

ВПЛИВ АФЛАТОКСИНУ В1 НА ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ БАЛАНС У КЛІТИНАХ БІЛИХ ЩУРІВ

Н. К. Гойванович
natahoyvan@gmail.com

Дрогобицький державний педагогічний університет імені І. Франка,
вул. Т. Шевченка, 23, м. Дрогобич, Львівська обл., 82100, Україна, bioddpu@ukr.net

У статті наведено результати досліджень впливу афлатоксину В1 (AFB1) на активність ензимів антиоксидантної системи (глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза та глутатіон-S-трансфераза) та вмісту відновленого глутатіону в клітинах органів (печінка, головний мозок, нирки). Антиоксидантна система перешкоджає накопиченню токсичних продуктів перекисного окиснення ліпідів, відіграє важливу роль в детоксикації, деградації та виведенні із організму чужорідних органічних субстанцій.

Дослідним щурам упродовж 14-ти діб щодоби вводили афлатоксин В1 в дозі 0,025 мг/кг маси тіла. У досліджуваних органах за умов щоденної інтоксикації відбувається активізація процесів антирадикального захисту. Встановлено, що за умов інтоксикації афлатоксином В1 антиоксидантна система відіграє важливу роль у зменшенні токсичних ефектів токсину. За тривалої інтоксикації знижується активність ензимів антиоксидантної системи: глутатіонпероксидазна, глутатіонредуктазна та глутатіон-S-трансферазна активність і вміст відновленого глутатіону. Динаміка глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази в клітинах щурів, яким вводили AFB1, вказує на виснаження резервів глутатіон-відновлювальної біохімічної системи. Аналізуючи функціональну активність глутатіон-S-трансферази, потрібно зазначити, що за умов щодобового введення афлатоксину в організм щурів активність ензиму значно знижується на 7-му і 14-ту доби експерименту. Очевидно, це відбувається внаслідок інактивації молекул ензиму шляхом зв'язування їх із продуктами біотрансформації афлатоксину.

Результати досліджень вказують на розвиток оксидативного стресу в досліджуваних клітинах під впливом афлатоксину В1. Водночас одним із механізмів шкідливої дії афлатоксинів може бути індукція процесу утворення вільних радикалів та ініціація реакцій перекисного окиснення ліпідів, що призводить до зниження антиоксидантного захисту. Отримані результати вказують на значні зміни прооксидантно-антиоксидантного балансу клітин за умов тривалої інтоксикації афлатоксином В1.

Ключові слова: АФЛАТОКСИН В1, АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА, ВІДНОВЛЕНИЙ ГЛУТАТІОН, ГЛУТАТІОНРЕДУКТАЗА, ГЛУТАТІОНПЕРЕОКСИДАЗА, ГЛУТАТІОН-S-ТРАНСФЕРАЗА, ПЕЧІНКА, ГОЛОВНИЙ МОЗОК, НИРКИ

INFLUENCE OF AFLATOXIN B1 ON PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN CELLS OF WHITE RATS

N. K. Hoiyvanovych
natahoyvan@gmail.com

Drohobych State Pedagogical University named after Ivan Franko,
23 T. Shevchenko str., Drohobych, Lviv region, 82100, Ukraine, bioddpu@ukr.net

The article presents the results of the researches of influence of aflatoxin B1 (AFB1) on activity of enzymes of the antioxidant system (glutathione peroxidase, glutathione reductase and glutathione-S-transferase) and content of renewed glutathione in the cells of organs (liver, brain, kidneys). The antioxidant system prevents accumulation of toxic products of an oxidization peroxide of lipids; it plays an important role in detoxication, degradation and leading foreign organic substances out from the organism.

The experimental rats during 14 days received the aflatoxin B1 in a dose 0,025 mg/kg of the body weight. In the investigated organs under the influence of the protracted intoxication the processes of decompensation of antiradical defence are activated. It is established that under the influence of intoxication with the aflatoxin B1 the antioxidant system plays an important role in reduction of toxic effects of the toxin. During the protracted intoxication the activity of enzymes of the antioxidant system (glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione-S-transferase activity and glutathione content) is decreasing. The dynamics of glutathione reductase

and glutathione peroxidase in the cells of rats which received AFB1 indicates the exhaustion of backlogs of the glutathione renewable biochemical system. When analysing functional activity of glutathione-S-transferase, it is important to mention that under the influence of daily application of aflatoxin to the organism of rats the activity of the enzyme is considerably decreased on 7th and 14th day of experiment. For certain, it takes place as a result of inactivation of molecules of the enzyme by binding them with products of biotransformation of aflatoxin.

The results of researches testify the development of the oxidative stress in the investigated cells under action of aflatoxin B1. **At the same time, the mechanisms of pathogenic action of aflatoxins can result in induction of formation process of the free radicals and initiation of reactions of lipid peroxidation which causes the decrease of antioxidant defence. The received results testify the considerable changes of prooxidant-antioxidant balance of cells under the influence of the protracted intoxication by the aflatoxin B1.**

Keywords: AFLATOXIN B1, ANTIOXIDANT SYSTEM, RENEWED GLUTATHIONE, GLUTATHIONE REDUCTASE, GLUTATHIONE PEROXIDASE, GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE, LIVER, BRAIN, KIDNEYS

ВЛИЯНИЕ АФЛАТОКСИНА В1 НА ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС В КЛЕТКАХ БЕЛЫХ КРЫС

Н. К. Гойванович

natahoyvan@gmail.com

Дрогобычский государственный педагогический университет имени Ивана Франко, ул. И. Франко, 24, г. Дрогобыч, Львовская обл., 82100, Украина, bioddp@ukr.net

В статье приведены результаты исследований влияния афлатоксина В1 (AFB1) на активность энзимов антиоксидантной системы (глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза и глутатион-S-трансфераза) и концентрация восстановленного глутатиона в клетках органов (печень, головной мозг, почки). Антиоксидантная система препятствует накоплению токсичных продуктов окисления перекиси липидов, играет важную роль в детоксикации и выведении из организма инородных органических субстанций.

Исследуемым крысам на протяжении 14-ти суток ежедневно вводили афлатоксин В1 в дозе 0,025 мг/кг массы тела. В исследуемых органах при условиях ежедневной интоксикации происходит активизация процессов антирадикальной защиты. Установлено, что при интоксикации афлатоксином В1 антиоксидантная система играет важную роль в уменьшении токсичных эффектов токсина. При длительной интоксикации снижается активность энзимов антиоксидантной системы: глутатионпероксидазная, глутатионредуктазная и глутатион-S-трансферазная активность и концентрация восстановленного глутатиона. Динамика глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы в клетках крыс, которым вводили AFB1, **свидетельствует об истощении резервов глутатион-восстановительной биохимической системы.** Анализируя функциональную активность глутатион-S-трансферазы, нужно отметить, что при ежедневном введении афлатоксина крысам активность энзима значительно снижается на 7-ые и 14-ые сутки эксперимента. Вероятно, это происходит в результате инактивации молекул энзима путем связывания их с продуктами биотрансформации афлатоксина.

Результаты исследований свидетельствуют о развитии оксидативного стресса в исследуемых клетках под воздействием афлатоксина В1. **В то же время одним из механизмов действия афлатоксина может быть индукция процесса образования свободных радикалов и инициация реакций перексидного окисления липидов, которое приводит к снижению антиоксидантной защиты.** Полученные результаты свидетельствуют о значительных изменениях прооксидантно-антиоксидантного баланса клеток при длительной интоксикации афлатоксином В1.

Ключевые слова: АФЛАТОКСИН В1, АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА, ВОССТАНОВЛЕННЫЙ ГЛУТАТИОН, ГЛУТАТИОНРЕДУКТАЗА, ГЛУТАТИОН-ПЕРОКСИДАЗА, ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗА, ПЕЧЕНЬ, ГОЛОВНОЙ МОЗГ, ПОЧКИ

Афлатоксин В1 (AFB1) — це один з найнебезпечніших природних токсинів, який може надходити в організм тварин з кормами за умов забруднення їх грибами-мікроміцетами

роду *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. parasiticus*) [3, 8, 18, 24]. Цей мікотоксин проявляє мутагенні, канцерогенні, тератогенні та імуносупресивні властивості і може спричиняти ураження

організму тварин і людини впродовж короткого періоду часу [1, 15, 20, 22, 23].

Важливим показником функціонального стану клітин живого організму є стан антиоксидантної системи, яка захищає клітини від пошкоджень, зумовлених дією активних форм Оксигену (АФО). Утворення останніх зростає під впливом різноманітних токсикантів [4, 7, 10]. Основну роль у реалізації антирадикального та антипероксидного захисту клітин відіграє антиоксидантна глутатіонова система [13]. Узгоджена дія всіх її компонентів (відновленого глутатіону, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глутатіон-S-трансферази) сприяє збереженню антиоксидантного гомеостазу. Ця система забезпечує детоксикацію пероксидів, органічних гідрпероксидів, інактивацію вільних радикалів. Відомо, що ензимна редокс-система глутатіону відіграє провідну роль у забезпеченні життєдіяльності клітин [6]. Адже відновлений глутатіон, окрім забезпечення антиоксидантного захисту, детоксикації, відомий своєю участю в модуляції редокс-регульованої сигнальної передачі, регуляції клітинної проліферації, диференціювання клітин, запасанні та транспортуванні цистеїну, в синтезі дезоксирибонуклеотидів, регуляції імунної відповіді, синтезі білків [19]. Глутатіон модулює клітинну відповідь на редокс-зміни, асоційовані з наявністю активних форм кисню. Відновлений глутатіон є найбільш важливим внутрішньоклітинним захисним агентом органів ссавців [3].

Відомо, що найбільшого ризику ураження внаслідок надходження до організму AFB1 зазнають гепатоцити, в яких відбувається акумуляція та часткова детоксикація цього токсину. Вплив AFB1 на клітини печінки супроводжується пригніченням синтезу білків та іншими шкідливими метаболічними ефектами [4, 9, 14, 25]. Дисбаланс, який постає в системі прооксиданти-антиоксиданти внаслідок надходження афлатоксину в організм, значною мірою впливає на перебіг біохімічних і фізіологічних процесів, пригнічуючи функції життєво важливих органів і систем. Незважаючи на низку експериментальних робіт [2, 4, 12, 16], вплив AFB1 на антиоксидантну систему клітин вивчений недостатньо, що

зумовлює актуальність досліджень у цьому напрямі.

Метою роботи було з'ясувати активність ензимів антиоксидантної системи (глутатіонпероксидаза (ГП), глутатіонредуктаза (ГР), глутатіон-S-трансферази (Г-S-T)) і вмісту відновленого глутатіону (GSH) в клітинах органів (печінка, головний мозок, нирки) білих щурів за умов щодобового надходження афлатоксину B1 у дозі 0,025 мг/кг маси тіла тварин.

Матеріали та методи

Досліди проводили на дорослих білих безпородних щурах-самцях з масою тіла 180–200 г. Під час експерименту тварини перебували у стандартних умовах віварію з підтриманням питного режиму на рівні, рекомендованому нормами утримання лабораторних тварин. Щурів поділяли на три групи: контрольну (К) і дві дослідні (Д1, Д2) по 5 особин у кожній. Тваринам дослідних груп щоденно внутрішньошлунково вводили AFB1 у дозі 0,025 мг/кг маси тіла, тваринам контрольної групи — кип'ячену оливкову олію у відповідному об'ємі. Дослідження проводили на 7- і 14-ту добу після введення токсину. Евтаназію тварин здійснювали під легким ефірним наркозом з дотриманням правил поводження з експериментальними тваринами.

Зразки печінки, головного мозку і нирок, відібрані зразу ж після евтаназії, охолоджували до температури 1–3 °C у фізіологічному розчині, підсушували фільтрувальним папером, а потім подрібнювали ножицями та гомогенізували в 0,05 М тріс-НСl буфері (рН 7,5) з додаванням 0,25 М сахарози за допомогою гомогенізатора *MPW-324* (Польща). Співвідношення маси тканини та об'єму буфера становило 1:9. Одержані гомогенати центрифугували за 10000 g упродовж 30 хв на рефрижераторній центрифугі *MLW-T23D* (Німеччина), використовуючи для досліджень надосадову рідину.

У гомогенатах клітин печінки, головного мозку і нирок визначали активність глутатіонредуктази, враховуючи швидкість відновлення глутатіону за наявності NADPH [17]. Активність глутатіонпероксидази визначали

за рівнем накопичення окисленого глутатіону (GSSG) [17]. Активність глутатіон-S-трансферази визначали за реакцією з 1-хлор-2,4-динітробензолом [17]. Вміст відновленого глутатіону визначали за реакцією з 5,5-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою [17]. Результати досліджень опрацьовували статистично.

Результати й обговорення

Експериментальними та клінічними дослідженнями встановлено, що система глутатіону бере участь в механізмах регуляції проліферації та апоптозу.

В експериментальних роботах наявні дані як про активацію системи антиоксидантного захисту у відповідь на підвищення рівня утворення вільних радикалів та органічних гідропероксидів [5, 6, 10], так і про виснаження адаптивних можливостей захисної системи в умовах інтенсивного утворення АФО.

Для характеристики співвідношень між прооксидантними та антиоксидантними про-

цесами в клітинах тварин за умов інтоксикації афлатоксином **В1 важливе значення має активність ензиму глутатіонової системи — глутатіонпероксидази.** Відомо, що глутатіонпероксидаза каталізує реакції перетворення гідроген пероксиду та гідропероксидів ліпідів до відповідних окисполук, здійснюючи детоксикаційну функцію в клітинах. Отже, цей ензим гальмує процеси вільнорадикального окиснення та захищає плазматичні мембрани, внутрішньоклітинні структурні компоненти та біомолекули від пошкоджень під впливом екзогенних токсикантів [4].

Головна функція глутатіонпероксидази — відновлення пероксиду водню та органічних гідроперексидів. Вона може **запобігати** накопиченню вторинних продуктів пероксидації, але не здатна знешкодити їх [13]. Як видно з даних *таблиці*, глутатіонпероксидазна активність пригнічувалася упродовж дослідного періоду. Зокрема, в клітинах печінки його активність на 7- і 14-ту добу після введення щурам AFB1 зменшувалася на 29,5 і 36,7 %

Таблиця

Динаміка вмісту відновленого глутатіону (GSH) та активності ензимів глутатіонової системи в клітинах органів білих щурів за умов щодобового введення AFB1 у дозі 0,025 мг/кг маси ($M \pm m$, $n=5$)
Dynamics of content of renewed glutathione (GSH) and enzymes activity of glutathione system in cells of organs of white rats under the influence of daily injection of AFB1 in a dose 0,025 mg/kg ($M \pm m$, $n=5$)

Клітини, групи Cells, groups		GSH, мкмоль/г тканини GSH, mcmol/g of tissue	ГП, нмоль/хв на 1 мг білка Glutathione peroxidase, nmol glutathione/min per 1 mg of protein	ГР, нмоль NADPH/хв на 1 мг білка Glutathione reductase, NADPH/min per 1 mg of protein	Глутатіон-S- трансфераза, мкмоль/хв на 1 г білка Glutathione-S- transferase, mcmol/min per 1 mg of protein
Печінка Liver	K / Control	2,39±0,08	142,1±3,80	29,45±1,39	489,7±17,2
	D1 / 1 st experimental	1,45±0,07**	100,2±4,35**	10,07±0,46**	227,5±6,4*
	D2 / 2 nd experimental	0,99±0,07***	89,9±3,33*	11,26±0,42*	261,9±14,7*
Головний мозок Brain	K / Control	1,19±0,07	130,0±4,64	21,78±0,68	218,7±8,16
	D1 / 1 st experimental	0,76±0,03	98,6±3,65*	7,38±0,3*	105,3±5,27
	D2 / 2 nd experimental	0,69±0,05**	90,5 ±2,93*	8,14±0,43**	98,3±4,66
Нирки Kidneys	K / Control	3,65±0,16	332,9±12,8	12,40±0,59	571,6±23,0
	D1 / 1 st experimental	2,90±0,13*	217,4±10,5*	10,40±0,51	445,0±18,2
	D2 / 2 nd experimental	1,88±0,09**	165,2±9,16**	7,85±0,44**	374,8±15,4*

Примітка: у цій таблиці *, **, *** — вірогідність різниць між контрольною і дослідними групами тварин (* — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$)

Note: in this table *, **, *** — authenticity of differences between control and by experience groups of animals (* — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$)

($P < 0,01$), у клітинах головного мозку — на 24,2 і 30,4 % ($P < 0,05-0,01$), а в клітинах нирок — на 34,7 і 50,4 % ($P < 0,05-0,01$) відповідно. Причому зі збільшенням тривалості надходження токсину в організм тварин рівень інгібування ГПО в тканинах зростав.

Інтенсивність вільнорадикальних процесів регулюється не тільки ензимами системи антиоксидантного захисту, а й низькомолекулярними антиоксидантами. Найпомітнішу роль у глутатіоновій системі антиоксидантного захисту біологічних молекул у водній фазі відіграє відновлений глутатіон.

Результати досліджень вказують на те, що зниження активності глутатіонпероксидази може зумовлюватись зменшенням вмісту відновленого глутатіону в досліджуваних клітинах. Згідно з отриманими даними, концентрація GSH у щурів груп Д1 і Д2 найбільше знижувалася в гомогенатах клітин печінки — на 39,3 % ($P < 0,01$) і 58,5 % ($P < 0,001$), у клітинах головного мозку — на 36,1 і 42,0 % ($P < 0,01$) та нирок — на 20,5 і 48,5 % ($P < 0,05-0,01$) відповідно.

У зменшенні вмісту GSH в клітинах тварин, яким вводили афлатоксин, можуть бути задіяні різні механізми. З одного боку, важливу роль у такому ефекті відіграє його кон'югація з продуктами метаболізму афлатоксину В1 [11], а з іншого — зменшення активності глутатіонредуктази на окремих етапах експериментів, про що свідчать результати досліджень, наведені у *таблиці*.

Активність глутатіонредуктази пригнічувалася упродовж дослідного періоду, що може бути обумовлено надлишком утворюваних внаслідок розвитку загальної інтоксикації токсичних метаболітів кисню: у клітинах печінки — на 65,8 і 61,7 % ($P < 0,05-0,001$), головного мозку — на 66,1 і 62,6 % ($P < 0,05-0,01$) та нирок — на 16,2 і 36,7 % ($P < 0,05-0,01$) відповідно.

Аналізуючи функціональну активність глутатіон-S-трансферази, потрібно зазначити, що за умов щодобового введення афлатоксину в організм щурів активність ензиму, особливо у тканинах печінки, знижувалася впродовж усього періоду досліджень. Вірогідно, це відбувалося внаслідок інактивації молекул ензиму

зв'язуванням із продуктами біотрансформації афлатоксину [21].

У досліджуваних органах за умов щоденної інтоксикації афлатоксином В1 відбувалася активізація процесів антирадикального захисту. За цих умов знижувалась активність глутатіонові системи та вміст відновленого глутатіону. Динаміка глутатіон-залежних ензимів в клітинах щурів, яким вводили AFB1, вказує на виснаження резервів глутатіон-відновлювальної біохімічної системи.

Прооксидантно-антиоксидантний баланс у клітинах печінки, головного мозку і нирок є однією з найчутливіших метаболічних ланок, які дають змогу оцінити порушення функціональної активності зазначених органів під впливом афлатоксинів, як і інших токсинів, що надходять в організм тварин.

Висновки

Афлатоксин В1 за щодобового внутрішньошлункового введення у дозі 0,025 мг/кг порушує прооксидантно-антиоксидантний баланс в клітинах печінки, головного мозку та нирок щурів.

За умов щоденного надходження в організм щурів афлатоксину В1 пригнічується активність ензимів глутатіонові антиоксидантної системи (глутатіонпероксидаза, глутатіонтрансфераза, глутатіонредуктаза) та зменшується вміст відновленого глутатіону в клітинах печінки, головного мозку і нирок упродовж дослідного періоду. Це свідчить про значну гепато-, нейро- і нефротоксичність афлатоксину В1 і, відповідно, про порушення функціональної активності органів в процесі інтоксикації AFB1.

Перспективи подальших досліджень. Одержані результати слугують основою для подальших досліджень механізмів токсичного впливу афлатоксинів у клітинах органів і тканин, а також можливості корекції порушень метаболізму в організмі тварин за умов отруєння афлатоксинами.

1. Aiko V., Mehta A. Occurrence, detection and detoxification of mycotoxins. *J. Biosci.*, 2015, vol. 40, no. 5. pp. 943–954.

2. Antonyak H., Oliynyk Ch., Koval N., Fedyakov R., Dosviadchynska M., Panchuk I. Effects of aflatoxin B1 on lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in rat organs and erythrocytes. *Scientific journal "Visnyk of Lviv University"*, Biological series, 2015, vol. 69, pp. 41–48.
3. Antonyak H. L., Babych N. O., Stefanyshyn O. M., Koval N. K., Fedyakov R. O. Aflatoxins: biological effects and mechanisms of influence on organism of animals and human. *The Animal Biology*, 2009, vol. 11, no 1–2, pp. 16–26. (in Ukrainian)
4. Antonyak H. L., Fedyakov R. O., Koval N. K. Effects of aflatoxin B1 on lipid peroxidation and antioxidant system in erythrocytes and hepatocytes of rats. *Odesa National University Herald, Biology*, 2011, vol. 16, no. 6, pp. 5–11. (in Ukrainian)
5. Bryden W. L. Mycotoxins in the food chain: human health implications. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 2007, vol. 16 (suppl. 1), pp. 95–101.
6. Commandeur J. Enzymes and transport systems involved in the formation and disposition of glutathione-S-conjugates: role of bioactivation and detoxication mechanisms of xenobiotics nutritional carcinogenesis. *Acta Med. Indones.*, 2010, vol. 42, no 1, pp. 36–42.
7. Coppola S., Ghibelli L. GSH extrusion and the mitochondrial pathway of apoptotic signalling. *Biochemical Society Transactions*, 2000, vol. 28 (part 2), pp. 56–61.
8. Frisvad J., Thrane U., Samson R., Pitt J. Important mycotoxins and the fungi which produce them. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2006, vol. 31, no 3, pp. 571–573.
9. Fromme H., Gareis M., Völkel W., Gottschalk C. Overall internal exposure to mycotoxins and their occurrence in occupational and residential settings: An overview. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 2016, vol. 219, no 2, pp. 143–165.
10. Horton J. Free radicals and lipid peroxidation mediated injury in burn trauma: the role of antioxidant therapy. *Toxicology*, 2003, vol. 189, no 1–2, pp. 75–88.
11. Ilic Z., Crawford D., Vakharia D. Glutathione-S-transferase A3 knockout mice are sensitive to acute cytotoxic and genotoxic effects of aflatoxin B1. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2010, vol. 242, no 3, pp. 241–246.
12. Kensler T. W., Roebuck B. D., Wogan G. N., Groopman J. D. Aflatoxin: A 50-Year Odyssey of mechanistic and translational toxicology. *Toxicological sciences*, 2011, vol. 120 (S 1), pp. S28–S48.
13. Kulynskyy V. Y., Kolesnychenko L. S. Biological role of glutathione. *Successes of modern biology*, 1990, vol. 110, no. 1 (4), pp. 20–33. (in Russian)
14. Lai H., Mo X., Yang Y., He K., Xiao J., Liu C., Chen J., Lin Y. Association between aflatoxin B1 occupational airway exposure and risk of hepatocellular carcinoma: a case-control study. *Tumour Biol.*, 2014, vol. 35 (10), pp. 9577–9584.
15. Madrigal-Santillán E., Morales-González J. A., Vargas-Mendoza N., Reyes-Ramírez P., Cruz-Jaime S. Antigenotoxic studies of different substances to reduce the DNA damage induced by aflatoxin B(1) and ochratoxin A. *Toxins (Basel)*, 2010, vol. 2 (4), pp. 738–757.
16. Prado G., Altoé A. F., Gomes T. C., Leal A. S., Morais V. A. Occurrence of aflatoxin B₁ in natural products. *Braz. J. Microbiol.*, 2012, vol. 43 (4), pp. 1428–1436.
17. Prokhorova M. I. Methods of biochemical researches. Leningrad, Leningrad university Publ., 1982, 272 p. (in Russian)
18. Rawal S., Kim J.E., Coulombe R. Jr. Aflatoxin B1 in poultry: toxicology, metabolism and prevention. *Res. Vet. Sci.*, 2010, vol. 89 (3), pp. 325–331.
19. Shen H., Shi C. Y., Lee H. P. Aflatoxin B1-induced lipid peroxidation in rat liver. *Toxicol Appl. Pharmacol.*, 1994, vol. 127, pp. 145–150.
20. Sirajudeen M., Gopi K., Tyagi J. S., Moudgal R. P., Mohan J., Singh R. Protective effects of melatonin in reduction of oxidative damage and immunosuppression induced by aflatoxin B1-contaminated diets in young chicks. *Environ. Toxicol.*, 2011, vol. 26 (2), pp. 153–160.
21. Stewart R. K., Serabjit-Singh C. J., Massey T. E. Glutathione S-transferase-catalyzed conjugation of bioactivated aflatoxin B1 in rabbit lung and liver. *Toxicol Appl. Pharmacol.*, 1996, vol. 140 (2), pp. 499–507.
22. Towner R. A., Qian S. Y., Kadiiska M. B., Mason R. P. In vivo identification of aflatoxin-induced free radicals in rat bile. *Free Radic. Biol.*, 2003, vol. 35, pp. 1330–1340.
23. Williams J. H., Phillips T. D., Jolly P. E., Stiles J. K., Jolly C. M., Aggarwal D. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004, vol. 80, pp. 1106–1122.
24. Yao H., Hruska Z., Di Mavungu D. J. Developments in detection and determination of aflatoxins. *World Mycotoxin Journal*, 2015, vol. 8, no 2, pp. 181–191.
25. Yu J., Cleveland T. E., Nierman W. C., Bennett J. W. Aspergillus flavus genomics: gateway to human and animal health, food safety, and crop resistance to diseases. *Rev. Iberoam. Micol.*, 2005, vol. 22, pp. 194–202.