

Kurşun Kaynaklı Oluşan Dalak Toksisitesine Karşı Sinapik Asidin Etkilerinin İncelenmesi

Investigation of the Effects of Sinapic Acid Against Lead-Induced Spleen Toxicity

Elif DALKILINÇ¹
Sefa KÜÇÜKLER¹
Şeyma AYDIN²



¹Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye.
²Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Genetik Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye.



Öz

Bu çalışma, fenolik asit içeren doğal bitkisel bileşik olan sinapik asidin (SA), erkek ratlarda kurşun (Pb) kaynaklı dalak toksisitesine karşı etkilerini incelemeyi amaçladı. Dalak toksisitesi, ratların 7 gün boyunca sadece Pb ya da Pb ile kombinasyon halinde SA'nın oral tedavisini takiben değerlendirildi. Doku malondialdehit (MDA) seviyeleri, glutatyon (GSH) seviyeleri, glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) aktiviteleri biyokimyasal olarak belirlendi. Dalak dokusunda Pb uygulanan grupta MDA düzeyi artarken, GSH seviyeleri ve GPx, SOD, KAT aktiviteleri azaldı. Pb ve SA'nın birlikte uygulanmasının MDA düzeyini azalttığı, GSH seviyeleri ve GPx, SOD, KAT aktivitelerini artırdığı gözlemlendi. Ayrıca Pb'nin NF- κ B, TNF- α , IL-1 β , COX-2, Beklin-1 ve kaspaz-3 seviyelerini önemli ölçüde artırdığını gösterdi. Kontrol ve Pb grubuyla karşılaştırıldığında ise, SA tedavisinin NF- κ B, TNF- α , IL-1 β , COX-2, Beklin-1 ve kaspaz-3 seviyelerini önemli ölçüde azalttığı belirlendi. Sonuç olarak bu çalışmada SA'nın Pb kaynaklı dalak hasarına karşı koruyucu özelliğe sahip olduğu belirlendi.

Anahtar kelimeler: Antioksidan, Dalak, Kurşun, Oksidatif Stres, Sinapik Asit.

ABSTRACT

This study aimed to examine the effects of sinapic acid (SA), a natural herbal compound containing phenolic acid, against lead (Pb)-induced spleen toxicity in male rats. Spleen toxicity was assessed following oral treatment of rats with Pb alone or in combination with SA for 7 days. Tissue malondialdehyde (MDA) levels, glutathione (GSH) levels, and the activities of glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD), and catalase (CAT) were determined biochemically. While the MDA levels increased in the Pb-administered group in the spleen tissue, GSH levels and the activities of GPx, SOD and CAT decreased. It was observed that co-administration of SA and Pb decreased MDA levels and increased GSH levels as well as GPx, SOD, and CAT activities. It also showed that Pb significantly increased the levels of NF- κ B, TNF- α , IL-1 β , COX-2, Beclin-1 and caspase-3. Compared to the control and Pb groups, SA treatment was determined to significantly reduce the levels of NF- κ B, TNF- α , IL-1 β , COX-2, Beclin-1 and caspase-3. As a result, in this study, it was determined that SA has protective properties against Pb-induced spleen damage.

Keywords: Antioxidant, Lead, Oxidative Stress, Sinapic Acid, Spleen.

Geliş Tarihi/Received :12.01.2024
Kabul Tarihi/Accepted :05.09.2024
Yayın Tarihi/Publication Date :19.09.2024

Sorumlu Yazar/Corresponding author:

Elif Dalkılınc

E-mail: elif.dalkilinc99@gmail.com

Cite this article: Dalkılınc E., Küçükler S., Aydın Ş. (2024). Investigation of the Effects of Sinapic Acid Against Lead-Induced Spleen Toxicity. *Journal of Laboratory Animal Science and Practices*, 4(2), 72-77.



Content of this journal is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International License.

Yöntemler

Giriş

Ağır metaller, vücudumuzda biyolojik birikimleri, toksik etkileri ve sudaki kalıcılıkları sebebiyle toksikasyona yol açmaktadır (Şimşek vd., 2023b). Ağır metal toksikasyonunun artmasıyla beraber Pb'nin insan sağlığı üzerindeki zararlı etkileri de araştırılmaya başlanmıştır (Caglayan vd., 2020).

Pb gıda, su ve hava yoluyla insanları etkileyen bir metaldir (Soleimani vd., 2016). Pb, özellikle glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) gibi bazı antioksidan enzimlerin –SH (tiyol) grubuna bağlanır ve oksidatif strese neden olarak toksik etki gösterir (Caylak, 2010). Vücuda alınan Pb kan dolaşımı yoluyla kıkırdak, sinir, timus, tiroid, pankreas, böbrek, akciğer, dalak ve kas dokusuna ulaşır. Bundan dolayı vücutta fiziksel, biyokimyasal, davranışsal bozukluklara sebep olur (Kucukler vd., 2021). Ayrıca, immun yanıtı artırarak, immun sistem organlarında işlevsel hasara ve anemiye yol açar (Li vd., 2021).

Reaktif oksijen türleri (ROT), hücre büyümesi ve çoğalması için gerekli sinyal molekülleri olarak görev yapar; ancak hücre içindeki redoks dengesindeki değişiklikler serbest radikallerin üretimini artırır. Hücreler çeşitli endojen antioksidan korunma sistemlerine sahip olsa da serbest oksijen türlerinin hücreye karşı oluşturduğu hasarı etkili bir şekilde engelleyemez (Şimşek vd., 2023c). Aşırı Pb alımına bağlı olarak vücutta oksidan ve antioksidan dengesi bozulur (Tuncer vd., 2023).

Flavanoidler birçok meyve, sebze ve bitki köklerinde bulunan polifenolik bileşiklerdir. Bu bileşiklerin birçok yararlı etkisi vardır. Bu etkiler antioksidan, anti-inflamatuar, anti-hipertansif, anti-mutajenik, anti-kanser ve anti-bakteriyel özelliklerdir (Şimşek vd., 2023c). Sinapik asit'in (SA) ise çeşitli meyvelerde, sebzelerde, yağlı tohumlarda, bazı baharatlarda, şifalı bitkilerde ve özellikle tahıl tanelerinde önemli miktarlarda bulunduğu ve güçlü antioksidan etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Nićiforović & Abramović, 2014).

Sunulan çalışmada, SA'nın güçlü antioksidan özelliğinden yararlanılarak dalak üzerinde Pb maruziyetine bağlı oluşturacağı etkinin oksidatif stres, inflamasyon, otofaji ve apoptoz parametreleri ölçülerek incelenmesi amaçlanmıştır.

Deney Hayvanları

Çalışmada, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen ortalama ağırlıkları 220-250 g arasında olan, 10 haftalık yaştaki 35 adet erkek Sprague-Dawley cinsi rat kullanıldı. Çalışma süresince, hayvanlar standart laboratuvar koşullarında barındırıldı. Bu koşullar, $24 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklık, $\%45 \pm 5$ nem ve 12/12 aydınlık/karanlık döngüsü şeklinde sağlandı. Ratlar, çalışma süresince standart yem ve su ile ad-libitum olarak beslendi. Çalışma başlatılmadan önce, ratların adaptasyon sağlamaları için bir hafta bekletildi. Bu çalışmamızın etik kurul onayı 20.11.2023 tarihli 195 sayılı karar ile Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı tarafından onaylanmıştır.

Deneysel Uygulamalar

Çalışmada toplamda 35 adet Sprague-Dawley cinsi erkek rat kullanıldı ve her bir grupta 7 adet rat bulunacak şekilde 5 gruba ayrıldı.

1- Kontrol Grubu: Ratlara 7 günlük süre boyunca oral gavaj yoluyla serum fizyolojik verildi.

2- Sinapik Asit Grubu (SA): Ratlara 7 günlük süre boyunca, 10 mg/kg dozunda oral gavaj yoluyla sinapik asit uygulandı (Tuncer vd., 2023).

3- Kurşun Grubu (Pb): Ratlara 7 günlük süre boyunca, oral gavaj yoluyla 30 mg/kg dozunda kurşun verildi (Tuncer vd., 2023).

4- Kurşun + Sinapik Asit 5 mg/kg Grubu (Pb + SA 5): Ratlara 7 gün boyunca her gün 30 dakika arayla 30 mg/kg kurşun ve 5 mg/kg sinapik asit oral yolla verildi.

5- Kurşun + Sinapik Asit 10 mg/kg Grubu (Pb + SA 10): Ratlara 7 gün boyunca her gün 30 dakika arayla 30 mg/kg kurşun ve 10 mg/kg sinapik asit oral gavaj yoluyla uygulandı.

Numunelerin Alınması

Son uygulamadan 24 saat sonra ratlar sevofluran anestezisi altında dekapite edilerek dalak dokusu alındı. Biyokimyasal analizleri yapıncaya kadar -80°C 'de muhafaza edildi.

Biyokimyasal Analizler

Oksidatif stres belirteçlerini değerlendirmek için ihtiyaç duyulan dalak dokusu homojenatları, önceki çalışmamızda belirtilen metodolojiye göre hazırlandı (Çelik vd., 2020). GSH hidrojen peroksit ile oksidasyonunu katalize eden GPx enziminin aktivitesi Matkovics tarafından belirtilen yöntemle ölçüldü (Matkovics, 1988). Nitroblue tetrazolyum indirgenmesini engelleme prensibine dayanan SOD aktivitesi Sun ve ark. tarafından belirtilen yöntemle ölçüldü (Sun vd., 1988). Hidrojen peroksit varlığını gösteren KAT aktivitesi Aebi tarafından belirlenen yöntemle ölçüldü (Aebi, 1984). GSH analizi sülfhidril gruplu bileşiklerin varlığında 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoik) asit indirgenerek sarı renk meydana gelmesi prensibine dayanır. GSH analizi Sedlak ve Lindsay tarafından kullanılan yöntemle ölçüldü (Sedlak & Lindsay, 1968). Lipit peroksidasyonunun göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyi Placer ve ark. tarafından belirlenen yöntemle ölçüldü (Placer vd., 1966). Dalak dokularının protein içeriği Lowry ve ark. tarafından belirlenen yöntemle ölçüldü (Lowry vd., 1951).

ELISA yöntemi ile dalak dokusunda NF-κB, IL-1β, TNF-α, COX-2, Beklin-1 ve Kaspaz-3 düzeylerinin incelenmesi

Dalak dokusunda Nükleer Faktör-kappa B (NF-κB), İnterlökin-1β (IL-1β), Tümör Nekroz Faktörü-alfa (TNF-α), Siklooksijenaz-2 (COX-2), Beklin-1 (YL Biont, Şangai, Çin) ve Sistein Aspartat Spesifik Proteaz-3 (Kaspaz-3) seviyeleri (Sunred, Şangai, Çin) üreticinin protokolüne göre ticari bir ELISA deney kiti kullanılarak ölçüldü.

İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen tüm veriler, SPSS 20.0 paket programı kullanılarak istatistiksel olarak analiz edildi. Elde edilen biyokimyasal veriler, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi ile incelenmiş olup, çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD testi uygulandı. P<0.05 seviyesindeki sonuçlar anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Oksidatif Stres Belirteçleri ve Antioksidan Enzimler

Pb'nin dalak dokusunda oluşturduğu oksidatif hasara karşı SA'nın etkileri oksidan belirteç olan MDA ile antioksidan enzimler olan SOD, KAT, GPx aktiviteleri ve non-enzimatik bir belirteç olan GSH analizi ile değerlendirilerek bulgular Tablo 1'de sunulmuştur. Sonuçlarımıza göre, lipid

peroksidasyonunun bir göstergesi olan dalak dokusu MDA düzeyleri incelendiğinde, kontrol ve sadece SA uygulanan gruplara göre Pb uygulanan grupta MDA düzeyinin yükseldiği tespit edildi (p<0.0001). Pb grubunda yükselen MDA seviyelerinin Pb ile kombine uygulanan SA antioksidanının her iki dozunda da azaldığı tespit edildi (p<0.0001). Non-enzimatik bir antioksidan olan GSH düzeyleri ve enzimatik antioksidan olan SOD, KAT ve GPx aktiviteleri kontrol ve sadece SA uygulanan gruplara göre Pb grubunda azalırken (p<0.0001), Pb ile uygulanan SA antioksidanının 5 mg/kg ve 10 mg/kg'lık dozlarında ise arttığı tespit edildi (p<0.0001).

Tablo 1. SA ve Pb'nin dalak dokusunda MDA ve GSH düzeyleri, SOD, GPx ve KAT enzim aktiviteleri üzerine etkisi.

Table 1. Effects of SA and Pb on MDA and GSH levels, SOD, GPx and KAT enzyme activities in spleen tissue.

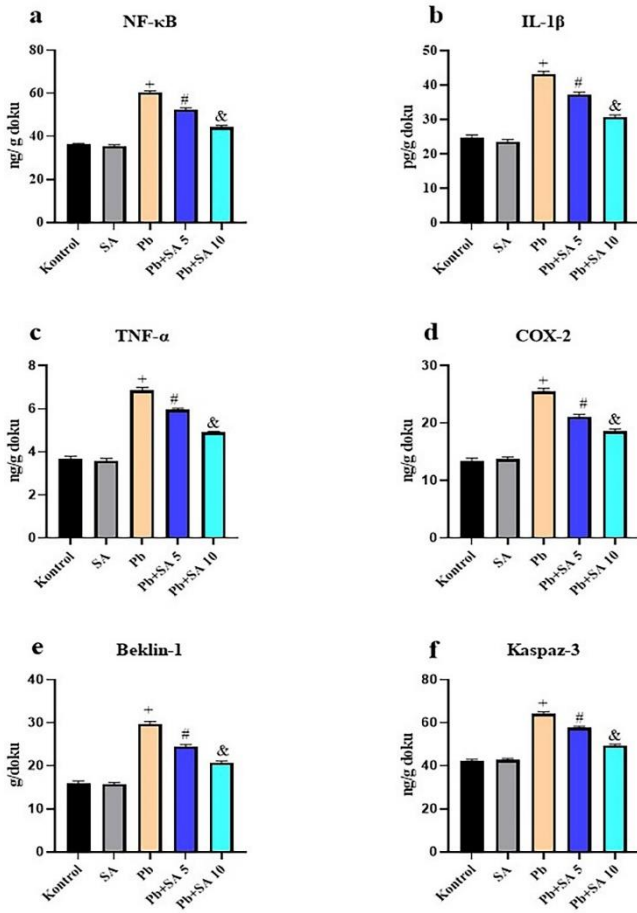
Parametreler	Kontrol	SA	Pb	Pb+SA 5	Pb+SA 10
MDA (nmol/g doku)	15,21 ±0,37	14,76±0,34	28,11±0,43 ⁺	23,18±0,42 [#]	19,34±0,23 ^{&}
GSH (nmol/g doku)	2,32±0,05	2,36±0,04	1,13±0,03 ⁺	1,50±0,02 [#]	1,88±0,03 ^{&}
SOD (U/g protein)	19,17±0,43	19,57±0,45	8,81±0,37 ⁺	11,98±0,37 [#]	15,65±0,39 ^{&}
GPX (nmol/g doku)	10,88±0,39	11,59±0,30	3,39±0,23 ⁺	5,08±0,22 [#]	8,16±0,33 ^{&}
KAT (Katal/g protein)	23,36±0,76	23,99±0,52	11,66±0,38 ⁺	14,92±0,31 [#]	16,71±0,39 ^{&}

Dalak Dokusu; Malondialdehit (MDA), Glutatyon (GSH) Düzeyi ve Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (KAT), Glutatyon Peroksidaz (GPX) Aktiviteleri. Pb: Kurşun, SA: Sinapik Asit. Kontrol ve SA grubuna göre; aynı satırdaki farklı simgeler (+, #, &), gruplar arası önemli bir fark olduğunu ifade eder (p<0.0001).

ELISA Yöntemi ile Dalak Dokusunda NF-κB, IL-1β, TNF-α, COX-2, Beklin-1 ve Kaspaz-3 Düzeylerinin Belirlenmesi

Pb uygulamasının tetiklediği inflamatuvar yanıt üzerinde SA tedavisinin etkisini araştırmak için dalak dokusunda NF-κB, IL-1β, TNF-α, COX-2, Beklin-1 ve Kaspaz-3 seviyeleri değerlendirilerek Şekil 1'de sunulmuştur. NF-κB (Şekil 1a), IL-1β (Şekil 1b), TNF-α (Şekil 1c) ve COX-2 (Şekil 1d) seviyeleri kontrol ve SA grubuna kıyasla Pb grubunda artarken (p<0.0001), Pb ile kombine uygulanan SA'nın 5 ve 10 mg/kg'lık dozunda bu seviyeler azaldı (p<0.0001). Mevcut çalışmada otofajik belirteç olan beclin-1 düzeyi (Şekil 1e) incelendiğinde ise, Pb grubunda kontrol ve SA grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığı tespit edilirken, SA tedavisi uygulanan gruplarda ise seviyenin azaldığı belirlendi (p<0.0001). Ayrıca SA'nın apoptoz üzerine etkisini değerlendirmek için kaspaz-3 düzeyi (Şekil 1f) incelendi.

Çalışmadaki bulgumuza göre kaspaz-3 düzeyi Pb grubunda, kontrol ve SA grubuna göre arttığı belirlenirken, SA tedavisi uygulanan gruplarda ise artan seviyenin azaldığı gözlemlendi ($p<0.0001$).



Şekil 1: Dalak Dokusu; Nükleer Faktör kappa B (NF-κB), Tümör Nekroz Faktör-alfa (TNF-α), İnterlökin-1β (IL-1β), Siklooksijenaz-2 (COX-2), Beklin-1, Sistein Aspartat Spesifik Proteaz-3 (kaspaz-3) Seviyesi. Pb: Kurşun, SA: Sinapik Asit. Kontrol ve SA grubuna göre; grafik sütunlarındaki farklı simgeler (+, #, &), gruplar arası önemli bir fark olduğunu ifade eder ($p<0.0001$).

Tartışma

İnsan vücudunun en önemli bağışıklık organlarından biri olan dalak, vücut sıvılarının ve hücrelerinin bağışıklığında rol oynar (Akaras vd., 2023). Vücudumuza alınan Pb'nin büyük oranı atılır, ancak bir kısmı emilir ve kana geçer; emilen Pb, dolaşım sistemi boyunca eritrositler tarafından taşınır; vücuttaki hemen hemen tüm dokular özellikle hematopoetik ve bağışıklık sistemi toksik metale maruz kalır (Aldahmash & El-Nagar, 2016). Pb'ye maruz kalan ratların dalağında splenomegali oluşarak dalak toksisitesine sebep olur (Marques vd., 2006). Dalakta Pb'ye maruz kalan eritrositlerin artan tahribatı anemiye ve serbest demir (Fe)

artışına yol açar. Bu artış, hücrel Fe homeostazisini bozarak makrofajlarda oksidatif stresi artırır (Kasten-Jolly & Lawrence, 2014).

Pb'nin SOD, GPx, KAT aktivitelerinde ve GSH seviyesinde önemli bir azalmaya, MDA düzeyinde ise önemli bir artışa sebep olduğunu gösteren birçok literatür bulunmaktadır (Akaras vd, 2024; Akarsu vd, 2023; Han vd, 2017; Tuncer vd, 2023). Akaras ve ark.'nin yaptığı çalışmaya göre Pb'nin akciğer dokusunda oksidatif strese yol açarak hasara yol açtığı ancak SA uygulaması ile tedavi gruplarında iyileşme olduğu belirtilmiştir (Akaras vd., 2024). Sunulan çalışmamızdaki bulgularımız mevcut literatür bilgilerini destekleyerek, Pb'nin dalak dokusundaki SOD, KAT, GPx aktivitelerini ve GSH seviyelerini azalttığını, MDA seviyelerini ise yükselterek oksidatif hasara yol açtığını göstermiş ve SA tedavisinin bu seviyeleri önemli ölçüde azaltarak oksidatif stres hasarına karşı düzenleyici etkisi olduğu belirlenmiştir. Önceki çalışmalara benzer şekilde mevcut çalışmada, SA'nın antioksidan özelliğe sahip olduğu ve oksidatif strese karşı önleyici etkisi olduğu görülmüştür (Tuncer vd., 2023).

Pb toksisitesi endoplazmik retikulum kaynaklı apoptoz ve otofaji arasında bir bağlantı olduğunu göstermiştir. Dalak, bağışıklık tepkisi ve eritropozedeki rolü nedeniyle, Pb toksisitesine karşı duyarlı bir dokudur (Corsetti vd., 2017). Mitojenler tarafından aktive edilen protein kinaz (MAPK) sinyal yolunun dalak büyümesine, hücre apoptozuna, çoğalmasına, farklılaşmasına ve mayozuna katkıda bulunduğu belirtilmektedir (Kuang vd., 2022). Yang ve ark.'nin yaptığı bir çalışmaya göre Pb kaynaklı dalak toksisitesiyle MAPK sinyal yolu arasında bir ilişki olduğu belirtilmiştir. MAPK sinyal yolunun aktivasyonu TNF-α, COX-2 ve IL-1β gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin aktivasyonuna ve dalakta apoptoza yol açarak NF-κB yolunun uyarılmasına neden olduğu ifade edilmiştir (Yang vd., 2023). Tuncer ve ark.'nin testis dokusunda yaptığı çalışmada Pb toksikasyonunun NF-κB, IL-1β, TNF-α ve COX-2 seviyelerinde artışa sebep olduğu, SA uygulanan gruplarda ise artan seviyelerin azaldığı belirtilmiştir (Tuncer vd., 2023). Sunulan çalışmada bu bulguları destekleyerek, dalak dokusunda Pb tarafından indüklenen TNF-α, IL-1β, COX-2 ve NF-κB seviyelerinde bir artış olduğu ortaya konmuştur; SA tedavisi ise bu seviyeleri önemli ölçüde azaltmıştır. Bu sonuç, SA'nın inflamasyonu azaltarak NF-κB, IL-1β, COX-2 ve TNF-α yollarındaki düzenleyici özelliklerini göstermektedir.

Otofaji, lizozomlar aracılığıyla yaşlanmış ve hasarlı organellerin çıkarılması sürecidir. Normal fizyolojik koşullar altında düşük seviyede olan otofaji, hücrel homeostazın

korunmasında önemli bir rol oynar (Şimşek vd., 2023a). Beklin-1 sinyal yolağı otofajik süreçte rol oynayan ve otofajik hasarın derecesini belirleyen önemli belirteçdir. Zhang ve ark.'ı Pb maruziyetinin ratlarda Beklin-1'in protein seviyelerinde önemli artış göstererek otofaji hasarına neden olduğunu bildirmiştir (Zhang vd., 2024). Şimşek ve ark'ı yaptığı çalışmada ise SA tedavisinin Pb toksikasyonu sebebiyle artan beclin-1 seviyelerini azalttığını bildirmişlerdir (Şimşek vd., 2023c). Mevcut çalışmada bu bulgularla uyumlu olarak Pb maruziyetinin Beklin-1 seviyesini artırarak otofajik hasara sebep olurken SA tedavisinin 10 mg/kg uygulanan dozu 5 mg/kg uygulanan dozuna göre daha iyi etki göstererek otofajik hasara karşı koruma sağladığı tespit edilmiştir.

Apoptozis, çeşitli uyarılarla tetiklenen hücre ölümünün normal bir sürecidir. Pb'nin dalak dokusunda kaspaz-3 ekspresyonunda önemli bir artışa neden olarak apoptoza yol açtığı bildirilmiştir (Corsetti vd., 2017). Akaras ve ark.'ı akciğer dokusunda Pb maruziyetinin kaspaz-3 seviyelerini artırarak apoptoza yol açtığı, SA uygulanan gruplarda ise apoptozun önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir (Akaras vd., 2024). Mevcut çalışmamızda bu bulgularla uyumlu olarak dalak dokusunda Pb grubunda kaspaz-3 seviyesinde artış olduğu, SA ve Pb'nin beraber uygulandığı gruplarda ise bu artışın azaldığı ve bu sonucun özellikle 10 mg/kg dozunda daha etkili olduğu bulunmuştur.

Sonuç

Sonuç olarak, Pb'nin dalak dokusunda oksidatif stres, inflamasyon, otofaji ve apoptoza sebep olarak hasara yol açtığını ve SA'nın bu zararları hafifletici bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, dalak dokusunda Pb kaynaklı hasarı önlemek amacıyla SA'nın 5 ve 10 mg/kg'lık dozlarının kullanımının etkili olduğu, özellikle 10 mg/kg verilen dozun daha etkili olduğu tespit edildi.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma için etik kurul onayı Atatürk Üniversitesi'nden alınmıştır (Tarih: 20.11.2023, Numara: 2023/195).

Yazar Katkıları: Fikir – S.K.; Tasarım – S.K.; Denetleme – S.K.; Kaynaklar – S.K.; Malzemeler – S.K.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi – E.D.; Analiz ve/veya Yorum – S.K., Ş.A.; Literatür Taraması – E.D.; Yazıyı Yazan – E.D., Ş.A.; Eleştirel İnceleme – S.K., Ş.A.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız

Çıkar Çatışması: Yazarlar, çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval for this study was received from Atatürk University (Date: 20.11.2023, Number: 2023/195).

Author Contributions: Concept – S.K.; Design – S.K.; Supervision – S.K.; Resources – S.K.; Materials – S.K.; Data Collection and/or Processing – E.D.; Analysis and/or Comment – S.K., Ş.A.; Literature Review- E.D.;

Writing Manuscript – E.D.Ş.A.; Critical Review – S.K., Ş.A.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Declaration of Interests: The authors declare no conflict of interest.

Financial Disclosure: The authors declared that they received no financial support for this study.

Kaynaklar

- Aebi, H. (1984). [13] Catalase in vitro (ss. 121-126). [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3).
- Akaras, N., Kandemir, F. M., Şimşek, H., Gür, C., & Aygörmüş, S. (2023). Antioxidant, Antiinflammatory, and Antiapoptotic Effects of Rutin in Spleen Toxicity Induced by Sodium Valproate in Rats. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 12(2), 138-144. <https://doi.org/10.46810/tdfd.1299663>.
- Akaras, N., Kucukler, S., Gur, C., İleriturk, M., & Kandemir, F. M. (2024). Sinaptic acid protects against lead acetate-induced lung toxicity by reducing oxidative stress, apoptosis, inflammation, and endoplasmic reticulum stress damage. *Environmental Toxicology*. <https://doi.org/10.1002/tox.24255>.
- Akarsu, S. A., Gür, C., İleriturk, M., Akaras, N., Küçükler, S., & Kandemir, F. M. (2023). Effect of syringic acid on oxidative stress, autophagy, apoptosis, inflammation pathways against testicular damage induced by lead acetate. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 80. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127315>.
- Aldamash, B. A., & El-Nagar, D. M. (2016). Antioxidant effects of captopril against lead acetate-induced hepatic and splenic tissue toxicity in Swiss albino mice. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(6), 667-673. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.05.005>.
- Caglayan, C., Taslimi, P., Türk, C., Gulcin, İ., Kandemir, F. M., Demir, Y., & Beydemir, Ş. (2020). Inhibition effects of some pesticides and heavy metals on carbonic anhydrase enzyme activity purified from horse mackerel (*Trachurus trachurus*) gill tissues. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(10), 10607-10616. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07611-z>.
- Caylak, E. (2010). Lead Toxication and Oxidative Stress in Children and Antioxidant Effects of Thiol Compounds. *Journal of Child*, 10(1), 13-23. <https://doi.org/10.5222/j.child.2010.013>.
- Corsetti, G., Romano, C., Stacchiotti, A., Pasini, E., & Dioguardi, F. S. (2017). Endoplasmic Reticulum Stress and Apoptosis Triggered by Sub-Chronic Lead Exposure in Mice Spleen: a Histopathological Study. *Biological Trace Element Research*, 178(1), 86-97. <https://doi.org/10.1007/s12011-016-0912-z>.
- Çelik, H., Kandemir, F. M., Caglayan, C., Özdemir, S., Çomaklı, S., Kucukler, S., & Yardım, A. (2020). Neuroprotective effect of rutin against colistin-induced

- oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat brain associated with the CREB/BDNF expressions. *Molecular Biology Reports*, 47(3), 2023-2034. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05302-z>.
- Han, Y., Li, C., Su, M., Wang, Z., Jiang, N., & Sun, D. (2017). Antagonistic effects of selenium on lead-induced autophagy by influencing mitochondrial dynamics in the spleen of chickens. *Oncotarget*, 8(20), 33725. www.impactjournals.com/oncotarget.
- Kasten-Jolly, J., & Lawrence, D. A. (2014). Lead Modulation of Macrophages Causes Multiorgan Detrimental Health Effects. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 28(8), 355-372. <https://doi.org/10.1002/jbt.21572>.
- Kuang, P., Cui, H., & Yu, L. (2022). Sodium fluoride suppresses spleen development through MAPK/ERK signaling pathway in mice. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 241, 113764. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113764>.
- Kucukler, S., Benzer, F., Yildirim, S., Gur, C., Kandemir, F. M., Bengu, A. S., Ayna, A., Caglayan, C., & Dortbudak, M. B. (2021). Protective Effects of Chrysin Against Oxidative Stress and Inflammation Induced by Lead Acetate in Rat Kidneys: a Biochemical and Histopathological Approach. *Biological Trace Element Research*, 199(4), 1501-1514. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02268-8>.
- Li, N., Zhao, Y., Shen, Y., Cheng, Y., Qiao, M., Song, L., & Huang, X. (2021). Protective effects of folic acid on oxidative damage of rat spleen induced by lead acetate. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 211, 111917. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.111917>.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein Measurement With The Folin Phenol Reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265-275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6).
- Marques, C. C., Nunes, A. C., Pinheiro, T., Lopes, P. A., Santos, M. C., Viegas-Crespo, A. M., Ramalhinho, M. G., & Mathias, M. L. (2006). An Assessment of Time-Dependent Effects of Lead Exposure in Algerian Mice (*Mus spretus*) Using Different Methodological Approaches. *Biological Trace Element Research*, 109(1), 075-090. <https://doi.org/10.1385/BTER:109:1:075>.
- Matkovics, B. (1988). Determination of enzyme activity in lipid peroxidation and glutathione pathways. *Laboratoriumi Diagnostika*, 15, 248-250.
- Ničiforović, N., & Abramović, H. (2014). Sinapic Acid and Its Derivatives: Natural Sources and Bioactivity. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(1), 34-51. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12041>.
- Placer, Z. A., Cushman, L. L., & Johnson, B. C. (1966). Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Analytical Biochemistry*, 16(2), 359-364. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(66\)90167-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(66)90167-9).
- Sedlak, J., & Lindsay, R. H. (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical biochemistry*, 25, 192-205.
- Soleimani, E., Goudarzi, I., Abrari, K., & Lashkarbolouki, T. (2016). The combined effects of developmental lead and ethanol exposure on hippocampus dependent spatial learning and memory in rats: Role of oxidative stress. *Food and Chemical Toxicology*, 96, 263-272. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.07.009>.
- Sun, Y., Oberley, L. W., & Li, Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34(3), 497-500. <https://doi.org/10.1093/clinchem/34.3.497>.
- Şimşek, H., Akaras, N., Gür, C., Küçükler, S., & Kandemir, F. M. (2023a). Beneficial effects of Chrysin on Cadmium-induced nephrotoxicity in rats: Modulating the levels of Nrf2/HO-1, RAGE/NLRP3, and Caspase-3/Bax/Bcl-2 signaling pathways. *Gene*, 875, 147502. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2023.147502>.
- Şimşek, H., Gür, C., Küçükler, S., İleritürk, M., Akaras, N., Öz, M., & Kandemir, F. M. (2023b). Carvacrol Reduces Mercuric Chloride-Induced Testicular Toxicity by Regulating Oxidative Stress, Inflammation, Apoptosis, Autophagy, and Histopathological Changes. *Biological Trace Element Research*. <https://doi.org/10.1007/s12011-023-04022-2>.
- Şimşek, H., Küçükler, S., Gür, C., Akaras, N., & Kandemir, F. M. (2023c). Protective effects of sinapic acid against lead acetate-induced nephrotoxicity: a multi-biomarker approach. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(45), 101208-101222. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-29410-y>.
- Tuncer, S. Ç., Akarsu, S. A., Küçükler, S., Gür, C., & Kandemir, F. M. (2023). Effects of sinapic acid on lead acetate-induced oxidative stress, apoptosis and inflammation in testicular tissue. *Environmental Toxicology*, 38(11), 2656-2667. <https://doi.org/10.1002/tox.23900>.
- Yang, B., Wang, Z., Hu, Z., Wang, S., Xu, J., & Li, X. (2023). Identification of the Hub Genes Linked to Lead (IV)-Induced Spleen Toxicity Using the Rat Model. *Biological Trace Element Research*. <https://doi.org/10.1007/s12011-023-04036-w>.
- Zhang, W., Luo, S., Zhu, Q., Chen, H., Wang, Q., Bian, Y., Tan, H., Liu, K., Liu, X., & Zhu, G. (2024). Lead exposure induces autophagy via TLR4/EEF2 in neurons. *Food and Chemical Toxicology*, 189, 114734. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2024.114734>.