

اثر اسیدهای آمینه بر رشد میکروسپوریوم کانیس و ترایکوفایتون شوئن لایینی

چکیده

محمد رضا سراسگانی^{۱*}

محسن فیروززای^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: ۸۸۰۵۸۷۲۲
email: sarasgani@hotmail.com

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 لایینی و میکروسپوریوم کانیس بر محیط کشت سابرو گلوکز آگار که ۲۳ اسید آمینه در غلظت‌های ۱ gr/dl و ۰/۱ gr/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 سابرو گلوکز آگار بدون افزودن اسید آمینه تشکیل شده بود مقایسه گردید (هر کدام از نمونه‌ها سه بار تکرار گردید). **یافته‌ها:** نتایج حاصل نشان داد که L- سیستین هیدروکلراید، L- سیستین، L- اسیدآسپارتیک، L- اسید گلوتامیک و DL- تربیتوفان 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 و ترایکوفیتون شوئن لایینی 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 لایینی، درماتوفیت، اسیدهای آمینه.

مقدمه

عوامل فیزیکی و شیمیایی متعددی می‌توانند بر سیر پاتوژنز درماتوفیت‌ها در انسان موثر باشند به طوری 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 به طوری 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. 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 میکروسپوریوم ژپسوم *Microsporum gypsum* (M. *gypsum*) و ترایکوفیتون متاگروفیتیس *Trichophyton mentagrophytes* (T. *mentagrophytes*) صورت گرفته است نشان می‌دهد که اسیدهای آمینه سیستین هیدروکلراید و اسید اسپارتیک بر روی این دو درماتوفیت اثر مهاری دارند و حداقل غلظت مهاری سیستین هیدروکلراید برای *M. gypsum*، ۰/۵ gr/dl و برای T. *mentagrophytes* ۰/۴ gr/dl گزارش شد. اسید اسپارتیک نیز در غلظت ۱ gr/dl رشد *M. gypsum* را به میزان ۱۰۰٪ و رشد ترایکوفیتون گروفیتیس (T. *Grofitis*) را به میزان ۴۸٪ کاهش داد.^۱ در مطالعه دیگری نشان داده شد که از بین ۲۴ گونه درماتوفیت مورد آزمایش تنها ترایکوفیتون متاگروفیتیس واریته کوپین کاینوم *Trichophyton*

شامل هیتر مجهز به همزن مغناطیسی، اتوکلاو، پلیت هشت سانتی یکبار مصرف، چراغ شعله متصل به گاز و لوله‌های شیشه‌ای در پیچ‌دار ۱۰ cm بودند. روش کار: ابتدا محیط کشت سابروگلوکوز برات تهیه گردید به این ترتیب که ۳۰ gr 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 در پیچ‌دار ۱۰ cm ریخته شده و اتوکلاو گردید. ۵/۰ ml توئین ۸۰ در یک لوله در پیچ‌دار دیگر استریل گردید. توسط فیلدویلاتین نوک تیز مقداری از کلنی درماتوفیت برداشته شده و در توئین ۸۰ حل گردید. محتویات هر کدام از لوله‌های محتوی سابروگلوکوز 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 سانتیفیوژ 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 سابروگلوکوز 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 به مقدار بیشتری تهیه گردید). در داخل ۲۵ ارلن مایر یک لیتری نیز پنج گرم اسید آمینه خاصی توزین شده سپس مقدار ۵۰۰ ml از محیط کشت سابروگلوکوز 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 هیتر مغناطیسی قرار داده شد تا کاملاً یکنواخت گردد (غلظت ۱٪ از اسید آمینه آماده شد) ۵۰ ml از محتویات ارلن را برداشته و بر روی ۴۵۰ ml محیط کشت خالص سابروگلوکوز آگار اضافه گردید و آن نیز روی هیتر مغناطیسی قرار گرفت و مخلوط شد. بعد از یکنواخت شدن (غلظت ۱/۰٪ از اسید آمینه نیز آماده شد). ارلن مایرها بعد از اتوکلاو شدن در دمای ۱۲۱ °C و فشار ۱۵ A داخل پلیت‌های ۸cm بخش شده و بر روی هر پلیت نام اسید آمینه و غلظت آن (۱٪ یا ۱/۱۰٪) 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 ۱/۱۰٪) و نیز یک پلیت بدون اسید آمینه کشت گردید. پلیت‌های کشت شده در دمای ۲۵-۲۰ °C آزمایشگاه

mentagrophytes quinckeanum در حضور غلظت ۰/۰۴M سیستین 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 *Epidermophyton floccosum* (*E. floccosum*) و تریاکوفیتون روبروم (*Trichophyton rubrum*) (T. *rubrum*) نیز بالاترین حساسیت را داشته‌اند.^۳ در مطالعه دیگری با اندازه‌گیری هورمون‌های آندروژن در سرم بیماران مبتلا به درماتوفیتوز با عامل *E. floccosum* و *T. rubrum* کاهش معنی‌داری در میزان تستوسترون سرم بیماران با عامل *E. floccosum* 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 سابروگلوکوز آگار 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 تریاکوفایتون شوئن‌لاینی (*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 سابروگلوکوز آگار محصول کارخانه مرک (دارای ۴٪ گلکز). ۳- اسید-های آمینه L اسپارژین- DL تریتوفان- L هستیدین- L تیروزین- L سیستین هیدروکلراید- L سیستین- L میتونین- L آرژنین- DL آلانین- L گلایسین- L اسپارژین 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 سابروگلوکوز برات محصول مرک (دارای ۲٪ گلکز). ۵- توئین ۸۰. وسایل مورد استفاده

قرار گرفته و بعد از ۱۴ روز 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 به صورت سریال (مانند غلظت ۰/۱٪ از ۰/۱٪) 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 به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شد. مقایسه اندازه کلنی‌های قارچ‌ها در حضور آمینو اسیدهای با آزمون Student's t- test انجام و مقادیر $p < 0/05$ معنی‌دار بودن تفاوت‌ها را نشان داده است.

۰/۱ gr/dl نیز این کاهش رشد ملاحظه گردید. (جدول ۳). در مورد T. Schoenleinii از میان اسید آمینها زنجیره هیدروفوبتن‌ها گلايسين در غلظت ۰/۱٪ باعث کاهش رشد گردید در حالی‌که ایزولوسین در این غلظت باعث مهار رشد شد. سایر اسیدهای آمینه با زنجیره جانبی هیدروفوب تاثیر 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 ۰/۱٪ باعث کاهش رشد شدند که به نظر می‌رسد حساسیت این قارچ به سیستمین هیدروکلراید بیشتر از دو اسید آمینه هیچرشدی از این درماتوفیت در ۱۴ روز مشاهده نشد. در غلظت ۰/۱ gr/dl نیز به جز متیونین دو اسید آمینه دیگر باعث افزایش رشد درماتوفیت گردیدند. از اسیدهای آمینه آروماتیک تیروزین و تریپتوفان باعث کاهش رشد این درماتوفیت گردیدند که این کاهش شد در غلظت ۱ gr/dl به میزان ۰/۱۰٪ مشاهده شد. از میان ایمینو 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 قلبایی در غلظت ۰/۱٪ باعث کاهش رشد آن شدند و در مورد لایزین منوکلراید این اثر در غلظت ۰/۱ gr/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 نقش موثری بر رشد T. Schoenleinii نشان‌دهنده و تا غلظت ۰/۲۵٪ موجب مهار رشد آن گردیده و اسید اسپارتیک تا غلظت ۰/۵ gr/dl به میزان ۰/۱۰٪ رشد این قارچ را مهار نمود. (جدول ۲).

بحث

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

از اسیدهای آمینه با عامل هیدروفوب تنها ایزولوسین در غلظت ۰/۱٪ باعث کاهش رشد M. Canis گردید. از اسیدهای آمینه با عامل گوگردی نیز هر سه در غلظت ۰/۱٪ باعث کاهش رشد این قارچ گردیدند که بیشترین اثر را سیستمین هیدروکلراید نشان داد. از اسیدهای آمینه با عامل هیدروکسیل، پرولین در غلظت ۰/۱٪ 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 و تریپتوفان 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 ۰/۱٪ 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 قلبایی تنها آرژنین در غلظت ۰/۱٪ باعث کاهش رشد این درماتوفیت گردیدند. از بین آمیدان‌ها نیز اسپارژین در غلظت ۰/۱٪ سبب افزایش و هیستیدین کلراید باعث کاهش غلظت این قارچ گردیدند (جدول ۱) از بین ایمینو اسیدها نیز پرولین و هیدروکسی پرولین هر دو در غلظت ۰/۱٪ باعث کاهش رشد گردیدند و در مورد هیدروکسی پرولین در غلظت

یافته‌ها

از اسیدهای آمینه با عامل هیدروفوب تنها ایزولوسین در غلظت ۰/۱٪ باعث کاهش رشد M. Canis گردید. از اسیدهای آمینه با عامل گوگردی نیز هر سه در غلظت ۰/۱٪ باعث کاهش رشد این قارچ گردیدند که بیشترین اثر را سیستمین هیدروکلراید نشان داد. از اسیدهای آمینه با عامل هیدروکسیل، پرولین در غلظت ۰/۱٪ 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 و تریپتوفان 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 ۰/۱٪ 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 قلبایی تنها آرژنین در غلظت ۰/۱٪ سبب افزایش و هیستیدین کلراید باعث کاهش غلظت این قارچ گردیدند (جدول ۱) از بین ایمینو اسیدها نیز پرولین و هیدروکسی پرولین هر دو در غلظت ۰/۱٪ باعث کاهش رشد گردیدند و در مورد هیدروکسی پرولین در غلظت

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 \pm SD	p*
سیستین	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
سیستین هیدروکراید	۱	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
	۰/۷۵	۰	<۰/۰۰۰۱
	۰/۵۰	۰	<۰/۰۰۰۱
	۰/۲۵	۰	<۰/۰۰۰۱
تیروزین	۱	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
	۰/۰۷۵	۰	<۰/۰۰۰۱
	۰/۵۰	۳۵/۶۷(±۲/۵۲)	۰/۰۰۳
	۰	۳۸/۳۳(±۱/۰۸۲)	۰/۰۰۵
تریپتوفان	۱	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
	۰/۷۵	۰	<۰/۰۰۰۱
	۰/۵۰	۲۷/۰۰(±۲/۰۰)	<۰/۰۰۰۱
	۰/۲۵	۳۳/۶۷(±۳/۰۶)	۰/۰۰۳
اسید اسپارتیک	۱	۳۶/۰۰(±۱/۰۰)	۰/۰۰۱
	۰/۷۵	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
	۰/۵۰	۰	<۰/۰۰۰۱
	۰	۳۳/(±۲/۸۹)	۰/۰۰۲
اسید گلوتامیک	۱	۳۹/۶۷(±۲/۰۰)	۰/۰۱۴
	۰/۷۵	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
	۰/۵۰	۲۵/۳۳(±۱/۵۳)	<۰/۰۰۰۱
	۰	۲۹/۶۷(±۲/۵۲)	۰/۰۰۱
ایزولوسین	۱	۳۲/۳۳(±۱/۵۳)	<۰/۰۰۰۱
	۰/۷۵	۳۶/۰۰(±۱/۰۰)	۰/۰۰۱
	۰/۵۰	۳۸/۶۷(±۱/۱۵)	۰/۰۰۳
	۰	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
هیدراکسی پرولین	۱	۳۹/(±۱/۰۰)	۰/۰۰۲
	۰/۷۵	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
	۰/۵۰	۲۶/۳۳(±۲/۳۱)	<۰/۰۰۰۱
	۰	۳۵/۳۳(±۲/۰۸)	۰/۰۰۲
فیل آلانین	۱	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
	۰	۲۸/۰۰	۳/۰۰
	۰	۴۷/۰۰	۱/۷۳
آرژنین	۱	۴۰/(±۴/۰۰)	۰/۰۰۵
	۰	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
	۰	۳۷/(±۲/۰۰)	۰/۰۰۳
هستیدین کراید	۱	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
	۰	۳۸/۳۳(±۰/۵۸)	۰/۰۰۱
	۰/۱	۴۲/۳۳(±۰/۵۸)	/۰۱۱
متیونین	۱	۴۷/۰۰(±۱/۷۳)	
	۰		

* Student's t test

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

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

مقدار p	میانگین *	غلظت در محیط کشت (gr/dl)	نام اسید آمینه
۰/۵۱	۲۱/۶۷(±۱/۱۵)	۱	گلايسين
	۲۲/۳۳(±۱/۱۵)	۰	
۰/۰۰۰	۰	۱	سيستين
	۲۲/۳۳(±۱/۱۵)	۰	
۰/۰۰۰	۰	۱	سيستين هيدروكرايد
۰/۰۰۰	۰	۰/۷۵	
۰/۰۰۰	۰	۰/۵۰	
۰/۰۰۰	۰	۰/۲۵	
	۲۲/۳۳(±۱/۱۵)	۰	
۰/۰۰۱	۱۵/۳۳(±۰/۵۸)	۱	متيونين
	۲۲/۳۳(±۱/۱۵)	۰	
۰/۰۰۰	۰	۱	تيروزين
۰/۰۰۸	۱۷/۶۷(±۱/۱۵)	۰/۷۵	
	۲۲/۳۳(±۱/۳۳۵)	۰	
۰/۰۰۰	۰	۱	تريپتوفان
۰/۰۰۱	۱۶/۳۳(±۰/۵۸)	۰/۷۵	
۰/۰۱۶	۱۹/۳۳(±۰/۵۸)	۰/۵۰	
	۲۲/۳۳(±۱/۱۵)	۰	
۰/۰۰۹	۱۳/(±۳/۰۶)	۱	آرژنين
	۲۲/۳۳(±۱/۱۵)	۰	
۰/۰۰۲	۱۶/۰۰(±۱/۰۰)	۱	ليزين منوكلرايد
	۲۲/۳۳(±۱/۱۵)	۰	
۰/۰۰۰	۰	۱	اسيد اسپارتيك
۰/۰۰۰	۰	۰/۷۵	
۰/۰۰۰	۰	۰/۵۰	
۰/۰۰۱	۱۲/۳۳(±۱/۵۳)	۰/۲۵	
	۲۲/۳۳(±۱/۱۵)	۰	
۰/۰۰۱	۳/۶۷(±۳/۶۷۱)	۱	اسيد گلوتاميك
۰/۰۰۰	۱۰/۳۳(±۱/۵۳)	۰/۷۵	
۰/۰۰۰	۱۱/۳۳(±۱/۱۵)	۰/۵۰	
۰/۰۰۲	۱۶/۰۰(±۱/۱۵)	۰/۲۵	
	۲۲/۳۳(±۱/۱۵)	۰	

* Student's t test

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

نگردیدند (به‌جز فنیل آلانین در مورد میکروسپوریوم کانیس) (جدول ۱). متیونین نیز در هر دو غلظت ۱ gr/dl و ۰/۱ gr/dl بر رشد میکروسپوریوم کانیس اثر مهاری اما ملایم نشان داد به‌طوری‌که حتی در غلظت ۱ gr/dl نیز باعث مهار کامل رشد نگردید (جدول ۱) و در مورد T. Schoenleinii تنها در غلظت ۱ gr/dl باعث 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

L سیستین هیچکدام از درماتوفیت‌های ۲۴ گانه به‌غیر از T. mentagrophytes واریته کوئین کاینوم قادر به رشد نبودند.^۲ در مطالعه Kurnet از بین ۳۸ ماده کروموژن به‌عنوان سویسترا برای آنزیم‌های پرتولتیک درماتوفیت‌ها فنیل آلانین، لوسین، آلانین، متیونین و آرژنین مناسب‌ترین بودند^۳ 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 غنی از سیستین نسبت داده شد.^۴ در مطالعه دیگر اثرات ضد قارچی دانه یک نوع گیاه به نام Amaranthus hypochondriacus به پپتید غنی از سیستین نسبت داده شد.^۵ در مطالعه حاضر نیز هیچکدام باعث مهار رشد درماتوفیت‌ها

کاهش رشد گردید (جداول ۱ و ۲)، سرین و ترئونین نیز که اسید آمینه با عامل الکلی می‌باشند بر روی هر دو درماتوفیت اثر مشابهی داشته و در غلظت ۰/۱ gr/dl باعث تحریک رشد گردید در حالی که ترئونین در مطالعه Pandey در غلظت ۱ gr/dl باعث کاهش رشد *M. gypsum* گردیده بود در این مطالعه کاهش رشد در هیچکدام از درماتوفیت‌ها مشاهده نشده که شاید به علت 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 به دلیل تفاوت در نیازهای تغذیه‌ای و یا تفاوت در آنزیم‌های پروتئولیتیک 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 سیستین هیدروکلراید، L-سیستین، L-آسپارتیک اسید، L-گلوتامیک اسید، L-ترپتوفان، L-تیروزین قابل توجه‌تر از بقیه می‌باشد.

دو درماتوفیت چشمگیر گزارش شد (جداول ۱ و ۲). به‌طوری‌که اسید اسپارتیک در غلظت ۱ gr/dl رشد میکروسپوریوم کانیس ۱۰۰٪ مهار نمود (p=۰) و تا غلظت ۵ gr/dl این اثر مهاری البته با شدت کمتر ادامه داشت (p=۰/۰۱۴) اما در مورد *T. Schoenleinii* تا این غلظت میزان مهار رشد به میزان 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 تقریباً یکسانی نشان دادند به‌طوری‌که تا غلظت ۱ 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 تقریباً 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 کاهش رشد *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 و گلوتامین در غلظت ۰/۱ gr/dl باعث افزایش رشد *T. Schoenleinii* شدند (جدول ۴). اما در مورد درماتوفیت دیگر تنها آسپارژین آن هم در غلظت بالاتر (۱ gr/dl) این اثر را نشان داد (جدول ۳). از اسیدها آمینه هیدروفوب ایزولوسین در دو درماتوفیت اثر کاملاً متضادی نشان داد و در حالی‌که در غلظت gr/dl بر ۱ اثر افزایش‌دهنده داشت در میکروسپوریوم کانیس سبب

References

- Pandey DK, Chandra H, Tripathi NN, Dixit SN. Antimycotic activity of some amino acids against dermatophytes. *Arzneimittelforschung* 1984; 34: 554-6.
- Nguyen NT, Galgóczy J, Novák EK. Morphogenetic effect of L-cysteine on dermatophytes. *Acta Microbiol Acad Sci Hung* 1981; 28: 347-57.
- Brasch J, Flader S. Human androgenic steroids affect growth of dermatophytes in vitro. *Mycoses* 1996; 39: 387-92.
- Brasch J, Gottkehasamp D. The effect of selected human steroid hormones upon the growth of dermatophytes with different adaptation to man. *Mycopathologia* 1992; 120: 87-92.
- 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.
- Garg AP, Müller J. Fungitoxicity of fatty acids against dermatophytes. *Mycoses* 1993; 36: 51-63.
- Kunert J. Inorganic sulphur sources for the growth of the dermatophyte *Microsporium gypsum*. *Folia Microbiol (Praha)* 1981; 26: 196-200.
- 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.
- 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.

The effect of amino acids on the growth of *Microsporium 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

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 *Microsporium 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 hydrochloride, glutamic acid, aspartic acid, and tryptophan are the most inhibitory effects against of *T. schoenleinii* and *M. canis*.

Keywords: *Microsporium canis*, *trichophyton schoenleinii*, dermatophytes, amino acids.

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