



Effect of Different Doses of Mistletoe Lectin-I on the Levels of Tumor Necrosis Factor- α , Nitric Oxide, Total Antioxidant and Oxidant Capacity in Rabbits*

Ahmet HARMANKAYA¹ Ayla ÖZCAN²

¹ Kafkas University, Faculty of Science, Department of Chemistry, Kars, Turkey

² Kafkas University, Faculty of Medicine, Department of Biochemistry, Kars, Turkey

Received: 12.01.2017

Accepted: 04.04.2017

SUMMARY

This paper aimed to investigate the effect of different doses of mistletoe lectin-I (ML-I) on the levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), nitric oxide (NO), total antioxidant and oxidant capacity (TAC, TOC). The rabbits were divided into 4 groups (Control, Group-I, II and III) each group contained 7 rabbits. 0.5, 1 and 2 ng/kg of ML-I were administered to treatment groups via intraperitoneal route, respectively. Plasmas of blood samples obtained in the 1st, 6th, 12th and 24th hours following injection were separated. TNF- α level in the group treated with ML-I (0.5 ng/kg) was higher than that of control and other lectin receiving groups at all hours, the highest value of TNF- α was reached at 1st hour ($p < 0.01$). 0.5 and 1 ng/kg doses of lectin decreased NO level at 1st hour compared to control group ($p < 0.05$), 1 and 2 ng/kg doses of lectin increased NO levels ($p < 0.05$) at 12th hour, no statistically significant difference was found between the groups. In addition, TAC levels in samples obtained from the group given 0.5 ng/kg ML-I after 1 hour was statistically higher ($p < 0.05$) than the samples taken at 6th, 12th and 24th hours. No statistically significant change was found in the level of TOC among lectin receiving groups. In conclusion, ML-I at 0.5 ng/kg dose caused alterations in the levels of TNF- α and NO and showed an acute antioxidant effect.

Key Words: Mistletoe Lectin-I, TNF- α , Nitric Oxide, Total Antioxidant and Oxidant Capacity

ÖZET

Tavşanlarda Mistletoe Lektin-I'in Farklı Dozlarının Tümör Nekroz Faktör- α , Nitrik Oksit, Total Antioksidan ve Oksidan Kapasite Düzeylerine Etkisi

Mistletoe lektin-I (ML-I)'in, farklı dozlarının tümör nekroz faktör- α (TNF- α), nitrik oksit (NO), total antioksidan ve oksidan kapasite (TAK, TOK) düzeylerine etkisinin araştırıldığı çalışmada, her birinde 7 adet tavşan bulunan, birisi kontrol olmak üzere 4 grup oluşturuldu. Gruplara sırasıyla 0.5, 1 ve 2 ng/kg ML-I intraperitoneal (i.p.) olarak enjekte edildi. Enjeksiyonu takiben 1., 6., 12. ve 24. saatlerde kan örnekleri alınarak plazmaları elde edildi. 0.5 ng/kg ML-I verilen grupta TNF- α düzeyinin bütün saatlerde kontrol ve diğer lektin gruplarına göre yüksek olmakla birlikte 1. saatte en yüksek değerine ulaştığı ($p < 0.01$) saptandı. 0.5 ve 1 ng/kg lektin dozlarının 1. saatte NO düzeyini azalttığı ($p < 0.05$), 1 ve 2 ng/kg lektin dozlarının 12. saatte NO düzeyini arttırdığı ($p < 0.05$), gruplar arasında istatistiksel olarak bir farkın oluşmadığı gözlemlendi. 0.5 ng/kg ML-I verilen gruptan alınan numunelerde, 1 saat sonra elde edilen TAK değerlerinin 6, 12 ve 24. saatlere göre istatistiksel olarak yüksek ($p < 0.05$) olduğu, TOK düzeylerinde istatistiksel olarak bir değişim olmadığı gözlemlendi. 0.5 ng/kg dozundaki ML-I'in TNF- α ve NO düzeylerinde değişiklik meydana getirmesi, lektinin akut durumlarda antioksidan özellik gösterebileceği kanaatini oluşturdu.

Anahtar Kelimeler: Mistletoe Lektin-I, TNF- α , Nitrik Oksit, Total Antioksidan ve Oksidan Kapasite

GİRİŞ

Lektinler, doğada virüslerden bakterilere ve bitkilerden hayvanlara kadar pek çok kaynaktan bulunabilen, spesifik olarak belirli monosakkaritleri ve oligosakkaritleri bağlayan, immün kaynaklı olmayan proteinlerdir (Sandes ve ark. 2005; Zorlu ve ark. 2013; Danjollı ve Akşit 2016). Ökse otunda ML-I, II ve III olmak üzere 3 izolektin bulunmaktadır (Franz ve ark. 1981). ML-I 'in kanser

hücreleri üzerinde sitotoksik etkiye sahip olduğu ve mekanizması henüz tam olarak açıklanmış olmasa da, lektinin B zincirinin hücreye bağlanıp, A zincirinin protein sentezini inhibe etmesi (Stirpe ve ark. 1980; Büssing ve ark. 1999), granülosit, lenfosit ve doğal öldürücü (NK) hücre aktivasyonunu sağlaması (Büssing ve ark. 1999), golgi aygıtına hasar verme (Ziska ve ark. 1979), mitokondriden sitozole sit-c salınımını artırma (Bantel ve ark. 1999) ve telomeraz enzimini inhibe etme (Lyu ve ark.

2002) gibi mekanizmalar ileri sürülmüştür.

Makrofajlar, monositler, lenfositler, NK hücreleri, beyin mikroglial hücreleri ve karaciğerin kupffer hücreleri gibi farklı hücrelerde sentezlenen sitokin olan TNF- α 'nın, sentezini bakteriyel endotoksinler, enterotoksinler, toksin-1, mikobakteriyel kord faktörü, virüsler, C5a, mantarlar veya parazitik ajanlar, interlökinler ve interferonlar başlatabileceği bildirilmiştir (Odeh 1990). ML-I ile yapılan *in vitro* çalışmalarda TNF- α , IFN- γ , IL-1, IL-6, IL-12 gibi inflamatuvar sitokinlerin salınımını (Hajto ve ark. 1990; Hajto ve ark. 1997), kullanılan hücre tipi ve hücrenin üretildiği ortama, lektinin konsantrasyonuna ve inkübasyon süresine göre değişen miktarda olmak üzere arttırdığı kaydedilmiştir (Mannel ve ark. 1991; Ribereau-Gayon ve ark. 1996; Park ve ark. 1999).

ML-I'in serbest radikaller üzerine olan etkilerine bakılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar sınırlı olmakla birlikte, farelerde (Timoshenko ve ark. 2001) ve RAW 264.7 makrofajlarda (Kang ve ark. 2008) nitrik oksit (NO) salınımını uyardığı, sodyum nitroprussid (SNP) ile uyarılmış LLC-PK1 epitel hücrelerinde (Kim ve ark. 2010) ve lipopolisakkarit (LPS) ile uyarılmış (Lee ve ark. 2007) RAW 264.7 makrofajlarında NO süpürücü aktivitesinin olduğu, dolayısıyla da NO üzerine düzenleyici rolünün olduğu ileri sürülmüştür.

Bu çalışmada sitotoksik ve immünomodülatör etkisinin olduğu bildirilen ML-I'in, farklı dozlarının tavşanlara intraperitoneal yolla verilmesiyle tümör nekroz faktör- α (TNF- α), nitrik oksit (NO), total antioksidan ve oksidan kapasite (TAK, TOK) düzeylerine etkisinin araştırılması amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Çalışma materyalini oluşturan 12-18 aylık, 28 adet Yeni Zelanda ırkı tavşan, üç hafta süre ile Kafkas Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Ünitesi'nde uyum sürecine alındı. Yem ve su *ad libitum* olarak verildi. Üç hafta sonunda tartılarak, canlı ağırlık ortalaması 3.55 ± 0.53 kg olarak belirlenen tavşanlar her birinde 7 adet olmak üzere dört gruba (Kontrol, Grup-I, II ve III) ayrıldı. Kontrol grubundaki tavşanlara 0.5 ml/kg serum fizyolojik, grup-I, grup-II ve grup-III'teki tavşanlara sırasıyla 0.5, 1 ve 2 ng/kg ML-I intraperitoneal (i.p.) olarak verildi. ML-I uygulamasından sonra 1., 6., 12. ve 24. saatlerde tavşanların kulak venalarından heparinli tüplere alınan kanlar 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı ve analizler yapılmaya kadar -20 °C'de saklandı. Plazma TAK ve TOK düzeyleri ticari kitle (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep-Türkiye, Katalog No: RL0017, RL0024) kolorimetrik olarak, TNF- α düzeyi ELISA (rabbit-TNF- α , R&D System kiti, Katalog No: 5670-TG-025) kiti kullanılarak ölçüldü. NO düzeyleri ise Miranda ve ark. (2001)'nın bildirdikleri yöntemle göre tayin edildi.

Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizinde SPSS.16 paket programı kullanıldı. Gruplar arasındaki ortalama değerler tek yönlü varyans analizi (ANOVA), gruplar arası farklılıklar Duncan testi ile belirlendi.

BULGULAR

Değişik dozlarda (0.5, 1 ve 2 ng/kg) ML-I verilen tavşanlarda 1, 6, 12 ve 24 saat sonra alınan örneklerle ait elde edilen sonuçlar Tablo 1'de ortalama (\pm) ve standart hata ($x \pm Sx$) olarak sunulmuştur.

Farklı dozlarda ML-I verilen gruplar kıyaslandığında; bütün grupların 12. saatteki TNF- α düzeylerinin kontrol

grubuna göre istatistiksel olarak yüksek ($p < 0.05$) olduğu, 0.5 ng/kg ML-I verilen grubun TNF- α düzeylerinin 1, 6, 12, ve 24. saatlerde diğer gruplara göre önemli bir artış ($p < 0.01$) gösterdiği gözlemlendi. Çalışmada kontrol ve ML-I verilen gruplardan alınan numuneler grup içi saatlere göre mukayese edildiğinde, 1, 6, 12 ve 24. saatlerdeki TNF- α düzeyleri arasında istatistiksel olarak herhangi bir değişimin olmadığı saptandı.

Plazma NO düzeyleri kontrol grubuna göre kıyaslandığında; 1. saatte 0.5 ve 1 ng/kg ML-I verilen gruplarda istatistiksel olarak azalma ($p < 0.05$) gözlemlendi. Grup içi NO düzeyleri saatlere göre kıyaslandığında; 1 ve 2 ng/kg ML-I verilen gruplarda 12. saatte istatistiksel olarak bir artış ($p < 0.05$) gözlenirken, 0.5 ng/kg ML-I verilen grupta istatistiksel olarak önemli olmayan bir artış belirlendi.

Çalışmada 0.5 ng/kg ML-I verilen grupta enjeksiyondan 1 saat sonra elde edilen TAK değerlerinin 6, 12 ve 24. saatlere göre istatistiksel olarak yüksek olduğu ($p < 0.05$) saptandı. Farklı dozlarda ML-I verilen grupların TOK düzeyleri saatlere ve kontrol grubuna göre kıyaslandığında istatistiksel olarak bir değişim gözlenmedi.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Ökse otu ekstraktlarındaki ML-I'in TNF- α üretimini uyardığı (Mannel ve ark. 1991) bu lektinin uzaklaştırılması ile sulu ekstraktın immünomodülatör aktivitesini tamamen yitirdiği bildirilmiştir (Beuth ve ark. 1995).

Yapılan çalışmada 0.5 ng/kg ML-I verilen grupta TNF- α düzeyinin bütün saatlerde kontrol grubuna göre yüksek olmakla birlikte 1. saatte en yüksek değerine ($p < 0.01$) ulaştığı, diğer deneme gruplarında ise 12. saatte yüksek olduğu ($p < 0.05$) gözlemlendi. TNF- α düzeyinin ML-I etkisiyle yükselmesinin yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla (Hajto ve ark. 1990; Mannel ve ark. 1991; Ribereau-Gayon ve ark. 1996; Hajto ve ark. 1997; Park ve ark. 1999; Boneberg ve Hartung 2001) uyumlu olduğu ancak etkileyen ML-I konsantrasyonlarında bir farklılık olduğu gözlemlendi.

Yapılan bazı çalışmalarda (Biberstein ve ark. 1995; Kurokawa ve ark. 2002) kanserli hastaların TNF- α düzeylerinin normal bireylere göre yüksek olduğu bildirilmiştir. Hajto ve ark. (1990) sekiz kanserli hastaya 1ng/kg dozundaki ML-I'i i.v. olarak enjekte ettiklerinde bu hastaların kanlarında TNF- α düzeyinin 3. saatte en yüksek değerine ulaştığını görmüşlerdir. Yapılan çalışma ile Hajto ve ark. (1990) yaptıkları çalışma arasındaki oluşan doz farkının lektin enjekte edilen kişilerin kanser olmasından kaynaklanabileceği kanaatini oluşturdu.

ML-I'in immünomodülatör ve sitotoksik etkilerinin olup olmadığını araştırmak amacıyla yapılan *in vitro* hücre kültürü denemelerinde lektin dozuna dair farklı konsantrasyonlar bildirilmiş, ML-I etkinliğinin, hücre serisi (Timoshenko ve ark. 1995; Büssing ve ark. 1997; Park ve ark. 1999) ve kullanılan katkılara (Timoshenko ve ark. 1995; Park ve ark. 1999), ortamın pirojen faktörlerle kontamine olup olmamasına (Boneberg ve Hartung 2001) göre değişebildiği ileri sürülmüştür.

Hajto ve ark. (1997), yaptıkları *in vitro* hücre kültürü çalışmada, aralarında TNF- α 'nında bulunduğu çeşitli sitokinlerin salınımındaki en fazla artışın 10 ng/ml ML-I dozunda olduğunu gözlemlemişlerdir. İnsan monositlerinin *in vitro* ortamda 0.02-2000 pg/ml ML-I ile 18 saat inkübe edilmesi sonucu en yüksek TNF- α salınımının 0.02 pg/ml lektin konsantrasyonunda olduğu bildirilmiş, yüksek konsantrasyonlarda TNF- α salınımının

azalmasının ise lektinin toksik etkisine ve/veya artan TNF- α 'nın hücreleri öldürebileceği nedenine bağlanmış ayrıca kültür ortamında sığır serumu kullanılmamasının çok düşük lektin konsantrasyonunda olumlu sonuç elde edilmesinin bir sebebi olabileceği ileri sürülmüştür (Ribereau-Gayon ve ark. 1996).

Yapılan çalışmada TNF- α salınımını en fazla etkileyen 0.5 ng/kg'lık lektin dozunun Ribereau-Gayon ve ark. (1996) yaptığı çalışmadaki lektin dozunun çok üzerinde olması

lektinin *in vivo* ortamda bağlanabilecek daha fazla glikoligandın olduğu kanaatini oluşturdu, yine Timoshenko ve ark. (1995) nötrofil kültür ortamına kan plazması eklediklerinde nötrofil agregasyonunda ve üretilen H₂O₂ miktarında azalma olmasının, ML-I'in kültür ortamındaki hücrelerden başka bağlanabilecek glikoligandlarında olduğunu ileri sürmeleri bu kanaati destekledi.

Tablo 1. ML-I Verilen Tavşanlarda TNF- α , NO, TAK ve TOK Düzeyleri,

Table 1. TNF- α , NO, TAC and TOC Levels in ML-I Given Rabbits

Parametre	Örnek Alım Zamanları	Kontrol	Grup-I (0.5 ng/kg)	Grup-II (1 ng/kg)	Grup-III (2 ng/kg)	P
TNF- α (pg/ml)	1. saat	304.12±38.66 ^{A, b}	1904.78±420.93 ^{A, a}	867.53±259.78 ^{A, b}	717.98±98.49 ^{A, b}	**
	6. saat	244.08±74.86 ^{A, b}	1458.99±499.58 ^{A, a}	884.91±66.22 ^{A, ab}	541.16±92.78 ^{A, b}	*
	12. saat	253.11±46.53 ^{A, b}	1645.21±340.20 ^{A, a}	951.29±134.64 ^{A, c}	954.23±149.89 ^{A, c}	*
	24. saat	238.04±20.35 ^{A, b}	1265.13±380.17 ^{A, a}	606.34±54.46 ^{A, ab}	889.97±188.80 ^{A, ab}	*
	P	Ns	Ns	Ns	Ns	
NO (μ mol/L)	1. saat	49.91±6.95 ^{A, a}	29.67±2.98 ^{B, b}	30.87±6.71 ^{B, b}	42.68±4.12 ^{B, ab}	*
	6. saat	38.09±4.88 ^{AB, a}	34.46±3.55 ^{AB, a}	34.66±3.52 ^{B, a}	45.81±5.63 ^{B, a}	Ns
	12. saat	42.41±3.22 ^{AB, a}	50.65±7.60 ^{A, a}	54.21±2.87 ^{A, a}	59.95±2.35 ^{A, a}	Ns
	24. saat	31.92±5.57 ^{B, a}	35.73±6.08 ^{AB, a}	38.78±6.75 ^{AB, a}	43.01±4.12 ^{B, a}	Ns
	P	Ns	Ns	*	*	
TAK (mmol Trolox Equiv./L)	1. saat	0.22±0.01 ^{A, a}	0.33±0.05 ^{A, a}	0.24±0.05 ^{A, a}	0.25±0.07 ^{A, a}	Ns
	6. saat	0.19±0.02 ^{A, a}	0.17±0.04 ^{A, a}	0.18±0.02 ^{A, a}	0.26±0.04 ^{A, a}	Ns
	12. saat	0.17±0.02 ^{A, a}	0.16±0.02 ^{B, a}	0.20±0.04 ^{A, a}	0.13±0.01 ^{A, a}	Ns
	24. saat	0.17±0.03 ^{A, a}	0.16±0.03 ^{B, a}	0.16±0.02 ^{A, a}	0.20±0.02 ^{A, a}	Ns
	P	Ns	*	Ns	Ns	
TOK (μ mol H ₂ O ₂ Equiv./L)	1. saat	9.68±1.26 ^{A, a}	7.29±0.63 ^{A, a}	7.93±0.36 ^{A, a}	6.99±0.85 ^{A, a}	Ns
	6. saat	9.38±0.78 ^{A, a}	7.81±0.72 ^{A, a}	8.29±0.58 ^{A, a}	8.75±1.61 ^{A, a}	Ns
	12. saat	7.35±0.33 ^{A, b}	8.14±0.46 ^{A, ab}	9.06±0.61 ^{A, a}	7.84±0.28 ^{A, ab}	Ns
	24. saat	7.19±0.55 ^{A, a}	7.93±0.55 ^{A, a}	8.64±1.19 ^{A, a}	7.16±0.45 ^{A, a}	Ns
	P	Ns	Ns	Ns	Ns	

A, B harfleri aynı sütundaki, a, b, c harfleri aynı satırdaki istatistiksel farkları göstermektedir, *: Aynı satır ve sütundaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), **: Aynı satırdaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.01), Ns: Aynı satır ve sütundaki farklılıklar istatistiksel olarak önemsizdir.

Yapılan *in vitro* çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda, ML-I'in tavşanlara i.p. olarak verilmesiyle 0.5 ng/kg'lık dozun üstündeki lektin dozlarının özellikle monosit ve makrofajlar üzerinde sitotoksik etki yapmış olabileceği (Ribereau-Gayon ve ark. 1996; Sung ve ark. 2013) ayrıca lenfositlerinde bu konsantrasyonlardan etkilenebileceği (Hajto ve ark. 2005) kanaatini oluşturdu.

H₂O₂, O₂⁻ ve NO gibi reaktif oksijen türlerinin immün sistemdeki hücrelerin fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli bir yere sahip olduğu bildirilmektedir (Finkel 1998). ML-I ile yapılan *in vitro* çalışmalarda, insan hepatokarsinom hücrelerinde reaktif oksijen miktarını arttırarak bu hücrelerin apoptoza uğramasına yardımcı olduğu (Kim ve ark. 2004), nötrofillerden O₂⁻ (Timoshenko ve Gabius, 1993) ve H₂O₂ (Timoshenko ve ark. 1995), makrofajlardan NO (Kang ve ark. 2008) salınımını uyardığı gösterilmiştir.

Yapılan çalışmada, 0.5 ve 1 ng/kg lektin dozlarının 1. saatte NO düzeyini kontrol grubuna göre azalttığı (p<0.05)

2 ng/kg lektin verilen grupta ise istatistiksel olarak bir değişimin olmadığı, daha sonra her üç lektin grubunda da grup içi NO miktarının zamanla arttığı, 12. saatte 1 ve 2 ng/kg lektin verilen grupların NO düzeyini 1 ve 6. saatlere göre arttırdığı (p<0.05) gözlemlendi. Bütün gruplar arasında 12. saat ve sonrasında istatistiksel olarak bir değişimin olmadığı görüldü. 1. saatte NO miktarının 0.5 ve 1 ng/kg lektin verilen gruplarda azalması ML-I'in NO üzerine süpürücü etkisinden (Lee ve ark. 2007; Kim ve ark. 2010) 2 ng/kg lektin verilen grupta ise istatistiksel olarak bir değişimin olmaması lektinin sitotoksik etkisinden (Kang ve ark. 2008), 1. saatten sonra lektin verilen gruplarda NO miktarının artması ve 12. saatte kontrol grubu ile aynı düzeye gelmesi B zincirinden (Kang ve ark. 2008) kaynaklanabileceği kanaatini oluşturdu. Bazı sitokinlerin (IL-1, TNF, IF- γ) iNOS aktivitesini arttırdığı (Ignarro 2010) bildirilse de çalışmada NO ve TNF- α düzeyleri arasında bir korelasyon bulunmaması, NO düzeylerini ML-I'in özellikle de B zincirinin değiştirdiği düşüncesine neden oldu (Kang ve ark. 2008).

Daha çok kanser tedavisi ve araştırmalarında kullanılan ökse otu ekstraktlarının antioksidan özelliklerine yönelik *in vitro* (Oluwaseun ve Ganiyu 2008; Roman ve ark. 2009; Papuc ve ark. 2010; Barbasz ve ark. 2012) ve *in vivo* (Cebovic ve Popovic 2006; Shi ve ark. 2006; Nwanjo 2007) çalışmalar yapılmış, *in vitro* çalışmalarda ökse otunun antioksidan özellik yönünden etken maddelerinin fenolik asit ve flavonoidler olduğu (Oluwaseun ve Ganiyu, 2008; Papuc ve ark. 2010), fenolik bileşenlerin yanı sıra viskolektinlerin de ökse otunun antioksidan özelliğine katkıda bulunduğu (Roman ve ark. 2009), 42 µg/ml dozundaki lektinin DPPH'a karşı antioksidan özellik gösterdiği (Kim ve ark. 2010) ileri sürülmüştür.

Literatürde ökse otu bitkisinden elde edilen ekstraktların bazı oksidan ve antioksidan parametrelere olan etkisine bakılan çalışmaların (Orhan ve ark. 2005; Cebovic ve Popovic 2006; Leu ve ark. 2006; Shi ve ark. 2006; Nwanjo 2007) olmasına rağmen, ML-I'in *in vivo* olarak total antioksidan ve oksidan kapasite üzerine olan etkilerine bakılan çalışmalara rastlanmadı. Yapılan çalışmada, ML-I'in TAK ve TOK düzeylerine önemli bir etkisinin olmadığı, sadece 0.5 ng/kg ML-I verilen grupta 1. saatteki TAK düzeyinin diğer saatlerdekine göre istatistiksel olarak önemli bir artış gösterdiği, NO düzeyinin de azaldığı gözlemlendi. Düşük konsantrasyondaki ML-I'in akut olarak antioksidan etki gösterebileceği (Kim ve ark. 2010) kanaatine varıldı.

Sonuç olarak 0.5 ng/kg dozundaki ML-I'in TNF-α ve NO düzeylerinde değişiklik meydana getirdiği, akut olarak antioksidan özellik gösterebileceği gözlemlendi. Literatürdeki *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar incelendiğinde, ML-I'in etkin dozuna dair verilerin farklılıklar gösterdiği ve bu farklılıkların çeşitli etmenlerden (kullanılan hücre tipi, kültür ortamının katkıları vs) etkilendiği ileri sürülmüştür. Gerek immün sistemin yapı ve işleyiş mekanizmasının gerekse ML-I in immün sistem üzerindeki etkilerine dair mekanizmaların tam olarak aydınlatılmamış olması ML-I ile ilgili daha fazla çalışmanın yapılması gerektiği, *in vivo* olarak yapılan bu çalışmanın yapılacak çalışmalara katkı sağlayabileceği sonucuna varıldı.

TEŐEKKÜR

Bu araştırma, Kafkas Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2011-VF-41 nolu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Bantel H, Engels IH, Voelter W, Schulze-Osthoff K, Wesselborg S (1999). Mistletoe lectin activates caspase-8/FLICE independently of death receptor signaling and enhances anticancer drug-induced apoptosis. *Cancer Res*, 59, 2083-2090.
- Barbasz A, Kreczmer B, Rudolphi-Skorska E, Sieprawska A, Woznica D (2012). Content of antioxidant in extracts of mistletoe (*Viscum album* L.), yew (*Taxus baccata* L.), pine (*Pinus sylvestris* L.) and fir (*Abies alba* Mill.). *Herba Polonica*, 58, 27-36.
- Beuth J, Stoffel B, Ko HL, Jeljaszewicz J, Pulverer G (1995). Immunomodulating ability of galactoside-specific lectin standardized and depleted mistletoe extract. *Arzneimittel-Forschung: Drug Res*, 45, 1240-1242.
- Biberstein SE, Spiro JD, Lindquist R, Kreutzer DL (1995). Enhanced tumor cell expression of tumor necrosis factor receptors in head and neck squamous cell carcinoma. *AM J Surg*, 170, 416-422.
- Boneberg E-M, Hartung T (2001). Mistletoe lectin-I increases tumor necrosis factor-α release in lipopolysaccharide-stimulated whole blood via inhibition of interleukin-10 production. *J Pharm Exp Therap*, 298 (3), 996-1000.
- Büssing A, Suzart K, Schweizer K (1997). Differences in the apoptosis-inducing properties of *Viscum album* L. extracts. *Anticancer Drugs Suppl*, 1, 9-14.

- Büssing A, Suzart K, Pfüller U, Schietzel M (1999). Induction of Fas ligand (CD95L) by the toxic mistletoe lectins in human lymphocytes. *Anticancer Res*, 19, 1785-1790.
- Cebovic T, Popovic M (2006). Effects of different extracts of mistletoe leaves (*Viscum album* L.) on CCl₄-induced hepatotoxicity in rats. *Tox Lett (Abs.)*, 164-174.
- Danjolli D, Akşit H (2016). Effects of N acetylcysteine on expression and localization of some lectins in the liver of experimental hepatic intoxication. *Van Vet J*, 11-16.
- Finkel T (1998). Oxygen radicals and signaling. *Curr Opin Cell Biol*, 10, 248-253.
- Franz H, Ziska P, Kindt A (1981). Isolation and properties of three lectins from mistletoe (*Viscum album* L.). *Biochem J*, 195, 481-484.
- Hajto T, Hostanska K, Frei K, Rordorf C, Gabius H-J (1990). Increased secretion of tumor necrosis factor α, interleukin 1 and interleukin 6 by human mononuclear cells exposed to β-galactoside-specific lectin from clinically applied mistletoe extract. *Cancer Res*, 50, 3322-3326.
- Hajto T, Hostanska K, Fischer J, Saller R (1997). Immunomodulatory effects of *Viscum album* agglutinin-I on natural immunity. *Anticancer Drugs*, 8 (Suppl 1), 43-46.
- Hajto T, Hostanska K, Berki T, Palinkas L, Boldizsar F, Nemeth P (2005). Oncopharmacological perspectives of a plant lectin (*Viscum album* Agglutinin-I): overview of recent results from *in vitro* experiments and *in vivo* animal models, and their possible relevance for clinical applications. *eCAM*, 2, 59-67.
- Ignarro LJ (2010). Nitric oxide, Biology and Pathobiology. 2nd Ed. *Academic Press Publications*, USA.
- Kang TB, Yoo YC, Lee KH, et al. (2008). Korean mistletoe lectin (KML-IIU) and its subchains induce nitric oxide (NO) production in murine macrophage cells. *J Biochem Mol Biol*, 15, 197-204.
- Kim BK, Choi MJ, Park KY, Cho EJ (2010). Protective effects of Korean mistletoe lectin on radical-induced oxidative stress. *Biol Pharm Bull*, 33(7), 1152-1158.
- Kim W-H, Park WB, Gao B, Jung MH (2004). Critical role of reactive oxygen species and mitochondrial membrane potential in Korean mistletoe lectin-induced apoptosis in human hepatocarcinoma cells. *Mol Pharmacol*, 66, 1383-1396.
- Kurokawa H, Takeda S, Yamashita Y, et al. (2002). Estimation of Serum tumour necrosis factor-α and correlation to tumour markers in patients with oral squamous cell carcinoma. *Asian J Oral Maxillofac Surg*, 14, 148-154.
- Lee JY, Kim JY, Lee YG, et al. (2007). *In vitro* immunoregulatory effects of Korean mistletoe lectin on functional activation of monocyte and macrophage-like cells. *Biol Pharm Bull*, 30, 2043-2051.
- Leu Y-L, Hwang T-L, Chung YM, Hong PY (2006). The inhibition of superoxide anion generation in human neutrophils by *Viscum coloratum*. *Chem Pharmacol Bull*, 54(7), 1063-1066.
- Lyu SY, Choi SH, Park WB (2002). Korean mistletoe lectin-induced apoptosis in hepatocarcinoma cells is associated with inhibition of telomerase via mitochondrial controlled pathway independent of p53. *Arch Pharm Res*, 25, 93-101.
- Mannel DN, Becker H, Gundt A, Kist A, Franz H (1991). Induction of tumor necrosis factor expression by a lectin from *Viscum album*. *Cancer Immunol Immunotherapy*, 33, 177-182.
- Miranda KM, Espey MG, Wink DA (2001). A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide Biol Chem*, 5, 62-71.
- Nwanjo HU (2007). Free radical scavenging potential of the aqueous extract of *Viscum album* (Mistletoe) leaves in diabetic Wistar rats hepatocytes. *Internet J Nutr Wellness*, 3(2), 1-8
- Odeh M (1990). The role of tumour necrosis factor-α in acquired immunodeficiency syndrome. *J Int Med*, 228, 549-556.
- Oluwaseun AA, Ganiyu O (2008). Antioxidant properties of methanolic extracts of mistletoes (*Viscum album*) from cocoa and cashew trees in Nigeria. *African J Biotechnol*, 7, 3138-3142.
- Orhan DD, Aslan M, şendoğdu N, Ergun F, Yeşilada E (2005). Evaluation of hypoglycemic effect and antioxidant activity of three *Viscum album* subspecies (European mistletoe) in streptozotocin-diabetic rats. *J Ethnopharm* 98, 95-102.
- Papuc C, Crivineanu M, Goran G, Nicorescu V, Durdun N (2010). Free radicals scavenging and antioxidant activity of European mistletoe (*Viscum album*) and European birthwort (*Aristolochia clematitis*). *Rev Chim*, 61, 619-622.
- Park JH, Hyun, CK, Shin HK (1999). Cytotoxic effects of the components in heat-treated mistletoe. *Cancer Lett*, 139, 207-213.
- Ribereau-Gayon G, Dumont S, Muller C, Jung ML, Poindron P, Anton R (1996). Mistletoe lectins I, II and III induce the production of cytokines by cultured human monocytes. *Cancer Lett*, 109, 33-38.

- Roman GP, Neagu E, Radu GL (2009).** Antiradical activities of *Salvia officinalis* and *Viscum album L.* extracts concentrated by ultrafiltration process. *Acta Sci Pol Technol Aliment*, 8, 47-58.
- Sandes EO, Faletti AG, Riveros MD, et al. (2005).** Expression of inducible nitric oxide synthase in tumoral and non-tumoral epithelia from bladder cancer patients. *Nitric Oxide*, 12, 39-45.
- Shi Z-M, Feng P, Jiang DQ, Wang XJ (2006).** Mistletoe alkali inhibits peroxidation in rat liver and kidney. *World J Gastroenterol*, 12(25), 4052-4055.
- Stirpe F, Legg RF, Onyon LJ, Ziska P, Franz H (1980).** Inhibition of protein synthesis by a toxic lectin from *Viscum album L.* (mistletoe). *Biochem J*, 190, 843-845.
- Sung, N-Y, Byun, E-B., Song, D-S., et al. (2013).** Effect of gamma irradiation on mistletoe (*Viscum album*) lectin-mediated toxicity and immunomodulatory activity. *FEBS Open Bio*, 3,106-111.
- Timoshenko AV, Gabius H-J (1993).** Efficient induction of superoxide release from human neutrophils by the galactoside galactoside specific lectin from *Viscum album*. *Biol. Chem Hoppe-Seyler*, 374,237-43.
- Timoshenko AV, Cherenkevich SN, Gabius H-J (1995).** *Viscum album* agglutinin-induced aggregation of blood cells and lectin effect on neutrophil. *Biomed Pharmacol*, 49, 153-158.
- Timoshenko AV, Lan Y, Gabius H-J, Lala PK (2001).** Immunotherapy of C3H/HeJ mammary adenocarcinoma with interleukin-2, mistletoe lectin or their combination: effects on tumor growth, capillary leakage and nitric oxide (NO) production. *Eur J Cancer*, 37, 1910-1920.
- Ziska P, Eifler R, Franz H (1979).** Chemical modification studies on the D-galactopyranosyl binding lectin from the mistletoe *Viscum album L.* *Acta Biol Med Ger*, 38(9), 1361-1363. in: Ergun F, Deliorman D, Şener B(1995). *Viscum album L.* Lektinleri. *FABAD J Pharmacol Sci*, 20, 117-123.
- Zorlu S, Gün H, Demirbağ E, Çınar K (2013).** Sığır jejunum mukozasındaki bazı glikokonjugatların lektin histokimyasal karakterizasyonu. *Van Vet J*, 73-75.