

AFLATOKSİN VE GLUKOMANNANIN TAVŞANLARDA BAZI ANTIOKSİDAN VE BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİ

Nurcan Dönmez^{@1}

Ercan Keskin¹

The effects of aflatoxin and glucomannan on some antioxidants and biochemical parameters in rabbits

Özet: Yeme katılan aflatoksinin ve buna karşı adsorban olarak kullanılan glukomannanın bazı biyokimyasal parametreler ile antioksidanlar üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada 40 adet Yeni Zelandada tavşanı kullanıldı. Tavşanlar kontrol (K), glukomannan (G), glukomannan+ aflatoksin (AG) ve aflatoksin (A) olmak üzere dört gruba ayrıldı. 10 hafta süren deneme sonunda aflatoksin uygulanan (A) grupta MDA düzeyinde kontrole göre bir artış belirlenirken, GSH ve SOD düzeylerinde ise bir azalma gözlemlendi ($p<0,05$). Yine A grubunda kontrol grubuna göre kolesterol, glikoz, total protein ve albümin düzeylerinde önemli bir azalma, AST ve ALT düzeylerinde ise önemli bir artış tespit edildi. Çalışmada G grubunda biyokimyasal parametreler ve antioksidan sistemde kontrol ile kıyaslandığında önemli değişikliklerin meydana gelmedi. AG (Aflatoxin+glukomannan) grubundaki MDA, GSH, SOD, kolesterol, glikoz, albumin, total protein düzeylerinin önemli olmamakla birlikte A grubundan yüksek olduğu, AST ve ALT düzeylerinin ise daha düşük olduğu dikkati çekmektedir. Sonuç olarak bu çalışmada elde edilen veriler toksikasyonun çeşitli biyokimyasal parametreler üzerine yansımalarını ortaya koyması ve uygulanan glukomannan dozunun etkinliğinin belirlenmesi açısından önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Aflatoxin, glukomannan, tavşan, biyokimyasal parametreler, antioksidant.

Summary: In the study the effects of aflatoxin added to ration and used glucomannan to prevent aflatoxin absorption on some biochemical parameters and antioxidants were studied in 40 New Zealand rabbits. The rabbits were separated to four groups as control (K), glucomannan (G), glucomannan + aflatoxin (AG) and aflatoxin (A). At the end of the ten weeks the MDA levels increased, GSH and SOD levels decreased ($p<0,05$) in A group compared with control group levels. Cholesterol, glucose, albumin and total protein levels also decreased, AST and ALT levels increased in A group compared with control group. In the G group the former parameters were not affected by glucomannan application alone. On the other hand in the AG group MDA, GSH, SOD, cholesterol, glucose, albumin and total protein levels were higher, while AST and ALT levels were lower than control levels although these differences were not significant. In conclusion, the results determined in this study, might be important to demonstrate the effects of aflatoxicosis on some biochemical and antioxidant parameters at least applied dose of aflatoxin and glucomannan.

Key Words: Aflatoxin, glucomannan, rabbit, biochemical parameters, antioxidant.

Giriş

Besin ham maddeleri ve besinlerin uygun olmayan koşullarda depolanması ile meydana gelen en önemli sorunlardan birisi, bunlarda üreyen küf-lerin ürettikleri mikotoksinlerin neden oldukları toksikasyonlardır (Çelik ve ark., 2000a). Bunlardan en sık rastlanana aflatoksinler ve en zararlı olanı ise aflatoksin B1'dir (Eraslan ve ark., 2004, Abdel-Wahab ve ark., 2002). Kontamine olmuş gıdalarla beslenen insan ve hayvanlarda önemli sağlık problemleri, bunlara paralel olarak da ekonomik kayıplar ortaya çıkmaktadır. Aflatoksikozis, organ ve do-

kularda çeşitli bozukluklara, büyüme hızının gerilemesi, ölüm oranının artması, immun sistem baskılanması, anemi, kanın pıhtılaşma süresinin uzaması ile yağ, karbonhidrat ve protein metabolizmasının bozulması gibi olumsuz etkilere yol açmaktadır (Çelik ve ark., 1996, Raju ve Devegowda 2000).

Aflatoksinler insan ve hayvanlar için yüksek toksisiteye sahip, bilinen en tehlikeli mikotoksinlerdir (McKean ve ark., 2006). AFB1, mutojenik, hepatotoksik ve hepatokarsinojenik etkilidir ve oksidatif strese neden olmaktadır (Çelik ve ark.,

2000b, Meki ve ark., 2004). Canlıda çevresel faktörler toksik etkilerini çoğunlukla organizmada O2 radikallerinin oluşumunu gerçekleştirerek meydana getirmektedir. Serbest radikaller savunma sisteminin koruyucu etkisini aşacak şekilde oluştuğlarında metabolizmayı olumsuz etkilemektedirler (Kılınç 1986, Erenel ve ark., 1992).

Aflatoksinin toksik etkisi sonucu biyokimyasal ve hematolojik parametrelerde önemli değişiklikler meydana geldiği ifade edilmektedir. Kronik ve subklinik aflatoksikozis vakalarının teşhisinde biyokimyasal ve hematolojik parametrelerdeki değişiklikler klinik bulgulardan önce meydana gelmektedir. Bu parametreler aflatoksinin hedefi olan organlardaki toksik etkisinin belirlenmesinde önemlidir (Aravind ve ark., 2003). AF'in protein sentezini inhibe ettiği ve kan protein seviyesini azalttığı sınımlanmaktadır. Aflatoksin ile zehirlenmelerde total protein, albumin, kolesterol, trigliserid ve glikoz düzeylerinin belirgin şekilde azaldığı bildirilmektedir (Kubena ve ark. 1993). Rosa ve ark. (2001) broylerlerde yaptıkları çalışmada aflatoksikozis sonucu serum total protein, albumin, total kolesterol, urik asit, inorganik fosfor ve kalsiyum düzeylerinin belirgin şekilde azaldığını belirlemişlerdir. Yine Aravind ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada, broylerlere farklı oranlarda verdikleri aflatoksinin serum total protein, albumin, total kolesterol, glikoz, trigliserit düzeylerini azalttığını bildirmektedirler.

AF'in olumsuz etkilerini önleyebilecek uygulamaların araştırılmasında kullanılan en popüler metot, kolay uygulanabilmesinden dolayı yemlere aflatoksin bağlama özelliğine sahip bileşiklerin ilave edilmesidir. Bu bileşiklerin görevlerinin temel mekanizması geri dönüşümsüz olarak besinlerdeki AF'i bağlaması ve böylece sindirim sisteminden AF'in emiliminin sınırlandırılmasıdır (Eraslan ve ark 2004). Aflatoksinlerle kontamine olmuş yemlerin değerlendirilmesi için bazı absorbanların kullanıldığı bildirilmektedir (Harvey ve ark. 1991, Kubena ve ark.1993). Başarılı bir detoksifikasyon işleminin ekonomik olması, zararlı rezidüel bırakmaksızın toksinin tüm kalıntılarını elimine edebilmesi ve besin kalitesini bozmaması gibi özelliklere sahip olması gerekir. Son yıllarda doğal ve sentetik zeolitler gibi aliminyumsilikatlar, bentonitler, fillosilikatlar ve klinoptilolit kullanılarak bazı çalışmalar yapılmaktadır. Biyolojik detoksifikasyonda farklı bir yaklaşım da, *Saccharomyces cerevisiae* (SCE) ve onun hücre duvarı komponentinin (glukomannan), AF'nin yan etkilerini azaltmak için kullanımınıdır (Raju ve Devegowda 2000, Parlat ve ark. 2001, Aravind ve

ark., 2003).

Bu çalışmada, yemle birlikte aflatoksin verilen tavşanlarda aflatoksinin bazı biyokimyasal parametreler ile antioksidan sistem üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca aflatoksin bağlayıcısı olan glukomannan (MG) ilavesinin aflatoksinin meydana getirdiği olumsuz olaylar üzerine etkileri belirlenmeye çalışılmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırmada sağlıklı, 40 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanlar her grupta 10 adet ve grup canlı ağırlık ortalamaları birbirine yakın olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Gruplardaki tavşanların her biri ayrı kafeslerde tutularak 10 haftalık deneme boyunca aşağıdaki şekilde ad libitum olarak beslendiler:

1. grup, tavşan pelet yem
2. grup, 125 ppb aflatoksin içeren normal pelet yem
3. grup, 125 ppb aflatoksin + 1000 ppm MG içeren pelet yem
4. grup, 1000 ppm MG içeren pelet yem

Deneme boyunca hayvanların önlerinde daima temiz su bulundurulmasına özen gösterildi.

Deneme sonunda hayvanlardan analizler için intrakardiyak punktur ile antikoagülanlı (% 3,8 lik sodyum sitrat) ve antikoagülanlı tüplere kan örnekleri alındı. Yeterli miktarda alınan kan örneklerinden kullanım amacına uygun şekilde plazma ve serum çıkarılarak, eritrosit paketleri hazırlandı. Hazırlanan eritrosit paketinden MDA'nın TBA ile reaksiyona girerek oluşturduğu bileşiğin 532 ve 600 nm dalga boyunda spektrofotometrede verdiği absorbans değerine bakılarak MDA tayini yapıldı (Slater, T.F., 1984, Akkuş, İ., 1995), tüm kan GSH düzeyi ise Beutler ve arkadaşlarının (1963) metoduna göre belirlendi. Plazma total protein, glikoz, kolesterol, albümin, SOD, AST ve ALT düzeyleri ticari kitler (Biosystem) kullanılarak spektrofotometrik (Chebios Optimum-one UV-VIS) olarak belirlendi.

Çalışma sonunda verilerin istatistiksel analizleri yapılarak, gruplar arası farklılıkların önemi Duncan testi ile SPSS 10.0 paket programından faydalanılarak tespit edildi.

Bulgular

Araştırmada her dört grupta elde edilen parametrelere ait değerler tablo 1 ve 2'de sunulmuştur.

Tablo 1. Kontrol ve deneme gruplarında eritrosit MDA, GSH ve plazma SOD düzeyleri (n=10, X± SX)

Parametre	K	G	AG	A
MDA(nmol/l)	3,93 ± 0,45	4,36 ± 0,50	4,46 ± 0,63	4,87 ± 0,54
GSH(mg/dl)	33,61 ± 1,92 ^a	32,63 ± 0,46 ^a	25,17 ± 0,72 ^b	21,92 ± 0,72 ^b
SOD(U/ml)	0.278 ± 0,04 ^a	0.272 ± 0,06 ^{ab}	0.263 ± 0,06 ^{ab}	0.255 ± 0,04 ^b

a, b; p< 0,05

K: Kontrol; G: Glukomannan; AG: Aflatoksin+glukomannan; A: Aflatoksin

Tablo 2. Kontrol ve deneme gruplarında bazı biyokimyasal parametreler (n=10, X± SX)

Parametre	K	G	AG	A
Kolesterol(mg/dl)	85,17 ± 3,00 ^a	86,50 ± 1,31 ^a	72,19 ± 2,40 ^b	71,70 ± 1,44 ^b
Glikoz (mg/dl)	158,28 ± 7,11 ^a	151,78 ± 3,41 ^{ab}	142,66 ± 3,72 ^b	138,35 ± 3,84 ^b
Albümin (g/l)	3,52 ± 0,44 ^a	3,48 ± 0,56 ^{ab}	3,36 ± 0,51 ^{bc}	3,25 ± 0,43 ^c
T.Protein (g/l)	6,08 ± 0,46 ^a	5,86 ± 1,01 ^{ab}	5,74 ± 0,64 ^b	5,79 ± 0,96 ^b
AST (U/L)	28,03 ± 1,66 ^b	29,82 ± 1,39 ^b	36,43 ± 3,09 ^a	38,43 ± 2,44 ^a
ALT (U/L)	14,95 ± 0,26 ^b	17,81 ± 1,40 ^{ab}	19,03 ± 1,37 ^{ab}	21,39 ± 2,35 ^a

a, b, c; p< 0,05

K: Kontrol; G: Glukomannan; AG: Aflatoksin+glukomannan; A: Aflatoksin

Tartışma

Aflatoksinler insan ve hayvanlar için mutajenik, hepatotoksik ve hepatokarsinojenik etkili mikotoksinlerdir ve oksidatif strese neden olurlar (Meki ve ark. 2004). Hayvan sağlığı açısından tehlikeli olan aflatoksinlerin çok küçük miktarları dahi biyokimyasal parametrelerde değişikliklere neden olabilmektedir (Keçeci et al., 1998).

Oksidatif hasar genel olarak hücresel komponentlerin (enzimler, nükleik asit, membran ve proteinler gibi) fonksiyonlarında bozulmaya neden olmaktadır (Rastogi ve ark. 2001). Aflatoksinin neden olduğu hücresel hasarı ortaya koymak amacıyla yapılan bu çalışmada lipid peroksidasyon ürünü olan MDA seviyesinde önem olmamakla birlikte kontrole göre en fazla artış aflatoksinli grupta (A) gözlemlendi (Tablo 1). GSH düzeyinde kontrol grubundaki verilere göre AG ve A grubunda önemli bir düşüş olduğu belirlenirken bu düşüş yine A grubunda daha belirgindi (Tablo1). Aflatoksinli gruptaki SOD düzeyi diğer üç gruptan düşük olmakla birlikte sadece kontrol grubuna göre farklılık önemliydi. Choudhary ve Verma (2005) da benzer şekilde aflatoksin maruz bırakılmış farelerde, kontrol ile kıyaslandığında lipid peroksidasyonunun önemli derecede yüksek olduğunu, glutatyon, askorbik asit

gibi nonenzimatik antioksidanlar ile superoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi enzimatik antioksidanların ise önemli oranda azaldığını tespit etmişlerdir. Rastogi ve arkadaşları (2001) da ratlarda yapmış oldukları çalışmada aflatoksinin superoksit dismutaz, glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon reduktaz aktivitelerinde azalmaya neden olduğunu gözlemlenmiştir. Bu bulgular aflatoksinin sitotoksitesisi üzerinde reaktif oksijen türlerinin rol oynadığı görüşünü destekler niteliktedir.

Yine çalışmada AF grubunda biyokimyasal parametrelerden kolesterol, glikoz, albümin ve total protein miktarlarında kontrole göre önemli düzeyde bir azalma gözlemlenirken; ALT ve AST değerlerinde ise bir artış belirlenmiştir (p<0,05) (Tablo 2). Toksikasyona maruz bırakılan tavşanlardaki total protein, albümin, kolesterol ve glikoz konsantrasyonlarındaki azalma Keçeci ve arkadaşları (1998) ile Oğuz ve arkadaşları (2000)'nin bulgularını desteklemektedir. Ayrıca Yousef ve arkadaşları da (2003) aflatoksin maruz bırakılan tavşanlarda total protein, albümin ve glikoz konsantrasyonlarında önemli bir azalma, ALT ve AST miktarlarında ise önemli bir artış belirlenmiştir. Soliman ve arkadaşları (2001) ise yine tavşanlarda aflatoksinin AST'yi artırdığını be-

lirtirken, serum total protein ve albümin düzeylerinde bir değişiklik gözlemlenemediklerini bildirmektedirler. Abdel Wahab ve ark. (2004) da ratlarda yapmış oldukları çalışmada aflatoksinin ALT ve AST'yi artırdığını, total protein, albümin, kolesterol ve trigliserit düzeylerini ise azalttığını bildirmektedirler. Bizim elde ettiğimiz bulgular da yukarıdaki çalışmaları destekler niteliktedir. Çalışmalarda serum total protein, albümin, total kolesterol, trigliserid ve glikoz seviyelerindeki azalma ile AST ve ALT aktivitesindeki artış aflatoksinin hepatotoksik etkisinden dolayı protein sentezinin inhibisyonu ile karbonhidrat ve lipid metabolizmasının bozulmasından kaynaklanabilir (Arawind ve ark., 2003).

AF'nin olumsuz etkilerini önlemek amacıyla yemlere aflatoksin bağlama özelliğine sahip bazı bileşikler ilave edilmektedir (Eraslan ve ark., 2004). Çalışmada bu amaçla yemlere glukomannan ilavesi yapılmıştır. Eraslan ve ark. 2004 ile Banlura ve ark. (2005) esterifiye glukomannanın broylerlerde aflatoksinin toksik etkisini ortadan kaldırdığını bildirmektedirler. Yine broylerlerde yapılan bir başka çalışmada esterifiye glukomannanın mikotoksinlerin bazı biyokimyasal parametreler ile canlı ağırlık artışı üzerindeki olumsuz etkilerini azalttığı tespit edilmiştir (Arawind ve ark. 2003). Bu çalışmada yalnız glukomannan ilave edilen grupta biyokimyasal parametreler ve antioksidan sistemde kontrol ile kıyaslandığında önemli değişiklikler meydana gelmedi (Tablo 1, 2). Aflatoksinle birlikte glukomannan verilen AG grubundaki MDA, GSH, SOD, kolesterol, glikoz, albumin, total protein düzeylerinin önemli olmamakla birlikte A grubundan yüksek olduğu, AST ve ALT düzeylerinin ise daha düşük olduğu dikkati çekmektedir. Yine AG grubundaki bu değerlerden GSH ve AST düzeyleri hariç diğerlerinin G grubundan farklı olmadığı belirlendi. AG grubu değerlerinin G grubu değerlerine yakın oluşu en azından glukomannanın bu doz düzeyinde etkisini ortaya koymasından önemli olmakla birlikte farklı aflatoksin ve glukomannan dozlarının çalışılması gerekliliği vardır.

Aflatoksinin gerek antioksidan sistem gerekse biyokimyasal parametreler üzerindeki etkileri, hayvanların maruz bırakıldıkları aflatoksin miktarına, hayvan türüne ve toksikasyon süresine bağlı olarak farklılık göstermektedir. Sonuç olarak bu çalışmada elde edilen veriler literatür bilgiye katkı sağlamasının yanı sıra kronik toksikasyonu klinik bulgular ortaya çıkmadan tespiti ve uygulanan glukomannan dozunun etkinliğinin belirlenmesi açısından önem arz etmektedir.

Kaynaklar

- Abdel-Wahhab M.A., Nada S.A., Khalil F.A. (2002) Physiological and toxicological responses in rats fed aflatoxin-contaminated diet with or without sorbent materials. *Animal Feed Sci. Thec.* 97: 209-219.
- Akkuş İ. (1995) Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınevi, Konya. 129-132.
- Arawind K.L., Patil V.S., Devegowda G., Umakantha B., Ganpule S.P. (2003) efficacy of esterified glucomannan to counteract mycotoxicosis in naturally contaminated feed on performance and serum biochemical, haematological parameters in broilers. *Poultry Sci.* 82: 571-576.
- Banlura W, Bintvihok A, Kumagai S. (2005) İmmunohistochemical study of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in duckling liver fed with aflatoxin B1 and esterified glucomannan. *Toxicol.* 46, 954-957.
- Beutler E., Dubon O., Kelly B.M. (1963) Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab. Clin. Med.* 61, 882-888.
- Choudhary A., Verma R.J. (2005) Ameliorative effects of black tea extract on aflatoxin-induced lipid peroxidation in the liver of mice. *Food Chem. Toxicol.* 43 (1), 99-104.
- Çelik İ., Oğuz H., Demet Ö., Boydak M., Dönmez H.H., Sur E., Nizamioğlu F. (2000)a Embryotoxicity Assay of Aflatoxin Produced by *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999. *British Poultry Science*, 41, 401-409.
- Çelik İ., Oğuz H., Demet Ö., Dönmez H.H., Boydak M., Sur E. (2000)b Efficacy of Polyvinylpyrrolidone in Reducing the Immunotoxicity of Aflatoxin in Growing Broilers. *British Poultry Science*, 41, 430-439.
- Çelik İ., Demet Ö., Dönmez H.H., Oğuz H., Boydak M. (1996) Aflatoksin ve Aflatoksin Bağlayıcısı Olan Polivinil Polipirrolidon (PVPP) Verilen Broylerlerde Peritoneal Makrofajların Fagositik ve Mikrobisidal Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Veteriner Bilimleri Dergisi.* 12,1,145-151.
- Eraslan G., Liman B.C., Güçlü B.K., Atasever., Koç A.N., Beyaz L. (2004) Evaluation of aflatoxin toxicity in Japanese quails given various doses of hydrated sodium calcium aluminosilicate. *Bull. Vet. Inst. Pullawy.* 48: 511-517.S
- Erenel G., Erbaş D., Arıcıoğlu A. (1992) Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi Tıp Dergisi.* 3: 243-250.
- Harvey R.B., Kubera L.F., Phillips T.D., Cornier D.E., Ellisade M.H., Huff W.E. (1991) Diminution of aflatoxin toxicity to growing lambs by dietary supplementation with HSCAS. *Am. J. Vet. Res.*, 52: 152-156.
- Keçeci T., Oğuz H., Kurtoğlu V., Demet Ö. (1998) Effects of polyvinylpyrrolidone, synthetic zeolite and bentonite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. *British Poultry Science.* 39, 452-458.

- Kılınç K. (1986) Oxygen radicals: their production, function and toxic effects. *Biyokimya Dergisi*. 9: 3, 59-76.
- Klein P.J., van Vleet T.R., Hall R.A., Coulombe Jr. (2003) Effects of dietary butylated hydroxytoluene on aflatoxin B1 relevant metabolic enzymes in turkeys. *Food and Chemical Toxicology*. 41: 671-678.
- Kubena L.F., Harvey R.B., Philips T.D., Clement B.A. (1993) Effects of hydrate sodium calcium aluminosilicate on growing aflatoxicosis in broiler chicks. *Poultry Science*, 72: 651-657.
- McKean C., Tang L., Billam M., Theodorakis C.W., Kendall R.J., Wang J.S. (2006) Comparative acute and combinative toxicity of aflatoxin B1 and T-2 toxin in animals and immortalized human cell lines. *J. Appl. Toxicol.*, 26 (2): 139-47.
- Meki A.M.A., Esmail E.E.F., Hussein A.A., Hassanein H.M. (2004) Caspase- 3 and heat shock protein-70 in rat liver treated with aflatoxin B1: effect of melatonin. *Toxicol*, 43: 511-517.
- Oğuz H., Keçeci T., Birdane Y.O., Önder F., Kurtoğlu V. (2000) Effect of clinoptilolite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. *Research in Veterinary Science*. 69, 89-93.
- Parlat S.S., Özcan M., Oğuz H. (2001) Biological suppression of aflatoxicosis in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) by dietary addition of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). *Research in Veterinary Sci*. 71: 207-211.
- Raju MVLN., Devegowda G. (2000) Influence of esterified glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicosis (aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin). *Br. Poult. Sci.* 41, 640-650.
- Rastogi R., Srivastava AK., Rastogi KA. (2001) Long term effect of aflatoxin B1 on lipid peroxidation in rat liver and kidney: effect of picroliv and silymarin. *Phytotherapy Research*. 15, 307-310.
- Rosa C.A., Miazzo R., Magnoli C., Salvano M., Chriac S.M., Ferrero S., Saenz M., Carvalho E.C., Dalcero A. (2001) Evaluation of the efficiency of bentonite from the South Argentina to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers. *Poultry Sci*. 80: 139-144.
- Slater TF. (1984) Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*. 105, 283-305.
- Soliman KM., El-Faramawy AA, Zakaria SM., Mekkawy SH. (2001) Monitoring the preventive effect of hydrogen peroxide and gamma-radiation of aflatoxicosis in growing rabbits and the effect of cooking on aflatoxin residues. *J. Agric. Food Chem*. 49(7), 3291-5.
- Yousef Ml., Salem MH., Kamel KI, Hassan GA., El-Nouty FD. (2003) Influence of ascorbic acid supplementation on the haematological and clinical biochemistry parameters of male rabbits exposed to aflatoxin B1. *J. Environ Sci. Health B*. 38 (2), 193-209.