 5144-5150.
- Guerre P. (2015) Fusariotoxins in avian species: Toxicokinetics, metabolism and persistence in tissues. *Toxins* (Basel), 7 (6) 2289-2305.
- Hagler W.M. Jr., Towers N.R., Mirocha C.J., Eppley R.M., Bryden W.L. (2001) Zearalenone: Mycotoxin or mycoestrogen? U: Summerell B.A., Leslie J.F., Backhouse D., Bryden W.L., Burgess L.W. (ed): *Fusarium*. Paul E. Nelson Memorial Symposium, str. 321-331. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.
- Harwig J. (1975) A link between Reye's syndrome and aflatoxins? *Canadian Medical Association Journal*, 113 (4) 281.
- Huezza I.M., Raspantini P.C.F., Raspantini L.E.R., Latorre A.O., Gómiak S.L. (2014) Zearalenone, an estrogenic mycotoxin, is an immunotoxic compound. *Toxins* (Basel), 6(3) 1080-1095.
- Imbard A., Benoist J-F., Blom H.J. (2013) Neural tube defects, folic acid and methylation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10 (9) 4352-4389.
- Kennedy D.G., Hewitt S.A., McEvoy J.D., Currie J.W., Cannavan A., Blanchflower W.J., Elliot C.T. (1998) Zeranone is formed from *Fusarium* spp. toxins in cattle *in vivo*. *Food Additives and Contaminants*, 15 (4) 393-400.
- Kew M.C. (2008) Prevention. U: Lau W.Y. (ed): *Hepatocellular carcinoma*, str. 85-185. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., New Jersey.
- Kiessling K.H. (1986) Biochemical mechanism of action of mycotoxins. *Pure and applied Chemistry*, 58 (2) 327-338.
- Klapeč T., Šarkanj B., Banjari I., Strelec I. (2012) Urinary ochratoxin A and ochratoxin alpha in pregnant women. *Food and Chemical Toxicology*, 50 4487-4492.
- Knasmüller S., Cavin C., Chakraborty A., Darroudi F., Majer B.J., Huber W.W., Ehrlich V.A. (2004) Structurally related mycotoxins ochratoxin A, ochratoxin B, and citrinin differ in their genotoxic activities and in their mode of action in human-derived liver (HepG2) cells: Implications for risk assessment. *Nutrition and Cancer*, 50 (2) 190-197.
- Kovač M., Šubarić D., Bulaić M., Kovač T., Šarkanj B. (2018) Yesterday masked, today modified; what do mycotoxins bring next? *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 69 196-214.
- Kowalska K., Habrowska-Górczyńska D.E. (2016) Zearalenone as an endocrine disruptor in humans. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 48 141-149.
- Lee S.D., Yu I.S., Jung K., Kim Y.S. (2014) Incidence and level of aflatoxins contamination in medicinal plants in Korea. *Microbiology*, 42 (4) 339-345.
- Lizárraga-Paulín E.G., Moreno-Martínez E., Miranda-Castro S.P. (2011) Aflatoxins and their impact on human and animal health: An emerging problem, aflatoxins - biochemistry and molecular biology. U: Ramón Gerardo Guevara-González (ed): *Aflatoxins – Biochemistry and Molecular Biology*. IntechOpen, DOI: 10.5772/26196. Dostupno na: <https://www.intechopen.com/books/aflatoxins-biochemistry-and-molecular-biology/aflatoxins-and-their-impact-on-human-and-animal-health-an-emerging-problem>.
- Mally A., Keim-Heusler H., Amberg A., Kurz M., Zepnik H., Mantle P., Völkel W., Hard G.C., Dekant W. (2005) Biotransformation and nephrotoxicity of ochratoxin B in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 206 (1) 43-53.
- Marquardt R.R., Frohlich A.A. (1992) A review of recent advances in understanding ochratoxicosis. *Journal of Animal Science*, 70 (12) 3968-88.
- Minervini F., Dell' Aquila M.E. (2008) Zearalenone and reproductive function in farm animals. *International Journal of Molecular Science*, 9 (12) 2570-2584.
- Peraica M., Radić B., Lučić A., Pavlović M. (1999) Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bulletin of the World Health Organization*, 77 754-766.
- Pérez-Rodríguez R., Roncero C., Oliván A.M., González M.P., Oset-Gasque M.J. (2009) Signaling mechanisms of interferon gamma induced apoptosis in chromaffin cells: involvement of nNOS, iNOS, and NFκB. *Journal of Neurochemistry*, 108 1083-1096.
- Pestka J.J. (2008) Mechanisms of deoxynivalenol-induced gene expression and apoptosis. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 25 (9) 1128-40.



- Pfohl-Leszkowicz A., Manderville R.A. (2007) Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51 (1) 61–99.
- Pitt J.I., Wild C.P., Baan R.A., Gelderblom W.C.A., Miller J.D., Riley R.T., Wu F. (2012) Mycotoxins and human health. U: Pitt J.I., Wild C.P., Baan R.A., Gelderblom W.C.A., Miller J.D., Riley R.T., Wu F. (ed): *Improving public health through mycotoxin control*, str. 87-104. IARC Scientific Publication 158, Lyon, France.
- Pleadin J., Frece J., Markov K. (2017) Utjecaj postupaka prerade na transformaciju i smanjenje koncentracije mikotoksina u određenim skupinama hrane. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, 12 (1-2) 4-13.
- Pleadin J., Frece J., Markov K. (2019) Mycotoxins in food and feed. U: Toldrá F. (ed): *Advances in Food and Nutrition Research*, str. 297-345. Elsevier, Cambridge, UK.
- Pleadin J., Frece J., Vasilj V., Markov K. (2015) Fuzarijski mikotoksini u hrani i hrani za životinje. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, 10 (1-2) 6-13.
- Pleadin J., Vasilj V., Petrović D. (2018) *Mikotoksini: pojavnost, prevencija i redukcija*. Sveučilište u Mostaru, Mostar, Bosna i Hercegovina.
- Pozzi C.R., Corrêa B., Xavier J.G., Direito G.M., Orsi R.B., Matarazzo S.V. (2001) Effects of prolonged oral administration of fumonisin B1 and aflatoxin B1 in rats. *Mycopathologia*, 151 (1) 21-27.
- Puel O., Galtier P., Oswald I.P. (2010) Biosynthesis and toxicological effects of Patulin. *Toxins* (Basel), 2 (4) 613-631.
- Rocha O., Ansari K., Doohan F.M. (2005) Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: A review. *Food Additives and Contaminants*, 22 (4) 369-378.
- Ryan N.J., Hogan G.R., Hayes W., Unger P.D., Siraj M.Y. (1979) Aflatoxin B1: Its role in etiology of Reye's syndrome. *Pediatrics*, 64 (1) 71-75.
- Shier W.T. (1998) Estrogenic mycotoxins. *Revue de Medicine Veterinaire*, 149 599–604.
- Speijers G.J.A., Van Egmond H.P. (1993) Worldwide ochratoxin A levels in food and feeds. U: Creppy E.E., Castegnaro M., Dirheimer G. (ed): *Human ochratoxycosis and its pathologies*, str. 85-100. Colloque INSERM/John Libbey Eurotext Ltd., London, UK.
- Stockmann-Juvala H., Savolainen K. (2008) A review of the toxic effects and mechanisms of action of fumonisin B1. *Human and Experimental Toxicology*, 27 (11) 799-809.
- Sugiyama K., Yamazaki R., Kinoshita M., Kamata Y., Tani F., Minai Y., Sugita-Konishi Y. (2013) Inhibitory effect of citrinin on lipopolisaccharide-induced nitric oxide production by mouse macrophage cells. *Mycotoxin Research*, 29 229-334.
- Sydenham E.W., Shephard G.S., Thiel P.G., Marasas W.F.O., Stockenstrom S. (1991) Fumonsin contamination of commercial corn-based human foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39 (11) 2014–2018.
- Šarkanj B., Warth B., Uhlig S., Abia W.A., Sulyok M., Klapac T., Krška R., Banjari I. (2013) Urinary analysis reveals high deoxynivalenol exposure in pregnant women from Croatia. *Food and Chemical Toxicology*, 62 231-237.
- Šarkanj B., Ezekiel C.N., Turner P.C., Abia W. A., Rychlik M., Krška R., Sulyok M., Warth B. (2018) Ultra-sensitive, stable isotope assisted quantification of multiple urinary mycotoxin exposure biomarkers. *Analytica Chimica Acta*, 1019 48-92.
- Španić V., Marček T., Abičić I., Šarkanj B. (2018) Effects of Fusarium head blight on wheat grain and malt infected by *Fusarium culmorum*. *Toxins*, 10 17.
- Španić V., Zdunić Z., Drezner G., Šarkanj B. (2019) The pressure of Fusarium disease and its relation with mycotoxins in the wheat grain and malt. *Toxins*, 11 198.
- Thelen K., Dressman J.B. (2009) Cytochrome P450-mediated metabolism in the human gut wall. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 61 (5) 541–558.
- Torp M., Langseth W. (1999) Production of T-2 toxin by a fusarium resembling *Fusarium poae*. *Mycopathologia*, 147 (2) 89-96.
- Tudzynski P., Correia T., Keller U. (2001) Biotechnology and genetics of ergot alkaloids. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57 (5–6) 4593–4605.
- Valenta H., Džanić S. (2005) Study on the transmission of deoxynivalenol and de-epoxy-deoxynivalenol into eggs of laying hens using a high-performance liquid chromatography-ultraviolet method with clean-up by immunoaffinity columns. *Molecular Nutrition and Food Research*, 49 (8) 779-785.
- Warth B., Del Favero G., Wiesenberger G., Puntschner H., Woelflingseder L., Fruhmann P., Šarkanj B., Krška R., Schuhmacher R., Adam G., Marko D. (2016) Identification of a novel human deoxynivalenol metabolite enhancing proliferation of intestinal and urinary bladder cells. *Scientific Reports*, 6 33854.
- Wen J., Mu P., Deng Y. (2016) Mycotoxins: Cytotoxicity and biotransformation in animal cells. *Toxicology Research*, 5 (2) 377-387.
- Wild C.P., Turner P.C. (2002) The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions. *Mutagenesis*, 17 (6) 471–481.
- Woloshuk C.P., Shim W.B. (2013) Aflatoxins, fumonisins, and trichothecenes: A convergence of knowledge. *FEMS Microbiology Reviews*, 37 (1) 94-109.
- Woolf L.I. (1986) The heterozygote advantage in phenylketonuria. *American Journal of Human Genetics*, 38 (5) 773–775.
- Wu Q., Dohnal V., Huang L., Kuća K., Wang X., Chen G., Yuan Z. (2011) Metabolic pathways of ochratoxin A. *Current Drug Metabolism*, 12 (1) 1-10.
- Wu Q.H., Wang X., Yang W., Nussler A.K., Xiong L.Y., Kuća K., Dohnal V., Zhang X.J., Yuan Z.H. (2014) Oxidative stress-mediated cytotoxicity and metabolism of T-2 toxin and deoxynivalenol in animals and humans: an update. *Archives of toxicology*, 88 (7) 1309-1326.