اثر اسیدهای آمینه بر رشد میکروسپوریوم ژیپسئوم و اپیدرموفیتون فلوکوزوم

محمدرضا سراسگانی I

***دکتر محسن فیروزرای** II

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 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 ـ سیستئین هیدروکلراید، ال ـ سیستئین، ال ـ اسید آسپارتیک، ال ـ اسیدگلوتامیک و دی‌ال ـ 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 ژیپسئوم بیش‌تر از اپیدرموفیتون فلوکوزوم، تحت تاثیر اسیدهای آمینه قرار گرفت.

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

تاریخ دریافت: ۸٤/۱/۱۵، تاریخ پذیرش: ۸٤/۸/۲۸

Archive

مقدمه

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 موجود در پوست، می‌توانند بر رشد درماتوفیت‌ها موثر باشند.

مطالعه‌ای که در هند بر روی دو درماتوفیت میکروسپوریوم ژیپسئوم 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 ژیپسئوم، ۰/۵ گرم در دسی‌لیتر و برای تریکوفیتون منتاگروفیتیس، ۰/٤ گرم در دسی‌لیتر گزارش شد. اسید آسپارتیک نیز در

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).

www.SID.ir

غلظت ۱ گرم در دسی‌لیتر، رشد میکروسپوریوم ژیپسئوم را به میزان ۱۰۰٪ و رشد تریکوفیتون منتاگروفیتیس را به میزان ٤٨٪ کاهش داد.[۱]

در مطالعه دیگری نشان داده شد که از بین ٢٤ گونه درماتوفیت مورد آزمایش، تنها تریکوفیتون منتاگروفیتیس واریته گوئین کاینیوم در حضور غلظت ۰/۰٤ 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، آندروستندیون بیش‌ترین اثر را در مهار درماتوفیت‌ها نشان داد و اپیدرموفیتون فلوکوزوم و تریکوفیتون روبروم 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 روبروم، کاهش معنی‌داری در میزان تستوسترون سرم بیماران با عامل اپیدرموفیتون فلوکوزوم در مقایسه با افراد سالم ملاحظه گردید.[٤]

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.[٥]

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

روش بررسی

مواد مورد استفاده در این مطالعه عبارت بودند از:

۱- سوشهای اپیدرموفیتون فلوکوزوم و میکرسپوریوم ژیپسئوم

میکروسپوریوم ژیپسئوم سوش PTcc۵۰۷۰ از کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی وابسته به سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران و اپیدرموفیتون فلوکوزوم از ایزوله‌های بیماران مراجعه کننده به دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه گردیدند.

۲- محیط کشت سابرو گلوکز آگار محصول کارخانه مرک(دارای ٤٪ گلوکز).

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

٤- 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 سانتی‌متری یکبار مصرف، چراغ شعله متصل به گاز و لوله‌های شیشه‌ای در پیچ‌دار ۱۰ سانتی‌متری 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 پیچ‌دار ۱۰ سانتی‌متری ریخته شده و اتوکلاو گردید. ۰/۵ سی‌سی توئین ۸۰ در یک لوله در پیچ‌دار 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 آزمایگشاه نگهداری گردیدند. بعد از ۲۱ روز، لوله‌ها سانتریفوژ شده و قسمت بالایی، دور

Archive of SID
www.SID.ir

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

مقدار ٦٥ 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 هیترمغناطیسی قرار داده شد تا کاملاً یکنواخت گردد(غلظت ۱٪ از اسید آمینه آماده شد). ۵۰ میلی‌لیتر از محتویات ارلن برداشته و بر روی ٤٥٠ 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 ١٤ 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، 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 ±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 ژیپسئوم 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

Archive of SID
www.SID.ir

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

جدول شماره ۱- مقایسه قطر کلونی‌های میکروسپوریوم ژیپسئوم بر حسب میلی‌متر در غلظت‌های مختلف اسیدهای آمینه که حداقل در غلظت ۱ گرم در دسی‌لیتر باعث مهار کامل رشد گردیدند

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

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 گوگرددار 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 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

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

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

سیستئین هیدروکلراید، موثرترین اسیدآمینه 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

Archive of SID
www.SID.ir

درماتوفیت‌ها گردیدند(جدول شماره ۲). هیستیدین نیز در غلظت ۱ گرم در دسی‌لیتر باعث افزایش رشد اپیدرموفیتون فلوکوزوم گردید(جدول شماره ٤و ٥).

جدول شماره ۲- مقایسه قطر کلونی‌های قارچ میکروسپوریوم ژیپسئوم بر حسب میلی‌متر در غلظت‌های مختلف اسیدهای آمینه که باعث مهار نسبی رشد می‌شوند.

نام اسید آمینه	غلظت در محیط کشت(gr/dl)	میانگین	مقدار p
گلیسین	۱	۳۲/٦۷±۳/۲۱	۰/۰۰۱
	۰	۵۲/۳۳±۱/۵۳	
والین	۱	٤۳/۰۰±۳/۰۰	۰/۰۰۹
	۰	۵۲/۳۳±۳/۵۳	
لوسین	۱	٤۳/٦۷±۰/۵۸	۰/۰۰۱
	۰	۵۲/۳۳±۱/۵۳	
ایزولوسین	۱	۳۹/۳۳±۱/۱۵	۰/۰۰۰
	۰	۵۲/۳۳±۱/۵۳	
سرین	۱	۳۹/٦۷±۱/۰۰	
	۰/۱	٤۲/۰۰±۰/۵۸	۰/۰۰۱
	۰	۵۲/۳۳±۰/۵۸	۰/۰۰٤
هیدروکسی پرولین	۱	٤٦/۰۰±۲/٦۵	۰/۰۲۳
	۰	۵۲/۳۳±۱/۵۳	
تیروزین	۱	٤۵/۰۰±۲/۰۰	۰/۰۰۷
	۰	۵۲/۳۳±۱/۵۳	
متیونین	۱	۳۸/۳۳±۰/۵۸	۰/۰۰۰
	۰/۱	٤۱/۰۰±۲/۰۰	۰/۰۰۰
	۰	۵۲/۳۳±۱/۵۳	
آرژنین	۱	۲٦/٦۷±۸/۲۰	
	۰/۱	٤/۳۳±٦/۱۱	۰/۰۰۵
	۰	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰/۰۳۹
لیزین منوکلراید	۱	۳٦/۰۰±۳/۰۰	۰/۰۰۱
	۰/۱	٤٦/٦۷±۲/۸۹	۰/۰٤۰
	۰	۵۲/۳۳±۱/۵۳	
هیستیدین	۱	٤۷/۰۰±۲/٦۵	۰/۰۳۹
	۰	۵۲/۳۳±۱/۵۳	
هیستیدین کراید	۱	٤۷/٦۷±۲/۳۱	۰/۰٤۳
	۰	۵۲/۳۳±۱/۵۳	
آسپارژین	۱	٤٤/۰۰±۵/۰۰	۰/۰۵۱
	۰	۵۲/۳۳±۱/۵۳	
گلوتامین	۱	۳۸/۰۰±۱/۷۳	
	۰/۱	٤۵/۳۳±۳/۵۱	۰/۰۰۰
	۰	۵۲/۳۳±۱/۵۳	۰/۰۳٤

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

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	غلظت در محیط کشت(gr/dl)	میانگین	مقدار p
والین	۱	۱٤/۳±۱/۱۵	۰/۰۳۵
	۰	۱٦/٦۷±۰/۵۸	
سرین	۱	۱۰/۰۰±۲/۰۸	۰/۰۰۱
	۰	۱٦/٦۷±۱/۵۳	
تیروزین	۱	٤/۰۰±۳/٦۱	۰/۰۰٤
	۰/۷۵	۱۳/۳۳±۰/۵۸	۰/۰۰۲
	۰/۵۰	۱٤/٦۷±۱/۱۵	۰/۰۵۵
	۰	۱٦/٦۷±۰/۵۸	
آرژنین	۱	۷/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰۰
	۰/۱	۱۲/۰۰±۲/۰۰	۰/۰۱۸
	۰	٦۷/۱٦±۰/۵۸	
لیزین منوکلراید	۱	۹/۳۳±۰/۵۸	۰/۰۰۰
	۰	۱٦/٦۷±۰/۵۸	
هیستیدین	۱	۱۳/٦۷±۲/۵۲	۰/۰۳۳
	۰	۱٦/٦۷±۰/۵۸	
هیستیدین کراید	۱	۱۳/۰۰±۱/۷۳	۰/۰۲۵
	۰	۱٦/٦۷±۰/۵۸	

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

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

نام اسید آمینه	غلظت در محیط کشت(gr/dl)	میانگین (میلی‌متر)	مقدار p
لوسین	۰/۱	۵۸/٦۷±۱/۵۳	۰/۰۰۷
	۰	۵۲/۳۳±۱/۵۳	
هیدروکسی پرولین	۰/۱	۵۷/۳۳±۱/۵۳	۰/۰۱٦
	۰	۵۲/۳۳±۱/۵۳	
تیروزین	۰/۱	۵۹/۰۰±۱/۰۰	۰/۰۰۳
	۰	۵۲/۳۳±۱/۵۳	

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 سیستئین هیدروکلراید حساسیت شدیدی نشان دادند و در غلظت ۰/۲۵ گرم در دسی‌لیتر، هیچ کدام قادر به رشد نبودند؛ اما در مورد ال ـ سیستئین، اپیدرموفیتون فلوکوزوم حساس‌تر از

Archive of SID
www.SID.ir

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 منتاگروفیتیس نسبت به سیستئین هیدروکلراید حساس می باشند که با مطالعه حاضر همخوانی دارد.[۱] در مطالعه Nauyen و همکاران نیز مشاهده شده بود که در حضور ۰/۰٤ مولار از ال ـ سیستئین، هیچ کدام از درماتوفیت‌های ۲٤ گانه به غیر از تریکوفیتون منتاگروفیتیس واریته کوئین کاینیوم قادر به رشد نبودند[۲] که در این مطالعه غلظت‌های لازم برای مهار رشد میکروسپوریوم ژیپسئوم و اپیدرموفیتون فلوکوزوم، ۱ گرم در دسی‌لیتر بوده است.

در مطالعه Kunert مشخص گردیده بود که از بین ۳۸ ماده کروموژن که به عنوان سوبستترا برای آنزیم‌های پرتئولتیک درماتوفیت‌ها بکار رفتند، فنیل آلانین، لوسین، آلانین، متیونین و آرژنین مناسب‌ترین آنها بودند[٦] که سه اسید آمینه اول جزء اسیدهای آمینه هیدروفوب می‌باشند؛ در مطالعه حاضر نیز هیچ کدام، باعث مهار رشد درماتوفیت‌ها نگردیدند(بجز ال‌ـ لوسین در مورد میکروسپوریوم ژیپسئوم). آرژنین نیز با آنکه بر روی هر دو درماتوفیت در هر دو غلظت ۱ و ۰/۱ گرم در دسی‌لیتر، اثر مهار کنندگی داشت(به ترتیب P<۰/۰۰۱ و P=۰/۰۱۸ برای اپیدرموفیتون فلوکوزوم و p=۰/۰۰۵ و p=۰/۰۳۹ برای میکروسپوریوم ژیپسئوم) اما باعث مهار کامل رشد حتی در غلظت ۱ گرم در دسی‌لیتر نیز نگردید(جدول شماره ۱و 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 و اثر مهاری هر دو اسید آمینه بر رشد هر دو درماتوفیت چشمگیر گزارش شد(جدول شماره ۱و ۲)، بطوری که اسید آسپارتیک در غلظت ۰/۷۵ گرم در دسی‌لیتر و اسید گلوتامیک در غلظت ۱ گرم در دسی‌لیتر، رشد میکروسپوریوم ژیپسئوم 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 ۱و 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 ژیپسئوم گردید(به ترتیب P=۰/۰۰۷ و P=۰/۰۰۳). 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 منوکلراید در غلظت ۰/۱ گرم در دسی‌لیتر با آنکه باعث کاهش رشد اپیدرموفیتون فلوکوزوم گردید اما این کاهش معنی‌دار نبود(جدول شماره ۱و ۲).

سرین نیز در غلظت ۱ گرم در دسی‌لیتر باعث کاهش رشد هر دو درماتوفیت گردید اما در غلظت ۱ گرم در دسی‌لیتر 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 دسی‌لیتر باعث کاهش رشد هر دو درماتوفیت گردیدند اما در غلظت ۰/۱ گرم در دسی‌لیتر، هیستیدین باعث افزایش رشد اپیدرموفیتون فلوکوزوم گردید (p=۰/۰۲۵). آسپارژین و گلوتامین نیز باعث کاهش رشد میکروسپوریوم ژیپسئوم شدند، در حالی که بر رشد اپیدرموفیتون فلوکوزوم اثری نشان ندادند. هیدروکسی

Archive of SID
www.SID.ir

پرولین در هر دو غلظت، اثرات معکوس بر رشد میکروسپوریوم ژیپسئوم 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 ـ سیستئین، ال ـ آسپارتیک اسید، ال ـ گلوتامیک اسید، تریپتوفان و تیروزین اثرات ضد قارچی شدیدی بر این دو درماتوفیت نشان دادند و اسیدهای آمینه دی‌ال ـ 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 پروتئولتیک 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 ارایه دهد.

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 ـ سیستئین، ال ـ آسپارتیک اسید، ال ـ گلوتامیک اسید، ال ـ تریپتوفان و ال ـ 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 Sarasgani, 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. Fungitoxicity of fatty acids against dermatophytes. Mycoses 1993; 36(1-2): 51-63.

Archive of SID

www.SID.ir

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

M.R. Sarasgani, MSPH [I] ****M. Firoozraee, PhD*** [II]

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 hydrocholoride, 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

Archive of SID

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)*

www.SID.ir