اثر ضدقارچی و تداخلی کمپلکس‌های آزاد کننده نیتریک اکساید و تربینافین بر روی درماتوفیت‌ها

*دکتر مهربان فلاحتی I

دکتر محمد شعبانی II

مریم میرمحمدعلی رودکی III

دکتر فرشته جهانبانی IV

کامران پوشنگ باقری V

چکیده

زمینه و هدف: نیتریک اکساید(Nitric Oxide=NO) مولکول کوچک چربی دوست است که در بدن به عنوان سیتوتوکسیک و یک میانجی عمل می‌کند. همچنین NO در دفاع سلولی نقش دارد، به گونه‌ای که غلظت بالای NO سبب مهار رشد میکروارگانیسم‌ها از جمله قارچ‌ها و مرگ آنها می‌شود. این مطالعه برای بررسی اثر ضد درماتوفیتی کمپلکس‌های آزادکننده NO و تداخل اثر احتمالی آنها با تربینافین طرح‌ریزی شده است.

روش بررسی: این مطالعه از نوع تجربی بود. روش بکار رفته در این پژوهش تعیین کمترین غلظت بازدارندگی از رشد(Minimal Inhibitory Concentration=MIC) در محیط مایع با رقتهای میکرو و با بهره‌گیری از توصیه‌های NCCLS(National committee for clinical laboratory standard) بود.

یافته‌ها: یافته‌ها نشان می‌دهند که اثر ممانعت کنندگی و قارچ‌کشی کمپلکس آزاد کننده NO بر روی گونه‌های درماتوفیتی، چشمگیر است ولی توان آن در مقایسه با تربینافین بسیار پایین می‌باشد. اثر قارچ‌کشی هر دو آنها، وابسته به غلظت می‌باشد. گونه‌های حیوان دوست و خاک دوست نسبت به گونه‌های انسان دوست در برابر تربینافین و دی‌اتیلن‌تری‌آمین‌نیتریت(Diethylen triamine nitrite=DETA/NO) حساس‌تر بودند. اثر تداخل DETA/NO و تربینافین در مورد گونه‌های میکروسپوروم کانیس، میکروسپوروم جیپسئوم و تریکوفیتون منتاگروفیتیس(غیر انسان‌دوست‌ها)، به دلیل ٤>FIX>١، indifferent و در مورد تریکوفیتون روبروم، به دلیل ٤<FIX، Antagonist می‌باشد. در این پژوهش به موجب نیمه عمر بسیار کوتاه دی‌اتیل‌آمین‌نیتریت(Diethyl amine nitrate=DEA/NO)، اثری از آن قابل مشاهده نبود.

نتیجه‌گیری: روی هم رفته با الهام از یافته‌های این مطالعه و با تکیه بر محتوای نوشته‌های موجود به نظر می‌رسد که مصرف موضعی کمپلکس‌های آزاد کننده NO، می‌تواند یکی از راه‌های درمان عفونت‌های درماتوفیتی باشد.

کلیدواژه‌ها: ۱ – درماتوفیت‌ها ۲ – تربینافین

۳ – کمپلکس آزاد کننده نیتریک اکساید، دی ـ ایی ـ تی ـ اِ/اِن ـ اُ، دی ـ ایی ـ اِ/ اِن ـ اُ

تاریخ دریافت: ۸٤/۱/۱۵، تاریخ پذیرش: ۸٤/۵/۳

مقدمه

یکی از مولکول‌هایی که در سالهای اخیر مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است، مولکول نیتریک اکساید (Nitric Oxide=NO) می‌باشد.

NO، مولکولی کوچک و چربی دوست است[۱و ۲] که هم به عنوان یک عامل سیتوتوکسیک و هم یک میانجی(Mediator) در بدن عمل می‌نماید.[۳-۵]

I) استادیار قارچ‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران، ایران(*مؤلف مسوول).

II) استادیار بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران، ایران.

III) کارشناس ارشد قارچ‌شناسی پزشکی.

IV) دکتری رشته فارماکولوژی.

V) کارشناس ارشد میکروب‌شناسی.

www.SID.ir

بعلاوه مدارک مستدلی وجود دارد که NO در دفاع سلولی شرکت می‌کند.[۶] ماکروفاژها در مواجه با میکروارگانیسم‌ها (انگل‌ها، ویروس‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها)، مقادیر زیادی NO تولید می‌کنند که این غلظت بالای NO، سبب مهار رشد این پاتوژن‌ها یا مرگ آنها می‌شود.[۷-۹]

روی هم رفته، مکانیسم‌های وابسته به NO، نقش کلیدی را در دفاع میزبان علیه عفونت‌های قارچی بازی می‌کنند.[۱۰-۱۵] در مورد نقش NO در عفونت‌های پوستی نیز بررسی‌ها نشان می‌دهند که NO به طور مداوم از سطح پوست نرمال توسط یک مسیر غیرآنزیمی آزاد می‌شود؛ تولید NO، در نتیجه تبدیل نیترات موجود در عرق توسط آنزیم نیترات ردوکتاز تولیدی توسط باکتری‌های سطح پوست به نیتریت و سپس به دنبال آن acidification صورت می‌گیرد و این NO نقش مهاری در عفونت‌های قارچی و سایر میکروارگانیسم‌های حساس پوست دارد.[۱۶] تحقیقات نشان می‌دهد که NO و ترکیبات مشتق از آن چون نیتروس اسید(HNO_2)، دنیتروژن تری‌اکساید(H_2NO_3) و پراکسی‌نیتریت(ONOO) که در بدن تولید می‌شوند، می‌توانند به عنوان مکانیسم دفاع غیراختصاصی علیه میکروارگانیسم‌های پاتوژن پوست عمل کنند و این مواد همچنین در عملکرد Tcellهای جلدی و تمایز کراتینوسیت‌ها و نیز فشار خون پوست موثر می‌باشند.[۱۷]

تربینافین، داروی ضدقارچی از گروه آلیل‌آمین‌ها بوده که از سنتز ارگوسترول در سطح آپوکسیداسیون اسکوآلن ممانعت می‌کند و در درمان درماتوفیتوزیس به طور موضعی و سیستمیک مصرف می‌شود.[۱۸]

کمپلکس‌های آزاد کننده NO(NONOate)، نوکلئوفیل‌هایی هستند که مولکول NO را در داخل خود نگه می‌دارند و سپس بسته به نوع کمپلکس و نیمه عمر آن، در زمان‌های معین و در پاسخ به تغییرات pH محیط، مولکول NO را در محیط آبی آزاد می‌کنند. با تولید و وارد بازار شدن این ترکیبات، راه برای تحقیق و استفاده از NO و سایر ترکیبات حد واسط نیتروژن در درمان بیماری‌های مختلف باز گردید.

پژوهش‌هایی برای استفاده از این کمپلکس‌ها در درمان عفونت‌های ویروسی، باکتریایی و قارچی در دست انجام است.[۱۹-۲۱]

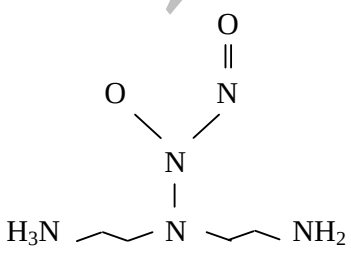
مطالعه حاضر که برای جستجوی اثر ضد درماتوفیتی دو کمپلکس آزاد کننده NO و مقایسه آنها با تربینافین و پی‌بردن به اثر تداخلی احتمالی بین این کمپلکس‌ها و تربینافین طرح گردیده، قدمی در این راه است.

روش بررسی

این مطالعه از نوع تجربی(experimental) بود. درماتوفیت‌های مورد استفاده در این بررسی شامل میکروسپوروم کانیس PTCC ۵۰۶۹ (Persian Type Culture Collection 5069)، میکروسپورم جیپسئوم PTCC ۵۰۷۰ (Persian Type Culture Collection 5070) و تریکوفیتون روبروم PTCC ۵۱۴۳ (Persian Type Culture Collection 5143) تهیه شده از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران و یک نمونه تریکوفیتون منتاگروفیتیس جدا شده از بیمار بود. داروی ضدقارچی مورد مصرف، پودر تربینافین اهدایی کارخانه تهران شیمی با Batch No :TBHOO۴۰۳۹۹ و Assay Potency=٪۹۹/۷ بود.

ترکیبات آزاد کننده NO(No-donors)، شامل موارد زیر بود:

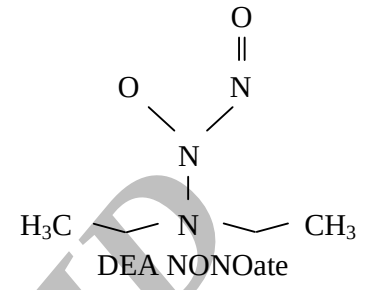
۱- DETA/NO: "Diethylene triamine" با فرمول شیمیایی $C_4H_{13}N_5O_2$، وزن مولکولی ۱۶۳/۲ دالتون و نیمه عمر ۵۷ ساعت در ۲۵درجه سانتی‌گراد و ۲۰ ساعت در ۳۷درجه سانتی‌گراد می‌باشد. این ترکیب، محلول در آب و متانول است.



DETA NONOate

Archive of SID
www.SID.ir

۲- DEA/NO "Diethylamine": با فرمول شیمیایی $C_4H_8N_5O_2$، وزن مولکولی ۱۳۲/۱ دالتون و نیمه عمر ۱۶ دقیقه در ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۲ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. این ترکیب، محلول در آب و متانول است.



DEA NONOate

روش بکار رفته در این مطالعه، تعیین کمترین غلظت مهارکنندگی(Minimal Inhibitory=MIC Concentration) بود، که به صورت Micro dilution broth در میکروپلیت‌های استریل ۹۶ خانه‌ای و با بهره‌گیری از توصیه‌های NCCLS(National committee for clinical laboratory standard) انجام شد.[۲۲]

برای انجام این کار، ابتدا رقتهای سریال از تربینافین (۱-۰/۰۰۷ میکروگرم در میلی‌لیتر) و کمپلکس‌های دهنده No(۵-۰/۰۱ میکروگرم در میلی‌لیتر)، تهیه شد و به حجم ۱۰۰ میکرولیتر در چاهکهای هر ردیف ریخته شد و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچی درماتوفیت تهیه شده در محیط RPMI۱۶۴۰ که حاوی 1×10^{5} واحد کلونی‌ساز در میلی‌لیتر بود، به آن اضافه شد تا حجم نهایی هر چاهک به ۲۰۰ میکرولیتر رسید. همچنین کنترل منفی که تنها شامل محیط RPMI و کنترل مثبت که حاوی سوسپانسیون قارچی و محیط PRMI بدون دارو و کمپلکس NO است نیز در نظر گرفته شد. سپس میکروپلیت‌ها در حرارت ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰-۷ روز در انکوباتور نگهداری شدند و پس از آن کمترین غلظتی از دارو که هیچ گونه رشدی در آن مشاهده نشد، به عنوان MIC در نظر گرفته شد.[۲۳] همچنین در این مطالعه، اثر ناشی از استفاده همزمان هر یک از کمپلکس‌های NO و تربینافین آزمایش شد و سپس با استفاده از فرمول زیر، FIX یا fractional inhibitory concentration index محاسبه و با تفسیر آن به شرح زیر، اثر تداخلی آنها نیز بیان گردید.[۲۴و۲۵]

$$FIX = \frac{\text{MIC of NOdonors in combination}}{\text{MIC of NOdonors alone}} + \frac{\text{MIC of Terbinafin in combination}}{\text{MIC of Terbinafin alone}}$$

FIX<۰/۵	Synergistic effect
۰/۵<FIX<۱	Additive effect
۱<FIX<٤	Indifferent effect
FIX>٤	Antagonist effect

یافته‌ها

یافته‌های این پژوهش که به صورت MIC یا کمترین غلظت مهارکنندگی DETA/NO و تربینافین به طور جداگانه و نیز آمیخته با هم بر روی گونه‌های درماتوفیتی بود، جدول‌وار نشان داده شده است.

جدول شماره ۱- MIC کمپلکس DETA/NO بر روی گونه‌های درماتوفیت

گونه‌های درماتوفیت	MIC کمپلکس DETA/NO (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
میکروسپورم جیپسئوم PTCC(۵۰۷۰)*	۱/۲۵
میکروسپورم کانیس(۵۰۶۹)PTCC	۰/۱۵۶
تریکوفیتون روبروم(۵۱۴۳)PTCC	۲/۵
تریکوفیتون منتاگروفایتیس (حیوان دوست)	۰/۶۲۵

*PTCC=Persian Type Culture collection

جدول شماره ۲- MIC داروی تربینافین بر روی گونه‌های درماتوفیت

گونه‌های درماتوفیت	MIC تربینافین (میکروگرم بر میلی‌لیتر)
میکروسپورم جیپسئوم (۵۰۷۰) PTCC	۰/۰۳
میکروسپورم کانیس(۵۰۶۹)PTCC	۰/۰۰۳
تریکوفیتون روبروم(۵۱۴۳)PTCC	۰/۰۱
تریکوفیتون منتاگروفایتیس	۰/۰۳

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۳- MIC کمپلکس DETA/NO و تربینافین در استفاده همزمان بر روی گونه‌های درماتوفیت

گونه‌های درماتوفیت	MIC کمپلکس DETA/NO در استفاده همزمان با تربینافین(میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	MIC تربینافین در استفاده همزمان با کمپلکس DETA/NO(میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
میکروسپورم جیپسئوم (PTCC(۵۰۷۰	۰/۳۱۹	۰/۰۳
میکروسپورم کانیس(PTCC(۵۰۶۹	۰/۰۱۹	۰/۰۰۷
تریکوفیتون روبروم(PTCC(۵۱۴۳	۰/۶۲۵	۰/۰۶
تریکوفیتون منتاگروفیتیس	۰/۳۱۲	۰/۰۳

همچنین تعداد کلونی‌های رشد کرده در هر رقت از کمپلکس DETA/NO به تنهایی در جدول شماره ٤ و در استفاده همزمان با تربینافین در جدول شماره ٥، برای تریکوفیتون منتاگروفیتیس و میکروسپورم جیپسئوم نشان داده شده است. مقادیر FIX بدست آمده برای گونه‌های مورد مطالعه در جدول شماره ٦ نشان داده شده است.

جدول شماره ۶- مقادیر FIX گونه‌های مختلف

گونه‌های درماتوفیت	FIX(میکروگرم بر میلی‌لیتر)
میکروسپورم جیپسئوم PTCC(۵۰۷۰)	۱/۲٤
میکروسپورم کانیس(PTCC(۵۰٦۹	۱/٤٥
تریکوفیتون روبروم(PTCC(۵۱٤۳	٦/۲٥
تریکوفیتون منتاگروفایتیس	۱/٤۹

جدول شماره ۴- تعداد کلونی‌ها در رقتهای مختلف کمپلکس DETA/NO بر روی گونه‌های تریکوفیتون منتاگروفیتیس و میکروسپوروم جیپسئوم

رقتهای سریال کمپلکس DETA/NO / گونه درماتوفیت	٥ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۲/٥	۱/۲٥	۰/٦۲٥	۰/۳۱۲	۰/۱٥٦	۰/۰۷۸	۰/۰۳۹	۰/۰۱۹	۰
		"	"	"	"	"	"	"	"	"
تریکوفیتون منتاگروفیتیس	۰	۰	٥	۱۸	۱٦۸	غیرقابل شمارش	غیرقابل شمارش	"	"	غیرقابل شمارش
میکروسپوروم جیپسئوم(PTCC(۵۰۷۰	۰	۰	۱۲	۳٤	۱۲۸	غیرقابل شمارش	غیرقابل شمارش	"	"	غیرقابل شمارش

جدول شماره ۵- تعداد کلونی‌ها در رقتهای مختلف کمپلکس DETA/NO+تربینافین بر روی گونه‌های تریکوفیتون منتاگروفیتیس و میکروسپوروم جیپسئوم

رقتهای سریال(DETA/NO+تربینافین) / گونه درماتوفیت	۲/٥ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۱/۲٥	۰/٦۲٥	۰/۳۱۲	۰/۱٥٦	۰/۰۷۸	۰/۰۳۹	۰/۰۱۹	۰
		"	"	"	"	"	"	"	"
تریکوفیتون منتاگروفیتیس	۰	۰	٥	۲۰	۹۰	٥۲	٥۸	۸۱	غیرقابل شمارش
میکروسپوروم جیپسئوم(PTCC(۵۰۷۰	۰	۰	۷	۲۹	۲۸۷	۱۹۹	غیرقابل شمارش	"	غیرقابل شمارش

در این بررسی همچنین کمپلکس DEA/NO بر روی گونه‌های درماتوفیت آزمایش شد که در مورد هیچ یک از گونه‌های قارچی، اثر ضد قارچی قابل مشاهده نبود و در تمام رقتها، رشد قارچ دیده شد.

بحث

اطلاعات موجود نشان می‌دهد که NO(نیتریک اکساید) در غیر فعال‌سازی طیف وسیعی از آنزیم‌های سلولی نقش دارد.[۲٤و ۲٦] NO سبب توقف تنفس سلول و تغییر در عملکرد

Archive of SID
www.SID.ir

پروتئین‌ها، پراکسیده شدن لیپیدها و اکسیده‌شدن گروه‌های سولفیدریل می‌گردد.[۲۸-۲۶]

همچنین از راه دآمینه کردن بازها و شکستن زنجیره DNA باعث انواع جهش‌ها می‌گردد[۲۶و ۲۹] که به نظر می‌رسد با اجرای چنین اعمال و مکانیسم‌هایی است که می‌تواند سبب کشته شدن و از بین رفتن سلولهای یوکاریوت و از جمله سلولهای قارچها بشود.

اثرات ضدقارچی و ضدانگلی NO در گزارش‌های قبل، ثابت شده است. با این همه، به علت مشکلاتی که در استفاده از NO و آن هم به موجب ناپایداری مولکول و نیمه عمر بسیار کوتاه آن وجود دارد، در این مطالعه سعی شد تا اثرات ضدقارچی دو کمپلکس آزاد کننده NO به نامهای DETA/NO و DEA/NO بررسی شود، که مزایای بررسی اثرات ضدقارچی این کمپلکس، شامل آزادسازی وابسته به زمان NO و نیمه عمر بالاتر آن در مقایسه با مولکول NO می‌باشد.

نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان می‌دهد که اثر ممانعت کنندگی و قارچکشی کمپلکس آزاد کننده NO بر روی گونه‌های درماتوفیتی در مقایسه با تربینافین بسیار کمتر بوده و از نظر توان(Potency) قابل مقایسه با تربینافین نمی‌باشد.

گونه‌های مختلف درماتوفیتی، در برابر دارو و کمپلکس آزاد کننده NO، حساسیت نشان داده‌اند. با مراجعه به جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود که تریکوفیتون منتاگروفیتیس (حیوان دوست)، میکروسپوروم کانیس (حیوان دوست) و میکروسپوروم جیپسئوم (خاکدوست) در مقایسه با تریکوفیتون روبروم که انسان دوست است، حساسیت بیش‌تری را نسبت به NO از خود نشان می‌دهند.

در مورد اثر تربینافین بر روی درماتوفیت‌ها(جدول شماره ۲) می‌توان این طور نتیجه گرفت که میکروسپوروم‌ها نسبت به تریکوفیتون‌ها در برابر دارو و کمپلکس، حساسیت بیش‌تری دارند و به درمان آسان‌تر جواب می‌دهند، ولی در این مورد، مقاله‌ها نتایج متفاوتی را ارایه می‌دهند.[۲۵و۳۰و ۳۱]

با مراجعه به جدول شماره ۳ و مقایسه آن با جداول شماره ۱و ۲، این نتیجه بدست می‌آید که در همه حال تربینافین توانسته است روی DETA/NO تاثیر مثبت داشته باشد و MIC را پایین بیاورد، در حالی که مشاهده می‌شود DETA/NO در موارد مختلف روی داروی تربینافین تاثیر چشمگیری ندارد.

با مراجعه به جداول شماره ٤و ٥ اثر قارچکشی (fungicide) کمپلکس NO و دارو با عدم رشد (تعداد کلونی=۰)، چشمگیر و قابل مشاهده است و وابسته به غلظت می‌باشد. در استفاده توام آن دو نیز اثر تداخلی (interaction)، روی کمترین غلظت کشندگی قارچ قابل مشاهده بوده که باعث کاهش آن شده است و از آنجا که روند اثر آن دو روی قارچ در دو مسیر جداگانه بوده، این اثر قابل پیش‌بینی می‌باشد.

مطابق جدول شماره ٦ با استفاده توام از کمپلکس DETA/NO و تربینافین در مورد گونه‌های میکروسپوروم کانیس و میکروسپوروم جیپسئوم و تریکوفیتون منتاگروفیتیس واریته منتاگروفیتیس به دلیل ٤>FIX>۱، اثر indifferent نتیجه می‌شود. در مورد تریکوفیتون روبروم به دلیل ٤<FIX، تداخل اثر به صورت Antagonist می‌باشد.

روی هم رفته، این یافته‌ها نشان می‌دهند که NO دارای اثر ضد درماتوفیتی است ولی در استفاده همزمان آن با تربینافین، افزایش اثر قارچکشی در تربینافین مشاهده نشد و MIC تربینافین تحت تاثیر NO، تغییر قابل توجه نشان نداد(جدول‌های شماره ۲و ۳). در حالی که بر عکس، تربینافین بر NO اثر گذاشته و سبب افزایش اثر و کاهش MIC شده است(جدول‌های شماره ۱و ۳) که علت آن می‌تواند روند اثر تربینافین روی غشاء سلولی قارچ باشد که با ممانعت از بیوسنتز ارگوسترول که از اجزای ساختمان غشاء سلول قارچ است، سبب نقص در ساختار غشاء می‌شود که به تبع آن، ورود NO به داخل سلول قارچ تسهیل شده و سبب افزایش ابراز اثر ضدقارچی NO می‌شود.[۱۸]

Archive of SID
www.SID.ir

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش چنین به نظر می‌رسد که مصرف موضعی کمپلکس‌های آزاد کننده NO[۳۲] می‌تواند یکی از راه‌کارهای درمان عفونت‌های درماتوفیتی باشد بنابراین یافتن کمپلکس‌های آزاد کننده NO قوی‌تر، در برنامه پژوهش‌های بعدی این گروه قرار دارد. در دسترس نبودن سوشهای استاندارد با تعداد بیش‌تر و نیز با شماره‌های استاندارد ATCC(American Type Culture collection)، محدود بودن مقدار، گرانقدر بودن کمپلکس‌های آزاد کننده NO و نیز نیمه عمر بسیار کوتاه یکی از کمپلکس‌ها(DEA/NO) که در شرایط موجود قابل ارزیابی نبود، از عوامل تاثیرگذار و محدود کننده در این مطالعه به شمار می‌رفتند.

فهرست منابع

1- Lancaster Jr, Jack R. Nitric oxide in cells. American Scientist 1992 May-June; 80: 248-259.

2- Knoweles RG, Moncada S. Nitric oxide synthesis in mammals. Biochemical Journal 1994; 298: 249-258.

3- Moncada SR, Palmer MJ, Higgs EA. Nitric oxide physiology pathophysiology and pharmacology. Pharmacol Rev 1997; 25: 647-678.

4- Bruckdorfer R. The basics about Nitric Oxide. Mycoses 2004 oct; 9-10: 397-401.

5- Bruckdorfer R. Nitric oxide physiology and pathology. Mol Aspect Med 2005 Feb-Apr; 26(1-2): 1-2.

6- Grazia M, Cifone SA, Santoni A. Natural killer and nitric oxide interaction. Immunopharmacology 2001; 1: 1513-1524.

7- Stark JM, Khan AM, Chiappetta CL, Alcorn JL, Colasurdo GN. Immune and functional role of nitric oxide in a mouse model of respiratory syncytial virus infection. Cell Immunol 2002; 218(1-2): 46-58.

8- James SL. Nitric oxide intra parasitic interaction. Interactionl Immunopharmacology 2001; 1: 1457-1462.

9- Kerr AR, Wei XO, Andrew PW, Mitchell TJ. Nitric oxide exerts distinct effects in local and systemic infections with streptococcus pneumoniae. Immunology 2001; 104(4): 447-54.

10- Fresone Escudero M, Bonay miarons P, Angel M. Candida albicans infection enhances immunosuppression induced by cyclophosphamide by selective priming of suppressive myeloid progenitors for NO production. Cell Immunol 2002 Jul-Aug; 218(1-2): 46-58.

11- Elahi S, Pang G, Ashman RB, Clancy R. Nitric oxide-enhanced resistance to oral candidiasis. Immunology 2001; 104(4): 447-54.

12- Gonzalez A, Aristizabal BH, Gomez EC, Restrepo A, Cano LE. Short report: Inhibition by tumor necrosis factor, alpha-activated, macrophages of the transition of Paracoccidioides brasiliensis conidia to yeast cell through a mechanism independent of nitric oxide. Am J Trop Med Hyg 2004; 71(6): 828-30.

13- Kadeken N, Kawakami K, Saito A. Different susceptibilities of yeasts and conidia of penicilium marneffei to nitric oxide mediated fungicidal activity of murine macrophage. Clin Exp Immunol 1998; 112(2): 287-93.

14- Gonzales A, Gregori W, Velez D. Nitric oxide participation in the fungicidal mechanism of gamma interferon-activated murine macrophages against paracoccidioides brasiliansis conidia. Infect Immunity 2000 May; 68(5): 2546-52.

15- Rossi GR, Cervi LA, Garcia MM, Chiapello LS, Sastre DA, Masih DT. Involvement of nitric oxide in protecting mechanism during experimental cryptococosis. Clin Immunol 1999 Feb; 90(2): 256-65.

16- Weller R, Pattullo S, Smith L, Golden M, Ormerod A, Benjamin N. Nitric oxide is generated on the skin surface by reduction of sweat nitrate. J invest Dermatol 1996 Sep; 107(3): 327-331.

17- Weller R, Price RJ, Ormerod AD. Anti-microbial effect of acidified nitrite on dermatophyte fungi candida and bacterial skin pathogens. J of Appl Microbial 2001; 90(4): 648.

18- Graybill JR, Revanker SG, Patlerson TF. Antifungal agents and antifungal susceptibillity testing. In: Ajello L, Hay RJ. Medical mycology. 9 th ed. Britain: Arnold; 1998. p. 163-175.

19- Keefer LK, Nims RW, Davis KW, Wink DA. 1-substituted diazen-1-ium-12-diolates NONOates as Nitric oxide donors: convenient nitric oxide dosage form. Methods Enzymol 1996; 268: 281-93.

20- Maragos CM, Morely D, Wink DA, Dunams TM, Saavedra JE, Hoffman A, et al. Complexes of NO with nucleophiles as agents for the controlled biological release of nitric oxide vasorelaxant effects. J Med Chem 1991 Nov; 34(11): 3242-7.

Archive of SID

www.SID.ir

21- Harvie JA, Klos JR, Wink DA. Nitric oxide releasing Zwitterions derived from polyamine. J Org Chem 1993; 58: 1472-1476.

22- Pfaller MA, Chaturvedi V, Espinel-Ingroff A, Ghannooum M, Gosey LL, Odds FC, et al. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi: Approved standard. NCCLS document(M38-A) 2002; 22(16): 1-50.

23- Evans EGV, Richardson MD, Warnock DW. Methods with antifungal drugs, Medical mycology “a practical approach”. 1th ed. England: Oxford; 1989. P. 235-259.

24- Gail E, McElhaney-fester Paulli, Ronald L. Synergy of nitric oxide and azoles against candida species in vitro. Anti-microbial and chemotherapy 1998; 42(9): 2342-2346.

25- Hofbauer B, Leitner I, Ryder NS. In vitro susceptibility of Microsporum canis and other dermatophyte isolated from veterinary infections during therapy with terbinafine or griseofulvin. Med Mycol 2002; 40(2): 179-83.

26- De Groote MA, FANG FC. No inhibition antimicrobial properties of nitric oxide. Clin Infec Dis 1995; (suppl 2): 162-165.

27- Farias-Eisner R, Chaudhuri G, Aeberhard E, Fukuto JM. The chemistry and tumoricidal activity of nitric oxide, hydrogen peroxide and the implications to cell resistance susceptibiliy. J Biol Chem 1996 Mar 15; 271(11): 6144-51.

28- Stuehr DG, Nathan CF. Nitric oxide a macrophage product responsible for sytostasis and respiratory inhibition in tumor target cells. J Exp Med 1997; 169: 1543-1555.

29- Tamir ST, Derojas W, Wishnok JS, Tannenbaum SR. DNA damage and genotaxicity by nitric oxide. Method Enzymol 1996; 269: 230-243.

30- Mock M, Monod M, Panizzon RG. Tinea capitis dermatophytes: susceptibility to antifungal drugs tested in vitro and in vivo. Dermatology 1998; 197(4): 361-7.

31- Hamm H, Schwinn A, Brautigam M, Weidinger G. Short duration treatment with terbinafine for tinea capitis caused by Trichophyton or Microsporum species. The Study group BR J Dermatol 1999; 140(3): 480-2.

32- Weller R, Ormerod AD, Habson RP, Benjamin NJ. A randomized of acidified nitrite cream in the treatment of tinea pedis. J Am Acad Dermatol 1998 A; 38(4): 559-63.

Archive of SID

www.SID.ir

Antifungal and Interactive Effects of NO Donor Complexes and Terbinafin on Dermatophytes

***M. Falahati, PhD**[I] **M. Shabani, PhD**[II] **M. Mirmohammad Ali Roodaki, MS**[III]
F. Jahanbani, PhD[IV] **K. Pooshang Bagheri, MS**[V]

Archive of SID

Abstract

Background & Aim: NO(Nitric Oxide) is a lipophilic molecule which acts as a cytotoxic and mediator in the body. Also, NO has a role in cellular defense and its high concentration causes inhibition of growth and death of microorganisms such as fungi. This experimental study was designed to search the antidermatophilic effects of NO donors and their probable interactions with terbinafin.

Material & Method: The method used in this study was determination of MIC(Minimum Inhibitory Concentration) in microdilution broth as per NCCLS(National Committee for Clinical Laboratory Standards) recommendations.

Results: The results showed that inhibitory and cidal effects of NO donor complex on dermatophytes are significant. In comparison with terbinafin, its potency is very low and fungicidal effects of both are dependent on their concentration. The zoophilic and geophilic species are more sensitive to either terbinafin or DETA/NO(Diethylen triamine nitrite) than antropophilic ones. The interaction between DETA/NO and terbinafin for microsporom canis, microsporom gypseum, and trichophyton mentagropytes(non-antropophilic species) is because 1<FIX<4 is indifferent and for trichophyton rubrum(antropophilic) is because FIX>4 is antagonist. As a result of short half-life of DEA/NO(Diethyl amine nitrite), no effects were observable in this study.

Conclusion: Considering the obtained results and the literature, it seems that topical usage of NO donor complexes can be a useful treatment for dermatophitic infections.

Key Words: **1) Dermatophytes** **2) Terbinafin**
3) NO Donor Complexes, DETA/NO, DEA/NO

***I*)** *Assistant Professor of Medical Mycology. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran. (*Corresponding Author)*
***II*)** *Assistant Professor of Biochemistry. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.*
***III*)** *MS in Medical Mycology.*
***IV*)** *PhD in Pharmacology.*
***V*)** *MS in Microbiology.*

www.SID.ir