

بررسی اثر کوئینین بر روی زمان تاخیر و دامنه نوسان در پتانسیل برانگیخته از بینایی در موش سوری نر

نسرين ترابي^۱، سيد محمد مسعود شوشتریان^۲، دكتور رامش منجمی^۳

^۱ دانشجوی فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان

^۲ استاد، گروه بیوفیزیک و فیزیک پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران

^۳ استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان

چکیده

سابقه و هدف: کوئینین برای درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله آرتریت روماتوئید و مالاریا مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ماده با وجود داشتن خواص درمانی بسیار، دارای عوارض جانبی متعددی نیز می‌باشد که این مطالعه به بررسی میزان تاثیر این ماده بر روی زمان تاخیر و دامنه نوسان ثبت شده در پتانسیل برانگیخته از بینایی بر اساس دوزهای مختلف پرداخت.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، از ۵۰ سر موش سوری نر به عنوان گروه شاهد استفاده شد و ۵ گروه ده تایی از موش‌ها نیز برای دوزهای ۲/۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۶۲/۵ از کوئینین و یک گروه ۱۰ تایی از دوز ۷۰ برای عصاره استونی گیاه در نظر گرفته شدند که به مدت ۱۴ روز به صورت داخل صفاقی تزریق شدند و زمان تاخیر و دامنه نوسان پتانسیل برانگیخته از بینایی در گروه‌های مختلف اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: زمان تاخیر در دوزهای مختلف به میزان معنی‌داری ($p < 0.05$) با افزایش دوز افزایش یافت و دامنه نوسان در دوزهای مختلف نیز به میزان معنی‌داری به طور معکوس با افزایش دوز کاهش یافت ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: کوئینین باعث افزایش زمان تاخیر و کاهش دامنه نوسان وابسته به دوز شده و منجر به کاهش دید می‌گردد که به نظر می‌رسد این نتایج در اثر رسوب کوئینین بر روی رشته‌های عصبی و سلول‌های مخروطی و استوانه‌ای است و در نتیجه سبب افزایش زمان تاخیر رسیدن پیام بینایی از شبکیه به فووا می‌شود.

واژگان کلیدی: کوئینین، عوارض، پتانسیل برانگیخته از بینایی.

مقدمه

کلروکین استفاده می‌کنند پس از مدتی دچار اختلال در دید می‌شوند (۷-۵). عوارض چشمی که ۱۷ تا ۴۷ درصد از عوارض کوئینین را شامل می‌شود، طیفی از کاهش دید تا از دست دادن کامل درک نور دارد و نابینایی در کلیه بیماران با سطح پلاسمايي بیش از ۱۰ میلی‌گرم رخ می‌دهد (۸).

مطالعات الکترودیآگنوستیک نشان داده‌اند که کوئینین بر روی لایه‌های مختلف شبکیه اثر نامطلوب می‌گذارد. به طور معمول، در طول ۲۴ ساعت ابتدایی دوره، الکترو تینوگرام نرمال است ولی امواج تضعیف یافته b که در ادامه ظاهر می‌شوند، بیانگر این هستند که لایه‌های داخلی شبکیه یا لایه‌های سلول‌های دوقطبی تخریب شده‌اند. اگر چه، اختلال در الکترواکولوگرافی

کوئینین از برگ و ساقه گیاهی به نام گنه گنه به دست می‌آید (۱، ۲) و برای درمان بیماری‌های مختلفی از جمله مالاریا، آرتریت روماتوئید و سرطان استفاده می‌شود (۳، ۴). از آن در ساخت داروهایی از قبیل کلروکین و هیدروکسی کلروکین استفاده می‌شود، اما این ترکیب علاوه بر خاصیت درمانی، دارای اثر توکسیک بر روی رنگدانه‌های ملانین دار چشم می‌باشد و کسانی که از

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی، دکتر سیدمحمد مسعود شوشتریان

(email: nts320@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۹/۱۱

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۲/۳۱

۱۵۰ است. بعد از ۱۴ روز توسط دستگاه VEP، زمان تاخیر در رسیدن پیام از چشم موش به کورتکس بینایی در موش‌های مذکور نسبت به موش‌های سالم اندازه‌گیری شد.

برای انجام آزمون عصاره استونی گنه گنه، ۱ گروه ۱۰ تایی موش مورد آزمایش قرار گرفتند. گنه گنه نیز به میزان ۱ به ۱۰۰۰ در آب حل شد و به هر گروه به طور تصادفی دوز ۷۰ واحد تزریق شد و بعد از ۱۴ روز، پتانسیل برانگیخته از بینایی موش‌ها اندازه‌گیری شد و نتایج توسط دستگاه به ثبت رسید. برای اندازه‌گیری VEP، موش‌ها توسط کتامین بیهوش شدند تا حرکات بدنی موش در دستگاه ایجاد نوسانات غیرضروری نکند. برای انجام آزمایش و ثبت امواج، سه الکتروده به سر موش وصل گردید که شامل کورتکس بینایی به عنوان الکتروده فعال، گوش به عنوان الکتروده رفرانس و بینی به عنوان الکتروده زمین بودند، که جنس این الکتروده‌ها از نقره است (۱۳). پتانسیل برانگیخته از بینایی از قله‌های مختلفی تشکیل شده است که قله p^{100} برای دو کمیت عمده یعنی زمان تاخیر و دامنه نوسان (Amplitude) حائز اهمیت است. زمان تاخیر در حقیقت بازتاب راه عصب بینایی است، در نتیجه اختلالات این مسیر (از فووا تا کورتکس بینایی) می‌تواند باعث تغییرات متفاوت در زمان تاخیر شود. دامنه نوسان موج p^{100} نیز از لحاظ بالینی حائز اهمیت است. دامنه نوسان به طور مستقیم با حدت بینایی رابطه دارد و هر عاملی که باعث تغییر یا کاهش حدت بینایی شود، می‌تواند بر دامنه نوسان موج p^{100} تاثیرگذار باشد (۱۳). در انتها پس از جمع‌آوری اطلاعات مورد نیاز در گروه‌های مختلف، با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۳ اقدام به تجزیه و تحلیل داده‌ها نمودیم که با توجه به پارامتریک بودن توزیع متغیرهای کمی، برای مقایسه میانگین‌ها در هر یک از گروه‌های تیمار با گروه شاهد از آزمون آنالیز واریانس با آزمون Post-Hoc از نوع Scheffe و برای مقایسه روند Dose-Response در گروه تیمار از آزمون Repeated-Measure استفاده شد و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ لحاظ گردید.

یافته‌ها

زمان تاخیر و دامنه نوسان ثبت شده در VEP در موش‌های مورد آزمایش در هر دوز در گروه تیمار و نیز در گروه شاهد در نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده است که زمان تاخیر با

در مراحل اولیه نیز وجود دارد که نشان می‌دهد رنگدانه‌های اپیتلیومی یا گیرنده‌های نوری شبکیه تخریب شده‌اند. با گذشت زمان، اختلال در الکترورتینوگرام ممکن است پیشرفت کند؛ اما قابل برگشت به حالت نرمال نیست و همراه با کاهش دامنه باقی مانده امواج b خواهد بود (۹).

اگر میزان و دوز عارضه‌دار دارو مشخص باشد، می‌توان به موقع از اثرات سوء آن جلوگیری کرد و بدین ترتیب دوزی که باعث عوارض بینایی نمی‌شود را توصیه نمود. لذا در این تحقیق به بررسی تاثیر کوئینین بر روی سیستم عصب بینایی پرداختیم تا مشخص شود که آیا کوئینین باعث اختلال در سیستم عصب بینایی می‌شود یا خیر و این که چه دوزی از کوئینین باعث این اختلال می‌شود که این کار توسط دستگاه اندازه‌گیری پتانسیل برانگیخته از بینایی (VEP) انجام گردید.

مواد و روشها

این مطالعه تجربی در مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد واحد علوم پزشکی تهران انجام شد. در این آزمایش، از موش نر از نژاد BALB/C با میانگین وزنی ۲۴ تا ۲۶ گرم استفاده شد که از انستیتو پاستور تهیه شده بود و در محیط استاندارد در اتاق حیوانات مرکز تحقیقات دانشگاه با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و سیکل شبانه روزی ۱۲-۱۲ قرار داشتند. در این مطالعه، از عصاره استونی (۱۱،۱۰) گیاه گنه گنه (*C. pubescens*) که پودر این گیاه از شرکت گودریچ هند و پودر کوئینین فسفات که از شرکت بوشل آلمان تهیه شد، استفاده گردید. عصاره و پودر کوئینین سولفات هردو به نسبت ۱ به ۱۰۰۰ در آب مقطر حل شدند و به روش داخل صفاقی با سرنگ انسولین تزریق شدند و میزان تاثیر دوزهای مختلف گنه گنه و کوئینین در زمان تاخیر (Latency) بینایی در موش‌های مورد آزمایش، بررسی شد. در ابتدا زمان تاخیر در موش‌های شاهد توسط دستگاه VEP اندازه‌گیری و ثبت گردید.

برای انجام آزمون کوئینین فسفات، ۵ گروه ۱۰ تایی موش برای آزمایش انتخاب شدند و ۵۰ عدد موش به عنوان شاهد استفاده گردید که این گروه بدون تزریق و با برنامه غذایی استاندارد بودند. کوئینین فسفات به نسبت ۱ در ۱۰۰۰ در آب مقطر حل شد و این محلول به هر کدام از گروه‌ها شامل دوزهای ۱۰ mg/kg، ۵۰ mg/kg، ۱۰۰ mg/kg، ۲۰۰ mg/kg و ۲۵۰ mg/kg برای مدت ۱۴ روز به صورت داخل صفاقی تزریق شد (۱۲) دوزها بر حسب وزن موش‌ها و به ازای هر ۱ کیلوگرم ۱۰ واحد حساب شدند. در انسان کمترین دوز داروی مصرفی برای کلروکین mg

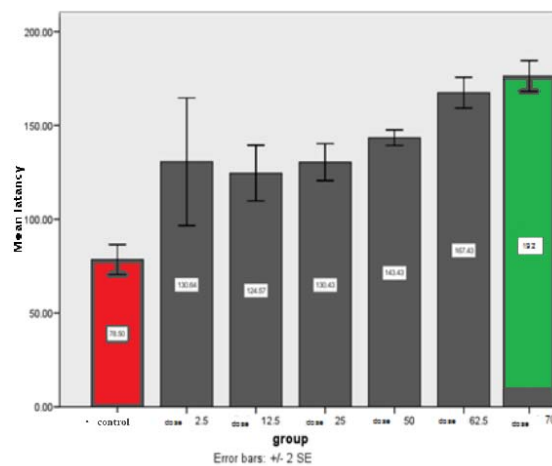
به علاوه، اختلاف آماری معنی‌داری بین زمان تاخیر و نیز دامنه نوسان ثبت شده در VEP، در مقایسه گروه‌های تیمار با گروه شاهد، وجود داشت ($p < 0.05$) که بیشترین اختلاف بین گروه شاهد و گروه با دوز ۶۲/۵ بود. در مورد عصاره گیاه گنه گنه تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد ($p > 0.05$).

بحث

بررسی اثر کوئینین بر روی سیستم عصب بینایی توسط تکنیک پتانسیل برانگیخته از بینایی در دوزهای مختلف بر روی موش‌های سوری نشان داد که کوئینین به طور معنی‌داری باعث افزایش زمان تاخیر نسبت به گروه شاهد می‌شود که این افزایش با افزایش دوز تزریق کوئینین رابطه مستقیم دارد. با توجه به آزمایشات انجام شده مشخص شد که کوئینین در دوز ۶۲/۵ میلی‌گرم که بالاترین دوز استفاده شده در این آزمایش بود، بیشترین تاثیر را در افزایش زمان تاخیر نسبت به شاهد داشت که این امر سبب اختلال در دید و یا کوری می‌شود که این یافته مشابه گزارش بوت و همکاران در مورد فنوتیازین‌ها می‌باشد (۱۴). تحقیق مذکور نشان داد که فنوتیازین‌ها باعث ایجاد ادم در اطراف دیسک و ماکولا در شبکیه می‌شوند و یافته‌های فیزیولوژیک نشان دادند که لایه فیبرهای عصبی شبکیه در سمت بینی نازک‌تر شده و سلول‌های گانگلیونی در سراسر شبکیه تخریب می‌شوند و ولتاژ در قسمت‌های مختلف الکتروآکولوگرام و الکتروآکولوگرام به علت رسوب دارو بر روی این لایه پایین آمد (۱۴) که این عوامل می‌توانند سبب افزایش زمان تاخیر در تحقیق حاضر نیز در مورد کوئینین شده باشند.

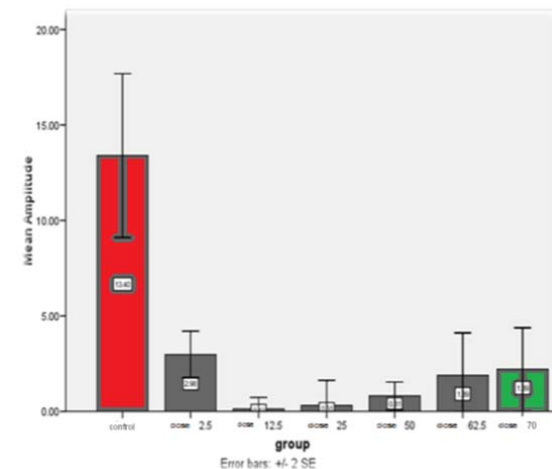
باکون و همکاران، سیر بالینی مردی ۴۷ ساله را که در اثر مصرف دوز بالای قرص‌های کوئینین دچار کوری شده بود، گزارش نمودند که در طی آن کاهش زمان تاخیر در الکتروآکولوگرام و از بین رفتن موج b در الکتروآکولوگرام دیده شد (۱۵). این فرضیه که کوری ناشی از اثر مصرف دوز بالای کوئینین بر روی شبکیه است، در برخی مطالعات توسط الکتروآکولوگرافی تأیید شده است و نیز مطالعات بافتی در حیوانات، تغییراتی را در سلول‌های گیرنده نوری و لایه سلول‌های گانگلیونی در شبکیه نشان داده است. همچنین شواهدی از تخریب عصب بینایی همراه با کاهش زمان تاخیر در پاسخ برانگیخته از بینایی از ۳ روز تا ۶ ماه پس از مصرف دوز بالای کوئینین وجود دارد (۱۶).

تزریق در مدت ۱۴ روز در دوزهای مختلف به میزان معنی‌داری ($p < 0.05$) با افزایش دوز افزایش یافت و دامنه نوسان با تزریق در مدت ۱۴ روز در دوزهای مختلف به میزان معنی‌داری ($p < 0.05$) با افزایش دوز بر اساس آزمون کاهش یافت.



نمودار ۱- میانگین زمان تاخیر در دوزهای مختلف کوئینین و گروه شاهد

نمودار ۱ نشان می‌دهد که زمان تاخیر با تزریق در مدت ۱۴ روز در دوزهای مختلف به میزان معنی‌داری با افزایش دوز افزایش یافت ($p < 0.05$).



نمودار ۲- میانگین دامنه نوسان در دوزهای مختلف کوئینین و گروه شاهد

نمودار ۲ نشان می‌دهد که دامنه نوسان با تزریق در مدت ۱۴ روز در دوزهای مختلف به میزان معنی‌داری با افزایش دوز بر اساس آزمون کاهش یافت ($p < 0.05$).

نهایت منجر به اختلال در دید گردد (۱۹). بلوک کردن کانال‌های پتاسیمی می‌تواند در انتقال مسیر عصبی و پیام عصبی ایجاد اختلال نموده و سبب کاهش زمان تاخیر گردد که می‌تواند علت زمینه‌ای یافته‌های به دست آمده در مطالعه ما نیز باشد.

با توجه به نتایج به دست آمده، کوئینین با اثر بر روی سیستم عصب بینایی باعث افزایش زمان تاخیر و کاهش دامنه نوسان و در نتیجه به طور کلی سبب کاهش دید می‌شود و به نظر می‌رسد که این امر به علت رسوب کوئینین بر روی شبکیه، فتورسپتورها، نورون‌ها و اعصاب چشمی و همچنین مهار کردن کانال‌های سدیمی باشد، که باعث اختلال در عملکرد سلول‌های مخروطی و استوانه‌ای در قسمت خارجی و دیسک‌ها می‌شود و در نتیجه پیام برای انتقال از شبکیه دچار مشکل می‌شود. در انتها با توجه به یافته‌های مطالعه اخیر پیشنهاد می‌گردد در مطالعات بعدی سایر اثرات و عوارض احتمالی کوئینین بر روی اعصاب و عروق شبکیه مورد بررسی قرار گیرند.

بالسترو و همکاران طی مطالعه‌ای اعلام نمودند که کوئینین با بلوک کردن کانال‌های پتاسیمی روی سلول‌های مویی خارجی گوش و کانال‌های سدیمی و پتاسیمی سلول‌های گانگلیونی و تاثیر بر روی کانال‌های یونی دیگر باعث از دست دادن شنوایی می‌شود (۱۷) که این تأثیر را می‌توان به سمیت چشمی مورد مشاهده در مطالعه ما نیز تعمیم داد. ساتو طی آزمایشی که بر روی سگ‌های سالم و هوشیار انجام داد، متوجه شد که دوز روزانه ۵۰ میلی‌گرم از کوئینین باعث کاهش اندک در دامنه نوسان الکترورتینوگرام می‌شود، در حالی که پتانسیل برانگیخته از بینایی بدون تغییر باقی می‌ماند (۱۸) که البته با تغییرات مورد مشاهده در پتانسیل برانگیخته از بینایی در مطالعه ما همخوانی ندارد. چنین به نظر می‌رسد که کوئینین در سیستم عصب بینایی نیز به علت بلوک کردن کانال‌های سدیمی و پتاسیمی می‌تواند باعث از بین رفتن بینایی شود. کوئینین باعث بلوک کردن چرخه‌های سلولی در سلول‌های گانگلیونی خاموش در سلول‌های مخروطی می‌شود و همچنین می‌تواند باعث بلوک کردن کانال‌های پتاسیمی شده و در

REFERENCES

- Mulder-Krieger T, Verpoorte R, van der Kreek M, Svendsen AB. Identification of alkaloids and anthraquinones in *Cinchona pubescens* callus cultures; the effect of plant growth regulators and light on the alkaloid content. *Planta Med* 1984; 50:17-20.
- Mulder-Krieger T, Verpoorte R, Baerheim Svendsen A. Tissue culture of *Cinchona pubescens*: effects of media modifications on the growth. *Planta Med* 1982; 44:237-40.
- Raffauf RF, Le Quesne PW, Ghosh PC. Antitumor Plants. V. Constituents of *Cinchona pubescens*. *Lloydia* 1978; 41:432-34.
- Ben-Zvi I, Kivity S, Langevitz P, Shoenfeld Y. Hydroxychloroquine: from malaria to autoimmunity. *Clin Rev Allergy Immunol* 2012; 42:145-53.
- Fisher CM. Visual disturbances associated with quinidine and quinine. *Neurology* 1981; 31:1569-71.
- Gangitano JL, Keltner JL. Abnormalities of the pupil and visual-evoked potential in quinine amblyopia. *Am J Ophthalmol* 1980; 89: 425-30.
- Wolf LR, Otten EJ, Spadafora MP. Cinchonism: two case reports and review of acute quinine toxicity and treatment. *J Emerg Med* 1992; 10:295-301.
- Chan E. Quinine toxicity identified after 40 years. *HK J Ophthalmol* 1999; 3: 41-45.
- Berson EL, Howard J. Temporal aspects of the electroretinogram in sector retinitis pigmentosa. *Arch Ophthalmol* 1971; 86:653-65.
- Tao CH, Taylor CH. *Cinchona linnaeus*. *Fl China* 2011; 19: 88-89.
- Patel JP, Gami B, Patel K. Evaluation of in vitro schizonticidal properties of acetone extract of some indian medicinal plants. *Advances in Biological Research* 2010; 4: 253-58
- Naeini A. Effects of essential oils and extracts of 50 medicinal plants on a standard candidate albicans strains in vitro. *Journal of Medicinal Plant* 2011; 38:163-70. [In Persian]
- Shoushtarian SM, Adhami F. Ocular electrophysiology. *Basir Journal* 2010; 31: 13-17. [In Persian]
- Boet DJ. Toxic effects of phenothiazins on the eye. *Doc Ophthalmol* 1970; 28:1-69.
- Bacon P, Spalton DJ, Smith SE. Blindness from quinine toxicity. *Br J Ophthalmol* 1988; 72: 219-24.
- Guly U, Driscoll P. The management of quinine-induced blindness. *Arch Emerg Med* 1992; 9: 317-22.

17. Ballester JA, Plazas PV, Kracun S, Gómez-Casati ME, Taranda J, Rothlin CV, et al. Effects of quinine, quinidine, and chloroquine on $\alpha 9\alpha 10$ nicotinic cholinergic receptors. *Mol Pharmacol* 2005; 68: 822-9.
18. Sato S. Toxic effects on the visual system of diaminodiphenoxybutane, quinine, and ethambutol in conscious dogs. *Fundam Appl Toxicol* 1985; 5:777-84.
19. Manookin MB, Beaudoin DL, Ernst ZR, Flagel LJ, Demb JB. Disinhibition combines with excitation to extend the operating range of the OFF visual pathway in daylight. *J Neurosci* 2008; 28: 4136-50.

Archive of SID