

Viscum album L. Lektinleri

Fatma ERGUN*, Didem DELİORMAN*, Bilge ŞENER*

Özet: Bu çalışmada, *Viscum album L.* lektinleri hakkında izolasyonları, miktar tayinleri, kimyasal yapıları ve biyolojik aktiviteleri ile ilgili genel bilgiler verilmiştir.

Anahtar kelimeler : *Viscum album*, lektin, izolasyon, kimyasal yapıları, miktar tayini, biyolojik aktivite.

Geliş tarihi : 21.2.1995

Kabul tarihi : 4.8.1995

Viscum album L. Lectins

Summary: Isolations, quantitative determinations, chemical structures and biologic activities of lectins in *Viscum album L.* have been reviewed in this study.

Keywords : *Viscum album*, lectin, isolation, chemical structures, determination, biological activity

Giriş

Tıbbi bitkilerden biri olan *Viscum L.* cinsi Loranthaceae familyasına ait bir genustur¹. Tropikal ve ılıman bölgelerde, ormanlık alanlarda çeşitli ağaçların ve çalıkların üzerinde yarı-parazit olarak gelişen bu cinsin bir türü olan *V. album L.* birçok tıp otoritesi tarafından şifalı bir bitki olarak kabul edilmiştir^{2,4}.

Bugüne kadar yapılan kimyasal çalışmalarla bitkide, lektin, viskotoksin, fenilpropan, lignan, flavonoid, alkaloid ve poliholozit gibi birçok etken madde grubunun varlığı tespit edilmiştir⁵⁻¹⁰. Bu gruplardan lektinler, enzim ve antikorlardan farklı olarak karbohidrat bağlayıcı proteinlerdir. Hücreleri ağırlı etme özelliğine sahiptirler. Kompleks karbohidratları da çöktürürler^{11,12}.

Bu derlemede çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olan *Viscum album L.* lektinleri hakkındaki çalışmalar incelenerek, genel bilgiler alt başlıklar halinde sunulmuştur.

Viscum album'dan günümüze kadar Lektin-I (ML-I, Viskumin, Omelotoksin), Lektin-II (ML-II) ve Lektin-III (ML-III) isimleri ile üç adet lektin izole edilmiştir^{13,14}. İzole edilen lektinlerden herbiri, A- ve B-

olarak tanımlanan iki farklı tipteki glikoprotein zincirinden meydana gelmiştir. Bu iki zincir birbirine disülfid bağlarıyla bağlanmıştır. A-zinciri, lektinin toksoforik kısmını, B-zinciri ise haptoforik kısmını oluşturmaktadır¹³.

Her üç tip lektindeki, A- ve B- zincirlerinin molekül ağırlıkları Tablo 1'de verilmiştir¹³⁻¹⁵.

Tablo 1. *Viscum album* Lektinlerinin Molekül Ağırlıkları

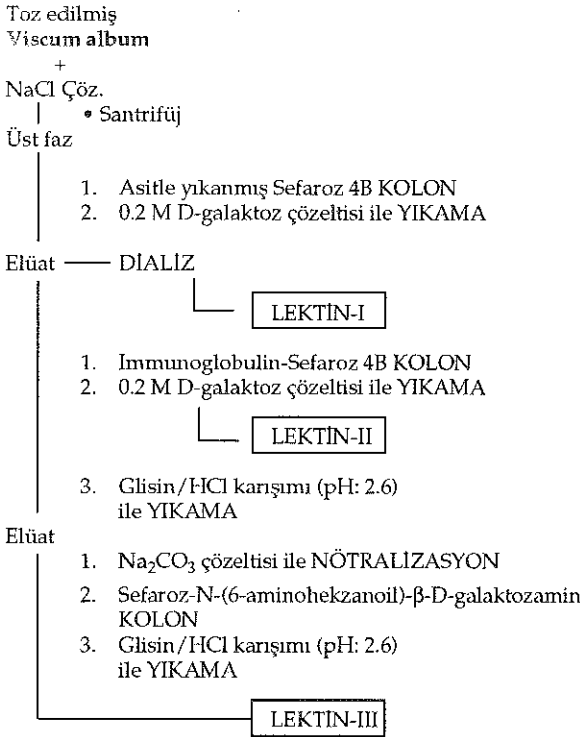
Lektin	Molekül Ağırlığı (Dalton)		
	Lektin	A-Zinciri	B-Zinciri
Lektin-I	115.000	29.000	34.000
Lektin-II	60.000	27.000	32.000
Lektin-III	55.000	25.000	30.000

Viscum album lektinlerinden, Lektin-I, galaktozu; Lektin-II, galaktoz ve N-asetilgalaktozamini, Lektin-III ise N-asetilgalaktozamini yapılarına özel olarak bağlamaktadır^{13,16,17}.

Viscum album Lektinlerinin İzolasyonu

Viscum album lektinlerinin izolasyonu sırasında afinite kromatografisinden yararlanılmıştır. Kullanılan yöntem Şema 1'de açıklanmıştır^{5,15,16}.

* Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, 06330 Hipodrom-ANKARA.



Şema 1. Viscum album Lektinlerinin İzolasyonu

Bu yöntem ile, 100 g Viscum album'dan 40-50 mg Lektin-I, 2-3 mg Lektin-II, 10-20 mg Lektin-III elde edilir¹⁵.

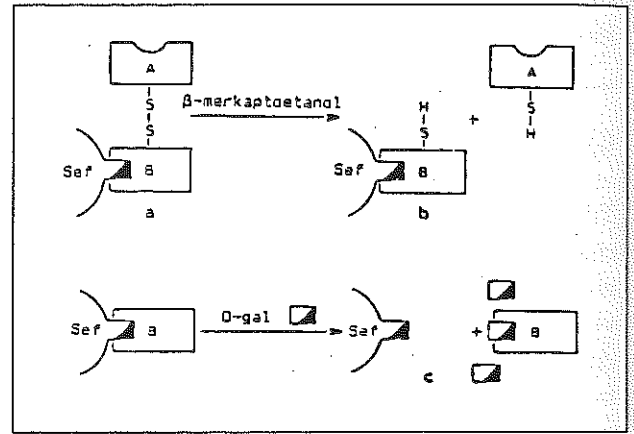
Ayrıca lektinlerin izolasyonunda afinite kromatografisi yanında jel kromatografisinden de yararlanılarak Lektin-I ve Lektin-II ayrımı gerçekleştirilmektedir¹⁴.

Viscum album Lektinlerinden A- ve B-Zincirinin İzolasyonu

Viscum Album lektinlerinden A- ve B- zincirlerinin izolasyonu sırasında afinite kromatografisinden yararlanılmıştır^{13,15}. Lektin, pH'sı 7.2'ye getirilmiş fosfat tampon çözeltisinde çözüldükten sonra kısmen hidrolize edilmiş Sefaroz 4B veya agaroz kolona uygulanır. Bağlanmamış proteinler, fosfat tampon çözeltisi ile yıkanarak ayrılır. Kolondan % 5'lik 2-merkaptotanol çözeltisi geçirilir. Bu fraksiyonun alınmasından sonra, kolonda kalmış olan lektinin tamamen alınabilmesi için kolon oda sıcaklığında iki gece bırakılır ve fosfat tampon çözeltisi ile yıkanır. A-zinciri, kolondan % 5'lik 2-merkaptot-

etanol çözeltisi ile alınır. Kolonda bağlanmış kalan B-zinciri ise, fosfat tampon çözeltisi içinde çözülmüş bulunan 0.1 M laktoz çözeltisi ile alınır. Eğer A-zincirini içeren çözelti çok az miktarda B-zinciri içeriyorsa işlemler baştan tekrarlanır. Bu şekilde hazırlanmış olan B-zinciri, hala lektin içerdiğinden DEAE-Selüloz kromatografisi (Dietilaminoetil-Selüloz) kullanılarak tamamen saflaştırılır.

Viscum album lektinlerinden A- ve B-zincirlerinin izolasyonu Şema 2'de görülmektedir¹³. İzolasyon sırasındaki basamaklar şekil üzerinde a, b, c, harfleriyle gösterilmiş ve aşağıda açıklanmıştır.



Şema 2. V. album Lektinlerinin A- ve B-zincirlerinin İzolasyonu

- Lektin, taşıyıcının galaktoz grubuna bağlanır.
- 2-Merkaptoetanol, disülfid bağlarını koparır. Açığa çıkan A-zinciri, 2-merkaptotanol çözeltisi ile alınır. B-zinciri taşıyıcıya bağlanmış şekilde bulunur.
- B-zinciri, D-galaktoza afinite gösterdiğinden, D-galaktoz, B-zincirinin elüsyonunda kullanılır^{13,15}.

Viscum album Lektinlerinin Yapısal Analizleri

Viscum album lektinlerinden, Lektin-I'nin yapısı elektron mikroskobu ile incelenmiştir^{15,18}.

Lektin-I molekülleri, uranil asetat veya uranil formiyat ile negatif lekelenerek görünür hale getirilmiştir. Elektron mikroskobu ile incelendiğinde iki farklı şekilde görülmektedir.

Bunlar:

a) Çubuk benzeri veya

b) Her çubuk benzeri molekül/yarısı kadar büyük-
lükte üçgen veya yuvarlak şekildedir.

Lektin-I monomerleri, 80x90 A° boyutlarında yuvar-
lak veya üçgen şekle sahiptir. Konsantrasyonun
artmasına bağlı olarak, iki yuvarlak veya üçgen
molekül bir araya gelir ve çubuk şeklinde olan
Lektin-I dimerlerinin molekül şekillerini oluşturur.

40 µg/mL konsantrasyondaki Lektin-I çözeltisinin,
% 66'sını çubuk benzeri, % 34'ünü ise yuvarlak şekil-
li moleküller meydana getirmektedir.

Benzer sonuçlar, SDS-PAGE (Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi) yöntemiyle de elde edilmiştir^{15,18}. Lektin-I, tavşandan elde edilen IgG (Immunoglobulin G) ile karıştırılır ve % 0.1 SDS içeren % 0.9'luk NaCl çözeltisinde çözülür. 5 dakika 65°C'de saklanır. Lektin-I'nin yapısı ve büyüklüğü hakkında bilgi edinebilmek için, benzer molekül ağırlığına sahip bir proteinin IgG ile karıştırılması gereklidir. Daha sonra hazırlanan örnek, % 0.9'luk NaCl çözeltisi ile 1:50 oranında seyreltilir. PAGE işlemine tabi tutulur ve elektron mikroskopunda incelenir.

Bu yöntemde, çubuk benzeri moleküller görülme-
diği halde, farklı büyüklüklere sahip, < 50 A° ile >
200 A° boyutlarındaki yuvarlak moleküller görüle-
bilmektedir.

Lektin-I'nin molekül ağırlığı, SDS-PAGE yöntemi ile 29.000 ve 34.000 Dalton molekül ağırlığına sahip protein bandının varlığından yararlanılarak saptanmıştır.

Lektin-I'nin Kimyasal Modifikasyonu

Viscum album'dan izole edilen Lektin-I'nin eritrositler üzerindeki aglütinasyon etkisi, amino, sülfidril, disülfid, karboksil, fenolik, imidazol ve indol gruplarında yapılan özel kimyasal değişikliklerle incelenmiştir. 3 mg Lektin-I içeren 1 mL'lik tuzlu solüsyonlar, % 1'lik insan eritrosit süspansiyonu ile (1: 256 ve 1:8 oranlarında) muamele edilmiştir. Kim-

yasal değişiklikler sonunda elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir^{19,20} (Tablo 2):

Değişiklik yapan olaylar veya maddeler	Değişiklik yapılan kısım	Hemaglütinasyon aktivitesi	Oran
Fotokimyasal oksidasyon	Histidin	Değişmedi	1:256
Dietilpirokarbonat	Histidin	Değişmedi	1:256
Koshland's reaktifi	Triptofan	Değişmedi	1:256
N-bromosüksinimit	Triptofan	Değişmedi	1:256
Ellmann's reaktifi	-SH	Değişmedi	1:256
Formaldehit	-SH, -NH ₂	Değişmedi	1:256
FITC	-NH ₂	Değişmedi	1:256
Karbodimid, amin	-COOH	Değişmedi	1:256
Sodyum borohidür	-S-S-	Azaldı	1:8
N-asetilimidazol	Tirozin	Azaldı	1:8
Tetranitrometan	Tirozin	Azaldı	1:8

Lektinlerin, N-asetilimidazolla reaksiyona girmesi sonucunda O-asetil-tirozin türevleri, tetranitrometanla; 3-nitrotirozin türevleri meydana gelmektedir. Sodyum borohidür, lektinlerin disülfid köprülerini parçalamaktadır. Yapılan bu özel kimyasal değişiklikler lektinin aktivitesini azaltmaktadır¹⁹.

Triptofan molekülündeki değişiklikler N-bromosüksinimit ve 2-hidroksi-5-nitro-benzil bromür(Koshland's reaktifi) kullanılarak; amino gruplarındaki değişiklik ise dietilpirokarbonat fluoressen-izotiyosiyanat (FITC) ve formaldehitte yapılmaktadır^{19,20}. Lektinlerin karboksil grupları, 1-etil-3-(3-dietilaminopropil) karbodimidle amidlere dönüşmektedir. 5,5-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (Ellmann's reaktifi) ile sülfidril gruplarının süstitüsyonu gerçekleştirilmiştir. Lektin molekülünde yapılan, bu özel kimyasal değişiklikler, biyolojik aktiviteyi değiştirmektedir^{19,20}.

Lektin-I'nin Karbohidrat ve Amino Asit Kısmı

Lektin-I, karbohidrat kısmını tespit etmek üzere pronaz enzimi ile hidroliz edildikten sonra konkanavalin-A-sefaroze kolonda afinite kromatografisiyle fraksiyonlanmıştır. Elde edilen fraksiyonlarda yapılan spektral analizler sonucu oligomannoz tipi iki glikan tespit edilmiştir. Bu glikandan biri altı mannoz ünitesi ile 2-asetamido-2-deoksiglukoz ünitesi, diğeri ise beş mannoz ve 2-asetamido-2-deoksiglukoz ünitesi içermektedir.

Lektin-I, bu glikanlardan başka, 2-asetamido-2-deoksiglukoza bağlı bir α -fukoz ile bir ksiloz taşıyan mannotriozil N,N'-diasetilşitobioz glikanını da yapısında bulundurmaktadır.

Lektin-I'in A- ve B-zincirleri incelendiğinde, amino asit kısmında farklılıklar bulunmuştur. A- ve B-zincirlerinin amino asit bileşimleri Tablo 3'de verilmiştir^{5,15}. Tabloda verilen değerler mol/mol cinsindedir.

Tablo 3. Lektin-I'in A-, B-Zincirlerindeki Amino Asit Konsantrasyonları (mol/mol)

Amino Asit	A-Zinciri	B-Zinciri
Alanin	17.48	19.69
Arjinin	23.63	21.46
Aspartik asit	24.04	42.23
Sistein	1.77	10.82
Glutamik asit	28.80	26.66
Glisin	23.98	34.24
Histidin	3.53	1.61
İzolösin	16.05	16.79
Lösin	25.54	22.45
Lizin	2.31	8.17
Metionin	3.65	6.36
Fenilalanin	11.43	5.59
Pirolin	13.97	15.48
Serin	21.77	23.70
Treonin	19.22	26.40
Triptofan	0.30	3.08
Tirozin	9.98	7.26
Valin	13.82	21.63

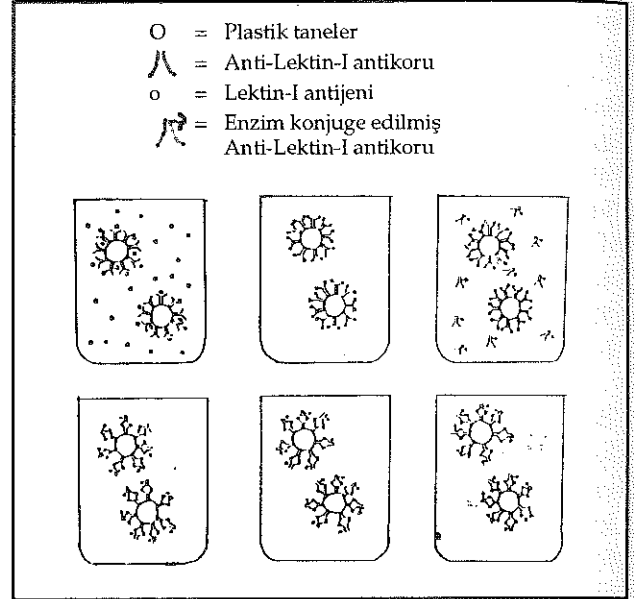
V. album Lektinlerinin Miktar Tayini

V. album lektinlerinin miktar tayininde ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi kullanılmaktadır (Şekil 1). Viscum album'da bulunan Lektin-I miktarları Anti-Lektin-I antikoruna kullanılarak ELISA yöntemiyle tespit edilmektedir²¹. Lektin-I miktarı reaksiyon sonucu oluşan renkten yararlanılarak spektrofotometrik olarak tayin edilmektedir.

Ayrıca ELISA yöntemiyle, Lektin-I içeren ve kanser tedavisinde kullanılan preparatların kalite kontrolleri de yapılabilmektedir²².

Viscum album ekstrelerindeki Lektin-I miktarı, biyolojik metodlarla da tayin edilmektedir^{4,5}.

Lektin-I, fare topuğuna enjekte edildiğinde, ayakta bir ödem oluşmaktadır. Ödem bütüklüğü, Lektin-I'in konsantrasyonu ile orantılıdır. Doz-bağımlı olan bu etki, herbir fare için 0.0025-2.5 μ g Lektin-I konsantrasyon aralığında incelenmektedir^{4,5}.



Şekil 1. ELISA Yöntemi Prensipleri

Viscum album Lektinlerinin Biyolojik Aktiviteleri

Viscum album lektinlerinden, sadece Lektin-I ve onun A- ve B-zincirleri üzerinde biyolojik aktivite çalışmaları yapılmıştır. Biyolojik aktivite ile ilgili yapılan araştırmaların sonuçları aşağıda verilmiştir (Tablo 4)^{4,5,15,23}:

1. Makrofajların Aktivasyonu

Lektin-I ve B-zinciri, makrofajların hücre yüzeyine bağlandıklarında, makrofajların negatif yüzey yükünde azalma meydana getirerek, aktif hale geçmelerini sağlamaktadır^{4,15}.

2. Makrofaj Stimüle Edici Faktörün Salınımı

Lektin-I ve B-zinciri, makrofaj hücrelerine doğrudan bağlanarak, onların aktif hale geçmelerine (I), ayrıca B-zinciri lenfositlere bağlanarak, lenfositlerden lenfokin (makrofaj stimüle edici faktör) salınımına neden olmaktadır (IIa). Salınan makrofaj stimüle

Tablo 4. Viscum album'dan İzole Edilen Lektin-I'nin biyolojik Aktiviteleri

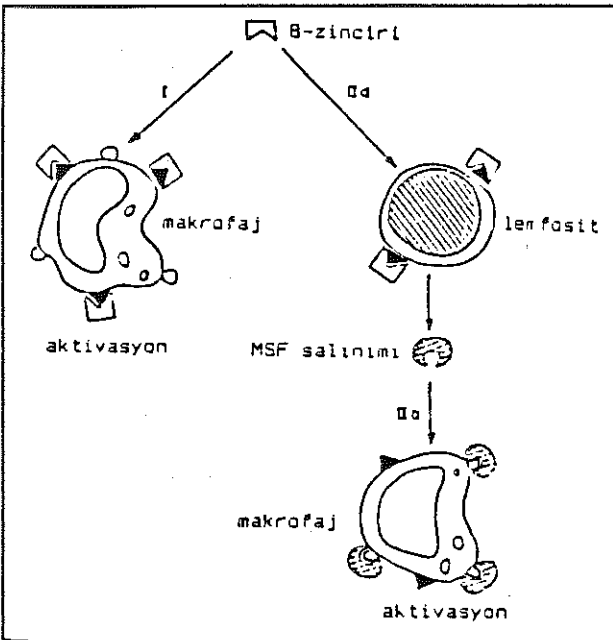
Aktivite	Lektin-I	A-Zinciri	B-Zinciri
Makrofajların aktivasyonu	+	-	+
Makrofaj stimüle edici faktörün salınımı	Test edilmemiş	+	+
Ribozomal protein sentezinin inhibisyonu	+	+	-
Lökosit fagositozunda artış	-	-	+
Allerjen nedenli histamin salınımının inhibisyonu	+	-	+
Plateletlerden kollajen nedenli serotonin salınımının inhibisyonu	+	-	+
Mitojenite	-	+	-

+ : Etki var
 - : Etki yok

edici faktör aracılığıyla da makrofajlar aktif duruma geçmektedir (IIb)^{15,24} (Şekil 2).

3. Ribozomal Protein Sentezinin İnhibisyonu

Lektin-I ve A-zinciri protein sentezini inhibe etmektedir. Lektin-I'nin B-zinciri, hücre yüzeyine bağlanır. A-zinciri, endositoz ile hücre içine girer ve A-zinciri,



Şekil 2. Makrofaj Stimüle Edici Faktörün Salınımı

N-glikozidaz enzimi gibi rol oynayarak A 4324 pozisyonundaki 28 SrRNA'nın N-glikozidik bağlarını koparır ve ribozomları inaktif duruma geçirir. Bu şekilde protein sentezi inhibe edilir. Lektin-I'nin sitotoksik etkisinin temelinde, bu mekanizma da önemli bir rol oynamaktadır^{4,5,15,23,25-27}.

4. Lökositlerin Fagositoz Kapasitesinde Artış

Lektin-I'nin sadece B-zinciri, normal insan lökositlerinin fagositoz kapasitesinde artış meydana getirmektedir. Lektin-I ve A-zincirinin ise lökositlerin fagositoz kapasitesi üzerinde hiçbir etkisinin bulunmadığı tespit edilmiştir^{5,15}.

5. Allerjen Nedenli Histamin Salınımının İnhibisyonu

1814 yılında Hecker, konvülsif astım vak'alarında Viscum album'un kullanımından bahsetmektedir. 1938 yılında Madaus, "Biyolojik İlaçların El Kitabı"nda, astma karşı bir Amerikan ilacı olarak Viscum album'un dal ve yapraklarının kullanılabilceğini belirtmiştir^{28,29}.

Daha sonraki yıllarda bu etki ile ilgili olarak geniş klinik çalışmalar yapılmıştır. Allerjik bronşiyal astımlı hastaların, lökosit ve bazofil granülositleri, anti-Ig E gibi ajanlarla veya toz, protamin ve polen gibi özel allerjenlerle muamele edilmiştir. Bunun sonucu lökosit ve bazofil granülositlerden, histamin salınmaya başlamıştır. Ig E, Viscum album'dan izole edilen Lektin-I ile inkübe edildiğinde, lökosit ve bazofil granülositlerden histamin salınımı ortalama olarak % 86 oranında azalmaktadır.

Ig E'nin yapısında, % 10.7-12.1 oranında karbohidrat bulunmaktadır. Ig E molekülünün Fc kısmında, N-asetilglukozamin, N-asetilnöraminik asit, galaktoz, fukoz ve mannoz gibi karbohidrat yapısında maddeler vardır. Karbohidrat bağlama yeteneğine sahip olan Lektin-I, molekülün Fc kısmına bağlanmakta ve Ig E ile indüklenen histamin salınımını inhibe etmektedir.

Lektin-I'nin A- ve B-zincirleri tek tek denenmiş ve A-zincirinin, histamin salınımını inhibe etmediği bulunmuştur. A-zinciri, Ig E molekülündeki karbo-

hidrat taşıyan kısma bağlanamamaktadır. B-zinciri ise bu kısma bağlanabilmekte ve histamin salınımını inhibe eden Lektin-I'in aktif kısmı olarak rol oynamaktadır^{5,15,28,29}.

ε. Lektin-I ve B-zinciri, plateletlerden kollajenle indüklenen serotonin salınımı inhibe etmektedir^{5,15}.

7. Mitojenite

Hücre,lektin etkileşmesinin en ilginç yönlerinden biri de, Lektin-I'in A-zincirinin meydana getirdiği mi-tojenik uyarıdır. Bölünmeyen, durgun lenfositler, A-zincirinin etkisiyle büyürler ve çoğalma yeteneği kazanırlar^{15,30,31}.

Lenfositlerin bu şekilde stimüle edilmesi, Lektin-I'in antitümör aktivitesinde önemli bir rol oynamaktadır²⁴.

Lektin içeren V. album ekstrelerinin bulunduğu çok sayıda müstahzar özellikle Almanya ve İsviçre gibi Avrupa gibi ülkelerinde değişik kanser vak'alarının tedavisinde kullanılmaktadır. Viscum album lektinleri ile ilgili antitümör aktivite tarama çalışmalarında Lektin-I'in en aktif lektin olduğu tespit edilmiştir.

Kaynaklar

1. Miller, A. G., "Viscum album L. in "Flora in Turkey and the East Aegean Islands" (Davis, P. H. Ed.), Edinburgh, University Press, Vol 7, pp. 547-548, 1982.
2. Heywood, V. H., "Flowering Plants of the World", Oxford, Oxford Univ. Press, pp. 174-175, 1979.
3. Hooker, J. D., Jackson, B. D., "Index Kewensis", London, Oxford Univ. Press, Vol. II, 1pp. 1211-1212, 1960.
4. Franz, H., "Inhaltsstoffe der Mistel (Viscum album L.) als Potentielle Arzneimittel", *Pharmazie*, 40 (2), 97-103, 1985.
5. Franz, H., "Mistletoe Lectins and Their A and B Chains", *Oncology*, 43 (1), 23-34, 1986.
6. Jordan, E., Wagner, H., "Detection and Quantitative Determination of Lectins and Viscotoxins in

- Mistletoe Preparations", *Arzneim.Forsch./Drug Res.*, 36 (8), 428-33, 1986.
7. Wagner, H., Feil, B., Seligmann, O., Petricic, J., Kalogjera, Z., "Phenylpropanes and Lignans of Viscum album Cardioactive Drugs V.", *Planta Med.*, (2), 102-104, 1986.
8. Freier, T. C., Rudiger, H. E. F., "Lectin-Binding Proteins from Lentil Seeds as Mitogens for Murine B Lymphocytes", *Phytochemistry*, 29, (5), 1459-1461, 1990.
9. Khwaja, T. A., Dias, C. B., Pentecost, S., "Recent Studies on the Anticancer Activities of Mistletoe (Viscum album L.) and Its Alkaloids", *Oncology*, 43 (1), 42-50, 1986.
10. Jordan, E., Wagner, H., "Structure and Properties of Polysaccharides from Viscum album (L.)", *Oncology*, 43 (1), 8-15, 1986.
11. Şener, B., Deliorman, D., Ergun, F., "Lektinler", *FABAD J. Pharm. Sci.*, 1995 (gönderildi)
12. Anon, *Lectins*, Sigma, 1708-1710, St. Louis 1993.
13. Franz, H., Ziska, P., Kindt, A., "A Simple Method for the Preparation of the Two Different Chains of the Mistletoe Lektin-I", *Lectins: Biol. Biochem. Clin. Biochem.*, 2, 771-776, 1982.
14. Luther, P., Becker, H., "Die Mistel", Berlin, Springer-Verlag, 1987.
15. Franz, H., "Advances in Lektin Research", Berlin, VEB Verlag Volk und Gesundheit, Vol. 2, 1989.
16. Franz, H., Ziska, P., Kindt, A., "Isolation and Properties of Three Lectins from Mistletoe (Viscum album L.)", *Biochem. J.*, 192 (2), 481-484, 1981.
17. Wu, A. M., Chin, L. K., Franz, H., Pfüller, U., Herp, A., "Carbohydrate Specificity of the Receptor Sites of Mistletoe Toxic Lektin-I", *Biochim.Biophys. Acta*, 1117, 232-234, 1992.
18. Lutsch, G., Noll, F., Ziska, P., Kindt, A., Franz, H., "Electron Microscopic Investigations on the Structure of Lektin from Viscum album L.", *FEBS Letters*, 170 (2), 335-338, 1984.
19. Ziska, P., Eifler, R., Franz, H., "Chemical Modification Studies on the D-Galactopyranosyl Binding Lektin from the Mistletoe Viscum album L.", *Acta Biol. Med. Ger.*, 38 (9), 1361-1363, 1979.
20. Ziska, P., Franz, H., "Mistletoe Lectins: Chemical Modification and Carbohydrate Interaction of the D-Galactose Specific Lektin I", *Lectins: Biol. Biochem. Clin. Biochem.*, 1, 115-124, 1980.

21. Lennette, E., H., "Laboratory Diagnosis of Viral Infections", USA, Marcel Dekker Inc., 1985.
22. Ziska, P., Franz, H., "Determination of Lectin Contents in Commercial Mistletoe Preparations for Cancer Therapy Using the ELISA Technique", Lectins: *Biol. Biochem. Clin. Biochem.* 4, 473-480, 1985.
23. Gabius, H. J., Gabius, S., Joshi, S. S., Koch, B., Schroeder, M., Manzke, W. M., Westerhausen, M., "From III-Defined Extracts to the Immunomodulatory Lectin: Will There be a Reason for Oncological Application of Mistletoe?", *Planta Med.*, 60, 2-7, 1994.
24. Metzner, G., Franz, H., Kindt, A., Schumann, B., Fahlbusch, B., "Effects of Lectin-I from Mistletoe (ML-I) and Its Isolated A and B Chains on Human Mononuclear Cells: Mitogenic Activity and Lymphokine Release", *Pharmazie*, 42 (5), 337-340, 1987.
25. Jung, M. L., Baudino, S., Ribereau-Gayon, G., Beck, J. P., "Characterization of Cytotoxic Proteins from Mistletoe (*Viscum album* L.)", *Cancer Letters*, 51 (2), 103-108, 1990.
26. Stirpe, F., Sandvig, K., Olsnes, S., Pihl, A., "Action of Viscumin, a Toxic Lectin from Mistletoe, on Cells in Culture", *J. Biol. Chem.*, 257 (22), 13271-13277, 1982.
27. Stirpe, F., Legg, R. F., Onyon, L., J., Ziska, P., Franz, H., "Inhibition of Protein Synthesis by a Toxic Lectin from *Viscum album* L. (Mistletoe)", *Biochem. J.*, 190 (3), 843-845, 1980.
28. Sehart, I., Luther, P., Franz, H., Kindt, A., Samtleben, R., "The Effect of Toxic Lectins on the Histamine Release from Human Basophil Granulocytes", Lectins: *Biol. Biochem. Clin. Biochem.*, 4, 53-62, 1985.
29. Sehart, I., Luther, P., "Effect of *Viscum* Lectin on Histamine Release from Human Leucocytes", Lectins: *Biol. Biochem. Clin. Biochem.*, 2, 45-56, 1982.
30. Akev, N., "Lektinler", *Biyokimya Dergisi*, 14 (2), 51-61, 1989.
31. Metzner, G., "Mitogenicity of A-chain of Mistletoe Lectin I (ML-I)", *Lectins*, 5, 383-389, 1986.