

اثر اسیدهای آمینه بر رشد میکروسپوریوم ژیپسئوم و اپیدرموفیتون فلوکوزوم

چکیده

زمینه و هدف: اسیدهای آمینه، اثرات متفاوتی بر رشد برخی از درماتوفیت‌ها دارند. بعضی ممکن است سبب افزایش و برخی دیگر باعث مهار رشد آنها گردند. غلظت اسیدهای آمینه نیز فاکتور مهمی در اثرات آنها می‌باشد. در مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات اسیدهای آمینه بر رشد درماتوفیت‌ها، دو سوش ایرانی درماتوفیت شامل اپیدرموفیتون فلوکوزوم و میکروسپوریوم ژیپسئوم بررسی گردید.

روش بررسی: این مطالعه از نوع مطالعات تجربی است. این دو نوع قارچ در محیط کشت سابب‌وگلوكزآگار که از ۲۳ اسید آمینه در غلظت‌های ۱ و ۰/۰ گرم در دسی‌لیتر تهیه شده بودند، کشت داده شدند(هر کدام از نمونه‌ها سه بار تکرار گردید) و بعد از ۲ هفت، قطر کلونی‌ها اندازه‌گیری شد و میانگین آنها با میانگین حاصل از گروه کنترل که از کشت درماتوفیت‌ها در محیط سابب‌وگلوكزآگار بدون افزودن اسید آمینه تشکیل شده بود، مقایسه گردید.

یافته‌ها: نتایج حاصل نشان داد که ال - سیستئین هیدروکلرايد، ال - سیستئن، ال - اسید آسپارتیک، ال - اسید‌گلوتامیک و دی ال - تریپتوфан بیشترین اثرات را در مهار رشد درماتوفیت‌ها داشته و بقیه اسیدهای آمینه، اثرات مهاری ضعیفتری داشتند و حتی تعدادی باعث افزایش رشد درماتوفیت‌ها گردیدند.

نتیجه‌گیری: میکروسپوریوم ژیپسئوم بیشتر از اپیدرموفیتون فلوکوزوم، تحت تاثیر اسیدهای آمینه قرار گرفت.

کلیدواژه‌ها: ۱ - میکروسپوریوم ژیپسئوم ۲ - اپیدرموفیتون فلوکوزوم ۳ - اسیدهای آمینه

محمد رضا سراسگانی I

*دکتر محسن فیروز رای II

تاریخ دریافت: ۸۴/۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۸۴/۸/۲۸

مقدمه

موجود در پوست، می‌توانند بر رشد درماتوفیت‌ها موثر باشند.

مطالعه‌ای که در هند بر روی دو درماتوفیت میکروسپوریوم ژیپسئوم و تریکوفیتون متاگروفیتیس صورت گرفته است، نشان می‌دهد که اسیدهای آمینه سیستئین هیدروکلرايد و اسید آسپارتیک بر روی این دو درماتوفیت، اثر مهاری دارند و حداقل غلظت مهاری سیستئین هیدروکلرايد برای میکروسپوریوم ژیپسئوم، ۵/۰ گرم در دسی‌لیتر و برای تریکوفیتون متاگروفیتیس، ۴/۰ گرم در دسی‌لیتر گزارش شد. اسید آسپارتیک نیز در

عوامل فیزیکی و شیمیایی متعددی می‌توانند بر سیر پاتوژن درماتوفیت‌ها در انسان موثر باشند، بطوری که افرادی نسبت به این بیماری، حساس و افرادی، مقاوم هستند و ممکن است درماتوفیت‌ها نیز در برابر این عوامل حساسیت‌های متفاوتی از خود نشان دهند، به گونه‌ای که هر سوش درماتوفیت به ناحیه خاصی از بافت کراتینیزه تعایل نشان می‌دهد. از عوامل فیزیکی موثر بر رشد، می‌توان به حرارت، رطوبت و pH اشاره نمود که اثرات مختلفی بر روی درماتوفیت‌های متفاوت نشان می‌دهند. عوامل شیمیایی متعددی مانند هورمون‌ها، اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه

I) کارشناس ارشد قارچ‌شناسی پزشکی، گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران.

II) دانشیار گروه بیوشیمی، مرکز علوم پایه، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران(*مؤلف مسؤول).

از ایزوله‌های بیماران مراجعه کننده به دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه گردیدند.

۲- محیط کشت ساپرو گلوکز آگار محصول کارخانه مرک(دارای ۴٪ گلوکز).

۳- اسیدهای آمینه ال - آسپارژین، دیال - تریپتوفان، ال - هیستیدین، ال - تیروزین، ال - سیستئین هیدروکلرايد، ال - سیستئین، ال - متیونین، ال - آرژین، دیال - آلانین، گلیسين، ال - آسپارژین منوهیدرات، ال - فنیل آلانین، ال - پرولين، ال - هیدروکسی پرولين، ال - هیستیدین منوهیدروکلرايد، ال - ترئونین، ال - لیزین منوهیدروکلرايد، ال - لوسين، ال - ایزولوسين، ال - گلوتامین، ال - والين، ال - گلوتامیک اسید و ال - آسپارتیک اسید که همگی محصول مرک بودند.

۴- محیط کشت ساپرو گلوکز برات محصول مرک(دارای ۲٪ گلوکز).

۵- توئین ۸۰

وسایل مورد استفاده در این مطالعه شامل هیتر مجهز به همزن مغناطیسی، اتوکلاو، پلیت ۸ سانتی‌متری یکبار مصرف، چراغ شعله متصل به گاز و لوله‌های شیشه‌ای در پیچ دار ۱۰ سانتی‌متری بود.

این مطالعه از نوع مطالعات تجربی بود. ابتدا محیط کشت ساپرو گلوکز برات تهیه گردید، به این ترتیب که ۳۰ گرم از پودر آماده، توزین شده و به یک لیتر آب مقطر اضافه گردید. ارلن حاوی محیط کشت و آب مقطر بر روی هیتر مگنت دار قرار داده شده و حین جوشاندن بهم زده شد؛ محیط، در لوله‌های در پیچ دار ۱۰ سانتی‌متری ریخته شده و اتوکلاو گردید. ۰/۵ سی‌سی توئین ۸۰ در یک لوله در پیچ دار دیگر استریل گردید. توسط فیلدوپلاتین نوک تیز مقداری از کلونی درماتوفیتون فلوکوزوم از درماتوفیتهاي انسان دوست و میکروسپوریوم ژیپسئوم از درماتوفیتهاي خاک دوست بر روی محیط کشت ساپرو گلوکز آگار مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

مواد مورد استفاده در این مطالعه عبارت بودند از:

۱- سوشهای اپیدرموفیتون فلوکوزوم و میکروسپوریوم

ژیپسئوم

میکروسپوریوم ژیپسئوم سوش PTCC5070 از کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی وابسته به سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران و اپیدرموفیتون فلوکوزوم

نمونه‌ها بعد از بستن در پیچ(در پیچ نباید کاملاً سفت باشد) مدت ۲۱ روز در دمای آزمایگشا نگهداری گردیدند. بعد از ۲۱ روز، لوله‌ها سانتریفیوژ شده و قسمت بالایی، دور

غلظت ۱ گرم در دسی‌لیتر، رشد میکروسپوریوم ژیپسئوم را به میزان ۱۰۰٪ و رشد تریکوفیتون متناگروفیتیس را به میزان ۴۸٪ کاهش داد.^(۱)

در مطالعه دیگری نشان داده شد که از بین ۲۴ گونه درماتوفیت مورد آزمایش، تنها تریکوفیتون متناگروفیتیس واریته گوئن کاینیوم در حضور غلظت ۴٪ مولار سیستئین قادر به رشد می‌باشد.^(۲) همچنین با اضافه نمودن هورمون‌های آندروژن به محیط کشت درماتوفیتها، قطر کلونی‌ها کاهش پیدا کرد و از بین هورمون‌ها، آندروستنديون بیشترین اثر را در مهار درماتوفیتها نشان داد و اپیدرموفیتون فلوکوزوم و تریکوفیتون روبرو نیز بالاترین حساسیت را داشته‌اند.^(۳)

در مطالعه دیگری با اندازه‌گیری هورمون‌های آندروژن در سرم بیماران مبتلا به درماتوفیتوز با عامل اپیدرموفیتون فلوکوزوم و تریکوفیتون روبرو، کاهش معنی‌داری در میزان تستوسترون سرم بیماران با عامل اپیدرموفیتون فلوکوزوم در مقایسه با افراد سالم ملاحظه گردید.^(۴)

در مطالعه دیگری نیز مشاهده شد که اسیدهای چرب، باعث کاهش رشد درماتوفیتها گردیدند و اسیدهای چرب غیرآشیاع با تعداد کربن کمتر، موثرتر عمل نمودند.^(۵)

در این مطالعه اثر ۲۳ اسید آمینه در غلظت‌های مختلف، بر رشد دو درماتوفیت شایع در ایران یعنی اپیدرموفیتون فلوکوزوم از درماتوفیتهاي انسان دوست و میکروسپوریوم ژیپسئوم از درماتوفیتهاي خاک دوست بر روی محیط کشت ساپرو گلوکز آگار مورد بررسی قرار گرفت.

۳ بار تکرار گردید و میانگین رشد هر درماتوفیت در هر غلظت از هر اسید آمینه تعیین گردید و انحراف معیار آن نیز اندازه‌گیری شده و کلیه نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SPSS آنالیز گردیدند.

اندازه کلونی‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شد. مقایسه اندازه کلونی‌های قارچ‌ها در حضور آمینو اسیدهای مورد مطالعه، با استفاده از آزمون t-student انجام گردید که مقادیر P کمتر از ۰/۰۵، معنی‌دار بودن تفاوت‌ها را نشان داده است. رسم جدول آنالیز آماری و نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS (version 9)، انجام شد.

یافته‌ها

اسیدهای آمینه با عامل هیدروکسیل، همه بجز آلانین، در غلظت ۱٪ باعث کاهش رشد میکروسپوریوم ژیپسئوم گردیدند. لوسین در غلظت ۱٪ اثر معکوس نشان داد و باعث افزایش رشد این قارچ شد. از اسیدهای آمینه با عامل گوگردی نیز، هر سه در غلظت ۱٪، باعث کاهش رشد این قارچ گردیدند که بیشترین اثر را سیستئین هیدروکلراید نشان داد. از اسیدهای آمینه با عامل هیدروکسیل، پروولین در غلظت ۱٪ و ۰/۰٪، اثرات متفاوتی داشت؛ بطوری که در غلظت ۱٪، باعث کاهش و در غلظت ۰/۰٪، باعث افزایش رشد این قارچ گردید. از اسیدهای آمینه آروماتیک، تیروزین در دو غلظت ۱٪ و ۰/۰٪، اثرات معکوس نشان داد. در حالی که تریپتوفان در هر دو غلظت، باعث کاهش رشد گردید. اسیدهای آمینه اسیدی نیز هر دو، اثر مهاری بر رشد این درماتوفیت نشان دادند که حساسیت قارچ به اسید گلوتامیک بیشتر بوده و تا غلظت ۰/۰٪ اثر کاهنده نشان داد. از اسیدهای آمینه با عامل هیدروکسیل نیز، سرین در هر دو غلظت باعث کاهش رشد گردید. تمام اسیدهای آمینه قلیایی در غلظت ۱٪ باعث مهار رشد این درماتوفیت گردیدند که در مورد آرژنین و لیزین کلراید، این کاهش تا غلظت ۰/۰٪ نیز معنی‌دار بود. از بین آمیدان‌ها نیز آسپارژین در غلظت ۱٪ و گلوتامین در هر دو غلظت، باعث کاهش رشد این قارچ گردیدند (جدول شماره ۱). هیدروکسیل پروولین در غلظت ۰/۱٪

ریخته شد و از رسوبات آن، جهت کشت در محیط جامد استفاده گردید.

مقدار ۶۵ گرم پودر سابروگلوكز آگار، توزین شده و داخل اrlen مایر ۲ لیتری، یک لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. arlen مایر بعد از قرار دادن مگنت در داخل آن، بر روی هیتر مغناطیسی قرار داده شد تا حین جوشاندن کاملاً یکنواخت گردد (این محیط به مقدار بیشتری تهیه گردید).

در داخل ۲۵ عدد arlen مایر یک لیتری نیز، ۵ گرم اسید آمینه خاصی توزین شد، سپس مقدار ۵۰۰ میلی لیتر از محیط کشت سابروگلوكز آگار به ۵ گرم اسید آمینه مورد نظر اضافه گردید (این محیط باید در حالت داغ و قبل از منجمد شدن اضافه گردد). arlen مایر بر روی هیتر مغناطیسی قرار داده شد تا کاملاً یکنواخت گردد (غلظت ۱٪ از اسید آمینه آماده شد). ۵۰ میلی لیتر از محتویات arlen برداشته و بر روی ۴۵ میلی لیتر محیط کشت خالص سابروگلوكز آگار اضافه گردید و آن نیز روی هیتر مغناطیسی قرار گرفت و مخلوط شد و بعد از یکنواخت شدن، غلظت ۰/۰٪ از اسید آمینه نیز آماده شد.

arlen مایرها بعد از اتوکلاو شدن در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ اتمسفر، داخل پلیت‌های ۸ سانتی‌متری پخش شدند و بر روی هر پلیت نام اسید آمینه و غلظت آن (۰/۱٪ یا ۰/۰٪) یادداشت گردید.

هر کدام از دو سوش درماتوفیت در ۵۰ پلیت محتوى اسید آمینه (۲۵ اسید آمینه با غلظت ۱٪ و ۲۵ اسید آمینه با غلظت ۰/۰٪) و نیز یک پلیت بدون اسید آمینه کشت گردید.

پلیت‌های کشت شده در دمای ۲۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد آزمایشگاه قرار گرفته و بعد از ۱۴ روز، قطر کلونی‌های رشد کرده، اندازه‌گیری شد. در مورد غلظت‌هایی که رشد مشاهده نگردیده بود، غلظت‌های ۰/۰٪، ۰/۵٪ و ۰/۰٪ از اسید آمینه نیز به صورت سریال (مانند غلظت ۱٪ از ۰/۱٪ تهیه گردید) و درماتوفیت‌های مورد نظر دوباره کشت و بررسی شدند. تمام کشت‌های قارچی در کنار شعله گاز و تحت شرایط استریل انجام گرفتند.

تمام این مراحل برای هر درماتوفیت و غلظت اسید آمینه،

جدول شماره ۳- مقایسه قطر کلونی های اپیدرموفیتون فلوکوزوم

بر حسب میلی متر در غلظت های مختلف اسیدهای آمینه که حداقل در

غلظت ۱ گرم در دسی لیتر باعث مهار کامل رشد گردیدند

نام اسید آمینه	میانگین	غلظت در محیط (gr/dl)	مقدار p کشت
۰/۰۰۰	.	۱	
۰/۰۱۵	۸/۲۳±۳/۵۱	۰/۷۵	
۰/۰۰۱	۱۰/۶۷±۱/۱۵	۰/۵۰	سیستئین
۰/۰۰۸	۱۴/۲۳±۰/۵۸	۰/۲۵	
	۱۶/۶۷±۰/۵۸	.	
۰/۰۰۰	.	۱	
۰/۰۰۰	.	۰/۷۵	
۰/۰۰۰	.	۰/۵۰	سیستئین
۰/۰۰۰	.	۰/۲۵	هیدروکلراید
	۱۶/۶۷±۰/۵۸	.	
۰/۰۰۰	.	۱	
۰/۰۰۰	۶/۲۳±۱/۵۳	۰/۷۵	
۰/۰۰۱	۱۰/۶۷±۱/۱۵	۰/۵۰	تریپتوфан
	۱۶/۶۷±۰/۵۸	.	
۰/۰۰۰	.	۱	
۰/۰۰۰	.	۰/۷۵	
۰/۰۰۰	.	۰/۵۰	اسید آسپارتیک
	۱۶/۶۷±۰/۵۸	.	
۰/۰۰۰	.	۱	
۰/۰۰۰	.	۰/۷۵	
۰/۰۰۳	۱۰/۲۳±۰/۵۳	۰/۵۰	اسید گلوتامیک
	۱۶/۶۷±۰/۵۸	.	

در تمامی موارد، میانگین ها با میانگین غلظت صفر مقایسه شده است.

سیستئین هیدروکلراید، موثرترین اسید آمینه در مهار رشد این درماتوفیت بوده و تا غلظت $۰/۰۲\%$ (۰/۰۲ مولار) هیچ رشدی از این درماتوفیت تا ۱۴ روز دیده نشد. متیونین، کاهش معنی داری در رشد این قارچ نشان داد. از اسیدهای آمینه آروماتیک تنها تیروزین و تریپتوfan باعث کاهش رشد این درماتوفیت تا غلظت $۰/۵\%$ گردید. تمام اسیدهای آمینه قلیابی و آمیدان ها در غلظت ۱% باعث کاهش رشد آن شدند و در مورد آرژینین این کاهش تا غلظت $۰/۰۰۰\%$ نیز معنی دار بود و هیستیدین در غلظت ۱% ، باعث کاهش و در غلظت $۰/۰۰۰\%$ باعث افزایش رشد این درماتوفیت گردید. اسیدهای آمینه اسیدی نیز نقش بسیار موثری بر رشد اپیدرموفیتون فلوکوزوم نشان دادند و تا غلظت $۰/۵\%$ ، باعث مهار رشد این

گرم در دسی لیتر باعث افزایش رشد میکروسپوریوم ژیپسئوم گردید (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۱- مقایسه قطر کلونی های میکروسپوریوم ژیپسئوم بر

حسب میلی متر در غلظت های مختلف اسیدهای آمینه که حداقل در غلظت

۱ گرم در دسی لیتر باعث مهار کامل رشد گردیدند

نام اسید آمینه	میانگین	غلظت در محیط (gr/dl)	مقدار p کشت
۰/۰۰۰	.	۱	
۰/۰۴۵	۴۶/۶۷±۳/۰۶	۰/۷۵	سیستئین
	۵۲/۲۳±۱/۵۳	.	
۰/۰۰۰	.	۱	
۰/۰۰۰	.	۰/۷۵	
۰/۰۰۰	.	۰/۵۰	سیستئین
۰/۰۰۰	.	۰/۲۵	هیدروکلراید
۰/۰۳۴	۴۵/۲۳±۳/۵۱	۰/۱	
	۵۲/۲۳±۱/۵۳	.	
۰/۰۰۰	.	۱	
۰/۰۰۰	۳۷/۰۰±۱/۰۰	۰/۷۵	
۰/۰۰۱	۴۳/۲۳±۱/۱۵	۰/۵۰	تریپتوfan
۰/۰۳۳	۴۹/۲۳±۰/۵۸	۰/۲۵	
۰/۰۲۹	۴۸/۶۷±۱/۱۵	۰/۱	
	۵۲/۲۳±۱/۵۳	.	
۰/۰۰۰	.	۱	
۰/۰۰۰	.	۰/۷۵	
	۵۲/۲۳±۱/۵۳	.	اسید آسپارتیک
۰/۰۰۰	.	۱	
۰/۰۰۰	۱۳/۶۷±۱/۵۳	۰/۷۵	
۰/۰۰۱	۴۲/۶۷±۱/۱۵	۰/۵۰	
۰/۰۲۱	۴۷/۰۰±۲/۰۰	۰/۲۵	اسید گلوتامیک
	۵۲/۲۳±۱/۵۳	.	

در تمامی موارد، میانگین ها با میانگین غلظت صفر مقایسه شده است.

اسید آمینه والین در غلظت ۱% باعث کاهش رشد اپیدرموفیتون فلوکوزوم گردید. در حالی که سایر اسیدهای آمینه با زنجیره جانبی هیدروفوب، تاثیری بر رشد این درماتوفیت نداشتند. از میان اسیدهای آمینه با عامل هیدروکسیل، سرین در غلظت ۱% باعث کاهش رشد این درماتوفیت گردید. از اسیدهای آمینه گوگرددار نیز سیستئین تا غلظت $۰/۰۵\%$ باعث کاهش رشد شد و در غلظت ۱% باعث مهار کامل رشد این درماتوفیت گردید. به نظر می رسد

جدول شماره ۴ - مقایسه قطر کلونی‌های قارچ اپیدرموفیتون فلوکوزوم بر حسب میلی‌متر در غلظت‌های مختلف اسیدهای آمینه که باعث کاهش نسبی رشد می‌گردند.

نام اسید آمینه	میانگین	غلهٔت در محیط (gr/dl)	مقدار p
والین	۱۶/۶۷±۰/۵۸	۰	۱/۰۳۵
سرین	۱۶/۶۷±۱/۰۳	۰	۰/۰۰۱
تیروزین	۱۶/۶۷±۰/۵۸	۱	۰/۰۰۴
آرژنین	۱۲/۰۰±۲/۰۰	۰/۵۰	۰/۰۰۲
لیزین منوکلراید	۱۶/۶۷±۰/۵۸	۰	۰/۰۰۵
هیستیدین	۱۶/۶۷±۰/۵۸	۱	۰/۰۰۰
هیستیدین کراید	۱۶/۶۷±۰/۵۸	۰	۰/۰۲۵

در تمامی موارد، میانگین‌ها با میانگین غلظت صفر مقایسه شده است.

جدول شماره ۵ - مقایسه قطر کلونی‌های قارچ میکروسپوریوم ژیپسئوم در غلظت‌های آمینه موثر در افزایش رشد

نام اسید آمینه	میانگین	غلهٔت در محیط (gr/dl)	مقدار p
لوسین	۰/۱	۵۸/۶۷±۱/۰۳	۰/۰۰۷
هیدروکسی پرولین	۰/۱	۵۷/۲۳±۱/۰۳	۰/۰۱۶
تیروزین	۰/۱	۵۹/۰۰±۱/۰۰	۰/۰۰۳

در تمامی موارد، میانگین‌ها با میانگین غلظت صفر مقایسه شده است.

بحث

در این مطالعه هر دو درماتوفیت میکروسپوریوم ژیپسئوم و اپیدرموفیتون فلوکوزوم نسبت به سیستین هیدروکلراید حساسیت شدیدی نشان دادند و در غلظت ۰/۲۵ گرم در دسی‌لیتر، هیچ کام قادر به رشد نبودند؛ اما در مورد ال - سیستین، اپیدرموفیتون فلوکوزوم حساس‌تر از

درماتوفیت‌ها گردیدند (جدول شماره ۲). هیستیدین نیز در غلظت ۱ گرم در دسی‌لیتر باعث افزایش رشد اپیدرموفیتون فلوکوزوم گردید (جدول شماره ۴).

جدول شماره ۶ - مقایسه قطر کلونی‌های قارچ میکروسپوریوم ژیپسئوم بر حسب میلی‌متر در غلظت‌های مختلف اسیدهای آمینه که باعث مهار نسبی رشد می‌شوند.

نام اسید آمینه	میانگین	غلهٔت در محیط (gr/dl)	مقدار p
گلیسین	۱	۳۲/۶۷±۲/۲۱	۰/۰۰۱
والین	۰	۵۲/۲۳±۱/۰۳	۰/۰۰۹
لوسین	۱	۴۳/۶۷±۰/۵۸	۰/۰۰۱
ایزوولوسین	۰	۵۲/۲۳±۱/۰۳	۰/۰۰۰
سرین	۱	۳۹/۶۷±۱/۰۰	۰/۰۰۷
هیدروکسی پرولین	۰	۴۲/۰۰±۰/۵۸	۰/۰۰۱
تیروزین	۰	۵۲/۲۳±۱/۰۳	۰/۰۰۴
متیونین	۱	۳۸/۲۳±۰/۵۸	۰/۰۰۰
آرژنین	۰	۴۱/۰۰±۲/۰۰	۰/۰۰۵
لیزین منوکلراید	۱	۴۳/۶۷±۲/۲۰	۰/۰۰۵
هیستیدین	۰	۵۲/۲۳±۱/۰۳	۰/۰۳۹
هیستیدین کراید	۰	۴۷/۰۰±۲/۶۵	۰/۰۴۳
آسپارژین	۱	۴۴/۰۰±۵/۰۰	۰/۰۵۱
کلوتامین	۰	۵۲/۲۳±۱/۰۳	۰/۰۰۰

در تمامی موارد، میانگین‌ها با میانگین غلظت صفر مقایسه شده است.

و اثر مهاری هر دو اسید آمینه بر رشد هر دو درماتوفیت چشمگیر گزارش شد(جدول شماره ۱ و ۲)، بطوری که اسید آسپارتیک در غلظت ۷۵٪ ۰.۵ گرم در دسی لیتر و اسید گلوتامیک در غلظت ۱ گرم در دسی لیتر، رشد میکروسپوریوم ژیپسئوم را به میزان ۱۰۰٪ مهار نمودند و در مورد اپیدرموفیتون فلوکوزوم، این میزان در اسید آسپارتیک، ۰/۵ گرم در دسی لیتر و در اسید گلوتامیک، ۰/۷۵ گرم در دسی لیتر مشخص شد(جدول شماره ۱ و ۲).

تیروزین و تریپتوفان نیز که از اسیدهای آمینه با حلقه آروماتیک میباشند، باعث کاهش رشد هر دو درماتوفیت گردیدند، اما تیروزین در غلظت ۱٪ ۰.۵ گرم در دسی لیتر، اثر معکوس نشان داده و باعث افزایش رشد میکروسپوریوم ژیپسئوم گردید(به ترتیب $P=0.007$ و $P=0.003$). اسیدهای آمینه لیزین منوکراید و آرژنین که هر دو اسید آمینه قلیایی هستند باعث کاهش رشد هر دو درماتوفیت در غلظت‌های ۱٪ ۰.۵ گرم در دسی لیتر گردیدند، لیزین منوکراید در غلظت ۱٪ ۰.۵ گرم در دسی لیتر با آنکه باعث کاهش رشد اپیدرموفیتون فلوکوزوم گردید اما این کاهش معنی‌دار نبود(جدول شماره ۱ و ۲).

سرین نیز در غلظت ۱ گرم در دسی لیتر باعث کاهش رشد هر دو درماتوفیت گردید اما در غلظت ۱ گرم در دسی لیتر تنها در میکروسپوریوم ژیپسئوم کاهش معنی‌دار نشان داد. ترئونین که در مطالعه Pandy باعث کاهش رشد میکروسپوریوم ژیپسئوم گردیده بود، در این مطالعه باعث کاهش رشد در هیچ کدام از درماتوفیت‌ها نشد که شاید به علت تفاوت سوش هندی با سوش ایرانی این درماتوفیت باشد و یا در طول چند سال گذشته(از ۱۹۸۵ تا کنون) جهشی در آن ایجاد شده باشد. هیستیدین و هیستیدین کلراید نیز در غلظت ۱ گرم در دسی لیتر باعث کاهش رشد هر دو درماتوفیت گردیدند اما در غلظت ۰/۱ گرم در دسی لیتر، هیستیدین باعث افزایش رشد اپیدرموفیتون فلوکوزوم گردید ($P=0.025$). آسپارتیک و گلوتامین نیز باعث کاهش رشد میکروسپوریوم ژیپسئوم شدند، در حالی که بر رشد اپیدرموفیتون فلوکوزوم اثری نشان ندادند. هیدروکسی

میکروسپوریوم ژیپسئوم عمل کرد. در مقابل، میکروسپوریوم ژیپسئوم به متیونین حساسیت نشان داد و این در حالی است که اپیدرموفیتون فلوکوزوم این حساسیت را نشان نداد.

در مطالعات Pandy و همکاران نیز مشاهده شده بود که میکروسپوریوم ژیپسئوم و تریکوفیتون مانتاگروفیتیس نسبت به سیستئین هیدروکلراید حساس می باشد که با مطالعه حاضر همخوانی دارد.^(۱) در مطالعه Nauyen و همکاران نیز مشاهده شده بود که در حضور ۰/۰۴ مولار از ال- سیستئین، هیچ کدام از درماتوفیت‌های ۲۴ گانه به غیر از تریکوفیتون مانتاگروفیتیس واریته کوئین کائینیوم قادر به رشد نبودند^(۲) که در این مطالعه غلظت‌های لازم برای مهار رشد میکروسپوریوم ژیپسئوم و اپیدرموفیتون فلوکوزوم، ۱ گرم در دسی لیتر بوده است.

در مطالعه Kunert مشخص گردیده بود که از بین ۳۸ ماده کروموجن که به عنوان سوبسترا برای آنزیمهای پرتوولتیک درماتوفیت‌ها بکار رفته، فنیل آلانین، لوسين، آلانین، متیونین و آرژنین مناسب‌ترین آنها بودند^(۱) که سه اسید آمینه اول جزء اسیدهای آمینه هیدروفوب میباشند؛ در مطالعه حاضر نیز هیچ کدام، باعث مهار رشد درماتوفیت‌ها نگردیدند(بجز ال- لوسين در مورد میکروسپوریوم ژیپسئوم). آرژنین نیز با آنکه بر روی هر دو درماتوفیت در هر دو غلظت ۱٪ و ۰/۱ گرم در دسی لیتر، اثر مهار کنندگی داشت(به ترتیب $P<0.001$ و $P=0.018$) برای اپیدرموفیتون فلوکوزوم و $p=0.005$ و $p=0.039$ برای میکروسپوریوم ژیپسئوم) اما باعث مهار کامل رشد حتی در غلظت ۱ گرم در دسی لیتر نیز نگردید(جدول شماره ۱ و ۲). متیونین نیز بر اپیدرموفیتون فلوکوزوم هیچ تأثیری نداشته و بر میکروسپوریوم ژیپسئوم اثر بسیار ملایمی نشان داد.

اسیدهای آمینه اسیدی نیز هر دو، بر رشد هر دو درماتوفیت اثر مهاری نشان دادند که اثر مهاری اسید آسپارتیک بر رشد میکروسپوریوم ژیپسئوم در مطالعه Pandy نیز مشخص شده بود. در مطالعه حاضر اثر مهاری اسید گلوتامیک نیز بر رشد هر دو درماتوفیت نشان داده شد

همچنین با تعیین میزان اسیدهای آمینه در گیاهان دارویی موثر بر درماتوفیت‌ها می‌توان دلیل خاصیت ضد درماتوفیتی در بعضی از آنها را که مربوط به وجود اسیدهای آمینه می‌باشد مشخص نمود و با تغییط قسمت موثر، داروهای موثرتر و با اثرات سوء پایین‌تر سنتز نمود.

نتیجه‌گیری

اسیدهای آمینه در غلظت‌های مختلف، اثرات متفاوتی بر رشد درماتوفیت‌ها دارند که از میان آنها اثرات ضدقارچی سیستئین هیدروکلراید، ال - سیستئین، ال - آسپارتیک اسید، ال - گلوتامیک اسید، ال - تریپتوفان و ال - تیروزین قابل توجه‌تر از بقیه می‌باشد. همچنین رشد میکروسپوریوم ژیپسئوم بیشتر از اپیدرموفیتون فلوکوزوم تحت تاثیر اسیدهای آمینه قرار دارد.

فهرست منابع

- 1- Pandy DK, Chandra H, Tripathi NN, Dixit SN. Antimycotic activity of some amino acids against dermatophytes. *Arzneimittelforschung* 1984; 34(5): 554-6.
- 2- Nguyen NT, Galgoczy J, Novak EK. Morphogenic effect of L-cysteine on dermatophytes. *Acta Microbiol Acad Sci Hung* 1981; 28(4): 347-57.
- 3- Brasch J, Flader S. Human androgenic steroids affect growth of dermatophytosis in vitro. *Mycoses* 1995; 39(9-10): 387-92.
- 4- Brasch J, Gottkehaskamp D. The effect of selected human steroid hormones upon the growth of dermatophytosis with deferent adaptation to man. *Mycopatologia* 1992; 120: 87-92.
- 5- Seyed Jamal Hashemi, Mohammad Reza Saragani, Kamiar Zomorodian. A comparative survey between serum androgenic hormones levels between male patients with dermatophytosis and normal subjects. *Jpn J Infection Dis* 2004; 57(2): 60-2.
- 6- Kunert J. Inorganic sulfur sources for the growth of the dermatophyte *Microsporum gypseum*. *Folia Microbiol* 1981; 26(3): 196-200.
- 7- Garg AP, Muller J. Fungotoxicity of fatty acids against dermatophytes. *Mycoses* 1993; 36(1-2): 51-63.

پرولین در هر دو غلظت، اثرات معکوس بر رشد میکروسپوریوم ژیپسئوم نشان داد و در غلظت ۱ گرم در دسی‌لیتر، کاهش کاهش و در ۰/۱ گرم در دسی‌لیتر، افزایش رشد نشان داد در حالی که در اپیدرموفیتون فلوکوزوم اثر معنی‌داری نشان نداد.

آنچه که در این مطالعه قابل توجه است، این است که اسیدهای آمینه سیستئین هیدروکلراید، ال - سیستئین، ال - آسپارتیک اسید، ال - گلوتامیک اسید، تریپتوفان و تیروزین اثرات ضد قارچی شدیدی بر این دو درماتوفیت نشان دادند و اسیدهای آمینه دی‌ال - آرژنین، لیزین منوکراید، هیستیدین، هیستیدین کلراید و متیونین اثرات ضد قارچی ملایم‌تری بر رشد این دو درماتوفیت نشان دادند. بسیاری از اسیدهای آمینه نیز در غلظت ۰/۱ گرم در دسی‌لیتر باعث افزایش رشد درماتوفیت‌ها گردیدند مانند تیروزین و هیدروکسی پرولین در میکروسپوریوم و هیستیدین در اپیدرموفیتون فلوکوزوم. دلیل تفاوت اسیدهای آمینه بر روی این دو درماتوفیت، شاید تفاوت در نیازهای تغذیه‌ای و یا تفاوت در آنزیمهای پروتئولیتیک در این دو قارچ باشد که نمی‌توانند اسیدهای آمینه را به طور کافی مورد استفاده قرار دهند که از این تفاوت می‌توان در محیط‌های کشت برای افتراق درماتوفیت‌ها استفاده کرد. همچنین با مشخص نمودن میزان اسیدهای آمینه افراد مبتلا به درماتوفیتوز در نواحی مختلف بافت‌های کراتینیزه شاید بتوان تمایل قارچ‌ها را به این نواحی و نیز حساسیت و مقاومت افراد را به درماتوفیت‌های مختلف مشخص نمود. مطالعه حاضر در شرایط invitro انجام شد، اما در شرایط invivo علاوه بر اثر مستقیم اسیدهای آمینه بر رشد درماتوفیت‌ها، امکان اثر آنها بر سیستم ایمنی نیز وجود دارد. همین‌طور اسیدهای آمینه بر میزان هورمون‌های آندروژن و اسیدهای چرب آزاد مؤثرند که آنها نیز اثرات ضد درماتوفیتی از خود نشان می‌دهند و می‌توانند بر سیر پاتوژنیز درماتوفیت‌ها مؤثر باشند؛ لذا اندازه‌گیری اسیدهای آمینه در عرق بیماران مبتلا به درماتوفیتوز و مقایسه با افراد نرمال جامعه نیز می‌تواند اطلاعات مفیدی در نقش اسیدهای آمینه در پاتوژنیز درماتوفیت‌ها ارایه دهد.

*The Effect of Amino Acids on the Growth of *Epidermophyton floccosum* and *Microsporum Gypseum**

^I
M.R. Sarasgani, MSPH

^{II}
*M. Firoozraee, PhD

Abstract

Background & Aim: Amino acids have different effects on the growth of some dermatophytes. Some may increase and the others may inhibit their growth. The concentration of some amino acids is also an important factor for their effect. Therefore, we decided to investigate the effects of amino acids on the growth of two Iranian species of dermatophytes including epidermophyton floccosum and microsporum gypseum.

Material & Method: In this experimental study, two concentrations(1gr/dl and 0.1gr/dl) of 23 amino acids were added to sabouraud glucose agar media of these dermatophytes. The experiment was carried out 3 times. After 2 weeks, the means of the colonies were compared with the mean of the control group which was made without adding any amino acids to sabouraud glucose agar media.

Results: The results showed that L-cysteine hydrochloride, L-cysteine, L-aspartic acid, L-glutamic acid and DL-tryptophan had more inhibitory effects on the studied dermatophytes and the rest of amino acids had less inhibitory and even stimulating effects on the growth of the dermatophytes.

Conclusion: Microsporum gypseum has more sensitivity to amino acids, in contrast to epidermophyton floccosum.

Key Words: 1) *Microsporum Gypseum* 2) *Epidermophyton Floccosum* 3) Amino Acids

^I MS in Medical Mycology. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

^{II} Associate Professor of Biochemistry. Center of Basic Sciences. Hemmat & Chamran Highway Intersection. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran. (*Corresponding Author)