

Yaşlı sıçanlarda skopolamin kullanımının karaciğer dokuları üzerine morfolojik ve ultrayapısal etkilerinin değerlendirilmesi

Bükay Yenice Gürsu^{1*}, Elif Aksöz², Büşra Aslan², Betül Yılmaz Öztürk¹, İlknur Dağ¹

^{*1} Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi (ESOGÜ-ARUM), Eskişehir, Türkiye

²Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

*Corresponding author : bgursu@ogu.edu.tr
Orcid No : <https://orcid.org/0000-0002-6822-3484>

Received : 08/05/2020
Accepted : 06/12/2020

Özet: Skopolamin güçlü antikolinergik etkileri olan doğal bir bitki alkaloididir. Muskarinik reseptörleri rekabetçi bir şekilde inhibe eder ve hem periferik antimuskarinik etkiler, hem de merkezi sedatif, antiemetik ve amnezik etkiler üretir. Uzun yıllardır bulantı, hareket hastalığı, alerjik rinit, duodenal ülser hastalığı, gastrointestinal rahatsızlık ve spazm, fonksiyonel bağırsak sendromu ve hiperaktif mesane tedavisinde antiemetik, antisekretuar ve antispazmotik ajan olarak kullanılmaktadır. Skopolamin, karaciğer tarafından metabolize edilir, ancak genellikle sadece kısa süreler için düşük dozlarda (<1 mg) verilir. Karaciğer veya böbrek hastalığı olan hastalar skopolamini metabolize edemez veya idrarla atamazlar. Böyle durumlarda skopolamin kullanımı düşünülürken yan etkilerin artacağı kabul edilmelidir. Uzun yıllar boyunca yaygın olarak kullanılmasına rağmen, skopolamin karaciğer enzimi yükselmesi veya klinik olarak görünen karaciğer hasarı ile ilişkilendirilmemiştir. Bununla beraber kullanımı durumunda karaciğer dokularındaki etkilerine dair kısıtlı çalışma bulunmaktadır. Karaciğer patolojisi çalışmalarında özellikle geçirimli elektron mikroskopisinin (TEM) önemli bir bileşen olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmadaki amacımız skopolamin kullanımının karaciğerde herhangi bir değişime neden olup olmadığını ışık ve elektron mikroskopisi yardımı ile değerlendirebilmektir. Bu amaçla, 20 Wistar Albino erkek yaşlı sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar randomize olarak iki gruba ayrılmış ve Skopolamin HBr (Sigma), %0,9 salinde çözülerek hazırlanmıştır. Kontrol gruplarına 3 hafta süreyle 0.1 ml/kg oral gavaajla serum fizyolojik, deneylerden 30 dk önce intraperitoneal olarak 0.1 ml/kg serum fizyolojik verilmiştir. Deney gruplarına ise 3 hafta süreyle oral gavaajla 0.1 ml/kg serum fizyolojik, deneylerden 30 dk önce intraperitoneal olarak 1mg/kg skopolamin uygulanmıştır. Süre bitiminde hayvanlardan anestezi altında 1mm³ boyutlarında karaciğer örnekleri alınmış ve dekapitasyon uygulanmıştır. Fiksasyon prosedürünün ardından örnekler ışık ve elektron mikroskopik takip işlemleri yapılmıştır. Elde edilen bloklardan ultramikrotomla alınan yarı ince kesitler ışık mikroskopisi ile, tam ince kesitler ise boyandıktan sonra TEM (Hitachi HT 7800) ile incelenmiştir. Bulgularımız skopolamin kullanımının karaciğerde ışık ve elektron mikroskopik düzeyde önemli bir farklılığa neden olmadığını, ancak skopolamin kullanılan grubun bazı örneklerinde kofül artışının tespit edildiğini göstermektedir. Ancak hepatosit bütünlüğü, şekli ve genel doku morfolojisinin iyi korunduğu gözlenmiştir. Bununla beraber verilerimizin ayrıntılı çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer, Skopolamin, Geçirimli Elektron Mikroskopisi

Evaluation of the morphological and ultrastructural effects of on liver tissues of scopolamine use in old rats

Abstract: Scopolamine is a natural plant alkaloid with strong anticholinergic effects. It competitively inhibits muscarinic receptors and produces both peripheral antimuscarinic effects and central sedative, antiemetic and amnesic effects. It has been used as an antiemetic, antisecretory and antispasmodic agent in the treatment of nausea, motion sickness, allergic rhinitis, duodenal ulcer disease, gastrointestinal discomfort and spasm, functional bowel syndrome and hyperactive bladder for many years. Scopolamine is metabolized by the liver, but is usually given in low doses (<1 mg) only for short periods of time. Patients with liver or kidney disease cannot metabolize scopolamine or excrete it in the urine. In such cases, it should be accepted that side effects will increase when considering the use of scopolamine. Although widely used for many years, scopolamine has not been associated with elevated liver enzyme or clinically apparent liver damage. However, there is limited study on its effects on liver tissues if used. Transmission electron microscopy (TEM) is considered to be an important component in liver pathology studies.

Our aim in this study is to evaluate whether scopolamine use causes any changes in the liver with the help of light and electron microscopy. For this purpose, 20 Wistar Albino male old rats were used. Rats were randomly divided into two groups and Scopolamine HBr (Sigma) was prepared by dissolving in 0.9% saline. The control groups were given saline with 0.1 ml / kg oral gavage for 3 weeks, and 0.1 ml / kg saline intraperitoneally 30 minutes before the experiments. In the experimental groups, 0.1 ml / kg saline was administered with oral gavage for 3 weeks and 1 mg / kg scopolamine intraperitoneally was administered 30 minutes before the experiments. At the end of the period, 1mm3 sized liver samples were taken from animals under anesthesia and decapitation was performed. After the fixation procedure light and electronmicroscopic preparation procedures were performed. Semi-thin sections taken by ultramicrotome from the obtained blocks were examined by light microscopy, and after the thin sections were stained with TEM (Hitachi HT 7800). Our findings show that the use of scopolamine does not cause a significant difference in light and electron microscopic levels in the liver, but the vacuol formation increase was detected in some samples of the scopolamine group. However, hepatocyte integrity, shape and general tissue morphology were well preserved. However, our data should be supported by detailed studies.

Keywords: Liver, Scopolamine, Transmission Electron Microscopy

© EJBCS. All rights reserved.

1. Giriş

Skopolamin, deneysel hayvan çalışmalarında amnezik etkiler üreten muskarinik kolinerjik bir reseptör antagonistidir. *Solanaceous* türü çeşitli bitkilerden ekstrakte edilebilmekte ya da sentetik olarak üretilmektedir (Khosravi-Farsani ve ark., 2016; Luetje ve Wooten, 1996). Ampirik formülü $C_{17}H_{21}NO_4$ tür ve yapısal formülü bir üçüncül amin L- (2) –skopolamin’dir (skopinli tropik asit ester; MW = 303.4) (Antor ve ark., 2014). Yaşlanmayla birlikte artan oranda gözlenen Alzheimer hastalığı ve demans, beyinde bilişsel fonksiyonlarda önemli rolü olan kolinerjik sistemdeki kayıplarla karakterizedir (Auld DS ve ark., 2002). Skopolamin, kolinerjik nöronların nonspesifik antagonistidir. Kolinerjik nöronlardaki iletiyi engelleyerek deney hayvanlarında öğrenmeyi ve hafızayı bozar. Bu nedenle, hafıza deneylerinde Alzheimer benzeri model oluşturmak için çok yaygın kullanılmaktadır (Klinkenberg I ve Blokland A, 2010).

Skopolamin, klinikte opioid bağımlılığı gibi merkezi sistemi ile ilgili rahatsızlıklar için tedavi edici olarak ya da araç tutması durumlarında kullanılmaktadır. Anestezi öncesi ön tedavi ve antiemetik etkiler için de çok uygun bir ilaçtır (Palle ve Neerati, 2017; Zaki ve ark., 2014).

Skopolaminin farmakokinetik parametreleri dozaj formuna bağlı olarak değişiklik göstermekte olup, oral uygulamalardaki biyoyararlanımı sınırlıdır. Plazmadaki yarı ömrünün kısa olmasının yanı sıra halüsinasyon görme, vertigo, ağız kuruluğu ya da uyuklama gibi doz bağımlı yan etkileri bulunmasından dolayı, klinikte skopolaminin oral ya da parenteral kullanımı sınırlıdır. Geliştirilmiş olan transdermal dozaj formu yüksek insidanslı yan etkileri azaltmayı hedeflemektedir (Renner ve ark., 2005). Ancak transdermal skopolaminin uzun süre kullanımı da ilaçla ilgili bir bağımlılık yapabilmektedir. Bu sebeple ilaç genellikle sadece kısa süre için ve düşük dozlarda (<1 mg) uygulanmaktadır (LiverTox, 2017). Bulantı, kusma ya da baş ağrısı en yaygın gözlenen semptomlardır ve şiddetli vakalarda hastanede kalmayı gerektirebilir. Bu sebeple hekimlerin ilaçla ilgili farmasötik talimatları dikkatlice ele almaları gerekmektedir (Luetje ve Wooten, 1996).

Skopolamin, absorpsiyon sonrası hepatik metabolizmaya uğramakta ve daha sonra idrarla dışarı atılmaktadır.

Karaciğer, vücuttaki metabolizma ile ilgili ana organdır ve eşsiz bir kan dolaşımının yanı sıra benzersiz bir mikro damar sistemine sahiptir. Çeşitli gastrointestinal bileşenler, toksinler ya da enfeksiyöz ajanları taşıyabilen kan, karaciğere sinüzoidler yoluyla geçmektedir. Sinüzoidal hücreler bazı savunma mekanizmaları ile bu bileşenlerle reaksiyona girerek tahriş edici etkilerin en aza indirgenmesine çalışırlar (Wisse ve ark; 1996; Nafady ve ark., 2017).

Karaciğerin elektron mikroskopik incelemesi komplike, zaman alıcı ve uzmanlık gerektiren bir çalışmadır. Hem karaciğerin ince yapısının iyi analiz edilmesi ve hem de analiz süreci boyunca tespit, gömme, kesit alma, kontrastlama için boyama ve mikroskopik incelemede karşılaşılabilecek çeşitli artefaktlar konusunda iyi bir deneyimin olması gerekmektedir (Wisse ve ark., 2010). Biyomedikal araştırmalarda geçirirli elektron mikroskopik veriler (TEM) çok değerlidir ve doğru preparasyon yönteminin seçimi sonucu doğrudan etkilemektedir.

Yaygın kullanımına rağmen, skopolaminin karaciğer enzimi yükselmesine yol açtığı ya da klinik karaciğer hasarı ile ilişkilendirilmesi durumu nadirdir. Yapılan bir çalışmada skopolaminin sıçan karaciğer dokularında doz bağımlı antioksidan ve antiplikasyon aktiviteri rapor edilmiş ve bu durum reaktif oksijen türlerinin artışı ile açıklanmıştır (Khosravi-Farsani ve ark., 2016). Bununla beraber kullanımı durumunda karaciğer dokularındaki morfolojik ve ultrayapısal etkilerine dair sınırlı çalışma bulunmaktadır. Skopolamin deney hayvanı çalışmalarında da hafızanın değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmakta, fakat bu çalışmalar daha çok beyine odaklandığından karaciğerdeki etkileri araştırılmamaktadır. Çalışmamızda skopolamin kullanımının karaciğer dokusunda herhangi bir morfolojik ve ultrayapısal değişime neden olup olmadığını ışık ve geçirirli elektron mikroskopi yardımı ile araştırılması amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metod

Çalışma ile ilgili 2020/3-7 nolu etik onay Balıkesir Üniversitesi Hayvan Deneyle Yerel Etik Kurulu tarafından verilmiş olup çalışmanın deney hayvanları ile ilgili aşamaları Balıkesir Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim, Bakım, Uygulama ve Araştırma Merkezi’nde

(BAUN-DEHAM), 1 gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın inceleme ve görüntüleme basamakları ise Eskişehir Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (ARUM) çalışılmıştır.

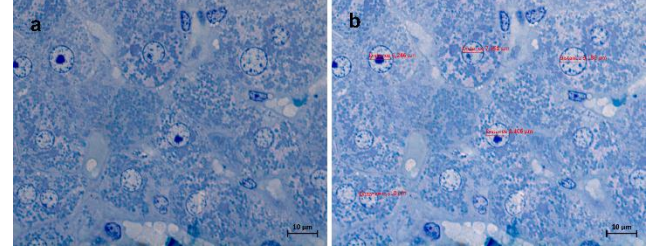
2.1. Deneysel Protokolü

Bu çalışmada 20 Wistar Albino erkek yaşlı sıçan (21-22 aylık) kullanılmıştır. Çalışmanın kurgulanmasında skopolamine bağlı hafıza bozukluğu modeli temel alınmıştır. Hayvanlar, kontrol grubu ve ilaç uygulama grubu olarak raslantısal iki gruba ayrılmıştır. Bu çalışmada kullanılan ilaç grubuna verilecek etken madde olan Skopolamin HBr (Sigma), %0,9 salinde çözülerek hazırlanmıştır. 3 haftalık bir zaman dilimi için kontrol gruplarına 0.1 ml/kg oral gavajla serum fizyolojik verilmiş ve son hafta davranış deneyinden yarım saat önce intraperitoneal olarak 0.1 ml/kg serum fizyolojik uygulaması gerçekleştirilmiştir. İlaç uygulanan deney gruplarına ise 3 hafta süreyle oral gavajla 0.1 ml/kg serum fizyolojik, deneylerden 30 dk önce intraperitoneal olarak 1mg/kg skopolamin uygulanmıştır. Hayvanlardan ketamin/ksilazin anestezisi altında 1mm³ boyutlarında karaciğer örnekleri alınmış ve dekapitasyon uygulanmıştır. Dokular vakit kaybetmeden 0.1 M fosfat tamponunda hazırlanan %2.5'lük glutaraldehit solusyonuna alınarak birincil fiksasyonları 24 saat 4°C'de gerçekleştirilmiştir. 15 dakikalık PBS tamponla 3 kez yıkılarak fiksatif ortamdan uzaklaştırılmış ve 2 saat boyunca %1'lik osmiyum tetroksit ile ikincil fiksasyon uygulanmıştır. Dokular aynı şekilde PBS yıkama serisi ile fiksatiften arındırılmıştır. Dokulara 15 dk 2 kez alkol serileri uygulanarak dehidrasyonu (%30, %50, %70, %90, %96, %100) gerçekleştirilmiştir. 30 dk. süre ile 2 kez Propilen oksit ile şeffaflaştırılan dokular propilen oksit- araldit karışımında 2 saat bekletilmiştir ardından 1 gece boyunca saf araldit içerisinde inkube edilmiştir. Daha sonra resin bloklar içinde polimerize olan dokular ışık ve elektron mikroskopik incelemeler için ultramikrotom (Leica Ultracut R) cihazı ile yarı ince (700 nm) ve tam ince kesitleri (60 nm) alınmıştır. Işık mikroskobu incelemeleri için kesitler toluidin mavisiyle boyanmıştır. Elektron mikroskopik incelemeler(Hitachi HT 7800) için kesitler bakır gridler üzerinde uranil asetat-kurşun sitrat ile boyanmıştır.

3. Bulgular

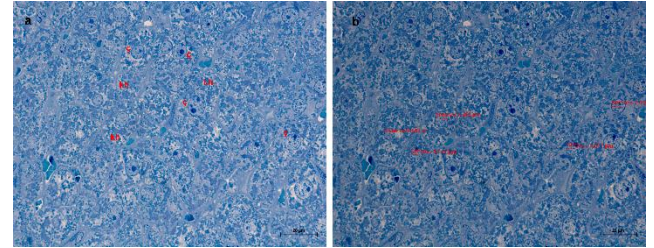
Çalışmamızda incelenen karaciğer biyopsi örnekleri, kontrol ve skopolamin uygulanan gruplardan elde edilen ışık ve elektron mikroskopik verilere göre morfolojik ve ultrayapısal açıdan değerlendirilmiştir. Şekil 1a, kontrol grubundan elde edilen karaciğer örneklerinde normal histolojik yapıyı göstermektedir. Hepatositler düzenli yuvarlak ve oval görünümde olup, çekirdekçik yapıları gözlenmektedir. Stoplazmik dağılım homojendir ve hücreler arası bağlantılar düzenlidir, Kupfer hücreleri sağlıklıdır (Şekil 1 a).

Daha sonra ışık mikroskop verilerinde gözlenen hepatosit çekirdeklerinin çap ölçümleri yapılmıştır (ZEISS AXIOIMAGER M1). Bu amaçla her kesitten rastgele en az beş farklı bölge seçilmiş ve toplam 50 çekirdek çapı ölçülerek, elde edilen değerlerin ortalaması hesaplanmıştır. Kontrol grubu hepatosit çekirdeği çapları ortalama olarak 7.85 µm olarak belirlenmiştir (Şekil 1b).



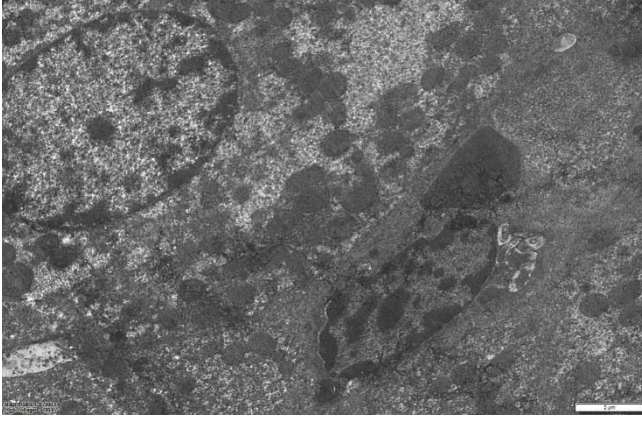
Şekil 1a. Toluidin mavisi ile boyanmış yarı ince kesitlerden elde edilen kontrol grubu sıçan karaciğerinin ışık mikroskopik görüntüsü b. Ortalama hepatosit çap ölçüm işlemlerinde değerlendirilen bir alana ait temsilci resim. Skala bar, 10 µm.

Skopolamin uygulanan örneklerden elde edilen yarı ince kesitlerde ise hepatosit görünüşleri genel olarak kontrol grubundakilere benzerlik göstermektedir. Çekirdek yapıları yuvarlak ve oval görünümde olup, çekirdekçik çoğunda net olarak gözlenmektedir. Sinüzoidal alanlar normal görünümündedir. Az sayıda hepatosit yapısında stoplazma homojenitesinin azaldığı gözlenmektedir (Şekil 2a). Bu gruptan elde edilen ortalama hepatosit çekirdek çap ölçümleri ise 6.70 µm'dir (Şekil 2b).



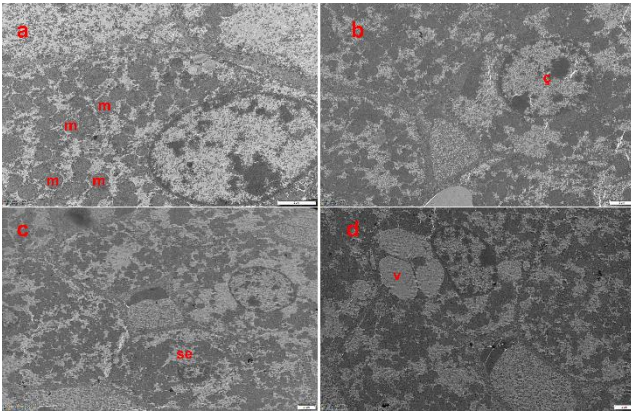
Şekil 2a. Toluidin mavisi ile boyanmış yarı ince kesitlerden elde edilen ve skopolamin uygulanan sıçan karaciğerinin ışık mikroskopik görüntüsü; yuvarlak-oval yapıya sahip hepatosit çekirdekleri, normal görünümlü kupfer hücreleri ve sinüzoidal alanlar, bazı bölgelerde stoplazmik erimeler b. Ortalama hepatosit çap ölçüm işlemlerinde değerlendirilen bir alana ait temsilci resim. Skala bar, 20 µm.

Kontrol karaciğer örneklerinden elde edilen tam ince kesitlerde normal hepatosit yapısı gözlenmiştir. Çekirdek belirgin bir çift zara sahiptir ve sağlıklı ultrayapısal görünümündedir. Nükleoplazma ökromatik görünümündedir. Mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi stoplazmik organeller bütünlük göstermektedir; mitokondri küresel ya da ovoid şekillerde olup bol ve düzenli bir yapıdadır. Kupfer hücre görünümü normaldir (Şekil 3a).



Şekil 3a. Kontrol grubu sıçan karaciğer dokularından TEM ile elde edilen ultrayapısal bulgulara ait temsilci görüntü; düzenli hepatosit yapısı, çekirdek zarı sağlıklı, stoplazma ökromatik görünümde, bol miktarda ve düzenli mitokondri ve ER yapıları. Skala bar 2 µm.

Skopolamin uygulanan örneklerden elde edilen TEM mikrograflarında ise çekirdek kontrole benzer sağlıklı morfolojide olup yuvarlak ya da ovoid şekilli ve ökromatik görünümündedir. Az sayıda yağ damlacıkları gözlenmiştir. Mitokondriler bol ve normal görünümündedir. Hücreler arası bağlantılar düzenlidir ve mitokondri yakınlığında ER'lar gözlenmiştir. Ancak stoplazmada yer yer erimeler olduğu görülmüştür. Az sayıda Kupfer hücresi ya da hepatosit çekirdeği yanında koful benzeri veziküller gözlenmiştir. Disse aralığı normal görünümündedir. Ancak bazı hepatosit çekirdeklerinin kontrole göre daha küçük bir görünümde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4 a-b-c-d).



Şekil 4a-b-c-d. Skopolamin uygulanan sıçan karaciğer dokularından TEM ile elde edilen ultrayapısal bulgulara ait temsilci görüntü; çekirdek (ç) kontrole benzer sağlıklı morfoloji ve ökromatik görünümde, mitokondriler (m) bol ve düzenli yapıda ve hücreler arası bağlantılar normal görünümündedir. Yer yer yağ damlacıkları, yer yer tek tek ya da kümeler halinde gözlenen koful benzeri stoplazmik veziküllerin (v) yanı sıra stoplazmik erimelerde (se) dikkat çekmektedir. Skala bar 2 µm.

4. Tartışma

Skopolamin doğal bir antimuskarinik ajan olup çok uzun yıllardır araç tutması ile ilişkili bulantı ve kusmayı önlemede kullanılmaktadır (Wei ve ark., 2016). Merkezi sinir sisteminin kusma merkezindeki kolinerjik geçişi bloklayarak etkisini gösterir (Sandlin, 2002). Ayrıca gastrointestinal sekresyonları ve motiliteyi azaltarak tükrük ve teri inhibe etmektedir (Sanchez ve Lusk, 2015).

Bu çalışmada skopolamin kullanımının sıçan karaciğer dokularındaki morfolojik ve ultrayapısal etkileri araştırılmıştır. Literatürde bilgimize göre skopolaminin direk karaciğer dokuları üzerine histolojik etkilerinin araştırılmasından ziyade skopolamin ile indüklenmiş çeşitli bozukluklar durumunda gözlenen etkiler rapor edilmektedir. Örneğin skopolamin uygulanması Alzheimer hastalığının fizyofarmakolojik bir modeli olarak da kabul edilmektedir (Bajo ve ark., 2015). Bu sebeple de farklı kognitif fonksiyonlar üzerine etkisi oldukça yoğun olarak araştırılmıştır (Jeong ve ark., 2008). El-Marashy ve arkadaşları ratlarda skopolamin ile indüklenmiş demans durumunda, silymarinin iyileştirici etkilerini obje tanıma testi kullanarak göstermişlerdir. Yazarlar bu etkinin kolinerjik etkinin artırılması, antioksidan ve antiinflamatuvar aktiviteler ile olduğu kadar, beyin nörotransmitterlerinin yavaşlaması (azalması) ya da histopatolojik değişimlerle de sağlanmış olabileceğini belirtmişlerdir (El-Marashy ve ark., 2018). Chen ve arkadaşları skopolaminin amyloid beta birikimi, oksidatif stres, sinaptik bozulmalar, hafıza ve öğrenme kusurları gibi olayları indükleyebildiğini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar skopolamin ile indüklenmiş ratlarda 7,8-dihydroxyflavone (7,8-DHF)'un koruyucu etkilerini araştırmışlar ve sonuç olarak 7,8-DHF'un skopolamin indüklü Alzheimer hastalığı gibi patolojik bozuklukların azaltılmasında ümit verici bir ajan olabileceğini belirtmişlerdir (Chen ve ark., 2014).

Bir çalışmada, skopolamin, siproheptadin ve kediotu kombinasyonundan oluşan, reçetesiz satılan bir uyku ilacını aşırı dozda alan 23 hastada, uyuşukluk ve kafa karışıklığı gibi semptomlar gözlenmiş; fakat hiçbir hastada karaciğer hasarı veya alanin amino transferaz (ALT) yüksekliği gelişmemiş ve hepsi 1-6 gün içinde iyileşmiştir (Chan ve ark., 1995). Burada gözlenen karaciğer hasarının kullanılan kombinasyonun içindeki başka ilaçlara bağlı olması muhtemeldir. Yapılan iki ayrı sistematik derlemede postoperatif bulantı ve kusmanın önlenmesi için kullanılan transdermal skopolaminin güvenliği değerlendirilmiş, fakat hepatotoksisiteden ya da enzim yüksekliğinden bahsedilmemiştir (Kranke ve ar., 2005; Apfel ve ark., 2010). Bu çalışmaların sonuçları bizim çalışmamızla da uyumlu niteliktedir. Karaciğerde toksisite bulunmasını doğrulayabilmek için histolojik tayinlerin yapılması büyük önem taşımaktadır. Sabullah ve arkadaşları TEM kullanarak *Puntius javanicus* karaciğeri üzerine CuSO_4 'ın kimyasal etkileri ile oluşabilecek in vivo stresi araştırmışlardır. Yazarlar bakırın özellikle hepatosit ultrayapısı üzerine önemli etkileri olduğunu belirterek, çekirdek şeklindeki anormallikler, çekirdek membranında hasarlar, şişmiş hücreler ve yağ damlacıkları birikimini rapor etmişlerdir. CuSO_4 maruziyeti artırıldığında ise piknotik çekirdek oluşumu ile mitokondri gibi organellerde hasarlar olduğu tespit edilmiştir. Golgi aygıtı ve endoplazmik retikulum yapısında çözümler gözlenmiştir (Sabullah ve ark., 2014). Bizim çalışmamızda da karaciğer patolojisinin incelenmesinde hepatosit yapısı, çekirdek, mitokondri ve endoplazmik retikulum yapısı, hücreler arası bütünlük ve stoplazmik homojenite gibi faktörler ele alınmıştır. Verilerimiz skopolamin uygulanan örneklerde kontrol örneklerine göre hepatosit, çekirdek ve çekirdekçik yapıları

morfolojik açıdan genel olarak iyi korunmuştur. Ancak bazı hücrelerde stoplazmada yer yer erimeler görülmüş ve hepatosit çekirdek çaplarında bir miktar küçülme izlenmiştir. TEM verilerimiz ise hem kontrol grubu ve hem de skopolamin uygulanan gruplarda hepatosit çekirdeğinin normal oval-yuvarlak ve düzenli çift zar yapısını koruduğunu, ancak bazı çekirdeklerde boyut küçülmesi olduğunu desteklemiştir. Diğer yandan mitokondri ve ER görünüşleri normal olmakla beraber yer yer koful benzeri vezikül oluşumları ve stoplazmik erimelere de rastlanmıştır.

Çekirdek yapısının ultrayapısal düzeyde incelenmesi apoptoz çalışmalarında temel faktörlerden biridir. Yeh ve arkadaşları, oküler yüzey apoptozu üzerine deneysel kuru gözün etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada skopolamin gözyaşı üretiminin inhibisyonu için sistemik olarak kullanılmıştır. Yazarlar TEM bulgularını araştırırken özellikle çekirdekdeki morfolojik değişimleri değerlendirmişler ve konjunktival epitelyal hücrelerde apoptozla tutarlı ultrayapısal morfolojik değişimleri rapor etmişlerdir (Yeh ve ark., 2003).

Çeşitli ilaçlar ya da endotoksin gibi bileşenler sistematik olarak ya da barsak emilimi sonrası karaciğere ulaşabilmektedir. Bu yüzden sinüzoidal duvarı kaplayan hücreler, kan bileşenleri parankimal hücrelerle temas etmeden önceki son engeldir. Nafady ve arkadaşları *Escherichia coli* endotoksini ve asetaminofen tedavisi sonrası sinüzoidal duvarı oluşturan hücreleri incelemişlerdir. Yazarlar her iki ilaç uygulama grubunda da fenestra daralması ile sinüzoidal epitelyal hücrelerde şişmeler olduğunu, kupfer hücreleri ile kronik satellat hücrelerde aktivasyon olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca hepatik stellat hücreleri çevreleyen ve disse boşluğunda büyük miktarlarda kollajen lifleri görülmüştür (Nafady ve ark., 2017). Bizim çalışmamızda temel alınan inceleme kriterleri hepatosit yapısı, organeller ve genel doku bütünlüğü olmakla beraber, sinüzoidal hücreler ve Kupfer hücrelerinde önemli bir hasar bulunmuş gözlenmemiştir.

5. Sonuç

Çalışmamızda sıçan karaciğer dokularında skopolamin kullanımına bağlı ileri derecede bir histolojik hasar gözlenmemekle beraber, ilaç verilen gruplarda yer yer koful benzeri veziküllerin oluşumu, stoplazmik erimeler bulunmuş ve çekirdek çaplarında az da olsa kantitatif bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Ancak verilerimizin ayrıntılı çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Teşekkür Bu çalışmanın, Deneysel hayvanlarına ilaç uygulanması aşaması Balıkesir Üniversitesi Deneysel Hayvanları Üretim, Bakım, Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (BAUN-DEHAM), Işık ve Elektronik mikroskopik incelemeleri Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (ARUM) yapılmıştır.

Kaynaklar

Antor MA, Uribe AA, Erminy-Falcon N, Werner JG, Candiotti KA, Pergolizzi JV, Bergese SD 2014. The effect of transdermal scopolamine for the prevention of postoperative nausea and vomiting. *Front Pharmacol.* 5: 55.

- Apfel CC, Zhang K, George E, Shi S, Jalota L, Hornuss C, Fero KE, et al. 2010. Transdermal scopolamine for the prevention of postoperative nausea and vomiting: a systematic review and meta-analysis. *Clin Ther.* 32: 1987-2002.
- Auld DS, Kornecook TJ, Bastianetto S, Quirion R 2002. Alzheimer's disease and the basal forebrain cholinergic system: relations to beta-amyloid peptides, cognition, and treatment strategies. *Prog Neurobiol.* 68(3):209-245. doi:10.1016/s0301-0082(02)00079-5
- Bajo R, Pusil S, López ME, Canuet L, Pereda E, Osipova D, Maeustú F, Pekkonen E 2015. Scopolamine effects on functional brain connectivity: a pharmacological model of Alzheimer's disease. *Scientific reports.* 5(1): 1-6.
- Chan TY, Tang CH, Critchley JA 1995. Poisoning due to an over-the-counter hypnotic, Sleep-Qik (hyoscyne, cyproheptadine, valerian). *Postgrad Med J.* 71: 227-8.
- Chen C, Li XH, Zhang S, Tu Y, Wang YM, Sun HT 2014. 7, 8-dihydroxyflavone ameliorates scopolamine-induced Alzheimer-like pathologic dysfunction. *Rejuvenation Res.* 17(3): 249-254.
- El-Marasy SA, Abd-Elsalam RM, Ahmed-Farid OA 2018. Ameliorative effect of silymarin on scopolamine-induced dementia in rats. *Open Access Maced J Med Sci.* 6(7): 1215.
- Jeong EJ, Lee KY, Kim SH, Sung SH, Kim YC 2008. Cognitive-enhancing and antioxidant activities of iridoid glycosides from *Scrophularia buergeriana* in scopolamine-treated mice. *Eur. J. Pharmacol.* 588(1): 78-84.
- Khosravi-Farsani N, Mashhadi Akbar Boobar M, Amini-Farsani Z, Heydari S, Teimori H 2016. Antioxidant and antiglycation effects of scopolamine in rat liver cells. *Der Pharmacia Lettre,* 8(1): 169-174.
- Klinkenberg I, Blokland A 2010. The validity of scopolamine as a pharmacological model for cognitive impairment: a review of animal behavioral studies. *Neurosci Biobehav Rev.* 34(8):1307-1350. doi:10.1016/j.neubiorev.2010.04.001
- Kranke P, Morin AM, Roewer N, Wulf H, Eberhart LH 2002. The efficacy and safety of transdermal scopolamine for the prevention of postoperative nausea and vomiting: a quantitative systematic review. *Anesth Analg.* 95: 133-43.
- LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. 2010. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. 7. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548835/#_ncbi_dlg_citbx_NBK548835
- Luetje CM, Wooten J 1996. Clinical manifestations of transdermal scopolamine addiction. *Ear Nose Throat.* 75(4): 210-214.
- Nafady AM, Ahmed OB, Ghafeer HH 2017. Scanning and transmission electron microscopy of the cells forming the hepatic sinusoidal wall of rat in acetaminophen- and *Escherichia coli* endotoxin-induced hepatotoxicity. *Journal of microscopy and ultrastructure.* 5(1): 21-27.
- Palle S, Neerati P 2017. Quercetin nanoparticles attenuates scopolamine induced spatial memory deficits and pathological damages in rats. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University,* 55(1): 101-106.
- Renner UD, Oertel R, Kirch W 2005. Pharmacokinetics and pharmacodynamics in clinical use of scopolamine. *Therapeutic drug monitoring.* 27(5): 655-665.

- Sabullah MK, Shukor MY, Sulaiman MR, Shamaan NA, Syed MA, Khalid A, Ahmad SA 2014. The effect of copper on the ultrastructure of *Puntius javanicus* hepatocyte. *AJBAS*. 8(15): 245-51.
- Sanchez CK, Lusk KA 2015. The Pharmacologic Management of Motion Sickness. *US Pharmacist*, 40(12): 34-38.
- Sandlin D 2002. Transderm scopolamine: A painless, noninvasive option for control of postoperative nausea and vomiting. *J Perianesth Nurs*.17(6): 427-429.
- Wei Y, Ying M, Xu S, Wang F, Zou A, Cao S, Jiang X, Wang Y 2016. Microdialysis pharmacokinetic study of scopolamine in plasma, olfactory bulb and vestibule after intranasal administration. *Drug Deliv*. 23(1), 263-268.
- Wisse E, Braet F, Duimel H, Vreuls C, Koek G, Damink SWO, Broek MAJ, Geest BD, Dejong CHC, Tateno C, Frederik P 2010. Fixation methods for electron microscopy of human and other liver. *WJG*. 16(23): 2851.
- Wisse E, Braet F, Luo D, De Zanger R, Jans D, Crabbe E, Vermoesen AN 1996. Structure and function of sinusoidal lining cells in the liver. *Toxicol. Pathol*. 24(1): 100-111.
- Yeh S, Song XJ, Farley W, Li DQ, Stern ME, Pflugfelder SC 2003. Apoptosis of ocular surface cells in experimentally induced dry eye. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci*. 44(1): 124-129.
- Zaki HF, Abd-El-Fattah MA, Attia AS 2014. Naringenin protects against scopolamine-induced dementia in rats. *Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ*.52(1): 15-25.