

Uloga mikotoksina u hijalohifomikozama

Kujundžić, Katarina

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:979554>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-12**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Katarina Kujundžić

Uloga mikotoksina u hijalohifomikozama

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2022.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Mikrobiologija s parazitologijom Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za mikrobiologiju pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Maje Šegvić Klarić.

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Maji Šegvić Klarić na iznimnoj suradljivosti, strpljenju, dostupnosti i stručnim savjetima tijekom izrade ovog diplomskog rada. Hvala mojim roditeljima i sestri na bezuvjetnoj ljubavi, podršci, razumijevanju, poticanju i nesebičnom pomaganju tijekom čitavog školovanja, bez vas ne bi bilo moguće zaključiti ovo bitno i veliko poglavlje mog života. Hvala mojim bakama i djedovima koji su uvijek vjerovali u mene i svoj mojoj velikoj obitelji. Želim se zahvaliti Marku na strpljenju i potpori, kao i mojim prijateljima i kolegama što su mi ovo razdoblje života uljepšali druženjem i pomaganjem u ključnim trenucima.

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
1.1.	CARSTVO GLJIVA	1
1.2.	PLIJESNI KAO UZROČNICI HIJALOHIFOMIKOZA.....	2
1.3.	MIKOTOKSINI	3
1.4.	EPIDEMIOLOGIJA HIJALOHIFOMIKOZA	5
1.5.	DIJAGNOSTIKA I TERAPIJA HIJALOHIFOMIKOZA.....	6
2.	OBRAZLOŽENJE TEME	7
3.	MATERIJALI I METODE	8
4.	REZULTATI I RASPRAVA	9
4.1.	<i>FUSARIUM</i> spp.....	9
4.1.1.	Epidemiologija	9
4.1.2.	Kliničke manifestacije fuzarioza.....	10
4.1.3.	Mikotoksini vrsta roda <i>Fusarium</i>	11
4.1.3.1.	Trihoteceni	14
4.1.3.2.	Fumonizini	17
4.1.3.3.	Zearalenon i njegovi metaboliti.....	18
4.1.3.4.	Fuzarinska kiselina.....	20
4.1.3.5.	Emergentni mikotoksini: eniacini, bovericin, moniliformin, fuzaproliferin 21	
4.1.4.	Metode detekcije fuzarijskih mikotoksina	22
4.2.	<i>SCEDOSPORIUM</i> spp.	24
4.2.1.	Epidemiologija	24
4.2.2.	Kliničke manifestacije.....	24
4.2.3.	Mikotoksini i drugi sekundarni metaboliti vrsta roda <i>Scedosporium</i>	25
4.3.	<i>ACREMONIUM</i> spp.....	27
4.3.1.	Epidemiologija	27
4.3.2.	Kliničke manifestacije.....	27
4.3.3.	Sekundarni metaboliti vrsta roda <i>Acremonium</i>	28
4.4.	<i>SCOPULARIOPSIS</i> spp.	29
4.4.1.	Epidemiologija i kliničke manifestacije.....	29
4.4.2.	Sekundarni metaboliti vrsta roda <i>Scopulariopsis</i>	29
4.5.	<i>PAECILOMYCES</i> spp. I <i>PURPUREOCILLIUM</i> spp.	30
4.5.1.	Epidemiologija	30
4.5.2.	Kliničke manifestacije.....	30
4.5.3.	Mikotoksini i drugi sekundarni metaboliti vrsta roda <i>Paecilomyces</i> i <i>Purpureocillium</i>	31
5.	ZAKLJUČCI	33
6.	LITERATURA.....	35
7.	SAŽETAK/SUMMARY	39
8.	TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD	

1. UVOD

1.1. CARSTVO GLJIVA

Carstvo gljiva (lat. *Fungi*) jedno je od najraznolikijih u domeni eukariota, a mnoge gljive žive u harmoniji s ljudima, međutim, gljivične infekcije postaju sve veća prijetnja zdravlju ljudi. Većina gljivičnih infekcija su površinske infekcije koje zahvaćaju područja kose, kože i noktiju, ali neke vrste su sposobne uzrokovati po život opasne infekcije, posebno kod imunokompromitiranih pacijenata (Kraft i sur., 2021; Strickland i Shi, 2021).

Kompleksne strukture gljiva opravdavaju njihovu raznolikost, ali sve su građene od temeljne "gljivične" jedinice, hife. Hife su duguljaste tubularne strukture koje izgledom podsjećaju na vrtno crijevo. Imaju krute stanične stijenke i mogu biti u potpunosti prohodne (aseptirane) ili mogu biti ojačane perforiranim poprečnim pregradama (septirane). Sadrže citoplazmu, uključujući jezgre koje sadrže genetski materijal. Hife obavljaju različite funkcije u gljivama, upijaju hranjive tvari iz okoliša i prenose ih u druge dijelove stieljke ili talusa (tijela gljive). Konačno, mogu se povezati ili modificirati kako bi tvorile složenije strukture poput micelija. Velika većina gljiva proizvodi hife, a samo mnogo manji broj, primjerice kvasci, žive bez njih (www.nbm-mnb.ca). Gljive igraju važnu ulogu u razgradnji organskog materijala te tako omogućuju drugim vrstama pristup esencijalnim nutrijentima, poput dušika i fosfora. Istina je da većina biljaka ne bi preživjela bez mikorize, simbiotske veze između micelija gljiva i korijena biljaka, koja pomaže opskrbu biljaka vodom i hranjivim tvarima (Borchers i sur., 2017).

Mogući zdravstveni učinci povezani s gljivama mogu se općenito podijeliti u tri kategorije: mikoze, alergijske reakcije i reakcije toksičnosti. Iako gljivične infekcije pogađaju i zdrave pojedince, češće se javljaju kod osoba s oslabljenim imunim sustavom. Gljivična infekcija nastaje zbog izlaganja sporama i fragmentima micelija putem inhalacije, unosa kontaminirane hrane ili preko kože. Jedne od gljiva koje uzrokuju mikoze su plijesni (Kraft i sur., 2021).

Plijesan je uobičajeno ime za skupinu gljiva koja raste u obliku višestaničnih filamenata ili hifa, koje zatim agregiraju u mrežaste strukture ili micelij. Neke plijesni su čovjeku korisne, koriste se u prehrambenoj industriji za proizvodnju sireva, a mnoge su izvor ljekovitih tvari (npr. antibiotici, imunosupresivi i statini). Izlaganje plijesnima i njihovim mikotoksinima u kontaminiranim biljnim izvorima hrane, mesnim i mliječnim proizvodima, zraku i prašini može dovesti do narušavanja zdravlja pojedinca. Potencijalno patogeni plijesan je sveprisutna i to čini izbjegavanje izlaganja imunokompromitiranih i imunokompetentnih pojedinaca plijesnima gotovo nemogućim zadatkom (Kraft i sur., 2021; Borchers i sur., 2017).

1.2. PLIJESNI KAO UZROČNICI HIJALOHIFOMIKOZA

Mikoze uzrokovane plijesnima možemo podijeliti na feohifomikoze i hijalohifomikoze. To su pojmovi suprotnog značenja, feohifomikoze se odnose na gljivične infekcije uzrokovane plijesnima s pigmentiranim septiranim hifama dok hijalohifomikoze opisuju gljivične infekcije plijesnima s hijalinskim (prozirnim ili svijetlobojenim) septiranim hifama (Hospenthal, 2015; Nucci i Anaissie, 2007). Za razliku od feohijalomikoza, koje imaju jasno definirana četiri klinička sindroma, hijalohifomikoze nemaju karakteristične kliničke sindrome. Pojam hijalohifomikoze najčešće se koristi pri opisivanju stanja u kojima su hijalinski elementi hifa vidljivi na brisu, odnosno, histopatološkom uzorku bez mogućnosti izolacije patogena iz istog uzorka. Kada je patogen moguće izolirati iz uzorka tada je primjerenije koristiti precizniji izraz, primjerice kod uspješne izolacije *Fusarium* vrste iz uzorka izraz koji se koristi je fuzarioza ili infekcija *Fusarium* spp (Nucci i Anaissie, 2007).

Gljive su sposobne izazvati bolest i izbjeći obrambeni sustav domaćina zbog posjedovanja nekoliko gena i proteina povezanih s njihovom patogenošću, nazvanim čimbenicima virulencije. Mnogi od čimbenika virulencije gljiva prirodno su se razvili tijekom evolucije organizma i prvotno djelovali kao obrana od nepovoljnih okolišnih uvjeta, a potom, na taj način, mnogi od njih su postali važni kao čimbenici virulencije koji olakšavaju proces infekcije domaćina (Hof, 2020).

1.3. MIKOTOKSINI

Po definiciji, mikotoksini su sekundarni metaboliti plijesni, male molekulske mase, a neki već u malim koncentracijama mogu izazvati bolest i smrt u ljudi i drugih kralježnjaka. Kao sekundarni metaboliti, mikotoksini nisu važni za rast i reprodukciju plijesni te je njihova točna uloga nedovoljno istražena (Bennett i Klich, 2003; Borchers i sur., 2017). Međutim, pokazano je da se mikotoksini nekih *Fusarium* vrsta (bikaverin i bovericin) tvore kao odgovor na prisustvo bakterija (*Ralstonia* spp.) što upućuje na zaključak da mikotoksini plijesnima omogućavaju suzbijanje konkurentnih mikroba. Također, mikotoksini imaju ulogu quorum sensing molekula u međugljivičnoj komunikaciji i tvorbi biofilma (Venkatesh i Keller., 2019).

Zbog njihove velike kemijske raznolikosti i biosintetskog podrijetla, mikotoksine je teško podijeliti u skupine. Međutim, kliničari ih često dijele prema ciljnom organu njihovog toksičnog djelovanja. Prema tome, mikotoksini mogu biti klasificirani kao hepatotoksični, nefrotoksični, neurotoksični, imunotoksični i mnogi drugi. Osim te podjele, mogu se dijeliti u generičke skupine prema učinku: teratogeni, mutageni, karcinogeni ili alergeni. No, nijedna od tih podjela nije potpuno zadovoljavajuća, jer mikotoksin ne mora pripadati samo jednoj od nabrojanih skupina. Aflatoksin, mikotoksin plijesni roda *Aspergillus*, je primjerice hepatotoksičan, mutagen i karcinogen (Bennett i Klich, 2003).

Izlaganje mikotoksinima je vjerojatnije u dijelovima svijeta s lošom kontrolom hrane i njenog skladištenja, zatim tamo gdje postoji problem malnutricije i gdje su propisi za zaštitu zdravlja ljudi loši ili nepostojeći (Bennett i Klich, 2003). Regulacije dopuštenih maksimalnih koncentracija mikotoksina primarno se temelje na poznatim toksičnim učincima koje mikotoksini ispoljavaju. U zemljama Europske unije u hrani su zakonski regulirane dopuštene maksimalne koncentracije mikotoksina uključujući aflatoksine, okratoksin A, trihotecene, fumonizine, zearalenon i patulin (Van Egmond i sur., 2007). U biljnim drogama su prema Europskoj farmakopeji regulirani aflatoksini i okratoksina A, a u proizvodima s crvenom rižom reguliran je citrinin (Ph. Eur. 2.8.18; Ph. Eur. 2.8.22; Regulative EC 212/2014). Izlaganje mikotoksinima događa se većinom unosom hrane, ali mikotoksine je moguće unijeti preko kožnog pokrova (direktnom inokulacijom) ili inhalacijom (Liew i Mohd-Redzwan, 2018). Mikotoksini su sistemski bioraspoloživi i utječu na različite organske sustave bez obzira na put ulaska u domaćina (Kraft i sur., 2021).

Danas mikotoksikoze predstavljaju globalni problem, posebice u nerazvijenim zemljama, ali sve se više pojavljuju u razvijenim zemljama i visoko kontroliranim pogonima proizvodnje

hrane i vode. Razlog velike zabrinutosti je izravno djelovanje plijesni i mikotoksina na zdrave te posebice na imunokompromitirane pojedince (Kraft i sur., 2021).

Mikotoksini mogu biti čimbenici virulencije (npr. gliotoksin i fuzarinska kiselina), te mogu domaćina učiniti osjetljivijim na bakterijske infekcije (npr. fuzarijski mikotoksin u probavnom sustavu čine životinje osjetljivijim na enteričke infekcije) (Hof, 2020).

1.4. EPIDEMIOLOGIJA HIJALOHIFOMIKOZA

Broj organizama koji uzrokuju hijalohifomikoze svakodnevno raste, a uključuje vrste rodova *Fusarium*, *Aspergillus*, *Pseudallescheria*, *Scedosporium*, *Paecilomyces*, *Purpureocillium*, *Acremonium*, *Gliomastix*, *Sarocladium*, *Penicillium*, *Scopulariopsis*, *Beauveria* i *Trichoderma* (Hospenthal, 2015). Međutim, klinički najznačajnije vrste koje uzrokuju hijalohifomikoze pripadaju rodovima *Fusarium*, *Scedosporium*, *Acremonium*, *Scopulariopsis*, *Purpureocillium* i *Paecilomyces* (Tortorano i sur., 2014).

Uzročnici hijalohifomikoza uobičajeno se nalaze u tlu, zagađenim vodama i vodoinstalacijskim sustavima bolnica i raspadajućem organskom materijalu diljem svijeta te su važni fitopatogeni. U slučaju hijalohifomikoza, dva su vjerojatna puta ulaska u ljudsko tijelo: respiratorni i pokrovni. Ozbiljne lokalne infekcije su iznimno rijetke u inače zdravih pojedinaca i rezultat su izravne inokulacije patogena u tkivo, kožu, kosti ili zglobove. I lokalne i diseminirane infekcije su češće u imunokompromitiranih pacijenata, uključujući onkološke bolesnike, osobe s imunodeficijencijom i one koji se podvrgavaju transplantaciji organa ili koštane srži (www.antimicrobe.org).

1.5. DIJAGNOSTIKA I TERAPIJA HIJALOHIFOMIKOZA

Dijagnoza obično zahtijeva izolaciju i identifikaciju patogena, međutim, serološke pretrage, mikro- i makromorfologija i kliničke manifestacije infekcije nisu specifične pa su metode panfungalne (mogu detektirati više različitih rodova) lančane reakcije polimerazom (engl. *Polymerase chain reaction* – PCR) i PCR specifičan za vrstu korisna dijagnostička sredstva (Tortorano i sur., 2014). Identifikacija točne vrste je poželjna, jer plijesni koje uzrokuju hijalohifomikoze različito odgovaraju na antifungalne lijekove (Hospenthal, 2015).

Jedna od serološka metoda koje se koriste je imunoenzimski test (engl. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* – ELISA) na galaktomanan (GM). GM je glikoprotein stanične stijenke roda *Aspergillus* i dokazano ima veliku važnost u detekciji aspergiloze, ali test na galaktomanane također pokazuje pozitivan rezultat kod roda *Fusarium*. Ova laboratorijska metoda nije prikladna za razlučivanje ovih dviju plijesni u uzorku (Hof, 2015). Za razliku od imunoenzimskog testa, masena spektrometrija MALDI-TOF (engl. *matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry* - MALDI-TOF MS) je prikladna i točna metoda identifikacije i diferencijacije različitih vrsta roda *Fusarium* na temelju omjera mase i naboja. Analizom spektra dobivenog MALDI-TOF MS-om uspoređuju se profili biomarkera uzorka s dostupnim profilima u bazi podataka. Istraživanjem na kompleksu *Fusarium fujikuroi* MALDI-TOF MS se pokazala prikladnom i točnom s preko 90 % točnih identifikacija vrsta ovog kompleksa. Odstupanja su zabilježena kod nekih vrsta zbog nedostatka podataka u bazi (Wigmann i sur., 2019).

Rana terapija i lokalizacija bolesti je bitna kako bi se prevenirala daljnja progresija i diseminacija infekcije. Mnoge plijesni pokazuju *in vitro* i *in vivo* rezistenciju na različite antifungalne lijekove. Kao rezultat, uspješna terapija može zahtijevati dodatne kirurške metode uklanjanja zahvaćenog tkiva te, kada je moguće, obnovu imunosnog sustava domaćina (Tortorano i sur., 2014). Ishod infekcije obično je povoljan kod imunokompetentnih domaćina, ali ostaje loš u uvjetima trajne imunosupresije (Hospenthal, 2015).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Hijalohifomikoze su gljivične infekcije uzrokovane plijesnima s hijalinskim (prozirnim) hifama. Infekcije su to bez karakterističnih kliničkih sindroma te mogu uzrokovati površinske, lokalno invazivne ili sistemske teško izlječive infekcije. Hijalohifomikoze mogu se pojaviti kod zdravih pojedinaca, ali velik problem predstavljaju u imunokompromitiranoj populaciji, koja uključuje onkološke bolesnike, bolesnike s imunodeficijencijama ili pacijente s transplantiranim organima ili transplantiranom koštanom srži. Infekcija u takvih pacijenata najčešće je nozokomijalna, a ishod infekcije je usko vezan uz perzistenciju imunosupresije.

Mikotoksini su sekundarni metaboliti nekih vrsta gljiva koji kod ljudi mogu uzrokovati bolest i smrt, a pokazuju toksičnost i prema kralježnjacima, biljkama i mikroorganizmima. Ovisno o problemu koji uzrokuju mikotoksini mogu biti podijeljeni na nekoliko skupina: antibiotici (toksični za bakterije), fitotoksini (toksični za biljke) ili toksini koji su toksični za ljude i životinje. Akutna intoksikacija je rijetka i obično se veže uz jako visoke koncentracije mikotoksina dok je kronično izlaganje mikotoksinima češće te jednako kao akutno izlaganje može uzrokovati razvoj bolesti. Uloga mikotoksina u virulenciji plijesni je slabo istražena, a uz to je i predmet rasprave u kliničkoj mikologiji. Stoga je cilj ovog diplomskog rada pretraživanjem znanstvene literature dobiti uvid u moguću ulogu mikotoksina u mikoza koje uzrokuju oportunističke hijalohifomicete, posebice vrste roda *Fusarium*.

3. MATERIJALI I METODE

Tijekom izrade ovog diplomskog rada pretraživana je i proučavana znanstvena literatura koja uključuje online baze podataka PubMed i Science Direct. Pretraga literature vršila se prema temi i predmetu istraživanja, gdje su ključne riječi bile: hyalohyphomycosis, mycotoxin, *Fusarium*, *Scedosporium*, *Acremonium*, *Scopulariopsis*, *Purpureocillium*, *Paecilomyces*, hyalohyphomycete, mold, hyalohyphomycosis caused by *Fusarium* spp., epidemiology of hyalohyphomycosis, mold mycotoxins, mycotoxin effect on human health... Pri pretraživanju literature nastojalo se pronaći odgovore na pitanja vezana uz problematiku ovoga diplomskog rada.

Relevantni radovi proučavani su kritično i analitično s ciljem preciznog definiranja znanstvenog problema, istraživanja postojećih tvrdnji o definiranom problemu, oblikovanja hipoteze, prikaza i analize dobivenih rezultata te izvođenja zaključaka. Iz proučavanih članaka izvedeni su relevantni podaci te na temelju njih i vlastita razmatranja vezano za mikotoksine plijesni koje uzrokuju hijalohifomikoze.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Mikoze uzrokovane oportunističkim patogenima su infekcije razvijenog svijeta, a obično se pojavljuju u bolničkim sredinama. Imunokompromitirane osobe osobito podliježu teškim hijalohifomikozama te njihov ishod nije zadovoljavajući. Hijalohifomicete roda *Fusarium* drugi su najčešći patogeni koji uzrokuju hijalohifomikoze, nakon vrsta roda *Aspergillus*, a izrazit utjecaj na ljudsko zdravlje neke vrste roda *Fusarium* mogu pripisati proizvodnji mikotoksina.

4.1. *FUSARIUM* spp.

4.1.1. Epidemiologija

Vrste roda *Fusarium* rasprostranjene su širom svijeta, u tlu i vodi, kao ljudski patogeni mogu uzrokovati površinske, lokalno invazivne ili diseminirajuće infekcije ovisno o imunom sustavu domaćina. Postoji najmanje 200 različitih vrsta roda *Fusarium*, a otprilike 80 % infekcija kod ljudi uzrokovano je vrstama kompleksa *Fusarium solani* (40 do 60 %) i *Fusarium oxysporum* (otprilike 20 %). Ostale patogene vrste uključuju vrste kompleksa *Fusarium fujikuroi* (posebice *Fusarium verticillioides* i *Fusarium proliferatum*), *Fusarium chlamydosporum*, *Fusarium dimerum*, *Fusarium incarnatum-equiseti*, *F. sporotrichioides* (van Diepeningen i sur., 2014; Batista i sur., 2020).

Kontaminirani vodoinstalacijski sustavi u bolnicama dovode do raspršivanja aerosola i inhalacije konidija plijesni koje uzrokuju nozokomijalne infekcije, a u vodoinstalacijskim sustavima mogu opstati do 5.5 godina, oni im služe kao potencijalni rezervoari. Osim u bolničkim vodoinstalacijskim sustavima, prisutnost vrsta roda *Fusarium* izolirane su u odvodima za tuš u sklopu javnih bazena i u nefiltriranim otpadnim vodama sveučilišnih kampusa (Jacobs i sur., 2020).

Kod imunokompromitiranih pacijenata mogu se razviti lokalno invazivna i diseminirajuća fuzarioza. Čimbenici povećanog rizika uključuju dugotrajnu neutropeniju (smanjen broj neutrofila), kao posljedicu kemoterapije ili imunodeficijencije T limfocita koja se obično pojavljuje nakon transplantacije hematopoetskih matičnih stanica. Lokalizirane infekcije se mogu pojaviti kod transplantacije organa, obično kao kasna infekcija (Hospenthal, 2015). Fuzarioza nastaje kada imunosti sustav domaćina oslabi, zbog godina starosti, opekline,

transplantacije organa, neoplazmi, metaboličkih poremećaja, radijacije, stranih tijela, imunosupresivne terapije ili terapije citotoksičnim lijekovima ili zbog umetanja medicinskih proizvoda (primjerice katetera) (Hoenigl i sur., 2021).

4.1.2. Kliničke manifestacije fuzarioza

Infekcija *Fusarium* vrstom u imunokompetentnih osoba može biti površinska ili lokalno invazivna (koža, oči, sinusi, pluća, zglobovi i kosti) te je obično izlječiva. S druge strane, kod imunokompromitiranih osoba infekcija može biti lokalno invazivna ili diseminirajuća, u kojem slučaju je liječenje teže, duže i nerijetko s negativnim ishodom. Izolacija vrsta roda *Fusarium* iz lezija na koži ili noktima može označavati povišen rizik za invazivne bolesti kod osoba slabijeg imunskog sustava (Hospenthal, 2015). U imunokompromitiranih pacijenata glavni ulaz *Fusarium* vrsta je kroz respiratorni trakt, a rjeđe direktna inokulacija. Najčešći simptom koji se javlja je povišena tjelesna temperatura, zatim kutane lezije, pneumonija i sinusitis. Fungemija (prisutnost gljivične infekcije u krvi) prisutna je kod otprilike 40 do 60 % pacijenata, jer su gljivične hife angioinvazivne te se u krvi nalaze u visokim koncentracijama (Jacobs i sur., 2020). Površinske lezije uzrokovane *Fusarium* vrstom manifestiraju se kao eritematozne i nodularne papule sa središnjom nekrozom tkiva (Hernandes i sur., 2012).

Slučajevi fuzarioza su zabilježeni kod imunokompetentnih i imunokompromitiranih pacijenata. Kod imunokompetentnih najčešće se radi o gljivičnim infekcijama noktiju (onihomikoza), interdigitalnim hijalohifomikozama i keratitisu uzrokovanih vrstama roda *Fusarium* (Noguchi i sur., 2019; Noguchi i sur., 2017). Fuzarijski keratitis je najčešće uzrokovan vrstama *Fusarium solani* kompleksa (Nucci i Anaissie, 2007). Onihomikoze uzrokovane vrstama *Fusarium* gotovo uvijek zahvaćaju nokat nožnog palca, osobito deformiranog ili inficiranog dermatofitima, ali mogu zahvatiti nokte ruku i biti kombinacija navedenih. Istraživanjem na području Europe pokazano je da je najučestaliji uzročnik onihomikoza ovog područja *Fusarium oxysporum* kompleks kojeg slijede ostale *Fusarium* spp. Predispozicije za nastanak onihomikoza uključuju genetske i okolišne faktore te zdravstveno stanje. Dijabetičari, osobe s bolestima krvožilnog sustava i imunokompromitirane osobe imaju povećan rizik od razvijanja onihomikoza (Uemura i sur., 2022).

Površinske infekcije često zahtijevaju duže liječenje, prvenstveno topikalnim antimikoticima, a u težim slučajevima oralnim antimikoticima, ali kod imunokompetentnih osoba ishod je

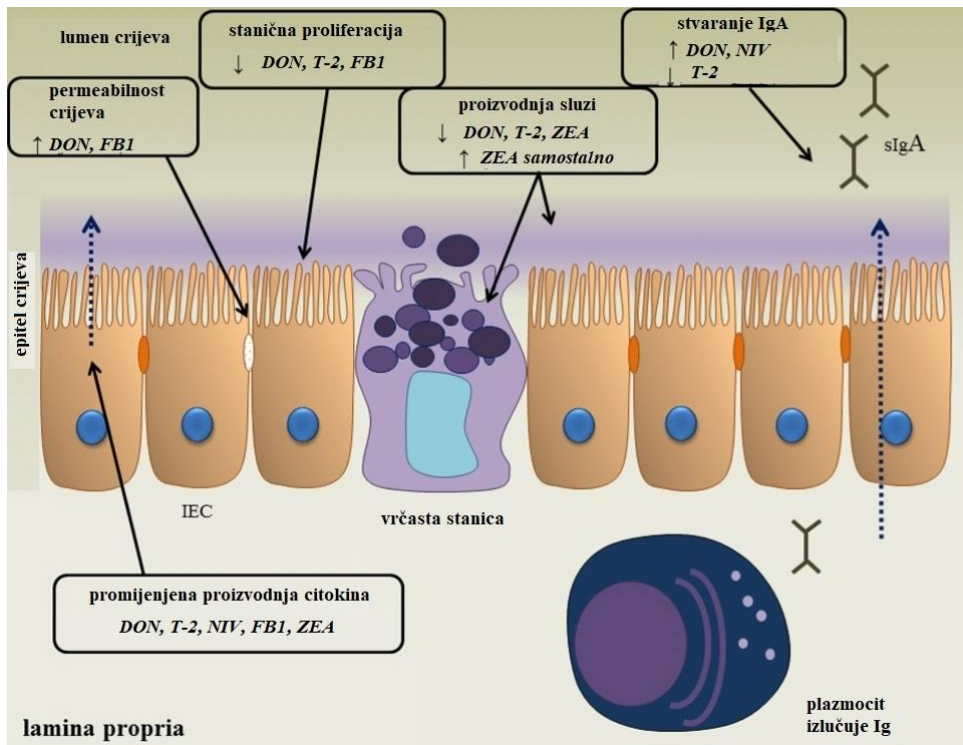
zadovoljavajući. Međutim, kod imunokompromitiranih pacijenata lokalna infekcija se može proširiti na druge organske sustave i izazvati sepsu. Potrebno je obratiti pozornost na paronihiju (infekcija periungualnih tkiva) i lokalizirani celulitis (akutna upala dermisa i supkutanog tkiva), jer oni mogu biti rani pokazatelji invazivne infekcije (Noguchi i sur., 2019; Noguchi i sur., 2017).

4.1.3. Mikotoksini vrsta roda *Fusarium*

Dobro je poznato da *Fusarium* spp. stvaraju brojne različite mikotoksine koji oštećuju biljke, ali mogu imati ulogu čimbenika virulencija kod ljudi, međutim, ta uloga nije u potpunosti jasna. Pokazalo se da fuzarijski mikotoksini mogu oštetiti epitelne barijere i izazvati nekrozu tkiva, stoga se može pretpostaviti da ove citotoksične i imunotoksične tvari mogu pojačati i olakšati širenje gljivične infekcije i oštećenja tkiva domaćina (Hof, 2020).

Epitel i mukozne barijere prva su obrana domaćina od oportunističkih patogenih plijesni, bez obzira na put ulaska patogena u tijelo, a mikotoksini koji se nađu u tijelu čovjeka imaju sistemsku bioraspoloživost (Kraft i sur., 2021). Postoje najmanje dva izvora infekcije *Fusarium* spp. kod ljudi, a to su okoliš i endogeni izvor – mikrobiota crijeva. Endogenim izvorima dosad se nije pridonosila velika pažnja, no oni mogu objasniti zašto se kod nekih pacijenata kojima je potrebna bolnička izolacija tijekom imunosupresivne terapije razvije gljivična infekcija (Hof, 2020). Mikotoksini mogu utjecati na gastrointestinalnu mikrobiotu izravno antimikrobnim djelovanjem ili kroz sekundarne mehanizme koji uključuju otpuštanje antimikrobnih tvari iz oštećenih stanica domaćina. Interakcija crijevne mikrobiote i mikotoksina ima značajnu ulogu u razvijanju mikotoksikoze, jer je intestinalni okoliš nepovoljan za razvoj mnogih mikroorganizama pa tako i plijesni. Mikotoksini imaju značajnu ulogu u obrambenim mehanizmima plijesni protiv bakterija, primjerice, fuzarinska kiselina djeluje kao disruptor quorum sensinga *Pseudomonas chlororaphis*, a zearalenon i fumonizin pokazuju inhibitorno djelovanje na quorum sensing *Chromobacterium violaceum*. U interakciji unutar istog carstva neki mikotoksini pokazuju antagonističko djelovanje na pripadnike carstva gljiva, primjer je deoksinivalenol kojeg stvaraju *Fusarium culmorum* i *Fusarium graminearum* te tako inhibiraju djelovanje mikoparazita *Trichoderma* spp. Mikotoksini mogu biti okidači ili pojačivači upalnih procesa te postoji nekoliko mogućih molekularnih načina na koji djeluju (Slika 1), poput prekomjerne aktivacije imunskih odgovora posredovanih inflamatorima ili indukcijom

reaktivnih kisikovih vrsta (engl. *reactive oxygen species* – ROS) (Kraft i sur., 2021; Venkatesh i Keller, 2019). Navedene činjenice govore u prilog uloge mikotoksina u virulenciji *Fusarium* vrsta.



Slika 1. Djelovanje mikotoksina *Fusarium* spp. na intestinalni epitel (prilagođeno iz Antonissen i sur., 2014)

Poznata kemijska i fizikalna svojstva metabolita vrsta roda *Fusarium* uključuju njihovu topljivost, polarnost i termalnu otpornost. Posebice je zanimljivo svojstvo termalne otpornosti mikotoksina. Proces filtracije garantira odsutnost mikroorganizama u uzorku, ali istraživanjem na koži štakora se pokazalo da filtrirani ekstrakt ima sposobnost izazivanja upalnog odgovora i programirane stanične smrti stanica kože štakora (u roku 24 sata od inokulacije). Promatrana reakcija ne može se pripisati djelovanju oportunističkog patogena, jer je ekstrakt prethodno steriliziran filtracijom ili autoklaviranjem, što predlaže postojanje topljivih toksičnih metabolita u uzorku. Rezultati ovog istraživanja mogu se ekstrapolirati na ljude (Hernandes i sur., 2012) i također ukazuju na ulogu mikotoksina u virulenciji plijesni.

Najčešće skupine fuzarijskih mikotoksina su trihoteceni, zearalenoni (*ZEA*) i fumonizini. U tablici 1. prikazane su karakteristike pojedine patogene vrste roda *Fusarium*, uključujući

spособnosti proizvodnje određenih mikotoksina. Općenito, jedna vrsta plijesni može proizvoditi više mikotoksina, što je prikazano u tablici 1 (Hof, 2020).

Tablica 1. Karakteristike nekih *Fusarium* vrsta, uključujući njihovu sposobnost proizvodnje odabranih mikotoksina (Hof, 2020)

Vrsta plijesni	Značajnost	Trihoteceni	Zearalenoni	Fumonizini
<i>F. oxysporum</i>	Oportunistički patogen	da	ne	da
<i>F. solani</i>	Oportunistički patogen	da	ne	da
<i>F. graminearum</i>	Oportunistički patogen	da	da	ne
<i>F. verticillioides</i>	Oportunistički patogen	da	da	da

Svaki od ovih mikotoksina ima nekoliko derivata s manje ili više toksičnim potencijalom. U tablici 2. prikazane su neka karakteristična djelovanja najznačajnijih fuzarijskih mikotoksina.

Tablica 2. Učinci fuzarijskih mikotoksina na zdravlje ljudi (Ekwomadu i sur., 2021; Venkatesh i Keller, 2019)

Mikotoksin	Mehanizam djelovanja	Zahvaćeni sustav/organ
Fumonizin	Kancerogenost, hepatotoksičnost, nefrotoksičnost i imunosupresija	Gastrointestinalni trakt (GIT), jetra i bubrezi
Deoksinivalenol (DON)	Mučnina, povraćanje, dijareja, reproduktivna toksičnost i toksikoza	Reproduktivni organi i GIT
T-2 toksin	Hepatotoksičnost, genotoksičnost i imunosupresija	GIT i imunski sustav
Nivalenol (NIV)	Anoreksična imunitotoksičnost, hematotoksičnost i genotoksičnost	GIT i mišićni sustav
Zearalenol (ZEA)	Kancerogenost, hormonalna neravnoteža i reproduktivna toksičnost	Reproduktivni organi
Moniliformin (MON)	Kardiotoksičnost i poremećaji mišićnog sustava	Srce, bubrezi i mišićni sustav
Eniacini (ENN)	Imunitotoksičnost i citotoksičnost	Imunski sustav
Fuzarinska kiselina	Neurotoksičnost	Mozak i endokrini sustav

4.1.3.1. Trihoteceni

Trihoteceni su velika skupina molekula niske molekulske mase kojima je zajednički tetraciklički seskviterpenoid: 12,13-epoksitrihotec-9-enski (EPT) prsten (slika 2). Proizvodi ih više vrsta gljiva među kojima i vrste roda *Fusarium*. Trihoteceni su toksični za životinje i ljude i vrlo su otporni na visoke temperature i radijaciju. Monogastrične životinje (kojima pripadaju ljudi) osjetljivije su na toksično djelovanje trihotecena od preživača (primjerice, goveda). Svoju toksičnost trihoteceni ispoljavaju vezanjem na ribosome što vodi do inhibicije sinteze proteina, osim toga, imaju imunomodulatorno djelovanje na staničnu imunost ovisno o dozi i duljini izlaganja. Identificirano je otprilike 190 članova trihotecenske obitelji, a među najvažnijima su

T-2 i HT-2 koji pripadaju A tipu trihotecena te DON i NIV koji pripadaju B tipu trihotecena (De Lucca i Walsh, 2015).

Kao male amfipatske molekule, trihoteceni pasivno prolaze stanične membrane te se lako apsorbiraju preko oštećenog kožnog pokrova i gastrointestinalnog sustava, što omogućuje brzo djelovanje na brzo proliferirajuća tkiva. Izlaganje ovim toksinima može dovesti do problema s hranjenjem, problema imunosnog sustava, povraćanja, dermatitisa i hemoragijskih lezija (McCormick i sur., 2011).

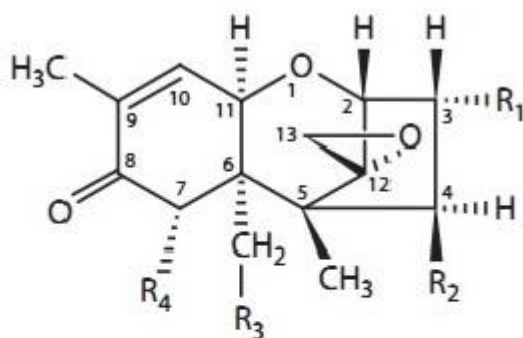
Toksini tipa A, od kojih su najistaknutiji **T-2 i HT-2**, imaju citotoksična, imunotoksična i neurotoksična svojstva. Vrste *Fusarium solani* kompleksa i *Fusarium langsethiae* stvaraju vodotopljivi mikotoksin T-2 (poznat pod nazivom fuzariotoksin i inzariotoksin), koji se smatra najtoksičnijim trihotecenom te je oko 10 puta toksičniji od DON-a, toksina tipa B. Toksokinetičke studije ukazuju na to da se uneseni T-2 toksin ne akumulira u određenom organu već može napasti sva tkiva. T-2 uzrokuje oksidativna oštećenja koja rezultiraju u smanjenju potencijala membrane mitohondrija te dovode do njegove disfunkcije i igraju važnu ulogu u apoptozi. Studijama na svinjama utvrđeno je da inhibiraju sintezu proteina vežući se na ribosome u stanici i sprječavaju aktivnost jetrenih enzima (posebice citokroma P4503A). *In vitro*, T-2 se ponaša kao potencijalni endokrini disruptor (McCormick i sur., 2011).

Toksični učinci nakon inhalacije aerosola kontaminiranog T-2 toksinom proučavani su na životinjskim modelima te je zaključeno da pri sistemske apsorpciji letalna doza kod 50 % ispitanih životinja iznosi 5 mg/kg tjelesne mase. Smatra se da je ulazak respiratornim putem potentniji od oralnog ili čak parenteralnog izlaganja trihotecenima (Sudakin, 2003). Lezije u glavnim organima su nakon inhalacije i nakon sistemske administracije bile podjednake. Međutim, inhalacija T-2 toksina nije uzrokovala velike promjene u tkivu respiratornog trakta (De Lucca i Walsh, 2015).

T-2 toksin ima imunotoksična svojstva, što znači da može povećati rizik od infekcije, pokazuju *in vivo* i *in vitro* istraživanja. Subkliničke koncentracije T-2 kod svinja smanjuju odgovor humoralne imunosti, a nebulizirana doza od 9 mg/kg može biti letalna za svinje s razvijenom teškom pneumonijom već osam sati nakon izlaganja, dok svinje s umjerenim pulmonalnim oštećenjem pokazuju prolazno oštećenje imunosnog sustava pluća. *In vitro*, T-2 pokazuje visoko-imunosupresivno djelovanje u mononuklearnim stanicama iz ljudske periferne krvi te uzrokuje apoptozu ljudskih B i T-limfocita (De Lucca i Walsh, 2015).

T-2 također posjeduje neurotoksična svojstva i može oštetiti krvno-moždanu barijeru. *In vitro* istraživanja na normalnim astrocitima pokazuju da su te stanice visoko osjetljive na citotoksično djelovanje T-2 toksina, a osim toga T-2 toksin uzrokuje oksidativna oštećenja mozga na mišjem modelu (De Lucca i Walsh, 2015).

Iako se smatra da je unos hranom glavni put izlaganja T-2 toksinu, toksin jednako tako može ući u tijelo preko kožnog pokrova. Dermalno izlaganje T-2 toksinu u miševa inducira promjenu permeabilnosti krvno-moždane barijere koja je posredovana oksidativnim stresom i aktivacijom matriks metaloproteinaze i proinflamatornih citokina. Topikalno izlaganje T-2 toksinu rezultira u oštećenju i upali kožnog pokrova te apoptozi epidermalnih stanica (De Lucca i Walsh, 2015).



Trihoteceni tipa A

T-2 toksin: R₂ = acetil

HT-2 toksin: R₂ = H

Slika 2. Prikazana je struktura trihotecena tipa A (prilagođeno iz De Lucca i Walsh, 2015)

HT-2 toksin, jednako kao T-2 toksin, stvara vrsta *Fusarium langsethiae*. HT-2 je također metabolit koji nastaje deacetilacijom T-2 toksina. *In vitro*, HT-2 pokazuje slabije citotoksično djelovanje na epitelne stanice proksimalnog bubrežnog tubula čovjeka od T-2 toksina. Nižu toksičnost HT-2 toksin je pokazao na modelima jetre, epitela, makrofaga i limfocita čovjeka. HT-2 osim niže citotoksičnosti *in vitro* pokazuje nižu neurotoksičnost u odnosu na toksin T-2 (De Lucca i Walsh, 2015).

DON, koji zajedno s NIV-om pripada skupini trihotecena tipa B, najčešće stvara vrsta *Fusarium graminearum*, a poznat je i pod nazivom vomitoksin koji dobro opisuje najčešći simptom nakon izlaganja ovom toksinu - povraćanje. Ostali simptomi uključuju poremećaje probave, oksidativna oštećenja i reproduktivnu toksičnost kod životinja i ljudi, međutim, ovaj toksin nije ljudski kancerogen. Na staničnoj razini, DON se veže na aktivna mjesta ribosomalnih transferaza peptida i aktivira stanične kinaze te dovodi do inhibicije sinteze proteina i

nukleinskih kiselina. DON je okidač proinflamatornih citokina, ekspresije kemokina i apoptoze. Djelovanje DON-a na imunski sustav je mnogostruko, a uvelike je ovisno o koncentraciji i trajanju izlaganja pa tako DON može djelovati immunosupresivno i imunostimulativno. Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organization* – WHO) svrstava deoksinivalenol u skupinu teratogena, neurotoksina i immunosupresivnih tvari (Ji i sur., 2019). DON i T-2 toksin u non-citotoksičnim koncentracijama potiču invazivnu sposobnost bakterije *Salmonella Typhimurium* u svinjskim intestinalnim stanicama što pokazuje „posredničku“ ulogu virulentnog čimbenika jer povećava osjetljivost organizma na bakterijske infekcije (Antonissen i sur., 2014).

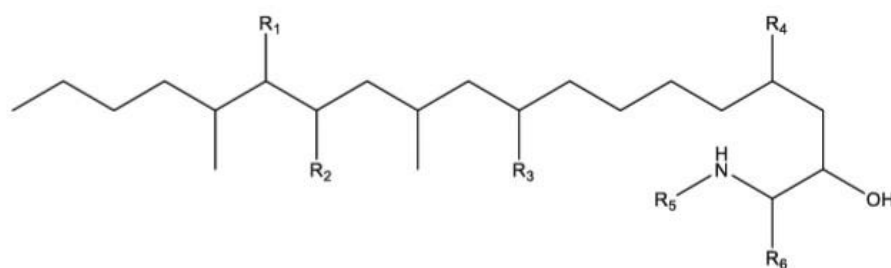
NIV i DON su slične kemijske strukture te dijele mnoga toksikološka svojstva. Oba toksina inhibiraju sintezu proteina. Između mnogih fuzarijskih mikotoksina, NIV pokazuje jedno od najjačih *in vitro* immunosupresivnih djelovanja na mononuklearne stanice iz ljudske periferne krvi te može inhibirati proliferaciju ljudskih, muških i ženskih, mitogen-stimulirajućih limfocita. U odnosu na DON, NIV pokazuje veću toksičnost na ljudske stanice leukemijske linije HL60 i stanice limfoblastične leukemijske linije MLT-4 (Ji i sur., 2019).

4.1.3.2. Fumonizini

Fumonizini su jedni od najjačih citotoksičnih i karcinogenih mikotoksina. Podijeljeni su u četiri skupine: A, B, C i P. Fumonizin B je najvažniji i u prirodi najrašireniji mikotoksin, a njegovi analozi su fumonizin B1 (FB1), B2 i B3, od kojih FB1 dominira s najvećom koncentracijom u uzorcima plijesni. Izolirani su iz *Fusarium* vrste, posebice *Fusarium verticillioides*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium oxysporum* kompleksa i *Fusarium solani* kompleksa. Za razliku od drugih dobro poznatih mikotoksina koji su topljivi u organskim otapalima, fumonizini su topljivi u vodi što otežava njihovo proučavanje (Ekwomadu i sur., 2021).

FB1 je najtoksičniji od svih fumonizina i dokazano može uzrokovati bolesti u ljudi, a *in vivo* na životinjskim modelima je dokazano njegovo nefrotoksično i hepatotoksično djelovanje. FB1 je jedan od čimbenika uključenih u defekte neuralne cijevi i rak jednjaka. U subsaharskoj Africi, fumonizini su uključeni u predispoziciju ljudi za HIV, što naglašava jačinu djelovanja mikotoksina kod imunokompromitiranih osoba (De Lucca i Walsh, 2015).

Mehanizam kojim fumonizini ispoljavaju svoje toksično djelovanje je složen. Strukturno, fumonizini (slika 3) su slični sfingolipidima (strukturna komponenta stanične membrane eukariota). *In vitro* je dokazano da fumonizini mogu inhibirati sintezu ceramid-sintaze, glavnog enzima u biosintezi sfingolipida. Sfingolipidi sudjeluju u staničnoj regulaciji, održavaju staničnu morfologiju, potiču staničnu diferencijaciju, reguliraju razinu faktora rasta i utječu na karcinogenost stanica i apoptozu pa se njihova disfunkcija može povezati s opaženom toksičnošću. Osim navedenih svojstava, sfingolipidi održavaju strukturu stanične membrane, pojačavaju međustanične interakcije i sudjeluju u različitim signalnim putovima kao sekundarni glasnici (Ji i sur., 2019).



Slika 3. Struktura fumonizina (Ji i sur., 2019)

Iako fumonizini imaju jednostavnu kemijsku strukturu, njihovo blokiranje metabolizma sfingolipida ima teške učinke na organske sustave. Fumonizini uzrokuju oštećenje imunskog sustava, jetre i bubrega, smanjenje tjelesne mase i povećavaju mortalitet (Ekwoadu i sur., 2021). Slično kao DON i T-2 toksin, tako i DON i FB1 povećavaju invazivnost *E. coli* i translokaciju bakterije u intestinalnom sustavu svinje. FB1 povećava osjetljivost životinja na djelovanje verotoksin-producirajuće *E. coli* i produljuju vrijeme izlječenja od infekcije s enterotoksičnom *E. coli* (Antonissen i sur., 2014).

4.1.3.3. Zearalenon i njegovi metaboliti

Glavni proizvođači ovih mikotoksina su *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium crookwellense*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium equiseti* i *Fusarium oxysporum* (Venkatesh i Keller, 2019). Zearalenon (ZEA), i njegovi metaboliti, su nesteroidni laktoni, slabo topljivi u vodi i poznati po svojim estrogenim svojstvima i djelovanju poput endokrinog disruptora. Njegovo estrogeno djelovanje dokazano je *in vivo* i *in vitro*. Podaci o toksičnosti ZEA su vrlo oskudni, međutim, zna se da ZEA može uzrokovati hiperestrogeni sindrom u ljudi.

ZEA i njegovi metaboliti vežu se za estrogene receptore (ER) s visokim afinitetom vezanja i tako ispoljavaju estrogenu djelovanje (Rai i sur., 2020). Hematopoetske i stanice imunskog sustava, poput T i B stanica, dendritičkih stanica, mikroglia, monocita i makrofaga koji se nalaze u različitim dijelovima tijela imaju estrogenske receptore što ih čini dobrim metama ovog mikotoksina i njegovih metabolita (De Lucca i Walsh, 2015).

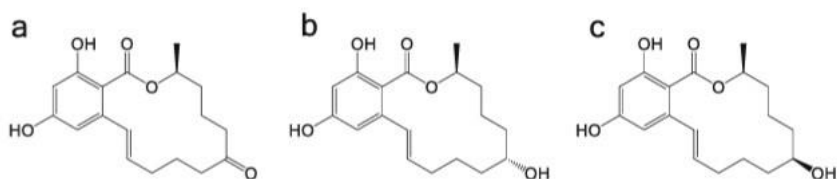
ZEA uzrokuje sistemsku toksičnost te, kao drugi važni mikotoksini, djeluje negativno na zdravlje ljudi. Zbog svog estrogenog potencijala može uzrokovati poremećaje reproduktivnog sustava i djeluje potencijalno kancerogeno. ZEA je također imunotoksičan mikotoksin koji uzrokuje promjene imunskog sustava, nefrotoksičan jer uzrokuje progresivnu nefropatiju te hepatotoksičan jer inducira lezije u jetri s posljedičnom kancerogenezom (Rai i sur., 2020).

Tablica 3. Sistemska toksičnost inducirana djelovanjem ZEA-a (Rai i sur., 2020)

Kancerogenost	Hepatotoksičnost	Genotoksičnost	Reproduktivna toksičnost	Imunotoksičnost
Rak jetre na modelu miša	Modulacija jetrenih enzima	Inducirana proizvodnja ROS	Hiper estrogenizam	Proliferacija splenocita
Kronična progresivna nefropatija	Lipidna peroksidacija	Poliploidija, skraćivanje kromosoma	Hormonalna neravnoteža	Oštećenje imunskog sustava
Ciste dojki	Antioksidativna modulacija	DNA sinteza, fragmentacija	Vulvovaginitis sterilitet	Modulacija proupalnih citokina
Retinopatija i katarakta	DNA lezije	Proliferacija stanica	Prijevreteni porod Rana telarha Preuranjeni pubertet	Modulacija razine imunoglobulina

ZEA obično uzrokuje nisku akutnu toksičnost, ali izlaganje visokim koncentracijama ili kronično izlaganje ovom mikotoksinu, posebice u kombinaciji s oslabljenim imunskim sustavom dovodi do različitih simptoma teške intoksikacije. Niske doze ZEA mikotoksina mogu uzrokovati proliferaciju stanica kancerogene aktivnosti, dok visoke doze ZEA potiču oksidativni stres, oštećenja DNA, mitohondrijsku degeneraciju, zaustavljanje staničnog ciklusa i staničnu smrt nastalu apoptozom ili nekrozom (Rai i sur., 2020).

Najveću kliničku važnost imaju dva metabolita prve faze metabolizma zearalenona – zearalenoli (ZOL), i to α -ZOL i β -ZOL, od kojih α -ZOL (slika 4) pokazuje najpotentnije estrogeno djelovanje, čak potentnije od roditeljskog toksina ZEA (De Lucca i Walsh, 2015).



Slika 4. Struktura ZEA (a) i njegovih derivata α -zearalenola (b) i β -zearalenola (c)

4.1.3.4. Fuzarinska kiselina

Fuzarinska kiselina je mikotoksin mnogih fuzarija (*F. proliferatum*, *F. verticillioides*, *F. fujikuroi*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. equiseti* i drugih), a karakteriziraju ju neurotoksično, antibakterijsko i fitotoksično djelovanje (Venkatesh i Keller, 2019).

Mnoge bakterije u svom metabolizmu koriste željezo. Fuzarinska kiselina može sekvestrirati željezo i tako onemogućiti bakterijama njegovo korištenje, međutim, dokazano je da bakterije mogu stvarati siderofore i druge kelatore željeza i tako kompetirati za slobodno željezo i na taj način izbjeći antibakterijsko djelovanje fuzarinske kiseline, što je pokazano na primjeru *Pseudomonas protegens*. Fuzarinska kiselina doprinosi obrani *Fusarium verticillioides* od antagonističkog djelovanja *Pseudomonas protegens* (Venkatesh i Keller, 2019).

Osim sekvestriranja željeza, fuzarinska kiselina može potisnuti ekspresiju gena antimikrobnih poliketida *Pseudomonas fluorescens*. U nižim koncentracijama djeluje kao disruptor quorum sensinga *Pseudomonas chlororaphis*, a u višim koncentracijama inhibira stvaranje antifungalnog bakterijskog metabolita fenazin-1-karboksamida (Venkatesh i Keller, 2019).

Fuzarinska kiselina pojačava virulenciju *Fusarium oxysporum* kod bilja i životinja što je izravni dokaz virulentnosti ovog mikotoksina (Venkatesh i Keller, 2019). Sami mehanizam virulencije je nepoznat.

Rezultati istraživanja na životinjskom modelu pokazuju neurokemijske učinke na mozak i epifizu (pinealnu žlijezdu) štakora. Fuzarinska kiselina uzrokovala je povećanje serotonina, 5-hidroksiindolactone kiseline, tirozina i dopamina i smanjenje norepinefrina. Pokazano je da

fuzarinska kiselina mijenja moždane i pinealne neurotransmitere i može doprinijeti toksičnom djelovanju *Fusarium* spp (Porter i sur., 1995).

4.1.3.5. Emergentni mikotoksini: eniacini, bovericin, moniliformin, fuzaproliferin

Eniacini, bovericin, moniliformin i fuzaproliferin (slika 5) nisu izravno vezani uz poznate ljudske mikotoksikoze. Naziv „emergentni“ dobili su zbog toga što do sada nisu zastupljeni u rutinskim analizama, niti su zakonski regulirani, međutim, ima sve više dokaza o njihovoj sve većoj učestalosti. Ovi toksini se razlikuju u strukturi, ciljnim organima i njihovom toksičnom djelovanju kao i mehanizmu djelovanja. Zajedničko im je citotoksično djelovanje na razne linije stanica sisavaca (De Lucca i Walsh, 2015).

Eniacin i bovericin proizvode brojne vrste roda *Fusarium*. Bovericin, od medicinski važnijih vrsta, proizvode *F. oxysporum*, *F. fujikuroi*, *F. proliferatum*, *F. semitectum*, *F. equiseti*, *F. verticillioides* i *F. sporotrichioides*, dok eniacine proizvode *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. sporotrichioides* i *F. langsethiae* (Venkatesh i Keller, 2019).

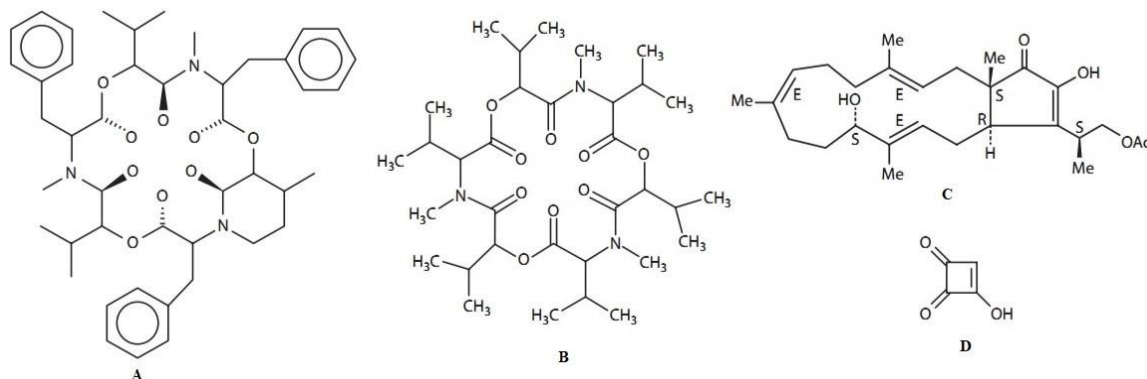
Eniacini (ENN) su lipofilne molekule što im omogućuje integraciju u lipide staničnih membrana, prema tome, mehanizam djelovanja im je usmjeren na inhibiciju transporta proteina kroz stanične membrane. Međutim, smatra se da se eniacini učinkovito razgrađuju u životinjskom intestinalnom sustavu (Ekwomadu i sur., 2021).

Bovericin (BEA) pokazuje citotoksično, apoptotično i imunosupresivno djelovanje. Djeluje na stanične membrane povećavajući permeabilnost i ometajući staničnu homeostazu. Bovericin pokazuje toksično djelovanje na limfocitima, skeletomiocitima i kardiomiocitima životinjskih modela (Ekwomadu i sur., 2021).

Moniliformin (MON) proizvode različite vrste roda *Fusarium*, ali većinom *Fusarium proliferatum*. Ostale medicinski relevantne vrste identificirane kao proizvođači moniliformina su *F. chlamydosporum*, *F. oxysporum*, *F. semitectum*, *F. verticillioides* i *F. equiseti* (Venkatesh i Keller, 2019). Od emergentnih mikotoksina, moniliformin pokazuje najveće toksično djelovanje. Djeluje na stanice srčanog mišića (kardiomiocite) i uzrokuje hipertrofiju, a osim na srčano tkivo djeluje na glatke mišićne stanice inhibirajući njihovu kontraktilnost, što je uočeno na modelu zamorca. Smatra se da moniliformin, iako nije dokazano vezan za ljudske bolesti, sudjeluje u stvaranju kroničnog i deformativnog osteoartritisa kod ljudi (De Lucca i Walsh,

2015). Moniliformin kao i FB1 odgađa izlječenje od patogenih tipova *E. coli* u probavnom sustavu peradi (Antonissen i sur., 2014).

Fuzaproliferin (FUS) proizvode mnoge vrste roda *Fusarium*, a najčešće su proizvod *Fusarium proliferatum*. Ovaj toksin pokazuje citotoksičnost kod sisavaca, a *in vitro* je pokazao citotoksičnost prema ljudskim benignim B limfocitima (De Lucca i Walsh, 2015).



Slika 5. Strukture mikotoksina: bovericin (A), eniacin (B), fuzaproliferin (C) i moniliformin (D) (Paterson i Lima, 2015)

Potrebno je više istraživanja o navedenim mikotoksinima i njihovoj toksičnosti kako bi se odredio njihov učinak na ljudsko zdravlje (De Lucca i Walsh, 2015).

4.1.4. Metode detekcije fuzarijskih mikotoksina

Mikotoksini mogu biti detektirani različitim metodama (instrumentalnim i bioanalitičkim), a metoda izbora ovisi o zahtjevima određene analitičke metode (Ji i sur., 2019).

Tankoslojna kromatografija (engl. *Thin layer chromatography* - TLC) je kvalitativna metoda detekcije mikotoksina s povijesno najduljom uporabom. Nju slijede metoda tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (engl. *High-performance liquid chromatography* – HPLC) i plinska kromatografija (engl. *Gas chromatography* – GC). Ove metode odlikuju visoka točnost i preciznost te se koriste za kvantitativnu i kvalitativnu analizu, jedina mana im je visoka cijena, jer zahtijevaju kvalificirano osoblje i dulju pripremu uzorka. Ove tehnike koriste se i za validaciju imunokemijskih testova (Ji i sur., 2019). U novije vrijeme analitičke HPLC metode sprežu se sa spektrometrijom mase (LC-MS/MS) što omogućava simultanu detekciju više mikotoksina u hrani, a time i njihovu supojavnost u raznim prehrambenim supstratima. Ova metodologija omogućava detekciju više od stotinu metabolita fuzarija i drugih plijesni

uključujući glavne mikotoksine kao i maskirane (npr. DON-3-glukozid i ZEA-14 sulfat), modificirane mikotoksine (npr. 15-acetil-DON) i emergentne mikotoksine (Kifer i sur., 2020).

Imunokemijske tehnike temeljene na reakciji antitijelo – antigen su vrlo učinkovite i jednostavne te se koriste za brzu detekciju mikotoksina (tzv. screening). Danas se najčešće koristi ELISA. Ove metode nisu precizne kao LC/MS ali su znatno jeftinije, selektivne su i omogućavaju screening više tipova reguliranih mikotoksina što je veoma važno za sigurnost hrane, posebice u nerazvijenim zemljama (Ji i sur., 2019).

4.2. SCEDOSPORIUM spp.

4.2.1. Epidemiologija

Vrste roda *Scedosporium* su sveprisutne, a većinom se izoliraju iz tla, zagađenih voda i stajskog gnojiva goveda i peradi. Klinički najznačajnije vrste koje uzrokuju infekcije kod ljudi su *Scedosporium apiospermum* i *Scedosporium boydii*. Kao kod roda *Fusarium*, ove vrste su saprofiti koji uglavnom uzrokuju oportunističke infekcije kod imunokompromitiranih pacijenata (Tortorano i sur., 2014).

Ozbiljne infekcije *Scedosporium* vrstama zadnjih nekoliko godina su u porastu kod pacijenata s malignim hematološkim bolestima, a potvrđene su kod pacijenata sa sindromom stečene imunodeficijencije (engl. *Acquired immunodeficiency syndrome* – AIDS), transplantacijom organa i kod onih koji boluju od cistične fibroze (Nucci i Anaissie, 2007).

Infekcija *Scedosporium* spp. može nastupiti zbog lokalne traume ili direktne inokulacije plijesni kod zdravih osoba, a kod imunokompromitiranih osoba glavni ulaz patogena ostaje respiratorni sustav udisanjem konidija prisutnih u zraku (Nucci i Anaissie, 2007).

Danas ova plijesan pažnju privlači kao glavna patogena gljiva kod pacijenata s cističnom fibrozom, a na ljestvici gljiva koje koloniziraju respiratorni trakt nalazi se na drugom mjestu, odmah nakon *Aspergillus fumigatus*. Čak se smatra da su vrste roda *Scedosporium* virulentnije u kliničkom kontekstu kod cistične fibroze (Le Govic i sur., 2019).

4.2.2. Kliničke manifestacije

Scedosporium spp. uzrokuju niz infekcija, od klasičnih supkutanih infekcija, poput micetoma koji se šire limfnim sustavom, do diseminiranih infekcija koje uključuju središnji živčani sustav. Ove plijesni su posebice poznate po njihovoj neurotropnoj prirodi i visokoj stopi terapijskih neuspjeha i recidiva (Tortorano i sur., 2014).

Kod imunokompetentnih osoba klinička slika uključuje keratitis, endoftalmitis, otitis, sinusitis, infekcije središnjeg živčanog sustava, infekcije osteoartikularnog sustava i infekcije mekog tkiva te pneumoniju nakon utapanja u zagađenim vodama. U slučaju teške imunosupresije, infekcije mogu zahvatiti bilo koji organ, sa sklonošću zahvaćanja kože, sinusa, pluća (posebice

nakon transplantacije pluća i kod cistične fibroze) i središnjeg živčanog sustava (nakon hematogene diseminacije). Odgođeno liječenje moždanih apscesa je povezano s visokim mortalitetom (> 75 %) (Tortorano i sur., 2014).

Ishod liječenja kod imunokompromitiranih pacijenata je loš ukoliko je imunosupresija dugotrajna, a samo liječenje ovisi o stanju pacijenta (Tortorano i sur., 2014).

4.2.3. Mikotoksini i drugi sekundarni metaboliti vrsta roda *Scedosporium*

Filamentozne gljive proizvode čitav niz sekundarnih metabolita koji su prepoznati kao čimbenici virulencije, a stvoreni su posredstvom neribosomske peptid-sintetaze (engl. *non-ribosomal peptide synthetase* – NRPS). NRPS su enzimi koji kataliziraju sintezu različitih prirodnih produkata gljivičnog podrijetla koji se nazivaju neribosomski peptidi (engl. *Non-ribosomal peptides* – NRP). Od medicinskog značaja su njihove biološke funkcije koje uključuju vezanje željeza, antimikrobno, antivirusno, citotoksično i imunosupresivno djelovanje (Le Govic i sur., 2019).

Znanstvenim istraživanjem iz 2019. godine analizirani su NRPS-kodirajući geni temeljeni na nedavno sekvenciranom genomu *Scedosporium apiospermum*. Otkriveno je ukupno devet NRPS gena, od kojih šest pokazuje sličnost s drugim gljivičnim NRPS-ovima i prema kojima se mogu generirati sljedeći peptidi: siderofori, epiditiodioksopiperazini (engl. *Epidithiodioxopiperazines* - ETPs) i ciklopeptidi (Le Govic i sur., 2019).

ETPs predstavljaju grupu visoko reaktivnih gljivičnih sekundarnih metabolita koje karakterizira prisutnost diketopiperazinskog prstena. Njihova toksičnost se pripisuje neobičnom intramolekulskom disulfidnom mostu koji može unakrsno vezati proteine pomoću cisteinskih veza i stvarati ROS u redoks reakcijama. *In silico* analizom pronađena su dva gena za koje se smatra da su uključeni u biosintezu ETPs kod *Scedosporium apiospermum* (Le Govic i sur., 2019). Kod *Scedosporium* spp. se pojavljuje gliotoksin, mikotoksin s imunosupresivnim djelovanjem, koji je poznat kao toksični metabolit *Aspergillus fumigatus* (Staerck i sur., 2017).

Osim neribosomskih peptida, značajne sekundarne metabolite čine poliketidi koji nastaju posredstvom poliketid sintetaze (engl. *Polyketide synthetase* – PKS). Značajni poliketidi *Scedosporium* vrsta su bojdon A i njegovi derivati bojdon B, C i D. Izlučeni poliketid bojdon A je odgovoran za antimikrobno djelovanje *Scedosporium boydii*, s naglaskom na anti-

stafilokokno djelovanje na primjeru *Staphylococcus aureus* vrste. Proizvodnja ovih sekundarnih metabolita *Scedosporium boydii* omogućuje bolje preživljavanje plijesni u okolišu i osigurava prednost nad ostalim mikroorganizmima, posebice bakterijama koje se brže razmnožavaju. Ostali antibiotici koje proizvodi *Scedosporium boydii* su pseudalin, tiroskerin i N-metiltiroskerin format (Staerck i sur., 2017).

U skupini ciklopeptida se nalazi pseudaciklin A, novi ciklički heksapeptid detektiran u gljivičnim sporama. Njihova točna uloga još uvijek nije poznata, no imunosupresivno djelovanje ne može se isključiti. Pseudaciklin A pokazuje citotoksično djelovanje prema aktivnim limfocitima, što ukazuje na potencijalno imunosupresivno djelovanje ovog metabolita. Pseudociklin A nije pokazao baktericidnu ni bakteriostatsku aktivnost (Pavlaskova i sur., 2010).

Inhibicija biosintetskih putova nastajanja prethodno navedenih produkata mogla bi dovesti do slabljenja virulencije, a pošto NRPS nisu proizvod ljudskih stanica, one su zanimljiva meta za budući razvoj lijekova, posebice kod vrsta opasnih po život imunokompromitiranih pacijenata (Le Govic i sur., 2019).

4.3. ACREMONIUM spp.

4.3.1. Epidemiologija

Vrste roda *Acremonium* su saprofitne plijesni koje su sveprisutne u okolišu. Kod imunokompetentnih osoba ove vrste obično uzrokuju površinske infekcije nokta i oka, onihomikoze ili mikotički keratitis. S poboljšanjem dijagnostike gljivičnih infekcija, *Acremonium* vrste se sve češće prijavljuju kao uzročnici invazivnih infekcija u imunokompromitiranih pacijenata. Najčešće vrste koje uzrokuju infekcije kod ljudi su *Acremonium kiliense* i *Acremonium strictum* (Jacobs i sur., 2020).

Ostale vrste roda *Acremonium* koje također mogu uzrokovati infekcije u ljudi su *Acremonium implicatum*, *Acremonium persicinum*, *Acremonium fusidioides*, *Acremonium sclerotigenum*, *Acremonium exuviarum* i druge (Perdomo i sur., 2011).

Invazija patogena u gastrointestinalnom sustavu podrazumijeva unos hranom ili vodom, ali unos udisanjem spora ne može se isključiti (Summerbell i Scott, 2015).

4.3.2. Kliničke manifestacije

Najčešća infekcija kod ljudi je micetom, sličan onom kojeg uzrokuje *Scedosporium apiospermum*. Slijede ga keratitis i endoftalmitis, često nastali zbog kolonizacije mekih leća za vid. Druge prijavljene infekcije su onihomikoza, peritonitis, pneumonija, osteomijelitis, meningitis (nakon spinalne anestezije kod zdravih osoba), cerebritis kod intravenskih ovisnika o drogama i endokarditis. Diseminirane infekcije javljaju se gotovo isključivo kod imunokompromitiranih osoba, a karakterizirane su endokarditisom, meningitisom i fungemijom. Može se pojaviti *in vivo* sporulacija, što objašnjava visoku stopu metastatskih kožnih lezija i pozitivan uzorak krvi na *Acremonium* (Hospenthal, 2015).

4.3.3. Sekundarni metaboliti vrsta roda *Acremonium*

Vrste roda *Acremonium* su bogati izvori novih bioaktivnih sekundarnih metabolita, a dosad je otkriveno preko 300 metabolita koji pripadaju skupinama steroida, terpenoida, meroterpenoida, poliketida, alkaloida, peptida i ostalih raznih spojeva izoliranih iz *Acremonium* vrsta. Ovi metaboliti imaju širok raspon biološke aktivnosti uključujući antibakterijsko, citotoksično, antitumorsko, imunosupresivno, antioksidativno, protuupalno, antimalarično, tremorgeno, antivirusno i enzim-inhibitorno djelovanje (Tian i sur., 2016).

Sljedeći sekundarni metaboliti pokazuju citotoksično djelovanje na modelu ljudskih staničnih linija raka. Klorohidrin, seskviterpenoid pokazuje potentno citotoksično djelovanje na stanice fibroblasta pluća, adenokarcinoma kore nadbubrežne žlijezde, malignog melanoma i tumorskih stanica neuroblastoma. Akremini B, G i I pokazuju slabo djelovanje kod karcinoma pluća nemalih stanica, dok askoklorin djeluje selektivno citotoksično na istu staničnu liniju. Pestalotiopen A pokazuje umjerenu citotoksičnost kod raka jajnika. Ostali sekundarni metaboliti koji također pokazuju citotoksičnu aktivnost su akremonidin, akremolin, leucinostatin A i drugi (Tian i sur., 2016).

Imunosupresivno djelovanje pokazuju tri ciklopeptida (FR235222, AS1387392, [Thr, Leu, Ala]ciklosporin) koji pokazuju inhibitorno djelovanje na proliferaciju T-stanica i stvaranje limfokina. *In vitro* pokazuju slabije imunosupresivno djelovanje u odnosu na poznati imunosupresivni lijek, ciklosporin A (Tian i sur., 2016).

Akremostriktin, triciklički lakton, pokazuje umjereno antioksidativno djelovanje i inhibira staničnu smrt keratinocita posredovanu vodikovim peroksidom. Ovaj spoj pokazuje oko 20 puta veću aktivnost u odnosu na antioksidativno djelovanje vitamina E (Tian i sur., 2016).

Akremeremofilani B-F i N pokazuju inhibitorno djelovanje na LPS-posredovano stvaranje dušikovog oksida u stanicama makrofaga. Osim njih, bisakremin G inhibira stvaranje tumor nekrotizirajućeg faktora α (engl. *Tumor necrotising factor* - TNF), interleukina 6 (IL-6) i dušikovog oksida u LPS-stimulirajućim makrofagima. Na taj način sekundarni metaboliti djeluju protuupalno (Tian i sur., 2016).

Toksični metabolit akrebol, po sastavu peptaibol, zaustavlja stvaranje energije u stanicama sisavaca što ukazuje na to da je njegova meta djelovanja upravo respiratorni lanac u mitohondrijima (Kruglov i sur., 2009).

Međutim, nisu poznati slučajevi mikotoksikoza koji bi se mogli pripisati djelovanju plijesni roda *Acremonium*. Najpoznatiji sekundarni metaboliti ostaju medicinski korisni cefalosporini vrste *Acremonium chrysogenum* (Summerbell i Scott, 2015).

Smatra se da sekundarni metaboliti mogu doprinijeti patogenosti *Acremonium* spp (Das i sur., 2010).

4.4. SCOPULARIOPSIS spp.

4.4.1. Epidemiologija i kliničke manifestacije

Filogenetski blizak *Scedosporium* rodu, *Scopulariopsis* spp. su česti sveprisutni saprofiti iz tla. Od mnogih vrsta, *Scopulariopsis brevicaulis* je najčešći uzrok infekcija kod ljudi. Kod imunokompetentnih osoba uzrokuju onihomikoze (najučestalije infekcije ovog roda), keratitis i, rijetko, post-traumatski endoftalmitis ili supkutanu infekciju. Rijetki slučajevi endokarditisa povezani su sa prostetskim zaliscima. Invazivne i diseminirane infekcije javljaju se kod imunokompromitiranih pacijenata. Najveći rizik od infekcije imaju pacijenti koji boluju od akutne leukemije i primatelji transplantata koštane srži ili organa (Hospenthal, 2015).

Iako je *Scopulariopsis brevicaulis* plijesan koja se nalazi u tlu, najvjerojatniji uzrok infekcije u bolničkom okruženju je inhalacija gljivičnih spora, a poznato je da je bolničko okruženje rezervoar velikog broja gljiva. Rizik nozokomijalne gljivične infekcije u pacijenata s oslabljenim imunskim sustavom povećava se duljinom hospitalizacije, uvođenjem ekstravaskularnih katetera i imunosupresivnom terapijom (Ng i sur., 2003).

Scopulariopsis brevicaulis se smatra rezistentnom na većinu trenutno dostupnih antifungalnih lijekova, stoga ne treba čuditi da liječenje ove infekcije kod imunokompromitiranih osoba može biti neuspješno, a invazivna infekcija životno ugrožavajuća (Macura i Skora, 2015).

4.4.2. Sekundarni metaboliti vrsta roda *Scopulariopsis*

Rod *Scopulariopsis* nije poznati proizvođač mikotoksina. Izuzev *Scopulariopsis brevicaulis*, koja je poznata po otpuštanju arsena i njegovih spojeva u okoliš, sekundarni metaboliti ovog roda vjerojatno nisu dovoljno istraženi (Abbott, 2015).

4.5. PAECILOMYCES spp. I PURPUREOCILLIUM spp.

4.5.1. Epidemiologija

Paecilomyces spp. i *Purpureocillium* spp. su ubikvitarne u tlu i zraku, a uzrok su propadanja žitarica, hrane i papira. Mogu preživjeti u kiselom okolišu i toleriraju mikroaerofilne uvjete. Vrste roda *Paecilomyces* izolirane su iz različitih izvora vode, poput vode za piće, flaširane vode i vodoinstalacijskih sustava u bolnicama. Određene vrste ovog roda su od kliničke važnosti jer mogu izazvati infekcije kod imunokompromitiranih i imunokompetentnih osoba. *Paecilomyces variotii* i *Paecilomyces lilacinus* su vrste koje se najčešće povezuju s infekcijama u ljudi i životinja. Ostale zabilježene patogene vrste su *Paecilomyces marquandii* i *Paecilomyces javanicus*. Navedene vrste sposobne su inficirati imunokompromitirane osobe i izazvati negativan ishod infekcije koji, u većini slučajeva, dovodi do smrti, enukleacije (uklanjanje) očne jabučice i funkcionalnih oštećenja (Borba i Brito, 2015).

Molekularnim istraživanjem vrste *Paecilomyces lilacinus* pokazalo se da ta vrsta ne dijeli obilježja roda *Paecilomyces*, čiji je predstavnik termofilna i patogena vrsta *Paecilomyces variotii*. Stoga, ona je svrstana u novi rod *Purpureocillium* i dobiva ime *Purpureocillium lilacinum* (Borba i Brito, 2015). Navedene patogene vrste u znanstvenoj literaturi često se isprepliću pa se zato nalaze u istom poglavlju ovog diplomskog rada te su zbog jednostavnosti svrstane u rod *Paecilomyces*.

4.5.2. Kliničke manifestacije

Rod *Paecilomyces* uzrokuje hijalohifomikoze većinom kod imunokompromitiranih pacijenata. Kliničke manifestacije su obično peritonealne, sinusne, kutane i okularne infekcije, no osim njih prijavljene su diseminirane infekcije, endokarditis, penumonija, endoftalmitis, keratitis, fungemija i druge (Borba i Brito, 2015).

P. variotii uzrokuje infekcije u ljudi, posebice u imunokompromitiranih pacijenata. Prvi zabilježeni slučaj infekcije ovom vrstom bio je endokarditis nakon operacije srca, a patogen je izoliran iz kulture krvi. Noviji slučajevi uključuju pijelonefritis, sinusitis, pneumoniju, endoftalmitis, osteomijelitis, peritonitis, kutane i diseminirane infekcije i fungemiju, a najčešća klinička manifestacija je peritonitis (Borba i Brito, 2015).

P. marquandii je saprofitna plijesan koja također može uzrokovati infekcije kod imunokompromitiranih pacijenata. Ova plijesan je poznati uzročnik celulitisa, kao što je opisano u slučaju transplantacije bubrega (Borba i Brito, 2015).

P. javanicus je zabilježen u slučaju endokarditisa s posljedičnom cerebralnom gljivičnom embolijom i leptomeningealnim vaskulitisom (Borba i Brito, 2015).

P. lilacinus (= *Purpureocillium lilacinum*) je vrsta s najviše zabilježenih kliničkih slučajeva. Smatra se kozmopolitnom i saprofitnom vrstom koja uzrokuje oportunističke infekcije u imunokompromitiranih i imunokompetentnih osoba. Poznati izvori ove plijesni, osim okoliša, su kontaminirane kreme i losioni za kožu koji se koriste klinički te kateteri i plastični implantati. Ulaz ovog patogena olakšavaju oštećena kožna barijera i stalni kateteri, a jedan od načina ulaska je inhalacija. Najčešće kliničke manifestacije povezane su s okularnim, kutanim i supkutanim infekcijama. Ova plijesan pokazuje tropizam prema okularnim strukturama, a visoki rizični čimbenici su intraokularni implantati, nošenje kontaktnih leća, trauma oka sa ili bez stranog tijela i oftalmičke operacije. Veliki problem predstavlja rezistencija ove plijesni na uobičajene metode sterilizacije (Borba i Brito, 2015).

4.5.3. Mikotoksini i drugi sekundarni metaboliti vrsta roda *Paecilomyces* i *Purpureocillium*

Mnoge studije potvrdile su sposobnost proizvodnje mikotoksina kod rodova *Paecilomyces* i *Purpureocillium*.

P. variotii stvara genotoksičan mikotoksin patulin i sfingofungin E i F koji zbog srodnosti sa sfingozinom inhibiraju serin palmitoiltransferazu, esencijalni enzim u sintezi sfingolipida. Osim njih, ova plijesan stvara viriditoksin koji djeluje antibakterijski na mnoge klinički značajne Gram-pozitivne patogene i variotin. Toksično djelovanje patulina očituje se u konvulzijama, distenziji (širenju) gastrointestinalnog trakta, mučnini, genotoksičnosti, neurotoksičnosti, teratogenosti, poremećaju plazme membrane, inhibiciji biosinteze proteina i deoksiribonukleinskih kiselina (DNK) te inhibiciji polimeraze ribonukleinske kiseline (RNK-polimeraze). Patulin također inducira lom dvolančane DNK (Borba i Brito, 2015).

P. lilacinus (= *Purpureocillium lilacinum*) stvara antibiotik leucinostatin koji djeluje na neke Gram-pozitivne bakterije i patogene i nepatogene gljive. Istraživanjem je dokazana visoka

toksičnost leucinostatina na eksperimentalnim životinjama i njegova podjela na leucinostatin A i B (Borba i Brito , 2015).

P. marquandii također stvara leucinostatine, koji su kasnije nazvani leucinostatini D, H i K, koji su sličnog djelovanja srodnim leucinostatinima A i B (Borba i Brito , 2015).

P. carneus stvara sekundarne metabolite pecilokinone A, B, C, D i F, inhibitore tirozin kinaze. Ovi kinoni inhibiraju epidermalni faktor rasta (engl. *Epidermal growth factor* – EGF), a pecilokinoni A i C pokazali su najpotentnije inhibitorno djelovanje (Borba i Brito , 2015).

P. tenuipes koristi se u orijentalnoj biljnoj medicini kao lijek alergijskim bolestima, astmi, raku i tuberkulozi. Ova vrsta poznata je po stvaranju citotoksičnih ergosterol peroksida i acetoksikirpenediola koji djeluju na nekoliko staničnih linija tumora. Osim njih, iz ove vrste izolirani su ciklopeptideptidi bovericin i bovericin A. Izolirani su i derivati trihotekana spirotenupezin A i B s potentnom aktivnošću u biosintezi neurotropnog faktora u glija stanicama. Za zadnje derivate se, zbog njihove biološke aktivnosti, može očekivati sudjelovanje u budućoj proizvodnji lijekova protiv neurodegenerativnih bolesti. Bioaktivne tvari izolirane iz ove vrste pokazuju inhibitorno djelovanje na monoaminoooksidaze A i B *in vitro* i *in vivo*, što ukazuje na njihov potencijal u liječenju depresije (Borba i Brito , 2015).

5. ZAKLJUČCI

- Brojne hijalohifomicete uzrokuju hijalohifomikoze, no sve učestalije vrste koje ih uzrokuju su vrste rodova *Fusarium*, *Scedosporium*, *Acremonium*, *Paecilomyces*, *Purpureocillium* i *Scopulariopsis*. Fuzarioza, infekcija *Fusarium* spp. najučestalija je hijalohifomikoza čiji broj zabilježenih slučajeva godinama sve više raste.
- Sedam je klinički najznačajnijih kompleksa vrsta roda *Fusarium* povezanih s infekcijama u ljudi: *F. dimerum*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. fujikuroi*, *F. chlamydosporum*, *F. incarnatum-equiseti* i *F. sporotrichioides*. Tek nekoliko vrsta izvan ovih sedam kompleksa uzrokuje infekcije u ljudi. Fuzarioze se kreću od lokaliziranih (onihomikoze, keratitis i kožne infekcije) do diseminiranih infekcija. Lokalizirane infekcije se pojavljuju većinom kod imunokompetentnih, a diseminirane kod imunokompromitiranih osoba (osobito onih s hematološkim bolestima), međutim, moguće je i obratno.
- Među fuzarijskim mikotoksinima fuzarinska kiselina je mikotoksin koji pokazuje izravna virulentna svojstva jer povećava patogenost *F. oxysporum* kod biljaka i životinja. Kako ovaj mikotoksin proizvode i pripadnici *F. solani* i *F. fujokuroji* kompleksa vrsta isti učinak fuzarinske kiseline može se očekivati i kod infekcija navedenim fuzarijama. Mehanizam virulencije fuzarinske kiseline treba istražiti.
- DON, T-2, FB1 i moniliformin povećavaju osjetljivost intestinalnog sustava na enteričke bakterije (*Salmonella* Typhimurium i *E. coli*), povećavaju invazivnost tih bakterija i produljuju vrijeme izlječenja što pokazuje „posredničko“ virulentno djelovanje fuzarijskih mikotoksina. Većina fuzarijskih mikotoksina ima proupalni učinak, posebice u intestinalnom sustavu što može doprinijeti virulenciji pravih i oportunističkih patogenih mikroba. Ostale fuzarijske mikotoksine kao čimbenike virulencije u hijalohifomikozama treba dodatno istražiti.
- Od ostalih hijalohifomiceta vrsta *Scedosporium apiospermum* tijekom infekcije proizvodi mikotoksin gliotoksin i niz peptida koji imaju citotoksično i imunosupresivno djelovanje što doprinosi njihovoj virulenciji. Vrste roda *Acremonium* imaju visoki potencijal tvorbe sekundarnih metabolita od kojih bi neki mogli imati i ulogu u virulenciji, što treba istražiti.
- Zahvaljujući razvoju multitoksinjskih metoda baziranih na LC-MS/MS dokazan je veliki broj sekundarnih metabolita, uključujući i mikotoksine, plijesni u uvjetima *in vitro* tj. u kulturama hijalohifomiceta. Međutim, za veliku većinu nije poznato koji se od tih

metabolita tvore *in vivo* tijekom hijalohifomikoze i koji je njihov mehanizam virulencije. Rezultati budućih istraživanja čimbenika virulencije pomoći će u unaprjeđenju dijagnostike i razvoju terapijskih sustava za liječenje hijalohifomikoza.

6. LITERATURA

Abbott S.P. *Microascus/Scopulariopsis*. U: *Molecular Biology of Food and Water Borne Mycotoxigenic and Mycotic Fungi*. Paterson R.R.M i Lima N., urednici, Boca Raton, Taylor & Francis Group, 2015, str. 375-382

Antonissen G. i sur. The impact of *Fusarium* Mycotoxins on human and animal host susceptibility to infectious diseases. *Toxins*, 2014, Vol.6, Issue 2, 430–452.

Batista B. G. i sur. Human fusariosis: An emerging infection that is difficult to treat. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 2020, Vol. 53, 1–7.

Bennett J. W. i Klich M. Mycotoxins. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2003, Vol. 16, Issue 3, 497–516

Borba Cde M. i Brito MM. *Paecilomyces*: Mycotoxin Production and Human Infection. U: *Molecular Biology of Food and Water Borne Mycotoxigenic and Mycotic Fungi*. Paterson R.R.M i Lima N., urednici, Boca Raton, Taylor & Francis Group, 2015, str. 401-413.

Borchers A. T. i sur. Mold and Human Health: a Reality Check. *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, 2017, Vol. 52, Issue 3, 305–322.

Das S. i sur. *Acremonium* Species: A Review of the Etiological Agents of Emerging Hyalohyphomycosis. *Mycopathologia*, 2010 Vol. 170, Issue 6, 361–375.

De Lucca A. i Walsh T.J. Mycotoxins of *Fusarium* spp.: Biochemistry and Toxicology. U: *Molecular Biology of Food and Water Borne Mycotoxigenic and Mycotic Fungi*. Paterson R.R.M i Lima N., urednici, Boca Raton, Taylor & Francis Group, 2015, str. 323-339.

Determination of aflatoxin B in herbal drugs (2.8.18) Council of Europe. Ph. Eur. 10.0 311-313.

Determination of ochratoxin A in herbal drugs (2.8.22) Council of Europe. Ph. Eur. 10.0 316-317.

Ekwoyadu T. I. i sur. *Fusarium* mycotoxins, their metabolites (Free, emerging, and masked), food safety concerns, and health impacts. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2021, 18(22).

EU, 2014. European Union Commission Regulation (EU) No. 212/2014 of 6 March 2014 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of the contaminant citrinin in food supplements based on rice fermented with red yeast *Monascus purpureus*. *OJEU*, 67, 3-4

Hernandes i sur. Toxic thermoresistant metabolites of *Fusarium oxysporum* are capable of inducing histopathological alterations in Wistar rats. *J. Venomous Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.*, 2012, 18(2), 144–149.

Hoenigl M. i sur. Global guideline for the diagnosis and management of rare mould infections: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the International Society for Human and Animal Mycology and the American Society for Microbiology. *Lancet Infect. Dis.*, 2021, Vol. 21, Issue 8, e246–e257.

Hof H. The medical relevance of *Fusarium* spp. *J. Fungi*, 2020, Vol. 6, Issue 3, pp. 1–11.

Hospenthal, D. R. Hyalohyphomycosis: Infection Due to Hyaline Moulds. U: Diagnosis and Treatment of Fungal Infections, Hospenthal i Rinaldi, urednici, Springer, 2015, str. 141–149.

How fungi are constructed, 2021., <http://website.nbm-mnb.ca/>, pristupljeno 17.1.2022.

Hyalohyphomycosis (*Acremonium*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Scedosporium* and Others), 2010., <http://www.antimicrobe.org>, pristupljeno 15.1.2022.

Jacobs S. E. i sur. Non- *Aspergillus* Hyaline Molds: Emerging Causes of Sino-Pulmonary Fungal Infections and Other Invasive Mycoses. *Semin Respir Crit Care Med*, 2020, 41(1), 115–130.

Ji F. i sur. Occurrence, toxicity, production and detection of *Fusarium* mycotoxin: a review. *Food Production, Processing and Nutrition*, 2019, Vol. 1, Issue 1.

Kraft S. i sur. Mold, mycotoxins and a dysregulated immune system: A combination of concern? *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, Issue 22.

Kruglov A. G. i sur. Novel mycotoxin from *Acremonium exuviarum* is a powerful inhibitor of the mitochondrial respiratory chain complex III. *Chem. Res. Toxicol.*, 2009, 22(3), 565–573.

Le Govic Y. i sur. Non-ribosomal Peptide Synthetase Gene Clusters in the Human Pathogenic Fungus *Scedosporium apiospermum*. *Front. Microbiol.*, 2019, 10.

Liew W. P. P. i Mohd-Redzwan S. Mycotoxin: Its impact on gut health and microbiota. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2018, Vol. 8, Issue FEB.

Macura, A. B., & Skóra, M. 21-year retrospective study of the prevalence of *Scopulariopsis brevicaulis* in patients suspected of superficial mycoses. *Postepy Dermatol. Alergol.*, 2015, 32(3), 189–194.

- McCormick S. P. i sur. Trichothecenes: From simple to complex mycotoxins. *Toxins*, 2011, Vol. 3, Issue 7, 802–814.
- Ng KP i sur. Scopulariopsis brevicaulis infection in a patient with acute myeloid leukemia. *Med J Malaysia*, 2003, 58:608-12
- Noguchi H. i sur. Interdigital hyalohyphomycosis caused by members of the Fusarium solani species complex. *Acta Derm. Venereol.*, 2019, 99(9), 835–836.
- Noguchi H. i sur. Ungual hyalohyphomycosis caused by Fusarium proliferatum in an immunocompetent patient. *J. Dermatol.*, 2017, 44(1), 88–90.
- Nucci M. i Anaissie E. Fusarium infections in immunocompromised patients. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2007, Vol. 20, Issue 4, 695–704.
- Nucci M. i Anaissie E. J. Hyalohyphomycosis. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2007. Chapter 13, 309-327.
- Pavlaskova K. i sur. Characterization of pseudacyclins A-E, a suite of cyclic peptides produced by Pseudallescheria boydii. *J. Nat. Prod.*, 2010, 73(6), 1027–1032.
- Perdomo H. i sur. Spectrum of clinically relevant Acremonium species in the United States. *J. Clin. Microbiol.*, 2011, 49(1), 243–256.
- Porter J. K. i sur. Fusaric Acid in Fusarium moniliforme Cultures, Corn, and Feeds Toxic to Livestock and the Neurochemical Effects in the Brain and Pineal Gland of Rats. In *Nat. Toxins*. 1995, 3, 91-100.
- Rai A. i sur. Occurrence and toxicity of a fusarium mycotoxin, zearalenone. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2020, Vol. 60, Issue 16, 2710–2729.
- Summerbell R. C. i Scott J. A. Acremonium U: Molecular Biology of Food and Water Borne Mycotoxigenic and Mycotic Fungi. Paterson R.R.M i Lima N., urednici, Boca Raton, Taylor & Francis Group, 2015, str. 115-126.
- Staerck C. i sur. The secreted polyketide boydone A is responsible for the anti-Staphylococcus aureus activity of Scedosporium boydii. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2017, 364(22).
- Strickland A. B. i Shi, M. Mechanisms of fungal dissemination. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2021, Vol. 78, Issue 7, 3219–3238.

Sudakin D. L. Trichothecenes in the environment: Relevance to human health. *Toxicol. Lett.*, 2003, Vol. 143, Issue 2, 97–107.

Tian J. i sur. Secondary Metabolites from Acremonium Fungi: Diverse Structures and Bioactivities. *Mini-Rev. Med. Chem.*, 2016, 17(7), 603–632.

Tortorano A. M. i sur. ESCMID and ECMM joint guidelines on diagnosis and management of hyalohyphomycosis: *Fusarium* spp., *Scedosporium* spp. and others. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2014, 20(S3), 27–46.

van Diepeningen, A. D. i sur. Taxonomy and Clinical Spectra of *Fusarium* Species: Where Do We Stand in 2014? In *Curr. Clin. Micro. Rpt.*, 2014, Vol. 1, Issues 1–2, pp. 10–18.

van Egmond i sur. Regulations relating to mycotoxins in food : Perspectives in a global and European context. *Anal Bioanal Chem*, 2007, Vol. 389, Issue 1, 147–157.

Wigmann É. F. i sur. MALDI-TOF MS fingerprinting for identification and differentiation of species within the *Fusarium fujikuroi* species complex. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2019, 103(13), 5323–5337.

7. SAŽETAK/SUMMARY

SAŽETAK

Hijalohifomikoze su bolesti uzrokovane plijesnima s hijalnim (prozirnim) hifama te mogu biti lokalizirane, najčešće kod imunokompetentnih, ili diseminirane infekcije, najčešće kod imunokompromitiranih osoba. Najčešće lokalizirane infekcije su onihomikoza, keratitis i infekcija kože, dok su diseminirane infekcije učestale kod hematoloških bolesnika. Oportunističke hijalohifomicete koje uzrokuju hijalohifomikoze su vrste rodova *Fusarium*, *Scedosporium*, *Acremonium*, *Scopulariopsis*, *Paecilomyces* i *Purpureocillium*. Mikotoksini su sekundarni metaboliti plijesni, nisu važni za njihov rast i razvoj te je njihova uloga nedovoljno istražena. Klinički su najznačajnije vrste roda *Fusarium* koje proizvode mikotoksine trihotecene (T-2, HT-2, DON, NIV), zearalenon i njegove derivate (α -ZOL, β -ZOL), fumonizine (FB1), fuzarinsku kiselinu i emergentne mikotoksine (ENN, BEA, MON, FUS). Među njima, fuzarinska kiselina ima ulogu čimbenika virulencije jer pojačava virulenciju *F. oxysporum* tijekom infekcije. DON, T-2, FB1 i MON povećavaju osjetljivost intestinalnog sustava na enteričke bakterije (*Salmonella* Typhimurium i *E. coli*), povećavaju invazivnost tih bakterija i produljuju vrijeme izlječenja što pokazuje njihovo „posredničko“ virulentno djelovanje. Većina fuzarijskih mikotoksina ima proupalni učinak, posebice u intestinalnom sustavu što može doprinijeti virulenciji pravih i oportunističkih patogenih mikroba. Vrsta *Scedosporium apiospermum* tijekom infekcije proizvodi mikotoksin gliotoksin i niz peptida koji imaju citotoksično i imunosupresivno djelovanje što doprinosi njihovoj virulenciji. Vrste roda *Acremonium* visoki potencijal tvorbe sekundarnih metabolita od kojih bi neki mogli imati i ulogu u virulenciji. Tehnika LC-MS/MS omogućila je otkrivanje velikog broja sekundarnih metabolita plijesni čiju ulogu u virulenciji tek treba istražiti, što će doprinijeti unaprjeđenju dijagnostike i razvoju terapijskih sustava za liječenje hijalohifomikoza.

SUMMARY

Hyalohyphomycoses are diseases caused by molds with hyaline (transparent) hyphae and can be localized, most often in immunocompetent people, or disseminated infections, most often in immunocompromised people. The most common localized infections are onychomycosis, keratitis and skin infection, while disseminated infections are common in hematological patients. Opportunistic hyalohyphomycetes that cause hyalohyphomycosis are species of the genera *Fusarium*, *Scedosporium*, *Acremonium*, *Scopulariopsis*, *Paecilomyces* and *Purpureocillium*. Mycotoxins are secondary metabolites of mold, not important for their growth and development, and their role is insufficiently studied. The most clinically significant species is *Fusarium* spp. whose mycotoxins are trichothecenes (T-2, HT-2, DON, NIV), zearalenone and its metabolites (α -ZOL, β -ZOL), fumonisins (FB1), fusaric acid and emergent mycotoxins (ENN, BEA, MON, FUS). Among them, fusaric acid plays the role of virulence factor because it enhances the virulence of *F. oxysporum* during infection. DON, T-2, FB1 and MON increase the sensitivity of the intestinal system to enteric bacteria (*Salmonella* Typhimurium and *E. coli*), increase the invasiveness of these bacteria and prolong the healing time, which shows their "intermediate" virulence effect. Most fusarium mycotoxins have a pro-inflammatory effect, especially in the intestinal system, which can contribute to the virulence of true and opportunistic pathogenic microbes. The species *Scedosporium apiospermum* produces mycotoxin gliotoxin during infection and a number of peptides that have cytotoxic and immunosuppressive effects, which contributes to their virulence. Species of the *Acremonium* genus have a high potential for the formation of secondary metabolites, some of which could also play a role in virulence. The LC-MS/MS technique enabled the detection of a large number of secondary metabolites of mold whose role in virulence has yet to be investigated, which will contribute to the improvement of diagnostics and the development of therapeutic systems for the treatment of hyalohyphomycosis.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za mikrobiologiju
Schrottova 39/I. kat, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

ULOGA MIKOTOKSINA U HIJALOHIFOMIKOZAMA

Katarina Kujundžić

SAŽETAK

Hijalohifomikoze su bolesti uzrokovane plijesnima s hijalinim (prozirnim) hifama te mogu biti lokalizirane, najčešće kod imunokompetentnih, ili diseminirane infekcije, najčešće kod imunokompromitiranih osoba. Najčešće lokalizirane infekcije su onihomikoza, keratitis i infekcija kože, dok su diseminirane infekcije učestale kod hematoloških bolesnika. Oportunističke hijalohifomicete koje uzrokuju hijalohifomikoze su vrste rodova *Fusarium*, *Scedosporium*, *Acremonium*, *Scopulariopsis*, *Paecilomyces* i *Purpureocillium*. Mikotoksini su sekundarni metaboliti plijesni, nisu važni za njihov rast i razvoj te je njihova uloga nedovoljno istražena. Klinički su najznačajnije vrste roda *Fusarium* koje proizvode mikotoksine trihotecene (T-2, HT-2, DON, NIV), zearalenon i njegove derivate (α -ZOL, β -ZOL), fumonizine (FB1), fuzarinsku kiselinu i emergentne mikotoksine (ENN, BEA, MON, FUS). Među njima, fuzarinska kiselina ima ulogu čimbenika virulencije jer pojačava virulenciju *F. oxysporum* tijekom infekcije. DON, T-2, FB1 i MON povećavaju osjetljivost intestinalnog sustava na enteričke bakterije (*Salmonella* Typhimurium i *E. coli*), povećavaju invazivnost tih bakterija i produljuju vrijeme izlječenja što pokazuje njihovo „posredničko“ virulentno djelovanje. Većina fuzarijskih mikotoksina ima proupalni učinak, posebice u intestinalnom sustavu što može doprinijeti virulenciji pravih i oportunističkih patogenih mikroba. Vrsta *Scedosporium apiospermum* tijekom infekcije proizvodi mikotoksin gliotoksin i niz peptida koji imaju citotoksično i imunosupresivno djelovanje što doprinosi njihovoj virulenciji. Vrste roda *Acremonium* visoki potencijal tvorbe sekundarnih metabolita od kojih bi neki mogli imati i ulogu u virulenciji. Tehnika LC-MS/MS omogućila je otkrivanje velikog broja sekundarnih metabolita plijesni čiju ulogu u virulenciji tek treba istražiti, što će doprinijeti unaprjeđenju dijagnostike i razvoju terapijskih sustava za liječenje hijalohifomikoza.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 40 stranica, 5 grafičkih prikaza, 3 tablice i 44 literaturna navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: hijalohifomikoza, mikotoksin, *Fusarium*, *Scedosporium*, *Acremonium*, *Scopulariopsis*, *Purpureocillium*, *Paecilomyces*, hijalohifomicete, plijesan, hijalohifomikoze uzrokovane *Fusarium* spp., epidemiologija hijalohifomikoza, mikotoksini plijesni, učinak mikotoksina na zdravlje ljudi
Mentor: **Dr. sc. Maja Šegvić Klarić**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Maja Šegvić Klarić**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.
Dr. sc. Daniela Jakšić, docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.
Dr. sc. Mario Sviben, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Medicinskog fakulteta.

Rad prihvaćen: srpanj 2022.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of Microbiology
Schrottova 39/I. kat, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

THE ROLE OF MYCOTOXINS IN HYALOHYPHOMYCOSIS

Katarina Kujundžić

SUMMARY

Hyalohyphomycoses are diseases caused by molds with hyaline (transparent) hyphae and can be localized, most often in immunocompetent people, or disseminated infections, most often in immunocompromised people. The most common localized infections are onychomycosis, keratitis and skin infection, while disseminated infections are common in hematological patients. Opportunistic hyalohyphomycetes that cause hyalohyphomycosis are species of the genera *Fusarium*, *Scedosporium*, *Acremonium*, *Scopulariopsis*, *Paecilomyces* and *Purpureocillium*. Mycotoxins are secondary metabolites of mold, not important for their growth and development, and their role is insufficiently studied. The most clinically significant species is *Fusarium* spp. whose mycotoxins are trichothecenes (T-2, HT-2, DON, NIV), zearalenone and its metabolites (α -ZOL, β -ZOL), fumonisins (FB1), fusaric acid and emergent mycotoxins (ENN, BEA, MON, FUS). Among them, fusaric acid plays the role of virulence factor because it enhances the virulence of *F. oxysporum* during infection. DON, T-2, FB1 and MON increase the sensitivity of the intestinal system to enteric bacteria (*Salmonella Typhimurium* and *E. coli*), increase the invasiveness of these bacteria and prolong the healing time, which shows their "intermediate" virulence effect. Most *Fusarium* mycotoxins have a pro-inflammatory effect, especially in the intestinal system, which can contribute to the virulence of true and opportunistic pathogenic microbes. The species *Scedosporium apiospermum* produces mycotoxin gliotoxin during infection and a number of peptides that have cytotoxic and immunosuppressive effects, which contributes to their virulence. Species of the *Acremonium* genus have a high potential for the formation of secondary metabolites, some of which could also play a role in virulence. The LC-MS/MS technique enabled the detection of a large number of secondary metabolites of mold whose role in virulence has yet to be investigated, which will contribute to the improvement of diagnostics and the development of therapeutic systems for the treatment of hyalohyphomycosis.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 40 pages, 5 figures, 3 tables and 44 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Hyalohyphomycosis, mycotoxin, *Fusarium*, *Scedosporium*, *Acremonium*, *Scopulariopsis*, *Purpureocillium*, *Paecilomyces*, hyalohyphomycete, mold, hyalohyphomycosis caused by *Fusarium*, epidemiology of hyalohyphomycosis, mold mycotoxins, mycotoxin effect on human health

Mentor: **Maja Šegvić Klarić, Ph.D.** Full Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Maja Šegvić Klarić, Ph.D.** Full Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Daniela Jakšić, Ph.D. Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Mario Sviben, Ph.D. Associate Professor, University of Zagreb School of Medicine

The thesis was accepted: July 2022.