اثر اسیدهای آمینه بر رشد میکروسپوریوم کانیس و ترایکوفایتون شوئن‌لاینی

محمدرضا سراسگانی[۱*]
محسن فیروزرای[۲]
سید جمال هاشمی[۳]

۱- قارچ‌شناسی پزشکی
۲- گروه بیوشیمی
دانشگاه علوم پزشکی ایران
۳- قارچ‌شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

*نویسنده مسئول: تهران، تقاطع همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، آزمایشگاه بیوشیمی تلفن: ۸۸۰۵۸۷۴۲
email: sarasgani@hotmail.com

چکیده

زمینه و هدف: اسیدهای آمینه در غلظت‌های مختلف اثرات متفاوتی بر رشد میکروارگانیسم‌ها دارند و همانند تمامی مواد در غلظتی خاص برای رشد میکروارگانیسم لازم اما در غلظت‌های بالاتر سمی می‌باشند. این مقادیر بسته به نوع اسید آمینه و میکروارگانیسم متفاوت خواهد بود. هدف از این مطالعه مشخص نمودن این مقادیر اسیدهای آمینه موثر در مهار و افزایش رشد درماتوفیت‌های شایع در ایران می‌باشد. ***روش بررسی:*** دو سوش ایرانی درماتوفیت (شامل ترایکوفیتون شوئن لاینی و میکروسپوریوم کانیس بر محیط کشت سابرو گلوکز آگار که ۲۳ اسید آمینه در غلظت‌های gr/dl ۱ و ۰/۱gr/dl تهیه شده بودند کشت داده شده و بعد از دو هفته قطر کلنی‌ها اندازه‌گیری شده و میانگین آنها با میانگین حاصل از گروه کنترل که از کشت درماتوفیت‌ها در محیط سابروگلوکز آگار بدون افزودن اسید آمینه تشکیل شده بود مقایسه گردید (هر کدام از نمونه‌ها سه‌بار تکرار گردید). ***یافته‌ها:*** نتایج حاصل نشان داد که L- سیستئین هیدروکلراید، L- سیستین، L- اسیدآسپارتیک، L- اسید گلوتامیک و DL- تریپتوفان و L- تیروزین بیشترین اثرات را در مهار رشد درماتوفیت‌ها داشته و آرژنین لایزین و متیونین اثر متوسط در مهار رشد این درماتوفیت‌ها و بقیه اسیدهای آمینه اثرات مهاری ضعیف‌تری داشتند و حتی تعدادی باعث افزایش رشد درماتوفیت‌ها گردیدند. همچنین میکروسپوریوم کانیس وترایکوفیتون شوئن لاینی در برابر بعضی اسیدهای آمینه حساسیت‌های متفاوتی نشان دادند که البته چندان قابل توجه نبود بیشتر تحت تاثیر اسیدهای آمینه قرار گرفت. ***نتیجه‌گیری:*** گمان می‌رود که میزان اسیدهای آمینه موجود در عرق افراد بتواند نقش موثری در ایجاد ایمنی افراد نسبت به این درماتوفیت‌ها ایفا نماید همچنین شاید بتوان از خاصیت ضد قارچی اسیدهای آمینه موثر در درمان این نوع درماتوفیتوز استفاده نمود.

کلمات کلیدی: میکروسپوریوم کانیس، ترایکوفیتون شوئن لاینی، درماتوفیت، اسیدهای آمینه.

مقدمه

عوامل فیزیکی و شیمیایی متعددی می‌توانند بر سیر پاتوژنز درماتوفیت‌ها در انسان موثر باشند به‌طوری که افرادی نسبت به این بیماری حساس و افرادی مقاوم هستند و نیز ممکن است درماتوفیت‌ها نیز در برابر این عوامل حساسیت‌های متفاوتی از خود نشان دهند به‌طوری‌که 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. از عوامل شیمیایی متعددی مانند هورمون‌ها، اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه موجود در پوست می‌توانند بر رشد درماتوفیت‌ها موثر باشند. در مطالعه‌ای در هند که بر روی دو درماتوفیت میکروسپوروم ژیپسئوم Microsporum *gypsum* (M. *gypsum*) و ترایکوفیتون منتاگروفیتیس Trichophyton *mentagrophytes* (T. *mentagrophytes*) صورت گرفته است نشان می‌دهد که اسیدهای آمینه سیستئین هیدروکراید و اسید اسپارتیک بر روی این دو درماتوفیت اثر مهاری دارند و حداقل غلظت مهاری سیستئین هیدروکلراید برای M. *gypsum*، ۰/۵gr/dl و برای T. *mentagrophytes*، ۰/۴ gr/dl گزارش شد. اسید اسپارتیک نیز در غلظت ۱gr/dl رشد M. *gypsum* را به‌میزان ۱۰۰٪ و رشد ترایکوفیتون گروفیتیس (T. *Grofitis*) را به‌میزان ۴۸٪ کاهش داد.[۱] در مطالعه دیگری نشان داده شد که از بین ۲۴ گونه درماتوفیت مورد آزمایش تنها ترایکوفیتون منتاگروفیتیس واریته کوِیین کاینیوم Trichophyton

mentagrophytes quinckeanum در حضور غلظت ۰/۰۴M سیستئین قادر به رشد می‌باشد.[۲] همچنین با اضافه نمودن هورمون‌های آندروژن به محیط کشت درماتوفیت‌ها، خطر کلنی‌ها کاهش پیدا کرد که از بین هورمون‌ها آندروستن یون بیشترین اثر را در مهار درماتوفیت‌ها نشان داد و اپی‌درموفیتون فلوکوزوم *floccosom* Epidermophyton (E. *floccosom*) و ترایکوفیتون روبروم *rubrum* Trichophyton (T. *rubrum*) نیز بالاترین حساسیت را داشته‌اند.[۳] در مطالعه دیگری با اندازه‌گیری هورمون‌های آندروژن در سرم بیماران مبتلا به درماتوفیتوز با عامل *floccosom* .E و *rubrum* .T کاهش معنی‌داری در میزان تستوسترون سرم بیماران با عامل *floccosom* .E در مقایسه با افراد سالم ملاحظه گردید.[۴] در مطالعه‌ای دیگر، اسیدهای چرب باعث کاهش رشد درماتوفیت‌ها گردیدند که اسیدهای چرب غیراشباع با تعداد کربن کمتر موثرتر عمل نمودند.[۵] در این مطالعه اثر ۲۳ اسید آمینه در غلظت‌های مختلف بر روی محیط کشت سابروگلوکزآگار دو درماتوفیت شایع در ایران یعنی T. Schoenleinii از درماتوفیت‌های انسان‌دوست و میکروسپوروم کانیس M. Canis از درماتوفیت‌های خاک‌دوست بررسی شد.

روش بررسی

این مطالعه، یک مطالعه مقایسه‌ای می‌باشد. مواد مورد استفاده شامل ۱- سوشهای ترایکوفایتون‌شوئن‌لاینی (T. Schoenleinii) و M. Canis، T. Schoenleinii سوش PTcc 5070 از کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی وابسته به سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شده و M. Canis از ایزوله‌های بیماران مراجعه‌کننده به دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه گردیدند. ۲- محیط کشت سابروگلوکزآگار محصول کارخانه‌مرک (دارای ۴٪ گلوکز). ۳- اسید- های آمینه L آسپارژین- DL ترپتوفان- L هستیدین- L تیروزین- L سیستئین هیدروکلراید- L سیستئین- L میتونین- L آرژنین- DL آلانین- گلایسین- L آسپارژین منوهیدرات- L فنیل آلانین- L پرولین- L هیدراکسی پرولین- L هیستیدین منو هیدروکلراید- L ترئونین- L لایزین منوهیدروکلراید- L لوسین- L ایزولوسین- L گلوتامین- L والین- L گلوتامیک اسید- L اسپارتیک اسید که همگی محصول مرک بودند. ۴- محیط کشت سابروگلوکز برات محصول مرک (دارای ۲٪ گلوکز). ۵- توئین ۸۰. وسایل مورد استفاده شامل هیتر مجهز به همزن مغناطیسی، اتوکلاو، پلیت هشت سانتی یک‌بار مصرف، چراغ شعله متصل به گاز و لوله‌های شیشه‌ای در پیچ‌دار cm ۱۰ بودند. روش کار: ابتدا محیط کشت سابروگلوکز برات تهیه گردید به این ترتیب که gr ۳۰ از پودر آماده توزین شده و به یک لیتر آب مقطر اضافه گردید محیط ارلن حاوی محیط و آب مقطر بر روی هیترمگنت دار قرار داده شده و حین جوشاندن به هم زده شده محیط در لوله‌های درپیچ دار cm ۱۰ ریخته شده و اتو کلاو گردید. ۰/۵ml توئین ۸۰ در یک لوله درپیچ دار دیگر استریل گردید. توسط فیلدوپلاتین نوک تیز مقداری از کلنی درماتوفیت برداشته شده و در توئین ۸۰ حل گردید. محتویات هر کدام از لوله‌های محتوی سابروگلوکز 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 گردید. بعد از ۲۱ روز لوله‌ها سانتریفوژ شده و قسمت بالایی دور ریخته شده و از رسوبات آن جهت کشت در محیط جامد استفاده گردید. طرز تهیه محیط جامد: مقدار ۶۵ گرم پودر سابروگلوکز آگار توزین شده و داخل ارلن مایر دو 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 به‌مقدار بیشتری تهیه گردید). در داخل ۲۵ ارلن مایر یک لیتری نیز پنج گرم اسید آمینه خاصی توزین شده سپس مقدار ۵۰۰ml از محیط کشت سابروگلوکز آگار به پنج 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) ۵۰ml از محتویات ارلن را برداشته و بر روی ۴۵۰ml محیط کشت خالص سابروگلوکز آگار اضافه گردید و آن نیز روی هیتر مغناطیسی قرار گرفت و مخلوط شد. بعد از یکنواخت شدن (غلظت ۰/۱٪ از اسید آمینه نیز آماده شد). ارلن مایرها بعد از اتوکلاو شدن در دمای $^{\circ}C$ ۱۲۱ و فشار A ۱۵ داخل پلیت‌های ۸cm بخش شده 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 $^{\circ}C$ ۲۵-۲۰ آزمایشگاه

قرار گرفته و بعد از ۱۴روز قطر کلنی‌های رشد کرده اندازه‌گیری شد در مورد غلظت‌هایی که رشد مشاهده نگردیده بود غلظت‌های ۰/۷۵٪ و ۰/۵۰٪ و ۰/۲۵٪ از اسید آمینه نیز به‌صورت سریال (مانند غلظت ۰/۱ از ۱٪) تهیه گردید و درماتوفیت‌های مورد نظر دوباره کشت و بررسی شدند. تمام این مراحل برای هر درماتوفیت و غلظت اسید آمینه سه 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 با SPSS ویراست نهم آنالیز گردید. تمام کشت‌های قارچی در کنار شعله گاز و شرایط استریل انجام و اندازه کلنی‌ها به‌صورت میانگین± انحراف معیار نمایش داده شد. مقایسه اندازه کلنی‌های‌قارچ‌ها در حضور آمینو اسیدهای با آزمون Student's t- test انجام و مقادیر $p<0/05$ معنی‌دار بودن تفاوت‌ها را نشان داده است.

یافته‌ها

از اسیدهای آمینه با عامل هیدروفوب تنها ایزولوسین در غلظت ۱٪ باعث کاهش رشد M. Canis گردید. 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٪ باعث کاهش رشد شده برعکس پرولین در غلظت ۰/۱٪ باعث افزایش رشد گردید. از اسیدهای آمینه آروماتیک هر سه باعث کاهش رشد M. Canis گردیدند که در مورد تیروزین وتریپتوفان این اثر چشمگیر بود. 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 ۰/۱٪ اثر کاهنده نشان داد اما در غلظت ۱٪ اسد اسپارتیک اثر شدیدتری داشته و باعث مهار کامل رشد M. Canis گردید. از اسیدهای آمینه با عامل هیدروکسیل نیز سرین و ترئونین هر دو در غلظت ۰/۱٪ باعث افزایش رشد گردیدند در هر دو غلظت باعث کاهش رشد گردید. از اسیدهای آمینه قلیایی تنها آرژنین در غلظت ۱٪ باعث کاهش رشد این درماتوفیت گردیدند. از بین آمیدان‌ها نیز آسپارژین در غلظت ۱٪ سبب افزایش و هیستیدین کلراید باعث کاهش غلظت این قارچ گردیدند (جدول۱) از بین ایمنواسیدها نیزپرولین و هیدروکسی پرولین هر دو در غلظت ۱٪ باعث کاهش رشد گردیدند و در مورد هیدروکسی پرولین در غلظت ۰/۱ gr/dl نیز این کاهش رشد ملاحظه گردید. (جدول۳). در مورد T. Schoenleinii از میان اسید آمینهبا زنجیره هیدروفوبتن‌ها گلایسین در غلظت ۱٪ باعث کاهش رشد گردید در حالی‌که ایزولوسین در این غلظت باعث مهار رشد شد. سایر اسیدهای آمینه با زنجیره جانبی هیدروفوب تاثیری بر رشد این درماتوفیت نشان ندادند. از میان اسیدهای آمینه با عامل هیدروکسیل، سرینو ترئونین هر دو در غلظت ۰/۱٪ باعث افزایش رشد گردیدند. از اسیدهای آمینه گوگرد دار نیز هر سه در غلظت ۱٪ باعث کاهش رشد شدند که به‌نظر می‌رسد حساسیت این قارچ به سیستئین هیدروکلراید بیشتر از دو اسید آمینه گوگرد دار دیگر باشد به‌طوری‌که تا غلظت ۰/۲۵٪(۰/۰۲M) هیچرشدی از این درماتوفیت در ۱۴ روز مشاهده نشد. در غلظت ۰/۱ gr/dl نیز به‌جز متیونین دو اسید آمینه دیگر باعث افزایش رشد درماتوفیت گردیدند. از اسیدهای آمینه آروماتیک تیروزین و تیریپتوفان باعث کاهش رشد این درماتوفیت گردیدند که این کاهش شد در غلظت ۱gr/dl به‌میزان ۱۰۰٪ مشاهده شد. از میان ایمیونو اسیدها نیز هیدروکسی پرولین در غلظت ۰/۱ gr/dl باعث افزایش رشد گردید و در غلظت در حالی‌که این قارچ به پرولین حساسیتی نشان نداد. تمام اسیدهای آمینه قلیایی در غلظت ۱٪ باعث کاهش رشد آن شدند و در مورد لایزین منوکلرایداین اثر در غلظت ۰/۱gr/dl معکوس بوده و در جهت افزایش رشد عمل نمود. هر دو آمیدان نیز در غلظت ۰/۱ gr/dl رشد درماتوفیت را افزایش دادند. اسیدهای آمینه اسیدی نیز نقش‌موثری بر رشد T. Schoenleinii نشان‌داده و تا غلظت ۰/۲۵٪ موجب مهار رشد آن گردیده و اسید اسپارتیک تا غلظت ۰/۵gr/dl به‌میزان ۱۰۰٪ رشد این قارچ را مهار نمود. (جدول۲).

بحث

در این مطالعه دو درماتوفیت M. Canis و T. Schoenleinii نسبت به سیستئین هیدروکراید حساسیت شدیدی نشان دادند و در غلظت ۰/۲۵gr/dl هیچکدام قادر به رشد نبودند اما در مورد L سیستین ومتیونین میکروسپوریوم کانیس حساس‌تر از T. Schoenleinii عمل کرد (جداول ۱ و ۲). در مطالعات Pandy نیز مشاهده شده بود که M. *gypsum* و T. *mentagrophytes* هر دو نسبت به سیستئین هیدروکلراید حساس می‌باشند که با مطالعه حاضر همخوانی داشت.[1] در مطالعه Nguyen نیز مشاهده شده بود که در حضور ۰/۰۴M از

جدول-۱: مقایسه قطر کلنی‌های میکروسپورریوم کانیس (mm) در غلظت‌های مختلف اسیدهای آمینه موثر در کاهش رشد و محیط بدون اسید آمینه افزودنی (غلظت صفر)

نام اسید آمینه	غلظت در محیط کشت (gr/dl)	میانگین ± SD	P*
سیستئین	۱	۰	<۰/۰۰۰۱
	۰/۷۵	۲۷/۳۳(±۲/۵۲)	<۰/۰۰۰۱
	۰/۵۰	۳۶/۳۳(±۳/۰۶)	۰/۰۰۶
	۰/۲۵	۴۸/۶۷(±۲/۵۲)	۰/۰۰۹
	۰	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
سیستئین هیدروکراید	۱	۰	<۰/۰۰۰۱
	۰/۷۵	۰	<۰/۰۰۰۱
	۰/۵۰	۰	<۰/۰۰۰۱
	۰/۲۵	۰	<۰/۰۰۰۱
	۰	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
تیروزین	۱	۰	<۰/۰۰۰۱
	۰/۰۷۵	۳۵/۶۷(±۲/۵۲)	۰/۰۰۳
	۰/۵۰	۳۸/۳۳(±۱/۰۸۲)	۰/۰۰۵
	۰	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
تریپتوفان	۱	۰	<۰/۰۰۰۱
	۰/۷۵	۲۷/۰۰(±۲/۰۰)	<۰/۰۰۰۱
	۰/۵۰	۳۳/۶۷(±۳/۰۶)	۰/۰۰۳
	۰/۲۵	۳۶/۰۰(±۱/۰۰)	۰/۰۰۱
	۰	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
اسید اسپارتیک	۱	۰	<۰/۰۰۰۱
	۰/۷۵	۳۳/(±۲/۸۹)	۰/۰۰۲
	۰/۵۰	۳۹/۶۷(±۲/۰۰)	۰/۰۱۴
	۰	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
اسید گلوتامیک	۱	۲۵/۳۳(±۱/۵۳)	<۰/۰۰۰۱
	۰/۷۵	۲۹/۶۷(±۲/۵۲)	۰/۰۰۱
	۰/۵۰	۳۲/۳۳(±۱/۵۳)	<۰/۰۰۰۱
	۰/۲۵	۳۶/۰۰(±۱/۰۰)	۰/۰۰۱
	۰/۱	۳۸/۶۷(±۱/۱۵)	۰/۰۰۳
	۰	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
ایزولوسین	۱	۳۹/(±۱/۰۰)	۰/۰۰۲
	۰	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
هیدراکسی پرولین	۱	۲۶/۳۳(±۲/۳۱)	<۰/۰۰۰۱
	۰/۱	۳۵/۳۳(±۲/۰۸)	۰/۰۰۲
	۰	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
فنیل آلانین	۱	۲۸/۰۰	۳/۰۰
	۰	۴۷/۰۰	۱/۷۳
آرژنین	۱	۴۰/(±۴/۰۰)	۰/۰۵
	۰	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
هستیدین کراید	۱	۳۷/(±۲/۰۰)	۰/۰۰۳
	۰	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
متیونین	۱	۳۸/۳۳(±۰/۵۸)	۰/۰۰۱
	۰/۱	۴۲/۳۳(±۰/۵۸)	/۰۱۱
	۰	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	

* تمامی میانگین‌ها با میانگین غلظت صفر اسید آمینه مقایسه شده است.

* Student's t test

جدول-۲: مقایسه قطر کلنی‌های قارچ ترایکوفایتون شوئن لاینی بر حسب میلی‌متر در غلظت‌های مختلف اسیدهای آمینه موثر در رشد و محیط بدون اسید آمینه افزودنی

نام اسید آمینه	غلظت در محیط کشت (gr/dl)	میانگین *	مقدار p
گلایسین	۱	۲۱/۶۷(±۱/۱۵)	۰/۵۱
	۰	۲۲/۳۳(±۱/۱۵)	
سیستین	۱	۰	۰/۰۰۰
	۰	۲۲/۳۳(±۱/۱۵)	
سیستئین هیدروکراید	۱	۰	۰/۰۰۰
	۰/۷۵	۰	۰/۰۰۰
	۰/۵۰	۰	۰/۰۰۰
	۰/۲۵	۰	۰/۰۰۰
	۰	۲۲/۳۳(±۱/۱۵)	
متیونین	۱	۱۵/۳۳(±۰/۵۸)	۰/۰۰۱
	۰	۲۲/۳۳(±۱/۱۵)	
تیروزین	۱	۰	۰/۰۰۰
	۰/۷۵	۱۷/۶۷(±۱/۱۵)	۰/۰۰۸
	۰	۲۲/۳۳(±۱/۳۳۵	
تریپتوفان	۱	۰	۰/۰۰۰
	۰/۷۵	۱۶/۳۳(±۰/۵۸)	۰/۰۰۱
	۰/۵۰	۱۹/۳۳(±۰/۵۸)	۰/۰۱۶
	۰	۲۲/۳۳(±۱/۱۵)	
آرژنین	۱	۱۳/(±۳/۰۶)	۰/۰۰۹
	۰	۲۲/۳۳(±۱/۱۵)	
لیزین منوکلراید	۱	۱۶/۰۰(±۱/۰۰)	۰/۰۰۲
	۰	۲۲/۳۳(±۱/۱۵)	
اسید اسپارتیک	۱	۰	۰/۰۰۰
	۰/۷۵	۰	۰/۰۰۰
	۰/۵۰	۰	۰/۰۰۰
	۰/۲۵	۱۲/۳۳(±۱/۵۳)	۰/۰۰۱
	۰	۲۲/۳۳(±۱/۱۵)	
اسید گلوتامیک	۱	۳/۶۷(±۳/۶۷۱	۰/۰۰۱
	۰/۷۵	۱۰/۳۳(±۱/۵۳)	۰/۰۰۰
	۰/۵۰	۱۱/۳۳(±۱/۱۵)	۰/۰۰۰
	۰/۲۵	۱۶/۰۰(±۱/۱۵)	۰/۰۰۲
	۰	۲۲/۳۳(±۱/۱۵)	

* تمامی میانگین‌ها با میانگین غلظت صفر اسید آمینه مقایسه شده است

* Student's t test

L سیستئین هیچکدام از درماتوفیت‌های ۲۴ گانه به‌غیر از *T. mentagrophytes* واریته کوئین کاینیوم قادر به رشد نبودند.[۲] در مطالعه Kurnet از بین ۳۸ ماده کروموژن به‌عنوان سوبسترا برای آنزیم‌های پرتئولتیک درماتوفیت‌ها فنیل الانین، لوسین، آلانین، متیونین و آرژنین مناسب‌ترین بودند[۷] که سه اسید آمینه اول جزء اسیدهای آمینه هیدروفوب می‌باشند و در مطالعه حاضر نیز بر روی سیستم ایمنی کرم ابریشم صورت گرفت این خاصیت به پپتید غنی‌از سیستِین نسبت داده شد.[۸] در مطالعه دیگر اثرات ضد قارچی دانه یک نوع گیاه به‌نام Amaranthus hypochondriacus به پپتید غنی از سیستِین نسنت داده شد.[۹] در مطالعه‌حاضر نیز هیچکدام باعث مهار رشد درماتوفیت‌ها نگردیدند (به‌جزء فنیل آلانین در مورد میکروسپوریوم کانیس) (جدول ۱). متیونین نیز در هر دو غلظت gr/dl ۱ و gr/dl ۰/۱ بر رشد میکروسپوریوم کانیس اثر مهاری اما ملایم نشاند داد به‌طوری‌که حتی در غلظت gr/dl۱ نیز باعث مهار کامل رشد نگردید (جدول ۱) و در مورد *T. Schoenleinii* تنها در غلظت gr/dl ۱باعث مهار رشد گردید (جدول ۲). اسیدهای آمینه اسیدی نیز هر دو بر رشد هر دو درماتوفیت اثر مهاری نشان دادند که اثر مهاری اسید اسپارتیک بر رشد *M. gypsum* در مطالعه Pandy نیز مشخص شده بود.[۱] اما 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 (جداول ۱ و ۲). به‌طوری‌که اسید اسپارتیک در غلظت ۱gr/dl رشد میکروسپوریوم کانیس ۱۰۰٪ مهار نمود (p=۰) و تا غلظت ۵gr/dl این اثر مهاری البته با شدت کمتر ادامه داشت (p=۰/۰۱۴) اما در مورد T. Schoenleinii تا این غلظت میزان مهار رشد به‌میزان ۱۰۰٪ بود (p=۰) که این نشان‌دهنده حساسیت بالای T. Schoenleinii به اسید اسپارتیک در مقایسه با میکروسپوریوم کانیس می‌باشد و در مورد اسید گلوتامیک هر دو درماتوفیت حساسیت تقریبا" یکسانی نشان دادند به‌طوری‌که تا غلظت l بسیار پائین نیز هر دو مهار رشد اما به‌صورت خفیف نشان دادند (جداول ۱ و ۲). تیروزین و ترپتوفان نیز که از اسیدهای آمینه با حلقه آروماتیک می‌باشند باعث کاهش رشد در هر دو درماتوفیت گردیدند و حساسیت هر دو درماتوفیت تقریبا" مشابه هم بودند و در غلظت gr/dl مهار کامل در هر دو دیده شد (جداول ۱ و ۲). اسیدهای آمینه لایزین منوکراید و آرژنین که هر دو اسید آمینه قلیائی هستند باعث کاهش‌رشد T. Schoenleinii به‌صورت خفیف گشتند (جدول ۲) در حالی که میکروسپوریوم کانیس تنها نسبت به آرژنین این حساسیت را نشان داد (جدول ۱) لایزین منو کلراید همچنین در غلظت ۰/۱ gr/dl اثر خود را به‌صورت معکوس و در جهت افزایش رشد نشان داد (جداول ۲ و ۳) در مورد آمیدان‌ها هر دو اسید آمینه آسپارژین وگلوتامین در غلظت ۰/۱gr/dl باعث افزایش رشد T. Schoenleinii شدند (جدول۴). اما در مورد درماتوفیت دیگر تنها اسپارژین آن هم در غلظت بالاتر (۱gr/dl) این اثر را نشان داد (جدول۳). از اسیدها آمینه هیدروفوب ایزولوسین در دو درماتوفیت اثر کاملا متضادی نشان داد و در حالی‌که در غلظت gr/dl بر ۱ T. Schoenleinii اثر افزاینده داشت در میکروسپوریوم کانیس سبب کاهش رشد گردید (جداول ۱ و ۲)، سرین وترئونین نیز که اسید آمینه با عامل الکلی می‌باشند بر روی هر دو درماتوفیت اثر مشابهی داشته و در غلظت ۰/۱gr/dl باعث تحریک رشد گردید در حالی که ترئونین در مطالعه Pandy در غلظت ۱gr/dl باعث کاهش رشد M. *gypsum* گردیده بود در این مطالعه کاهش رشد در هیچکدام از درماتوفیت‌ها مشاهده نشده که شاید به‌علت تفاوت سوش هندی با سوش ایرانی این درماتوفیت باشد و یا در طول چند سال گذشته (از ۱۹۸۵ تاکنون) جهشی در آن ایجاد شده باشد. دلیل تفاوت اسیدهای آمینه بر روی این دو درماتوفیت شاید به‌دلیل تفاوت در نیازهای تغذیه‌ای و یا تفاوت در آنزیم‌های پروتئولتیک در این دو قارچ باشد که نمی‌توانند اسیدهای آمینه را به‌طور کافی مورد استفاده قرار دهند که از این تفاوت می‌توان در محیط‌های کشت برای افتراق درماتوفیت‌ها استفاده نمود. همچنین رشد میکروسپوریوم کانیس در بسیاری موارد مشابه T. Schoenleinii می‌باشد که قرابت درماتوفیت‌ها و خصوصیات مشترک آنها را نشان می‌دهد ام در بعضی موارد هم اختلافاتی دارد که شاید باعث تمایل آنها به انسان و حیوان ناشی از این خصوصیات باشد که با مشخص نمودن ترکیب اسیدهای آمینه در عرق انسان و سگ می‌تواند اطلاعات بیشتر و مفیدتری در اختیار محققین قرار دهد و با به‌کارگیری از خاصیت اسیدهای آمینه موثرتر شاید بتوان داروهای ضد قارچی با قیمت ارزان و اثرات جانبی کمتر بر علیه درماتوفیت‌های مختلف سنتز نمود. اسیدهای آمینه در غلظت‌های مختلف اثرات متفاوتی بر رشد درماتوفیت‌ها دارند که از میان آنها اثرات ضد قارچی سیستئین هیدروکلراید، L– سیستئین، L– آسپارتیک اسید، L– گلوتامیک اسید، L– ترپتوفان، L– تیروزین قابل توجه‌تر از بقیه می‌باشد.

References

1. Pandey DK, Chandra H, Tripathi NN, Dixit SN. Antimycotic activity of some amino acids against dermatophytes. *Arzneimittelforschung* 1984; 34: 554-6.
2. Nguyen NT, Galgóczy J, Novák EK. Morphogenetic effect of L-cysteine on dermatophytes. *Acta Microbiol Acad Sci Hung* 1981; 28: 347-57.
3. Brasch J, Flader S. Human androgenic steroids affect growth of dermatophytes in vitro. *Mycoses* 1996; 39: 387-92.
4. Brasch J, Gottkehaskamp D. The effect of selected human steroid hormones upon the growth of dermatophytes with different adaptation to man. *Mycopathologia* 1992; 120: 87-92.
5. Hashemi SJ, Sarasgani MR, Zomorodian K. A comparative survey of serum androgenic hormones levels between male patients with dermatophytosis and normal subjects. *Jpn J Infect Dis* 2004; 57: 60-2.
6. Garg AP, Müller J. Fungitoxicity of fatty acids against dermatophytes. *Mycoses* 1993; 36: 51-63.
7. Kunert J. Inorganic sulphur sources for the growth of the dermatophyte Microsporum gypseum. *Folia Microbiol (Praha)* 1981; 26: 196-200.
8. Hashimoto K, Yamano Y, Morishima I. Cloning and expression of a gene encoding gallerimycin, a cysteine-rich antifungal peptide, from eri-silkworm, Samia cynthia ricini. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2008; Mar 18.
9. Rivillas-Acevedo LA, Soriano-García M. Isolation and biochemical characterization of an antifungal peptide from Amaranthus hypochondriacus seeds. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 10156-61.

Tehran University Medical Journal; Vol. 66, No. 3, Jun 2008: 158-164

The effect of amino acids on the growth of *Microsporum canis* and *Trichophyton schoenleinii*

Sarasgani M R.[1*]
Firoozrai M.[2]
Hashemi S J.[3]

1- Department of Parasitology and mycology
2- Department of Biochemistry

Iran University of Medical Sciences

3- Department of Parasitology and mycology, Tehran University of Medical Sciences

* Corresponding author: Dept. of Biochemistry, Iran University of Medical Sciences, Hemmat Highway, Tehran, IRAN
Tel: +98-21-8058742
email: sarasgani@hotmail.com

Abstract

Background: Amino acids have different effects on the growth of some dermatophytes. Some may encourage growth, while others inhibit it. The concentrations of some amino acids also are an important factor for their effect. To investigate the effects of amino acids on the growth of dermatophytes, the dermatophytes *Trichophyton schoenleinii* and *Microsporum canis*, obtained from Iran.

Methods: In this study, two concentrations (1g/dL and 0.1g/dL) of 23 amino acids were added to the Sabouraud glucose agar media of these dermatophytes. The experiment was carried out three times. After two weeks, the means of the colonies were compared with the control, which had no amino acids added to the Sabouraud glucose media.

Results: The results showed that L-cysteine hydrochloride, L-cysteine, L-aspartic acid, L-glutamic acid and DL-tryptophan and L-tyrosine had the most inhibitory effects on the studied dermatophytes, while arginine L-lysine and L-methionine had moderate effects and the rest of amino acids had less inhibitory, or even stimulatory, effects on the growth of the dermatophytes. *M. canis* and *T. schoenleinii* has a different sensitivity to amino acids. This data indicates that sulfur-containing amino acids and acetic amino acids have greater inhibitory effect against these two dermatophytes.

This may be an indicator that such amino acids used in, for example, sweetener may have an important role in immunity to these dermatophytes. Thus, some amino acids may be used as a possible treatment for dermatophytosis.

Conclusion: Among the amino acids L-cysteine hydrocholoride, glutamic acid, aspartic acid, and tryptophan are the most inhibitory effect s against of *T. schoenleinii* and *M. canis.*

Keywords: Microsporum canis, trichophyton schoenleinii, dermatophytes, amino acids.