

## Karaciğer Karsinojeni Olan Aflatoksinlerin Biyokimyasal, Histolojik Etkileri ve Sağaltım Seçenekleri

Sefa ÇELİK\*

Geliş Tarihi: 01.08.2001

**Özet:** Aflatoksinler fındık, mısır, soya fasulyesi ve diğer tahıl ürünlerinde, yeterli yükseklikte nem ve ısı varlığında *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Penicillium* ve *Rhizopus* türü mantarlar tarafından üretilirler. Aflatoksikozis dünyanın birçok yerinde yaygın olan bir problemdir ve civciv ve genç kanatlılar üzerinde özellikle ördeklerde, ayrıca hindi, buzağı, kedi ve köpeklerde etkilidir. Toksik etkileri içerisinde mutagenesis, karsinogenesis, teratogenesis ve immun sistemin baskılanması yer alır. Esas olarak etkilenen organ karaciğerdir. Aflatoksinlerin yüksek dozları şiddetli hepatoselluler nekroza sebep olur. Diğer taraftan uzun süreli düşük dozları büyüme hızında yavaşlamaya ve karaciğer büyümesine neden olur.

Hastalığın hikayesi, karaciğerin nekropsisi ve mikroskopik bulguları toksinin tabiatı ile ilişkilidir. Hayvanlarda aflatoksikozisin tanısı için aflatoksinlerin yemdeki varlığı ve düzeyi saptanmalıdır. Bu makalede aflatoksikozisin biyokimyasal, histolojik ve karsinojenik etkileri ve tedavi seçenekleri mevcut literatür ışığı altında tartışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Aflatoksin, karaciğer kanseri, biyokimyasal etkiler, histolojik etkiler, sağaltım.

### The Biochemical and Histological Effects of Hepatocarcinogenic Aflatoxins and Alternative Treatments

**Summary:** Aflatoxins are produced by *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Penicillium spp.* and *Rhizopus spp.* in peanuts, soybeans, corn and other cereals when moisture and temperatures are sufficiently high. Aflatoxicosis is a widespread problem in many parts of the world and affects baby and juvenile poultry, especially ducklings and turkey poults, calves, cats and dogs. Their toxic effects include mutagenesis, carcinogenesis, teratogenesis, and immunosuppression. Liver is the principal organ affected. High doses of aflatoxins causes severe hepatocellular necrosis. On the other hand, prolonged low dosage produces reduced growth rates and liver enlargements.

Disease history, necropsy and microscopic findings of the liver are associated with the nature of the toxin. For diagnosis of aflatoxicosis in animals, the presence and levels of aflatoxins in the feed must be determined. In this article biochemical, histological and carcinogenic effects of aflatoxicosis and alternative treatments have been discussed in the light of the present literature.

**Key Words:** Aflatoxin, liver cancer, biochemical effects, histological effects, treatment.

### Giriş

Aflatoksikozis, insan ve hayvanlarda aflatoksinler tarafından oluşturulan akut veya kronik seyirli bir mikotoksikozistir<sup>5</sup>. Aflatoksikozise neden olan aflatoksinler yapısal olarak

difurokumarinlere benzeyen, başta *Aspergillus flavus* (*A.flavus*) ve *Aspergillus parasiticus* (*A.parasiticus*) olmak üzere çeşitli *Aspergillus* türleri ile *Penicillium* (*P.puberulum* gibi) ve *Rhizopus* türü mantarlar tarafından sentez edilen toksinlerdir. Bunlardan *A.flavus* Aflatoksin B1

\* Yrd. Doç. Dr.; Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Antakya/Hatay-TÜRKİYE.

(AFB1) ve AFB2; *A.parasiticus* da AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2 toksinlerini üretirler. Özellikle bu son iki tür dünyanın her yerinde, toprak ve havada yaygın şekilde bulunurlar. Aflatoksin oluşturan mantarlar, 12-40°C arasında ve %15'in üzerinde rutubet içeren başta mısır, pamuk tohumu ve yer fıstığı olmak üzere, hemen her çeşit tahıllar, yem ve yem hammaddeleri ile besinlerde kolayca ürerler ve mikotoksin sentezleyebilirler. *A.flavus*, %86-90 nisbi nemde 48 saat içinde önemli ölçüde mikotoksin oluşturur<sup>4,11,18,21,24</sup>. Yem ve besinlerle alınan aflatoksinler sindirim kanalından sınırlı ölçüde emilirler. Dolaşıma geçen aflatoksinler başlıca karaciğer ve kaslarda dağılım gösterirler. Vücuda giren aflatoksinin %75'lik kısmı ilk 24 saat içinde dışkı, %15-20'lik kısmı idrarla ve geri kalanı da değişmemiş ya da metabolitleri halinde sütle atılırken<sup>21</sup>; %5-6'lık kısmı karaciğerde tutulur. Sütçü ineklere 10 gün boyunca %15 oranında aflatoksin içeren yemle uygulanan beslemede, 9. günde yapılan ölçümlerde AFB1'in %23-67'lik kısmının idrar ve gaita ile, %1,35'lik kısmının da sütle atıldığı saptanmıştır<sup>16</sup>. Aflatoksinli yemlerle beslenen ineklerin süt ve etlerinde, tavukların da yumurtalarında aflatoksin rastlanmıştır. Sütle çıkarılması, et ve süt mamüllerinde bulunması insanlar için büyük bir tehlike oluşturmaktadır<sup>5</sup>. Mikotoksinler, akut toksikozisten uzun süreli kronik sağlık sorunlarına kadar varabilen geniş bir etki spektrumuna sahiptirler. Bazı mikotoksinler insan toksikoz-larının esas kaynağını oluşturabilir ki; en basit olarak AFB1 insan karaciğer kansinijeni olarak bilinir<sup>8</sup>.

Evcil ve deney hayvanlarında aflatoksinlerin zehirliliği hayvanın cinsi, cinsiyeti, ırkı, yaşı, alınan toksinin çeşidi ve miktarı, maruz kalma süresi gibi birçok faktöre bağlıdır. Ayrıca zehirlilikleri riboflavin ve ışığa maruz kalmakla, vitamin B<sub>12</sub>, karoten ve protein noksanlıklarında artar. Evcil hayvanlar içerisinde erkekler dişilerden daha duyarlıdır. Kanatlılar içerisinde de aflatok-sine en duyarlı olanları ördek ve hindi palazlarıdır<sup>5,21</sup>.

Aflatoksinler içerisinde zehirliliği en güçlü olanı AFB1'dir. Bunu azalan sırayla AFG1, AFB2 ve AFG2 izler. Hayvanların çoğunda AFB1'in ÖD<sub>50</sub> değeri 0.5-10 mg/kg arasında değişir. Ördek, alabalık, kedi, köpek, hindi gibi hayvanlar en duyarlı; at, sığır, koyun, keçi, rat, kobay, bildircin gibi hayvanlar orta derecede duyarlı; fare ve maymun ise en az derecede duyarlı hayvanlar olarak bilinir<sup>21</sup>.

## Aflatoksinlerin Etkileri

Hayvanların duyarlılığı ve alınan toksinin miktarına bağlı olarak aflatoksinler akut, subakut ve kronik nitelikte zehirlenmelere yol açarlar. Kronik zehirlenmeler hayvanlarda özellikle bağışıklık sisteminin baskılanmasına yol açarak birçok hastalığın ön plana çıkmasına sebep olur.

En önemli mikotoksinler içerisinde yer alan aflatoksinler hepatotoksik ve hepatokarsi-nojenik etkilere sahiptirler<sup>8,12,34</sup>. Çok sayıda canlı türünde besinlerden yararlanmada ve canlı ağırlık kazancında azalma, immun sistemin baskılanması, karaciğer fonksiyon bozukluğu ve kanın pıhtılaşmasında bozukluklara sebep olurlar<sup>26</sup>. Gelişme hızında yavaşlama, yemin değerlendirilmesinde azalma, yumurta verimi, yumurta ağırlığı ve karkas kalitesinde azalma, bağışıklık sisteminin baskılanması ve hastalıklara duyarlılıkta artış yemlerde küçük miktarlarda toksinlerin yol açtığı etkilerdir. Daha az tehlikeli olmalarına rağmen bu tür toksikasyonlar özellikle kanatlılarda olmak üzere hayvanlarda ekonomik yönden son derecede önemlidirler<sup>21</sup>.

Aflatoksin uygulanan tavuklardan elde edilen yumurtalardan çıkan civcivlerde, immuno-lojik aktivite ile ilgili olarak yapılan testlerde makrofajların fagositik aktivitelerinde azalma, ayrıca yüksek oranda embriyonik ölümler ve kuluçkadan çıkış oranında azalma saptanmıştır<sup>26,27</sup>. Aflatoksinler, hayvanların üreme yeteneği üzerine önemli olumsuz etkilere sahiptirler. Leghorn ırkı horozlar üzerinde yapılan bir çalışmada semen hacmi, testis büyüklüğü, spermatokrit ve plazma testosteron düzeylerinin, aflatoksin verilen grupta kontrol grubuna göre önemli ölçüde değiştiği saptanmıştır. Aflatoksin verilen grupta yem tüketimi ve yemden yararlanma da azalmıştır<sup>18, 31, 32</sup>.

Aflatoksinlerin öldürücü olmayan dozlarının etkileri hayvanların yaşam performanslarında düşmeye neden olmaktadır. Bu etkileri çok kısa sürede ortaya çıkabilmektedir. Yemle birlikte 5 µg/g düzeyde aflatoksinle 4 hafta beslemeye alınan tavuklarda, uygulamanın 1.haftasında alınan fertil yumurtalardan civciv çıkma oranında önemli bir azalma görülmüştür<sup>17</sup>.

**Akut etkiler:** Aflatoksinlerle akut zehirlenmede hayvanlarda ani ölüm veya iştahsızlık, solunum güçlüğü, burun akıntısı, durgunluk, anemi, öksürük, kanlı ishal, çirpınmalar, bitkinlik, akut karaciğer hasarı,

kapillar damar dayanıklılığında azalma, organlarda kanama ve hızlı ölümler görülür<sup>21</sup>.

**Subakut etkiler:** Subakut olgularda sarılık, hematoma, kanamalı bağırsak yangısı ve trombosit sayısında azalma dikkat çeker. Karaciğerde nekroz, pıhtılaşma mekanizmasında bozulma, sarılık ve serum proteinlerinde azalma vardır. Muköz zarlarda ve vücut boşluklarında yaygın kanamalar görülür<sup>21</sup>.

**Kronik etkiler:** Kronik zehirlenme gelişme hızı, yem tüketimi ve yemden yararlanmanın azalması, kıl örtüsünün bozulması, kansızlık, özellikle etlik piliçlerde karkas kalitesinde düşme, karnın büyümesi, sarılık, iştahsızlık ve bağışıklık sisteminin bozulmasıyla karakterizedir. Sığırlarda yavru atma, süt veriminde azalma veya tamamıyla kesilme oluşabilir. Serum ve karaciğerdeki vitamin A düzeyi azalır ve protein sentezi bozulur. Protein sentezinin engellenmesi yemle alınması gereken protein miktarını artırır. Kanatlılarda iştahsızlık, yem tüketiminde azalma, yumurta veriminde ve yumurtadan çıkma oranında düşme şekillenir<sup>21</sup>.

Sıralanan akut ve kronik zehirlenme belirtileri yönünden hayvan türleri arasında bir ölçüde farklılıklar olsa da, değişik derecede karaciğer hasarı, kanın pıhtılaşma yeteneğinde bozulma ve bağışıklık sisteminin baskılanması gibi belirtiler vardır<sup>21</sup>.

#### **Aflatoksinlerin etki mekanizması**

AFB1 etkili hüresel hasarın mekanizması tam olarak açık değildir. Amstad ve ark.<sup>2</sup>'nin in vitro çalışmalarında, AFB1'in, reaktif oksijen türlerinin içinde bulunduğu serbest radikallerin salınımını uyardığı saptanmıştır. Bu serbest radikaller kromozomlarda hasara neden olmaktadır. Nakae ve ark.<sup>22</sup> süperoksit dismutaz, katalaz ve deforaximin'in, AFB1'in rat karaciğer hücreleri üzerindeki öldürücü etkisini engellediklerini saptamışlardır. Bu bilgi, reaktif oksijen türlerinin AFB1 tarafından oluşturulan hücre toksikasyonu-nunda önemli bir role sahip olduklarını kanıtlamaktadır. Süperoksit dismutaz, katalaz gibi enzimatik sistemler, oksijen radikallerini etkisiz hale getiren antioksidatif sistemlerdir<sup>22</sup>.

Doymamış yağ asitlerinin bir tip oksidatif yıkımlanma şekli olan lipid peroksidasyonu, membran yapısında değişiklikler ve enzim inhibisyonu ile ilişkilidir. AFB1 ilişkili hepatotoksitede enzimatik olmayan lipid peroksidasyonu-

nun yüksek düzeyde gerçekleşmesi hücre membranlarında hassasiyet artışına ve hasara neden olmaktadır<sup>29,33</sup>.

AFB1'in merkezi sinir sistemi üzerindeki etkileri özellikle serebral korteks, serebellum, hipotalamus ve medulla oblongata üzerinde şekillenmektedir. AFB1'in bu yöndeki etkileri daha çok tirozin'den kateşolamin nörotransmitter oluşumu aşamasındadır ve dopamin ile serotoninde önemli düzeyde azalmalar meydana gelmektedir<sup>9</sup>.

**Biyokimyasal etkiler:** Aflatoksinlerle zehirlenmelerde klinik belirtiler ortaya çıkmadan önce, yemdeki toksin düzeyine ve maruz kalma süresine göre hücre ve dokularda görülen hasara bağlı olarak biyokimyasal değişiklikler şekillenir. Serum alkali fosfataz (ALP), aldolaz, gammaglutamil transferaz (GGT), asit fosfataz, laktik dehidrojenaz (LDH), ornitin karbamoil transferaz, alanin aminotransferaz (ALT), aspartat amino transferaz (AST), lipit peroksidaz ve izositrik dehidrojenaz etkinliği ile serum bilirubin düzeyi artarken; serum protein, protein kaynaklı olmayan azot, üre, hemoglobin ve pıhtılaşma faktörlerinin miktarı önemli ölçüde azalır<sup>4,11,18,21,24</sup>. Ayrıca süksinat dehidrojenaz, glikoz-6-fosfataz, glutasyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz ve glutasyon redüktaz enzim aktivitelerinde de azalma meydana gelmektedir<sup>1,4,11,18,24</sup>.

Serum ALT, AST, ALP, asit fosfataz ve LDH düzeylerindeki artışlar karaciğer hasarının diagnostik göstergeleri olarak bilinir. Hepatosellüler lezyonların ve parenşimal hücre nekrozlarının bulunduğu karaciğer hasarlarında olduğu gibi, bu enzimler kan dolaşımına salınırlar<sup>3,36</sup>.

Tavuklara 2 mg/kg düzeyinde aflatoksin verilmesi sonucu, 5 gün gibi kısa bir sürede plazma Vit D düzeyinde azalma şekillenmiştir. Uygulamanın 10. gününde idrar akış hızı, fraksiyonel Na<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup> atılımında azalma saptanmıştır. Bunların yanında total plazma Ca<sup>++</sup>unda azalmaya ve fraksiyonel Ca<sup>++</sup> atılımında artmaya eğilim saptanmıştır. Aflatoksin uygulanan kanatlılarda, damar içi yapılan fosfat yüklemesi idrar H iyonu konsantrasyonunda ciddi bir artışa neden olmuştur. Toksin uygulamasının kesilmesinden 10 gün sonra glomeruler filtrasyon hızında azalma ve plazma ozmolalitesinde artış saptanması aflatoksinlerin böbrek fonksiyonları

üzerinde uzun süreli değişikliğe neden olabileceğini göstermektedir<sup>13</sup>.

**Karsinojenik etki:** Aflatoksinler bilinen en güçlü karaciğer karsinojenidirler<sup>8,21</sup>. Çok sayıda hayvan grubunda bu etkilerini gösterirler. Yemlerle birlikte 15 ppb aflatoksin bir kez bile maruz kalınması durumunda dişi ratlarda 80 ve erkek ratlarda 70 haftada %100'e varan oranda karaciğer kanseri oluşabilmektedir. Aflatoksinler ayrıca böbrek tümörlerine, kolonik müsinöz adenokarsinoma, sarkom ve fibrosarkoma sebep olurlar<sup>21</sup>.

**Otopsi bulguları :** Aflatoksinlerle zehirlenme sonucu ölen hayvanlarda karşılaşılan organ lezyonlarının başlıcaları sarılık, yaygın kanamalar, hemorajik mide-bağırsak yangısı, karaciğer nekrozu ve yangısı, akut olaylarda karaciğer büyümesi, kronik olaylarda karaciğer fibrozu ve sirozu, karın ve göğüs boşluklarında sıvı toplanması, iç organlar ve safra kesesi duvarında ödemdir<sup>17,21</sup>.

**Histopatolojik değişiklikler:** Aflatoksinler tarafından oluşturulan histopatolojik etkiler özellikle karaciğer ve safra kanalı hücrelerinde görülmektedir. Bu etkiler safra kanalı hücre hiper-plazisi, çekirdek büyümesi, nükleus inklüzyonları ve hepatositlerde büyüme şeklindedir<sup>15</sup>.

### Tanı

Aflatoksin zehirlenmelerinin tanısı klinik bulgular, laboratuvar analizleri ve bazı faktörlerin birlikte değerlendirilmesiyle yapılabilir. Hayvanların küflü yemleri yemelerini takiben karaciğer hasarı ve kanda pıhtılaşma bozukluğunu gösteren belirtilerin ortaya çıkması aflatoksinlerden ileri gelen bir olayı işaret eder. Ancak süt ve diğer hayvansal verimlerde giderek azalma, yemden faydalanma ve ağırlık kazancında düşme, bağışıklık sisteminin baskılanması sonucu bazı hastalıkların ön plana çıkmasıyla seyreden kronik olaylar genellikle gözden kaçabilir. Bu nedenle kronik zehirlenmelerin tanısında hayvanlara verilen yem ve yem hammaddelerinin analizi önemlidir. Aflatoksin zehirlenmeleri, kanın pıhtılaşmasındaki bozukluktan dolayı pıhtılaşmayı engelleyen maddeler (warfarin, dikumarol), karaciğere olan etkilerinden dolayı karbon tetraklorür, pirazolidin alkoloidleri ve kömür katranı zehirlenmeleriyle karışabilir<sup>21</sup>.

### Sağaltım

Mikotoksinlerin olumsuz etkilerini önlemek için yapılacak ilk uygulama tarla şartlarında küflenme ve mikotoksinlerle kirlenmenin önlenmesidir. Bunu takiben ürünün hasat edilmesi, kurutulması, taşınması ve depolanması aşamasında gerekli hassasiyetin gösterilmesi gerekir. Mikotoksinlerle kirlenmenin olduğu alanlarda fiziksel ve kimyasal metotlarla mikotoksinlerin ayrılması veya yıkılması işlemlerine başvurulabilir. Ancak bunların ekonomik olmaması veya ürünün besin değerinde azalmaya sebep olması gibi riskleri vardır. Günümüzde en sık başvurulan yöntemler arasında ise bentonit, polivinil pirrolidin (PVP), silikatlı bileşikler ile bağlayıcı maddelerin şüpheli yemlerle muamelesi gelmektedir<sup>20</sup>.

Aflatoksinler de dahil, mikotoksinlerden ileri gelen zehirlenmelerde etkili bir sağaltım bilinmemektedir. Öncelikle olaya sebep olan yem kesilerek, hayvanlara kolay sindirilebilir ve yeterli protein ihtiva eden ve yağ oranı düşük yemler verilmelidir. Aflatoksinlerden ileri gelen zehirlenmelerde vitamin A ve D'nin, bazı mineraller ile proteinlerin koruyucu etkileri vardır. Yemlerin mineral madde, vitamin ve diğer besin unsurları bakımından desteklenmesi, özellikle kanatlılar olmak üzere, hayvanları orta dereceli aflatoksin zehirlenmelerine karşı koruyabilir. Yemlere 1-2 ppm selenyum, 100 ppm bakır, %0.1-0.15 oranlarında kolin ve metiyonin katılması son derece yararlı olmaktadır. Aflatoksinler protein yapımını engelledikleri için yemlerin, özellikle kükürtlü aminoasitleri içeren proteinlerle desteklenmesi korunmada önemlidir. Bunun dışında yemlere değişik bağlayıcı ajanlar katılabilir. Bunlar içerisinde özellikle sulu sodyum kalsiyum alüminyum silikat sıklıkla kullanılmaktadır. Genel sağaltım amacıyla da hayvanlara analeptiklerin, kuvvetlendirici ilaçların verilmesi, toksinlerin uzaklaştırılması için de sürgütlerin ve işteticilerin verilmesi yararlı olmaktadır<sup>21</sup>.

A, C, E vitaminleri ve selenyum karaciğerin mikrozomal enzimlerini aktive ederek aflatoksikozise bağlı olarak şekillenen karaciğerde kanser oluşumunu engellemektedirler<sup>23,35</sup>. Mikrozomal enzimler, aflatoksinleri karsinojenik olmayan metabolitlere dönüştüren enzimlerdir<sup>10,25</sup>. Vitamin E'nin antikanserojenik etkisi vitamin C'ye oranla daha yüksektir<sup>14,28</sup>.

Vitamin A'nın öncül maddeleri olan karotenoidler de karaciğeri aflatoksinlerin kanser yapıcı etkilerine karşı koruma özelliğine sahiptirler<sup>6</sup>. Selenyum ve vitamin E noksanlığı durumunda aflatoksinlerin *in vivo* olarak zararsızlaştırılmaları işlemlerinde aksamalar meydana gelmektedir. Bu tür vitamin ve mineral noksanlıkları bir bakıma aflatoksinlerin aktivasyonunu teşvik etmekte, zararlı etkilerinin daha şiddetli düzeylerde sonuçlanmasına olanak sağlamaktadır<sup>6,7</sup>.

Aflatoksin içeren yemlere bağlı olarak safra kanalı hücre hiperplazisi, çekirdek büyümesi, karaciğer hücre büyümesi gibi bozukluklar mangan sülfat ilavesiyle önemli düzeyde engellenmiştir. Ayrıca hayvanlarda aflatoksikozise bağlı olarak şekillenen serum kolesterolü ve karaciğer glikojenindeki artışlar da mangan sülfat ilavesiyle azaltılmıştır<sup>15</sup>.

Hayvanların yemlerine karnitin ilavesinin de faydalı olacağı bildirilmektedir. Bu yönde yapılan bir çalışmada, aflatoksinli yemlere karnitin ilavesi ile karaciğerde meydana gelen bozuklukların azaldığı, aflatoksin etkili yağlı karaciğer olgusunun karnitin tarafından engellendiği saptanmıştır<sup>30</sup>.

## Kaynaklar

1. ALLER WW JR, EDDS GT, ASQUITH, RL. Effects of aflatoxins in young ponies. American Journal of Veterinary Research, 42(12):2162-4 (1981).
2. AMSTAD P, LEVY A, EMERIT I, CERUTTI P. Evidence for membrane mediated chromosomal damage by aflatoxin B<sub>1</sub> in human lymphocytes. Carcinogenesis, 5: 719-723 (1984).
3. ANANDAN R, REKHA RD, DEVAKI T. Protective effect of Picrorhiza kurroa on mitochondrial glutathione antioxidant system in D-galactosamine induced hepatitis in rats. Sci. Corr., 76: 1543-1545 (1999).
4. ANGSUBHAKORN S, GET NP, MIYAMOTO M, BHARMARPRAVATI, N. A single dose response effect of aflatoxin B<sub>1</sub> on rapid liver cancer induction in two strains of rats. Int. J. Cancer, 46: 664-668 (1990).
5. ARDA M. Mikoloji (Genel ve Özel). Ankara Üniversitesi Basımevi, 260-269, (1980).
6. CASSAND P, DECOUDU S, LEVEQUE F, DAUBEZE M, NARBONNE JF. Effect of vitamin E dietary intake on in vitro activation of aflatoxin B<sub>1</sub>. Mutat Res, 319(4): 309-16 (1993).
7. CHEN J, GOETCHIUS MP, COMBS GF, CAMPBELL TC. Effects of dietary selenium and vitamin E on covalent binding of aflatoxin to chick liver cell macromolecules. Journal of Nutrition, 112(2): 350-5 (1982).
8. COULOMBE RA JR. Biological action of mycotoxins. Journal of Dairy Science, 76(3): 880-91 (1993).
9. COULOMBE RA JR, SHARMA RP. Clearance and excretion of intratracheally and orally administered aflatoxin B<sub>1</sub> in the rat. Food and Chemical Toxicology, 23(9): 827-30 (1985).
10. DAVILA JC, EDDS GT, OSUNA O, SIMPSON CF. Modification of the effects of aflatoxin B<sub>1</sub> and warfarin in young pigs given selenium. Am J Vet Res, 44(10): 1877-83 (1983).
11. DWIVEDİ Y, RASTOGİ R, MEHROTRA R, GARG NK, DHAWAN BN. Picroliv protects against aflatoxin B<sub>1</sub> acute hepatotoxicity in rats. Pharmacol. Res., 27: 189-199 (1993).
12. ENRIQUEZ B. Mycotoxins. Contaminants of animal and human foods. Annales Pharmaceutiques Francaises, 58(6 Suppl): 464-469 (2000).
13. GLAHN RP, BEERS KW, BOTTJE WG, WIDEMAN RF JR, HUFF WE. Aflatoxicosis alters avian renal function, calcium, and vitamin D metabolism. Journal of Toxicology and Environmental Health, 34(3): 309-21 (1991).
14. HARVEY RB, KUBENA LF, ELİSSALDE MH. Influence of vitamin E on aflatoxicosis in growing swine. Am J Vet Res, 55(4): 572-7 (1994).
15. HASTINGS CE JR, LLEWELLYN GC. Reduced aflatoxicosis in livers of hamsters fed a manganese sulfate supplement. Nutrition and Cancer, 10(1-2): 67-77 (1987).
16. HOOGENBOOM LA, TULLIEZ J, GAUTIER JP, COKER RD, MELCION JP, NAGLER MJ, POLMAN TH, DELORT-LAVAL J. Absorption, distribution and excretion of aflatoxin-derived ammoniation products in lactating cows. Food Additives and Contaminants, 18(1): 47-58 (2001).
17. HOWARTH B JR, WYATT RD. Effect of dietary aflatoxin on fertility, hatchability, and progeny performance of broiler breeder hens. Applied and Environmental Microbiology, 31(5): 680-4 (1976).
18. HSEİEH DPH, ATKINSON DN. Bisfuranoid mycotoxins: Their genotoxicity and carcinogenicity. In: Biological reactive intermediates. Ed.: C. M. Witmer. Plenum, New York, IV, 525-532, 1990.
19. IBEH IN, SAXENA DK, URAIH N. Toxicity of aflatoxin: effects on spermatozoa, oocytes, and in vitro fertilization. Journal of Environmental

- Pathology, Toxicology and Oncology, 19(4): 357-61 (2000).
20. KAYA S, BAYDAN E, YARSAN E, ÖZDEMİR M, ÇELİK S. Etlik piliçlerde sulu sodyum kalsiyum alüminyum silikat'ın B1- Vitamin A ve C'yi bağlama kapasitesi. *Çiftlik Dergisi*, 70-74 (2000).
  21. KAYA S, PİRİNÇÇİ İ, TRAŞ B, BİLGİLİ A, BAYDAN E, AKAR F, DOĞAN A. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. *Medisan Yayın Serisi*:35, 341-375, (1998).
  22. NAKAE D, KONISHI Y, FARBER JL. A role for oxygen radicals in the hepatotoxicity of aflatoxin B<sub>1</sub> and dimethyl nitrosamine. *Proc. Jap. Cancer Assoc*, 38 (1987).
  23. NETKE SP, ROOMÍ MW, TSAO C, NIEDZWIECKÍ A. Ascorbic acid protects guinea pigs from acute aflatoxin toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol*, 143(2): 429-35 (1997).
  24. NIXON JE, HENDRICK JD, PAWLOWSKI NE, LOVELAND PW, SINNHUBER RO. Carcinogenicity of aflatoxin in Fisher 344 rats. *J. Natl. Cancer Inst*, 66: 1159-1163 (1981).
  25. NYANDIEKA HS, WAKHISI J. The impact of vitamins A,C,E, and selenium compound on prevention of liver cancer in rats. *East Afr Med J*, 70(3): 151-3 (1993).
  26. QUIST CF, BOUNOUS DI, KILBURN JV, NETTLES VF, WYATT RD. The effect of dietary aflatoxin on wild turkey poults. *Journal of Wildlife Diseases*, 36(3): 436-44 (2000).
  27. QURESHI MA, BRAKE J, HAMILTON PB, HAGLER WM JR, NESHEIM S. Dietary exposure of broiler breeders to aflatoxin results in immune dysfunction in progeny chicks. *Poultry Science*, 77(6): 812-9 (1998).
  28. RAİNA V, GURTOO HL. Effects of vitamins A, C, and E on aflatoxin B1-induced mutagenesis in *Salmonella typhimurium* TA-98 and TA-100. *Teratog Carcinog Mutagen*, 5(1): 29-40 (1985).
  29. RAVI R, KUMAR SA, KUMAR RA. Biochemical changes induced in liver and serum of aflatoxin B<sub>1</sub>-treated male Wistar Rats: preventive effect of picroliv. *Pharmacology and Toxicology*, 88(2): 53-58 (2001).
  30. SACHAN DS, YATİM AM. Suppression of aflatoxin B1-induced lipid abnormalities and macromolecule-adduct formation by L-carnitine. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 11(4): 205-10 (1992).
  31. SHARLIN JS, HOWARTH B JR, THOMPSON FN, WYATT RD. Decreased reproductive potential and reduced feed consumption in mature white leghorn males fed aflatoxin. *Poultry Science*, 60(12): 2701-8 (1981).
  32. SHARLIN JS, HOWARTH B JR, WYATT RD. Effect of dietary aflatoxin on reproductive performance of mature White Leghorn males. *Poultry Science*, 59(6): 1311-5 (1980).
  33. SHEN HM, SHI CY, LEE HP, ONG CN. Aflatoxin B1-induced lipid peroxidation in rat liver. *Toxicol Appl Pharmacol*, 127(1): 145-50 (1994).
  34. SMELA ME, CURRIER SS, BAILEY EA, ESSIGMANN JM. The chemistry and biology of aflatoxin B(1): from mutational spectrometry to carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 22(4): 535-45 (2001).
  35. YU MW, ZHANG YJ, BLANER WS, SANTELLA RM. Influence of vitamins A, C, and E and beta-carotene on aflatoxin B1 binding to DNA in woodchuck hepatocytes. *Cancer*, 73(3): 596-604 (1994).
  36. ZİMMERMAN HJ, SEEFF LB. Enzymes in hepatic disease. In: *Diagnostic enzymology*. Lea and Febiger, Philadelphia, 1-38, (1970).