مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۱۶، شماره ۴، زمستان ۸۵، صفحات ۲۳۷ تا ۲۴۱

Original Article

بررسی تأثیر داروی گریزئوفولوین بر روی بیان ژن ATPase -subunit G در قارچ درماتوفیت ترایکوفایتون روبروم

کامیار متواضع[۱]، نسیم شاه محمدی[۲]، مسعود امامی[۳]، ساسان رضائی[۴]

[۱] استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال
[۲] گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال
[۳] استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال
[۴] دانشیار، بخش بیولوژی مولکولی، گروه قارچ شناسی و انگل شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

سابقه و هدف: *ترایکوفایتون روبروم یکی از درماتوفیت‌های انسان‌دوست با انتشار جهانی است. این ارگانیسم یکی از عوامل شایع کچلی در انسان به ویژه کچلی کشالهٔ ران، بدن، پا و دست در همه نواحی دنیا می‌باشد. خصوصیات متعددی از این قارچ تا به حال مورد بررسی قرار گرفته است، با این وجود در زمینه زیست‌شناسی مولکولی این قارچ، مطالعات محدودی صورت گرفته است. در مطالعه حاضر سعی شده است تا بیان زیر واحد G ژن ATPase در این قارچ تحت اثر داروی گریزئوفولوین بررسی شده و تغییرات میکروسکوپی نیز تحت تأثیر دارو مشخص گردند.*

روش بررسی: *در این مطالعه بنیادی، رقت‌هایی از گریزئوفولوین که توأم با رشد قارچ بود، تهیه شد و با نمونه شاهد که هیچ‌گونه دارویی روی آن اثر داده نشده مقایسه گردید. در این بررسی نمونه‌ها تحت تأثیر رقت‌های مورد نظر دارو، از نظر میکروسکپی مورد بررسی قرار گرفتند و پس از آن RNA آنها استخراج شد. به دنبال آن RT-PCR هر سه نمونه به‌طور هم‌زمان انجام گردید تا بیان زیرواحد G ژن ATPase تحت اثر رقت‌های گریزئوفولوین مورد بررسی قرار گیرد.*

یافته‌ها: *از نظر میکروسکپی در رقت ۱۰ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر گریزئوفولوین، میزان کوتاه شدن و خمیده شدن میسلیوم ها نسبت به رقت ۵ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر بیشتر بود. همچنین از نظر بیان ژن، در غلظت ۵ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر بیان زیرواحد G ژن ATPase افزایش یافت، اما با افزایش میزان غلظت به ۱۰ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر بیان ژن ، کاهش پیدا کرد .*

نتیجه‌گیری: *داروی گریزئوفولوین تا رقت معین بر روی خصوصیات میکروسکپی قارچ ترایکوفایتون روبروم، تأثیر محسوسی دارد، ضمن این که بیان زیر واحد G ژن ATPase را افزایش می‌دهد. اما در رقت‌های بالاتر یا به دلیل کاهش رشد ترایکوفایتون روبروم و یا به دلیل ایجاد نوعی ایجاد تحمل در قارچ، بیان ژن به تدریج کاهش پیدا می‌کند .*

واژگان کلیدی: *درماتوفیت ، ترایکوفایتون روبروم ، ATPase-subunit G ، RT-PCR ، گریزئوفولوین*

مقدمه

ATPase های H^+ واکوئلی (V- ATPase) خانواده‌ای از پمپ‌های پروتونی وابسته به ATP هستند که مسوول اسیدی کردن و انتقال پروتون به لومن غشاء داخلی ساختارهای داخل سلولی مثل اندوزوم، لیزوزوم و وزیکول‌های ترشحی می‌باشند (۱، ۲). ATPase های نوع V، کمپلکس پروتئینی هستند که از ۱۳ زنجیره پلی پپتیدی ساخته شده‌اند. امروزه مشخص شده است که V- ATPase از دو بخش عملکردی اصلی تشکیل شده است: بخش V_1 خارجی که یک کمپلکس محیطی و عامل هیدرولیز ATP می‌باشد و بخش V_0 داخلی که مسوول نقل مکان پروتون است (۵-۳). یکی از زیر واحدهای V- ATPase ، زیر واحد G است که ژن آن را با نام vma10 مشخص می‌کنند و پروتئین ۱۳ کیلودالتونی که

آدرس نویسنده مسئول: تهران، واحد تهران شمال دانشگاه آزاد اسلامی، کامیار متواضع
(**e-mail:** motavaze49@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۵/٤/۱۱
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۵/۹/۱٦

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-10-12]

توسط این ژن بیان می‌شود را Vma10p می‌نامند (۶). در پستانداران V- ATPaseبه عنوان هدفی برای داروهای ضد پوکی استخوان و ضد سرطان درنظر گرفته شده است، زیرا این آنزیم در عمل بازجذب استخوان‌ها و محل تهاجم و متاستاز تومورها دخیل است (۷، ۸). آنزیم ATPase یکی از آنزیم‌های بسیار مهم در متابولیسم قارچ‌هاست. شناخت ساختار مولکولی و عوامل موثر بر آن کمک بسیار مهمی به درک فیزیولوژی قارچ‌ها می‌نماید.

درماتوفیت‌ها گروهی از قارچ‌های رشته‌ای کراتین‌دوست هستند که جلد انسان و حیوانات را مورد حمله قرار می‌دهند. ترایکوفایتون روبروم در انسان ایجاد کچلی بدن، پا، ناخن و دست می‌کند. هم‌چنین به موها حمله و ایجاد کونیدیاهای خارج و داخل مو (اکتواندوتریکس) می‌کند (۹). کلونیزه شدن درماتوفیت‌ها محدود به بافت‌های کراتینه و مردهٔ لایه شاخی بوده و ممکن است منجر به واکنش‌های التهابی خفیف تا شدید گردد . ایمنی هومورال، سلولی و نیز دفاع غیراختصاصی میزبان برعلیه درماتوفیت‌ها فعال بوده که می‌توانند باعث حذف قارچ گردند و درنتیجه از پیشرفت عفونت به سمت بافت‌های تحتانی جلوگیری نمایند (۱۰).

گریزئوفولوین محصول متابولیکی از کپک پنی‌سیلیوم گریزئوفولووم است و بیش از ۴۰ سال است که برای درمان درماتوفیتوزیس به‌کار می‌رود و در شرایط آزمایشگاه علیه انواع گونه‌های میکروسپوروم، ترایکوفایتون و اپیدرموفایتون اثر بازدارندگی دارد. مکانیسم عمل آن کاملاً مشخص نیست و احتمالاً از طریق ممانعت از میتوز و سنتز اسید نوکلئیک روی سلول قارچ مؤثر است. شایع‌ترین اثرات سوء این دارو سردرد و علایم گوارشی است (۱۱).

در پژوهش های قبلی، توالی کامل نوکلئوتیدی زیرواحد G از آنزیم ATPase در قارچ مورد بررسی مشخص گردیده است. در مطالعه حاضر، بررسی بیان ژن سنتز کننده این زیرواحد در قارچ ترایکوفایتون روبروم تحت تأثیر گریزئوفولوین بررسی گردید تا مشخص شود با غلظت‌های مختلف این دارو میزان تولید پروتئین تغییر یافته یا ثابت می‌ماند. همچنین تغییرات میکروسکوپی قارچ نیز تحت تأثیر داروی مذکور مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روشها

در این مطالعه بنیادی، از بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه قارچ‌شناسی انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران در سال ۱۳۸۵ نمونه‌برداری صورت گرفت که بعد از انجام مطالعات میکروسکپی و ماکروسکپی از بین۳۲ مورد درماتوفیتوزیس، وجود قارچ ترایکوفایتون روبروم در ۴ نمونه تأیید و با سویه استاندارد، مقایسه گردید.

رقت‌هایی از گریزئوفولوین تهیه گردید و روی قارچ اثر داده شد تا رقتی به دست آید که میزان رشد قارچ در آن کمی کمتر از رشد نمونه شاهد باشد. بدین منظور از استوک ۱ ۰/۰۰ گرم‌درمیلی‌لیتر، رقت‌های ۱ و ۰/۵ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر تهیه شد که رشد کافی از قارچ مورد نظر ما را داشتند و میزان رقت نهایی دارو در این دو نمونه به ترتیب ۱۰ و ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد. سپس در پلیت‌ها، نمونه‌های ترایکوفایتون روبروم تحت اثر دارو و نیز در غیاب دارو کشت داده شدند.

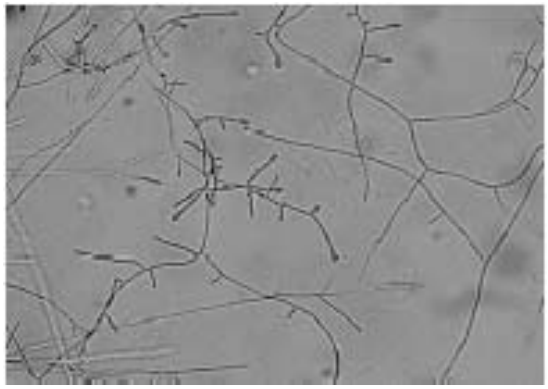
استخراج RNA هم برای نمونه‌های شاهد و هم دو نمونه از سلول‌های قارچی که به ترتیب در رقت‌های ۵ و ۱۰ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر از گریزئوفولوین قرار داده شده بودند (در هر یک از ۴ نمونه مورد بررسی و سویه استاندارد)، انجام گردید. پودر میسلیومی به دست آمده با کمک نیتروژن مایع، در داخل محلول گوانیدین ایزوتیوسیانات (GITC) سرد و به مدت ۱۵ دقیقه به صورت هموژنیزه درآمد و به دنبال آن نمونه در سانتریفوژ g ×۲۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. عمل استخراج با سدیم استات ۲مولار، فنل اسیدی و کلروفرم- ایزوآمیل الکل (۲۴:۱) همراه با سانتریفوژ g ×۱۲۰۰۰ به مدت ۷ دقیقه دنبال شد. بعد از افزودن حجم مساوی از ایزوپروپانول و قرارگیری نمونه‌ها در حرارت ۲۰- درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت، سانتریفوژ g×۱۲۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه انجام گردید. سپس GITC و ایزوپروپانول به نمونه‌ها افزوده شده و مخلوط حاصل در ۲۰- درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ساعت قرار گرفت. نمونه‌های نهایی در سانتریفوژg ×۱۲۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه قرار گرفته و رسوب RNA حاصله، با کمک اتانول ۷۰٪ به آرامی شستشو داده شد. ابتدا cDNA برای نمونه شاهد و نیز نمونه‌های همراه با رقت‌های ۱۰ و ۵ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر گریزئوفولوین ساخته شد و سپس RT-PCR تحت برنامهٔ C ° ۹۴ (۵ دقیقه)، C ° ۹۴ (۳۰ ثانیه) ، C ° ۵۱ (۲ دقیقه)، C ° ۷۲ (۲ دقیقه و ۳۰ ثانیه) و C ° ۷۲ (۵ دقیقه) انجام شد. پس از آن که در ژل نمونه الکتروفورز، هر سه نمونه باند مورد نظر را داشتند، OD سه نمونه در دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۲۶۰ نانومتر خوانده شدند تا میزان cDNA لازم در سه نمونه به دست آید. سپس دوباره RT-PCR تحت برنامه‌ای که در بالا

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-10-12]

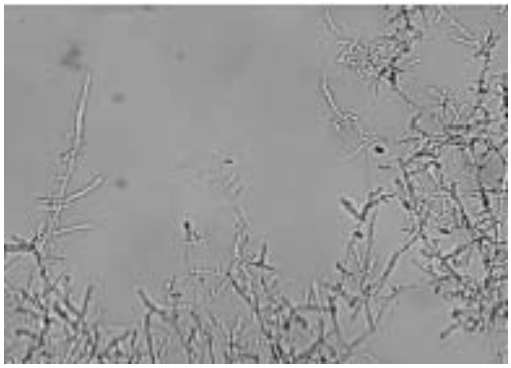
ذکر شد و با مقادیر جدید cDNA برای سه نمونه انجام شد تا میزان بیان ژن زیرواحدG در ATPase تحت اثر دارو بررسی شود.

یافته‌ها

بررسی نمونه‌ها با لاکتوفنل در زیر میکروسکوپ نشان داد که میزان چروکیده شدن میسلیوم‌ها در رقت ۱۰ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر بیشتر از رقت ۵ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر است. بنابراین هر چه میزان رقت دارو بالا می‌رود، میزان کوتاه و چروکیده شدن میسلیوم‌ها بیشتر می‌شود (شکل ۳-۱).

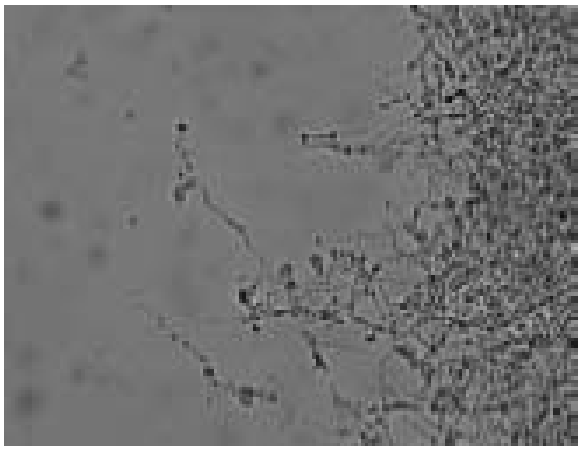


شکل ۱- میسلیوم‌های باریک و دراز و میکروکنیدیای گلابی شکل در ترایکوفایتون روبروم شاهد

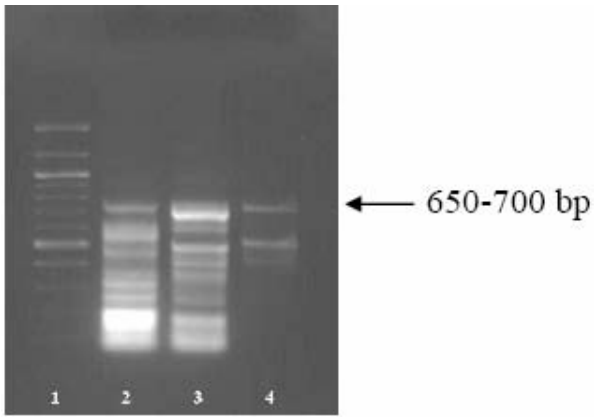


شکل ۲- میسلیوم‌های کوتاه و چروکیده در ترایکوفایتون روبروم تحت اثر ۵ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر گریزئوفولوین

بعد از جداسازی RNA و RT-PCR همزمان برای سه نمونه شاهد، رقت ۵ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر و ۱۰ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر، با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۶۰ نانومتر، OD های هر سه نمونه خوانده شد که مقادیر آن به ترتیب ۳/۳ ، ۳/۹ و ۴ بود و از روی این اعداد مقادیر cDNA لازم برای انجام RT-PCR بعدی هر سه نمونه به دست آمد که این مقادیر به ترتیب ۳، ۲/۵ و ۲/۵ میکرولیتر بدست آمد. مطالعاتRT-PCR نهایی نشان داد که بیان ژن زیرواحد G در ATPase در رقت ۵ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر بیشتر می‌شود ولی در رقت ۱۰ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر کاهش بیان ژن اتفاق می‌افتد (شکل ۴).



شکل ۳- میسلیوم‌های کوتاه‌تر و چروکیده‌تر در ترایکوفایتون روبروم تحت اثر ۱۰ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر گریزئوفولوین



شکل ۴- تصویر الکتروفورز هر سه نمونه ۱) سایز مارکر ۲) نمونه شاهد ۳) رقت ۵ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر و ۴) رقت ۱۰ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر (با مشاهده باندها در ناحیه‌ای که با فلش مشخص شده است افزایش بیان در ۳ و کاهش بیان در ۴ مشخص است. باندهای سایز مارکر از بالا به پائین عبارتند از: ۱۳۰۰، ۱۲۰۰، ۱۱۰۰، ۱۰۰۰، ۹۰۰، ۸۰۰، ۷۰۰، ۶۰۰، ۵۰۰، ۴۰۰ و ۳۰۰ جفت نوکلئوتید)

بحث

در مطالعه حاضر، اثر گریزئوفولوین روی زیر واحد G ژن ATPase در قارچ ترایکوفایتون روبروم بررسی شده است. گونه‌های جنس ترایکوفایتون رشد کندی دارند (۳). ترایکوفایتون روبروم جزو تعداد اندکی از درماتوفیت‌ها است که منحصراً برای رشد روی بدن انسان تطابق یافته‌اند. عفونت حاصل از ترایکوفایتون روبروم مزمن بوده و در بعضی از افراد تا آخر عمر ادامه می یابد (۹، ۱۲).

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-10-12]

به دلیل آن که روش‌های تشخیصی ابتدایی مثل کشت با نتایج ضعیفی همراه بوده است، روش‌های زیست‌شناسی مولکولی برای افزایش دقت تشخیص مورد توجه قرار گرفته‌اند (۱۳). مطالعات مولکولی بسیار محدودی که روی درماتوفیت‌ها و خصوصاً ترایکوفایتون روبروم انجام گرفته، نشان می‌دهند که حساسیت PCR بسیار بیشتر از کشت است و علاوه بر آن طول مدت تشخیص از ۲ تا ۴ هفته در مورد کشت به ۴۸ ساعت در PCR تقلیل می‌یابد (۱۵-۱۳). هم‌چنین با استفاده از روش‌های PCR بر روی ژن DNA توپوایزومراز II برای تشخیص درماتوفیت‌ها در مرحله‌ای خاص (۱۶)، از قطعه‌ای از ناحیه rDNA (RFLP) برای تشخیص تیپ‌های ترایکوفایتون روبروم (۱۷) و از توالی ژن کیتین سنتاز I (CHS I) برای بررسی همولوژی بین ترایکوفایتون روبروم و ترایکوفایتون ویولاسئوم استفاده کرد (۱۸).

ATPaseهای +H واکوئلی (V- ATPase) خانواده‌ای از پمپ‌های پروتونی وابسته به ATP هستند که مسوول اسیدی کردن و انتقال پروتون به لومن غشاء داخلی ساختارهای داخل سلولی می‌باشند و در فرآیندهای درون سلولی مثل اندوسیتوز، پردازش پروتئین و تجزیه و ورود ویروس‌های بخصوص و توکسین‌ها از ساختارهای اندوسیتیک به داخل سلول نقش دارند (۱، ۲، ۸). مکانیسمی که تحت آن V-ATPase انتقال پروتون وابسته به ATP را انجام می‌دهد، احتمالاً به این شکل است که هیدرولیز ATP باعث چرخش ساب‌یونیت مرکزی γ درون هگزامر α3β3 می‌شود و انرژی ایجاد شده تحت این فرآیند به V0 منتقل می‌شود که منجر به انتقال پروتون می‌شود (۲۱-۱۹، ۳).

در بررسی حاضر، سه گروه کشت قارچی مورد پژوهش قرار گرفتند. یک گروه به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که هیچ دارویی روی آن ها اثر داده نشده بود و دو گروه دیگر به ترتیب تحت اثر ۱۰ و ۵ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر داروی گریزئوفولوین قرار گرفته بودند. پس از استخراج RNA در سه نمونه به منظور انجام RT-PCR، ابتدا cDNA برای هر سه نمونه ساخته شد و پس ازگرفتن باند مورد نظر در الکتروفورز، ODهای سه نمونه در دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۲۶۰ نانومتر خوانده شدند تا میزان cDNA لازم در سه نمونه به‌دست آید. سپس دوباره RT-PCR با مقادیر جدید cDNA برای سه نمونه انجام شد تا میزان بیان زیرواحد G ژن ATPase تحت اثر دارو بررسی شود. در این مطالعه، در غلظت ۵ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر بیان ژن زیر واحد G در ATPase افزایش یافت و سپس با افزایش میزان غلظت به ۱۰ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر بیان ژن کاهش پیدا کرد. در غلظت پایین دارو، گریزئوفولوین احتمالاً روی تنفس سلولی قارچ اثر گذاشته و آن را دچار اختلال می‌کند که بر این مبنا سلول اقدام به افزایش میزان تولید پروتئین زیرواحد G در ATPase می‌کند، ولی با افزایش غلظت گریزئوفولوین کاهش بیان ژن داریم. رقت‌های بالاتر مرگ سلول را به همراه دارد.

مطالعات محدودی در مورد اثر داروهای ضد قارچی روی درماتوفیت‌ها بخصوص ترایکوفایتون روبروم انجام شده است که در اکثر آنها گریزئوفولوین بهترین دارو با حساسیت بالا است (۲۲، ۲۳) که با نتایج این پژوهش همخوانی زیادی نشان می دهد. همچنین ژن کد کننده ABC انتقالگر در ترایکوفایتون روبروم (TruMDR1) در مواجهه قارچ با گریزئوفولوین افزایش بیان ژن دارد (۲۴) که مشابه نتایج به دست آمده در این تحقیق می‌باشد. بررسی‌های اخیر نشان داده‌اند که تربینافین و ایتراکونازول اثر تیماری مشابه یا کمی بیشتر از گریزئوفولوین دارند، ولی مزیت مهم آنها این است که دوره اثر کوتاه‌تری دارند و روی کاندیدا و کپک‌های غیرپاتوژن نیز موثر هستند (۲۵، ۲۶). می‌توان نتیجه گرفت که گریزئوفولوین در رقت‌های مختلف روی بیان ژن مورد نظر اثر متفاوتی دارد. به این شکل که در رقت‌های کم دارو افزایش بیان ژن داریم که حداکثر این افزایش در رقت ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر است ولی در رقت‌های بالاتر تا ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر کاهش بیان ژن مشاهده می‌شود که برای این کاهش دو تفسیر وجود دارد. یکی اینکه از این غلظت به بالا قارچ رشدش را از دست می‌دهد و به آرامی به سوی مرگ پیش می‌رود و بیان ژن‌ها از جمله ساب‌یونیت G کم یا متوقف می شود و دیگری اینکه تحمل در قارچ به وجود می‌آید و قارچ زنده است و رشد دارد ولی با توجه به عادت قارچ به غلظت ۱۰ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر نیازی به افزایش بیان ژن و ترمیم سلولی پیدا نکرده است که به نظر می رسد نظریه اول به واقعیت نزدیک‌تر باشد و در رقت‌های بالاتر سلول به سوی مرگ می‌رود. پس داروی گریزئوفولوین تأثیر اساسی بر روی بیان ژن ATPase در قارچ ترایکوفایتون روبروم دارد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات بی‌شائبه کارکنان آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-10-12]

REFERENCES

1. Forgac M. Function and regulation of the vacuolar (H+)ATPase . FEBS Letters 1998;440:258-63.
2. Inoue T, Forgac M. Cross-linking indicates that subunit C of the V-ATPase is in close proximity to subunits E and G of the V_1 domain and subunit-a of the V_0 Domain. J Biol Chem 2005;280(30): 27896-903.
3. Fethiere J, Vezke D, Diepholz M. Building the stator of the yeast vacuolar-ATPase specific interaction between subunits E and G. J Biol Chem 2004;279(39): 40670-76.
4. Forgac M. Structure and properties of the vacuolar (H+)-ATPases. J Biol Chem 1999;274(19):12951-54.
5. Wilkens S, Forgac M. Three-dimensional structure of vacuolar ATPase proton channel by electron microscopy. J Biol Chem 2001;276(47):44064-68.
6. Leng XH, Manolson M, Liu Q. Site-directed mutagenesis of the 100-kDa subunit (Vph1p) of the yeast vacoular H+-ATPase. J Biol Chem 1996;271:22487-93.
7. Kawasaki-Nishi S, Bowers K, Nishi T. The Amino-terminal domain of the vacuolar proton–translocating ATPase a subunit controls targeting and in vivo dissociation and the carboxyl-terminal domain affects coupling of proton transport and ATP hydrolysis. J Biol Chem 2001;276(50):47411-20.
8. Stevens TH, Forgac M. Function and regulation of the vacuolar (H+)- ATPases. Ann Rev Cell Dev Biol 1997;13:799-808.
9. Mahon R, Manuselis G. Textbook of diagnosis microbiology. 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders; 2000.
10. Collier L. Microbiology and microbial infections. 9th edition. London: Arnold;1998.
11. Develoux M. Griseofulvin. Ann Dermatol Venereol 2001;128(12):1317-25.
12. Rippon J. Medical Mycology. 3rd edition. Philadelphia: WB Saunders; 1998.
13. Li RY, Li DM, Yu J. Application of molecular biology techniques in the identification of pathogenic fungi and the diagnosis of fungal infection. Beijing Da Xue Xue Bao 2004;36(5):536-39.
14. Kardjeva V, Summerbell R, Kantardjiev T. Forty-eight hour diagnosis of onychomycosis with subtyping of Trichophyton rubrum strains. J Clin Microbiol 2006;4: 1419-27.
15. Wang L, Ma L, Leng W. Analysis of part of the trichophyton rubrum ESTs. Sci China C Life Sci 2004;47(5):389-95.
16. Kanbe T, Suzuki Y, Kamiya A. Species-identificetion of dermatophytes trichophyton, microsporum and epidermophyton by PCR and PCR-RFLP targetting of the DNA topoisomerase II genes. J Dermatol Sci 2003;33(1):41-54.
17. Jackson CJ. Molecular identification and starin typing of dermatophyte. Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi 2001;42(1):7-10.
18. Kano R, Okabayashi K, Nakamura Y. Differences among chitin synthase I gene sequences in Trichophyton rubrum and T.violaceum. Med Mycol 2000;38(1):47-50.
19. Cross RL, Duncan TM. Subunit rotation in F_0F_1-ATP synthases as a means of coupling proton transport through F_0 to the binding changes in F_1. J Bioener Biomemb 1996;28:403-408.
20. Vik SB, Antonio BJ. A mechanism of proton tarnslocation by F1F0 ATP synthases suggested by double mutants of the a subunit. J Biolog Chem 1996;271:22487-93.
21. Wilkens S, Capaldi RA. ATP synthase`s second stalk comes into focus. Nature 1998;393:29.
22. Chadeganipour M, Nilipouer S, Havaei A. In vitro evaluation of griseofulvin against clinical isolates of dermatophytes from Isfahan. Mycoses 2004;47:503-507.
23. Sumana MN, Rajagopal V. A study of dermatophytes and their in vitro antifungal sensitivity. Indian Pathol Microbiol 2002;45(2):169-72.
24. Cervelatti EP, Fachin AL, Ferreira-Nozawa MS. Molecular colning and characterization of a novel ABC transporter gene in the human pathogen trichophyton rubrum. Med Mycol 2006;44(2):141-47.
25. Gupta AK, Shear NH. A risk-benefit assesssment of the newer oral antifungal agemts used to treat onychomycosis. Drug Saf 2000;229(1):33-52.
26. Mohrenschlager M, Korting HC, Seidi HP. Tinea capitis, therapeutic options in the post-griseofulvin era. Hautarzt 2002;53(12):788-94.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2024-10-12]