

# اثر اسیدهای آمینه بر رشد میکروسپوریوم ژپیسئوم 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 ژپیسئوم بررسی گردید.

روش بررسی: این مطالعه از نوع مطالعات تجربی است. این دو نوع قارچ در محیط کشت سابروگلوکزآگار که از ۲۳ اسید آمینه در غلظت‌های ۱ و ۰/۱ گرم در دسی‌لیتر تهیه شده بودند، کشت داده شدند (هر کدام از نمونه‌ها سه بار تکرار گردید) و بعد از ۲ هفته، قطر کلونی‌ها اندازه‌گیری شد و میانگین آنها با میانگین حاصل از گروه کنترل که از کشت درماتوفیت‌ها در محیط سابروگلوکزآگار بدون افزودن اسید آمینه تشکیل شده بود، مقایسه گردید. یافته‌ها: نتایج حاصل نشان داد که ال - سیستئین هیدروکلراید، ال - سیستئین، ال - اسید آسپارتیک، ال - اسید گلوتامیک و دی‌ال - تریپتوفان 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 ژپیسئوم بیش‌تر از اپیدرموفیتون فلوکوزوم، تحت تاثیر اسیدهای آمینه قرار گرفت.

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

محمد رضا سراسگانی I

\*دکتر محسن فیروززای 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 ژپیسئوم و تریکوفیتون منتاگروفیتیس صورت گرفته است، نشان می‌دهد که اسیدهای آمینه سیستئین هیدروکلراید و اسید آسپارتیک بر روی این دو درماتوفیت، اثر مهاری دارند و حداقل غلظت مهاری سیستئین هیدروکلراید برای میکروسپوریوم ژپیسئوم، ۰/۵ گرم در دسی‌لیتر و برای تریکوفیتون منتاگروفیتیس، ۰/۴ گرم در دسی‌لیتر گزارش شد. اسید آسپارتیک نیز در

عوامل فیزیکی و شیمیایی متعددی می‌توانند بر سیر پاتوژنز 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 تمایل 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 سابرو گلوکز آگار محصول کارخانه مرک(دارای ۴٪ گلوکز).

۳- اسیدهای آمینه ال - آسپارژین، دی ال - تریپتوفان، ال - هیستیدین، ال - تیروزین، ال - سیستئین هیدروکلراید، ال - سیستئین، ال - متیونین، ال - آرژنین، دی ال - آلانین، گلیسین، ال - آسپارژین منویدرات، ال - فنیل آلانین، ال - پرولین، ال - هیدروکسی پرولین، ال - هیستیدین منویدروکلراید، ال - ترئونین، ال - لیزین منویدروکلراید، ال - لوسین، ال - ایزولوسین، ال - گلوتامین، ال - والین، ال - گلوتامیک اسید و ال - آسپارتیک اسید که همگی محصول مرک بودند.

۴- محیط کشت سابرو 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 سانتی متری یکبار مصرف، چراغ شعله متصل به گاز و لوله‌های شیشه‌ای در پیچ دار ۱۰ سانتی متری بود.

این مطالعه از نوع مطالعات تجربی بود. ابتدا محیط کشت سابرو 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 سانتی متری ریخته شده و اتوکلاو گردید. ۰/۵ سی سی توئین ۸۰ در یک لوله در پیچ دار دیگر استریل گردید. توسط فیلدوپلاتین نوک تیز مقداری از کلونی درماتوفیت برداشته شده و در توئین ۸۰ حل گردید. محتویات هر کدام از لوله‌های محتوی سابرو گلوکز برات بر روی یکی از درماتوفیت‌های حل شده در توئین ۸۰ خالی گردید.

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

غلظت ۱ گرم در دسی لیتر، رشد میکروسپوریوم ژپیسئوم را به میزان ۱۰۰٪ و رشد تریکوفیتون منتاگروفیتیس را به میزان ۴۸٪ کاهش داد.<sup>(۱)</sup>

در مطالعه دیگری نشان داده شد که از بین ۲۴ گونه درماتوفیت مورد آزمایش، تنها تریکوفیتون منتاگروفیتیس واریته گوئین کاینوم در حضور غلظت ۰/۰۴ مولار سیستئین قادر به رشد می‌باشد.<sup>(۲)</sup> همچنین با اضافه نمودن هورمون‌های آندروژن به محیط کشت درماتوفیت‌ها، قطر کلونی‌ها کاهش پیدا کرد و از بین هورمون‌ها، آندروستندیون بیش‌ترین اثر را در مهار درماتوفیت‌ها نشان داد و اپیدرموفیتون فلوکوزوم و تریکوفیتون روبروم نیز بالاترین حساسیت را داشته‌اند.<sup>(۳)</sup>

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

در مطالعه دیگری نیز مشاهده شد که اسیدهای چرب، باعث کاهش رشد درماتوفیت‌ها گردیدند و اسیدهای چرب غیراشباع با تعداد کربن کمتر، موثرتر عمل نمودند.<sup>(۵)</sup>

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

## روش بررسی

مواد مورد استفاده در این مطالعه عبارت بودند از:

۱- سوشهای اپیدرموفیتون فلوکوزوم و میکروسپوریوم ژپیسئوم

میکروسپوریوم ژپیسئوم سوش PTCC ۵۰۷۰ از کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی وابسته به سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران و اپیدرموفیتون فلوکوزوم

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 نرم‌افزار آماری SPSS آنالیز گردیدند.

اندازه کلونی‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار نمایش داده شد. مقایسه اندازه کلونی‌های قارچ‌ها در حضور آمینواسیدهای 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 نرم‌افزار SPSS (version 9)، انجام شد.

#### یافته‌ها

اسیدهای آمینه با عامل هیدروفوب، همه بجز آلانین، در غلظت ۱٪ باعث کاهش رشد میکروسپوریوم ژیبسئوم گردیدند. لوسین در غلظت ۰/۱٪، 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، پرولین در غلظت ۱٪ و ۰/۱٪، اثرات متفاوتی داشت؛ بطوری که در غلظت ۱٪، باعث کاهش و در غلظت ۰/۱٪، باعث افزایش رشد این قارچ گردید. از اسیدهای آمینه آروماتیک، تیروزین در دو غلظت ۱٪ و ۰/۱٪، 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 ۰/۲۵٪ 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 ۰/۱٪ 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). هیدروکسی پرولین در غلظت ۰/۱٪

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

مقدار ۶۵ گرم پودر سابروگلوکز آگار، توزین شده و داخل ارلن مایر ۲ لیتری، یک لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. ارلن 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 ارلن مایر یک لیتری نیز، ۵ گرم اسید آمینه خاصی توزین شد، سپس مقدار ۵۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت سابروگلوکز آگار به ۵ گرم اسید آمینه مورد نظر اضافه گردید (این محیط باید در حالت داغ و قبل از منجمد شدن اضافه گردد). ارلن مایر بر روی هیتر مغناطیسی قرار داده شد تا کاملاً یکنواخت گردد (غلظت ۱٪ از اسید آمینه آماده شد). ۵۰ میلی‌لیتر از محتویات ارلن برداشته و بر روی ۴۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت خالص سابروگلوکز آگار اضافه گردید و آن نیز روی هیتر مغناطیسی قرار گرفت و مخلوط شد و بعد از یکنواخت شدن، غلظت ۰/۱٪ از اسید آمینه نیز آماده شد.

ارلن 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 (۱٪ یا ۰/۱٪) یادداشت گردید.

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

پلیت‌های کشت شده در دمای ۲۵-۲۰ 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 ۰/۷۵٪، ۰/۵۰٪ و ۰/۲۵٪ از اسید آمینه نیز به صورت سریال (مانند غلظت ۰/۱٪ از 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 کلونی‌های اپیدرموفیتون فلوکوزوم

برحسب میلی‌متر در غلظت‌های مختلف اسیدهای آمینه که حداقل در

غلظت ۱ گرم در دسی‌لیتر باعث مهار کامل رشد گردیدند

مقدار p	میانگین	غلظت در محیط کشت (gr/dl)	نام اسید آمینه
۰/۰۰۰	۰	۱	
۰/۰۱۵	۸/۳۳±۳/۵۱	۰/۷۵	
۰/۰۰۱	۱۰/۶۷±۱/۱۵	۰/۵۰	سیستئین
۰/۰۰۸	۱۴/۳۳±۰/۵۸	۰/۲۵	
	۱۶/۶۷±۰/۵۸	۰	
۰/۰۰۰	۰	۱	
۰/۰۰۰	۰	۰/۷۵	سیستئین
۰/۰۰۰	۰	۰/۵۰	هیدروکلراید
۰/۰۰۰	۰	۰/۲۵	
	۱۶/۶۷±۰/۵۸	۰	
۰/۰۰۰	۰	۱	
۰/۰۰۰	۶/۳۳±۱/۵۳	۰/۷۵	تریپتوفان
۰/۰۰۱	۱۰/۶۷±۱/۱۵	۰/۵۰	
	۱۶/۶۷±۰/۵۸	۰	
۰/۰۰۰	۰	۱	
۰/۰۰۰	۰	۰/۷۵	اسید آسپارتیک
۰/۰۰۰	۰	۰/۵۰	
	۱۶/۶۷±۰/۵۸	۰	
۰/۰۰۰	۰	۱	
۰/۰۰۰	۰	۰/۷۵	اسید گلوتامیک
۰/۰۰۳	۱۰/۳۳±۰/۵۳	۰/۵۰	
	۱۶/۶۷±۰/۵۸	۰	

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

سیستئین، هیدروکلراید، موثرترین اسید آمینه در مهار رشد این درماتوفیت بوده و تا غلظت ۰/۲۵٪ (۰/۰۲ مولار) هیچ رشدی از این درماتوفیت تا ۱۴ روز دیده نشد. متیونین، کاهش معنی‌داری در رشد این قارچ نشان داد. از اسیدهای آمینه آروماتیک تنها تیروزین و تریپتوفان باعث کاهش رشد این درماتوفیت تا غلظت ۰/۵٪ گردید. تمام اسیدهای آمینه قلیایی و آمیدان‌ها در غلظت ۱٪ باعث کاهش رشد آن شدند و در مورد آرژنین این کاهش تا غلظت ۰/۱٪ نیز معنی‌دار بود و هیستیدین در غلظت ۱٪، باعث کاهش و در غلظت ۰/۱٪، 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 دسی‌لیتر باعث افزایش رشد میکروسپوریوم

ژپیسئوم گردید (جدول شماره ۳).

**جدول شماره ۱-** مقایسه قطر کلونی‌های میکروسپوریوم ژپیسئوم بر

حسب میلی‌متر در غلظت‌های مختلف اسیدهای آمینه که حداقل در غلظت

۱ گرم در دسی‌لیتر باعث مهار کامل رشد گردیدند

مقدار p	میانگین	غلظت در محیط کشت (gr/dl)	نام اسید آمینه
۰/۰۰۰	۰	۱	
۰/۰۴۵	۴۶/۶۷±۳/۰۶	۰/۷۵	سیستئین
	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	
۰/۰۰۰	۰	۱	
۰/۰۰۰	۰	۰/۷۵	سیستئین
۰/۰۰۰	۰	۰/۵۰	سیستئین
۰/۰۰۰	۰	۰/۲۵	هیدروکلراید
۰/۰۳۴	۴۵/۳۳±۳/۵۱	۰/۱	
	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	
۰/۰۰۰	۰	۱	
۰/۰۰۰	۳۷/۰۰±۱/۰۰	۰/۷۵	تریپتوفان
۰/۰۰۱	۴۳/۳۳±۱/۱۵	۰/۵۰	
۰/۰۳۳	۴۹/۳۳±۰/۵۸	۰/۲۵	
۰/۰۲۹	۴۸/۶۷±۱/۱۵	۰/۱	
	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	
۰/۰۰۰	۰	۱	
۰/۰۰۰	۰	۰/۷۵	اسید آسپارتیک
	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	
۰/۰۰۰	۰	۱	
۰/۰۰۰	۱۳/۶۷±۱/۵۳	۰/۷۵	اسید گلوتامیک
۰/۰۰۱	۴۲/۶۷±۱/۱۵	۰/۵۰	
۰/۰۲۱	۴۷/۰۰±۲/۰۰	۰/۲۵	
	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰/۱	

در تمامی موارد، میانگین‌ها 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 نشان ندادند. از میان اسیدهای آمینه با عامل هیدروکسیل، سرین در غلظت ۱٪، باعث کاهش رشد این درماتوفیت گردید. از اسیدهای آمینه گوگردار نیز سیستئین تا غلظت ۰/۲۵٪ باعث کاهش رشد شد و در غلظت ۱٪ باعث مهار کامل رشد این درماتوفیت گردید. به نظر می‌رسد

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

مقدار p	میانگین	غلظت در محیط کشت (gr/dl)	نام اسید آمینه
۰/۰۳۵	۱۴/۳±۱/۱۵	۱	والین
	۱۶/۶۷±۰/۵۸	۰	
۰/۰۰۱	۱۰/۰۰±۲/۰۸	۱	سرین
	۱۶/۶۷±۱/۵۳	۰	
۰/۰۰۴	۴/۰۰±۳/۶۱	۱	تیروزین
۰/۰۰۲	۱۳/۳۳±۰/۵۸	۰/۷۵	
۰/۰۵۵	۱۴/۶۷±۱/۱۵	۰/۵۰	آرژنین
	۱۶/۶۷±۰/۵۸	۰	
۰/۰۰۰	۷/۰۰±۰/۰۰	۱	لیزین منوکلراید
۰/۰۱۸	۱۲/۰۰±۲/۰۰	۰/۱	
	۶۷/۱۶±۰/۵۸	۰	هیستیدین کراید
۰/۰۰۰	۹/۳۳±۰/۵۸	۱	
	۱۶/۶۷±۰/۵۸	۰	هیستیدین کراید
۰/۰۳۳	۱۳/۶۷±۲/۵۲	۱	
	۱۶/۶۷±۰/۵۸	۰	
۰/۰۲۵	۱۳/۰۰±۱/۷۳	۱	
	۱۶/۶۷±۰/۵۸	۰	

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

**جدول شماره ۵** - مقایسه قطر کلونی‌های قارچ میکروسپوریوم ژپیسئوم در غلظت‌های از اسیدهای آمینه موثر در افزایش رشد

مقدار p	میانگین (میلی‌متر)	غلظت در محیط کشت (gr/dl)	نام اسید آمینه
۰/۰۰۷	۵۸/۶۷±۱/۵۳	۰/۱	لوسین
	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	
۰/۰۱۶	۵۷/۳۳±۱/۵۳	۰/۱	هیدروکسی پرولین
	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	
۰/۰۰۳	۵۹/۰۰±۱/۰۰	۰/۱	تیروزین
	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	

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

#### بحث

در این مطالعه هر دو درماتوفیت میکروسپوریوم ژپیسئوم و اپیدرموفیتون فلوکوزوم نسبت به سیستمین هیدروکلراید حساسیت شدیدی نشان دادند و در غلظت ۰/۲۵ گرم در دسی‌لیتر، هیچ کدام قادر به رشد نبودند؛ اما در مورد آل - سیستمین، 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 ۵ و ۵).

**جدول شماره ۲** - مقایسه قطر کلونی‌های قارچ میکروسپوریوم

ژپیسئوم بر حسب میلی‌متر در غلظت‌های مختلف اسیدهای آمینه که باعث مهار نسبی رشد می‌شوند.

مقدار p	میانگین	غلظت در محیط کشت (gr/dl)	نام اسید آمینه
۰/۰۰۱	۳۲/۶۷±۳/۲۱	۱	گلیسین
	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	
۰/۰۰۹	۴۳/۰۰±۳/۰۰	۱	والین
	۵۲/۳۳±۳/۵۳	۰	
۰/۰۰۱	۴۳/۶۷±۰/۵۸	۱	لوسین
	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	
۰/۰۰۰	۳۹/۳۳±۱/۱۵	۱	ایزولوسین
	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	
	۳۹/۶۷±۱/۰۰	۱	سرین
۰/۰۰۱	۴۲/۰۰±۰/۵۸	۰/۱	
۰/۰۰۴	۵۲/۳۳±۰/۵۸	۰	هیدروکسی پرولین
۰/۰۲۳	۴۶/۰۰±۲/۶۵	۱	
	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	تیروزین
۰/۰۰۷	۴۵/۰۰±۲/۰۰	۱	
	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	متیونین
۰/۰۰۰	۳۸/۳۳±۰/۵۸	۱	
۰/۰۰۰	۴۱/۰۰±۲/۰۰	۰/۱	آرژنین
	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	
	۲۶/۶۷±۸/۲۰	۱	لیزین منوکلراید
۰/۰۰۵	۴/۳۳±۶/۱۱	۰/۱	
۰/۰۲۹	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	هیستیدین کراید
۰/۰۰۱	۳۶/۰۰±۳/۰۰	۱	
۰/۰۴۰	۴۶/۶۷±۲/۸۹	۰/۱	آسپارژین
	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	
۰/۰۲۹	۴۷/۰۰±۲/۶۵	۱	هیستیدین کراید
	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	
۰/۰۴۳	۴۷/۶۷±۲/۳۱	۱	آسپارژین
	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	
۰/۰۵۱	۴۴/۰۰±۵/۰۰	۱	گلوتامین
	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	
	۳۸/۰۰±۱/۷۳	۱	گلوتامین
۰/۰۰۰	۴۵/۳۳±۳/۵۱	۰/۱	
۰/۰۳۴	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰	

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 ۰/۷۵ گرم در دسی‌لیتر و اسید گلوتامیک در غلظت ۱ گرم در دسی‌لیتر، رشد میکروسپوریوم ژیبسئوم را به میزان ۱۰۰٪ مهار نمودند و در مورد اپیدرموفیتون فلوکوزوم، این میزان در اسید آسپارتیک، ۰/۵ گرم در دسی‌لیتر و در اسید گلوتامیک، ۰/۷۵ گرم در دسی‌لیتر 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 ۰/۱ گرم در دسی‌لیتر، اثر معکوس نشان داده و باعث افزایش رشد میکروسپوریوم ژیبسئوم 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 ۰/۱ گرم در دسی‌لیتر گردیدند، لیزین منوکراید در غلظت ۰/۱ گرم در دسی‌لیتر با آنکه باعث کاهش رشد اپیدرموفیتون فلوکوزوم گردید اما این کاهش معنی‌دار نبود (جدول شماره ۱ و ۲).

سیرین نیز در غلظت ۱ گرم در دسی‌لیتر باعث کاهش رشد هر دو درماتوفیت گردید اما در غلظت ۱ گرم در دسی‌لیتر تنها در میکروسپوریوم ژیبسئوم کاهش معنی‌دار نشان داد. ترئونین که در مطالعه Pandy باعث کاهش رشد میکروسپوریوم ژیبسئوم 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 دسی‌لیتر باعث کاهش رشد هر دو درماتوفیت گردیدند اما در غلظت ۰/۱ گرم در دسی‌لیتر، هیستیدین باعث افزایش رشد اپیدرموفیتون فلوکوزوم گردید ( $p=0/025$ ). آسپارژین و گلوتامین نیز باعث کاهش رشد میکروسپوریوم ژیبسئوم شدند، در حالی که بر رشد اپیدرموفیتون فلوکوزوم اثری نشان ندادند. هیدروکسی

میکروسپوریوم ژیبسئوم عمل کرد. در مقابل، میکروسپوریوم ژیبسئوم 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 ژیبسئوم و تریکوفیتون منتاگروفیتیس نسبت به سیستئین هیدروکلراید حساس می‌باشند که با مطالعه حاضر همخوانی دارد.<sup>(۱)</sup> 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 منتاگروفیتیس واریته کوئین کاینیوم قادر به رشد نبودند<sup>(۲)</sup> که در این مطالعه غلظت‌های لازم برای مهار رشد میکروسپوریوم ژیبسئوم و اپیدرموفیتون فلوکوزوم، ۱ گرم در دسی‌لیتر بوده است.

در مطالعه Kunert مشخص گردیده بود که از بین ۲۸ ماده کروموزن که به عنوان سوبسترا برای آنزیم‌های پرتئولیتیک درماتوفیت‌ها بکار رفتند، فنیل آلانین، لوسین، آلانین، متیونین و آرژنین مناسب‌ترین آنها بودند<sup>(۱)</sup> که سه اسید آمینه اول جزء اسیدهای آمینه هیدروفوب می‌باشند؛ در مطالعه حاضر نیز هیچ کدام، باعث مهار رشد درماتوفیت‌ها نگردیدند (بجز ال - لوسین در مورد میکروسپوریوم ژیبسئوم). آرژنین نیز با آنکه بر روی هر دو درماتوفیت در هر دو غلظت ۱ و ۰/۱ گرم در دسی‌لیتر، اثر مهار کننده داشت (به ترتیب  $P<0/001$  و  $P=0/018$  برای اپیدرموفیتون فلوکوزوم و  $p=0/005$  و  $p=0/039$  برای میکروسپوریوم ژیبسئوم) اما باعث مهار کامل رشد حتی در غلظت ۱ گرم در دسی‌لیتر نیز نگردید (جدول شماره ۱ و ۲). متیونین نیز بر اپیدرموفیتون فلوکوزوم هیچ تأثیری نداشته و بر میکروسپوریوم ژیبسئوم 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 ژیبسئوم 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 تغلیظ 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 ژپیسئوم 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, Gottkehasch 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 Sarasgani, Kamiar Zomorodian. A comparative survey between serum androgenic hormones levels between male patients with dermatophytosis and normal subjects. *JPh 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. Fungitoxicity of fatty acids against dermatophytes. *Mycoses* 1993; 36(1-2): 51-63.

پرولین در هر دو غلظت، اثرات معکوس بر رشد میکروسپوریوم ژپیسئوم نشان داد و در غلظت ۱ گرم در دسی‌لیتر، 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 پاتوژنز 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 پاتوژنز درماتوفیت‌ها ارائه دهد.

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

*M.R. Sarasgani, MSPH*<sup>I</sup>

*\*M. Firoozraee, PhD*<sup>II</sup>

### *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)*