Pejouhesh dar Pezeshki (i.e., Research in Medicine) **Original Article**

The Quarterly Journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2026; Vol. 50; No. 1

Evaluation of the Antimicrobial Peptide Cliotide U1 on Inhibition of *Candida albicans* Biofilm Formation and Reduction of A*LS1* and *HWP1* Gene Expression

Niloufar Radmanesh[1], Mehdi Goudarzi[2], Sima Sadat Seyedjavadi[3*], Zahra Jahanshiri[2]

1. Department of Biology, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Department of Microbiology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3. Department of Mycology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.

Received: May 12, 2026; Accepted: July 01, 2026

Abstract

Background and Aim: *Candida albicans* biofilms pose a major challenge in antifungal therapy due to their intrinsic drug resistance. Antimicrobial peptides with novel mechanisms of action are considered promising therapeutic candidates. This study aimed to evaluate the effect of the peptide Cliotide U1 on *C. albicans* biofilm formation and assess changes in the expression of the key genes *ALS1* and *HWP1*.

Methods: The present study was an *in vitro* experimental study. The antifungal activity of the peptide was tested against the standard strain SC5314 and five clinical isolates using broth microdilution according to CLSI M27-A4. Biofilm formation and metabolic activity were assessed using crystal violet and XTT assays, respectively. Changes in *ALS1* and *HWP1* gene expression were measured by real-time PCR.

Results: The MIC of Cliotide U1 against the standard *C. albicans* strain SC5314 and most clinical isolates was 16 µg/ mL, while only isolate CA2 showed an MIC of 32 µg/ mL. The MFC values ranged from 32 to 64 µg/ mL. The BIC_{50} of the peptide was 32 µg/ mL for the standard *C. albicans* strain SC5314 and ranged from 32 to 64 µg/ mL among the clinical isolates. Crystal violet staining showed that treatment with 2×MIC significantly increased biofilm inhibition compared with 1×MIC in all tested strains, with inhibition percentages at 2×MIC ranging from 49.0 ± 1.0% to 61.0 ± 1.0% ($P = 0.0002$ to $P = 0.0060$). In the XTT assay, treatment with 2×MIC inhibited the metabolic activity of biofilm- embedded cells by 54.7 ± 7.6% to 67.7 ± 2.5%, and this increase was statistically significant compared with 1×MIC ($P = 0.0012$ to $P = 0.0280$). Real-time PCR results also showed that Cliotide U1 significantly reduced the expression levels of *ALS1* and *HWP1* genes ($P < 0.05$).

Conclusion: Cliotide U1 exhibits antifungal and antibiofilm activity and may serve as a promising candidate for further studies on controlling resistant and biofilm- associated *C. albicans* infections. Additional *in vivo* studies are needed to confirm its efficacy.

Keywords: Cliotide U1; *Candida albicans*; Biofilm; *ALS1*; *HWP1*; Antimicrobial peptide; Gene expression; BIC

Please cite this article as: Radmanesh N, Goudarzi M, Seyedjavadi SS, Jahanshiri Z. Evaluation of the Antimicrobial Peptide Cliotide U1 on Inhibition of *Candida albicans* Biofilm Formation and Reduction of A*LS1* and *HWP1* Gene Expression. Pejouhesh dar Pezeshki. 2026;50(1):24-35.

[*]**Corresponding Author:** Sima Sadat Seyedjavadi**; Email:** sima_seyedjavadi@yahoo.com
Department of Mycology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

فصلنامه علمی-پژوهشی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی شهید بهشتی
دوره ۵۰، شماره ۱، سال ۱۴۰۵ شمسی، صفحات ۲۴ تا ۳۵

ارزیابی اثر پپتید ضد میکروبی Cliotide U1 بر مهار تشکیل بیوفیلم *کاندیدا آلبیکنس* و کاهش بیان ژن‌های *ALS1* و *HWP1*

نیلوفر رادمنش[۱]، مهدی گودرزی[۲]، سیما السادات سیدجوادی[۳*]، زهرا جهانشیری[۳]

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲- گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
۳- گروه قارچ‌شناسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۴/۱۰

چکیده

سابقه و هدف: بیوفیلم‌های *کاندیدا آلبیکنس* به دلیل مقاومت ذاتی به داروهای ضدقارچی، یکی از چالش‌های اصلی در درمان عفونت‌های قارچی هستند. پپتیدهای ضد میکروبی با مکانیسم‌های اثر نوین، گزینه‌های درمانی امیدوارکننده‌ای محسوب می‌شوند. هدف این مطالعه، ارزیابی اثر پپتید Cliotide U1 بر مهار تشکیل بیوفیلم *کاندیدا آلبیکنس* و بررسی تغییرات بیان ژن‌های کلیدی *ALS1* و *HWP1* بود.

روش کار: مطالعه حاضر یک مطالعه تجربی برون‌تنی (*in vitro* experimental study) بود. فعالیت ضدقارچی پپتید علیه سویه استاندارد SC5314 و پنج سویه بالینی با روش رقت‌سازی در محیط مایع مطابق پروتکل CLSI M27-A4 تعیین شد. مهار تشکیل بیوفیلم و فعالیت متابولیک با روش‌های کریستال ویوله و XTT ارزیابی شد. همچنین، تغییرات بیان ژن‌های *ALS1* و HWP1 با روش Real-Time PCR بررسی گردید.

یافته‌ها: مقدار MIC پپتید Cliotide U1 برای سویه استاندارد *کاندیدا آلبیکنس* SC5314 و بیشتر سویه‌های بالینی ۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود و تنها در سویه CA2 مقدار MIC برابر با ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد. همچنین مقادیر MFC در محدوده ۳۲ تا ۶۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر قرار گرفت. مقدار BIC_{50} پپتید در سویه استاندارد *کاندیدا آلبیکنس* SC5314 برابر با ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در سویه‌های بالینی در محدوده ۳۲ تا ۶۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج رنگ‌آمیزی کریستال ویوله نشان داد که غلظت ۲×MIC نسبت به ۱×MIC موجب افزایش معنی‌دار مهار تشکیل بیوفیلم در تمامی سویه‌ها شد و میزان مهار در غلظت ۲×MIC بین ۱ ± ۴۹ تا ۱ ± ۶۱ درصد بود ($P = 0.0002$ تا $P = 0.0060$). همچنین در سنجش XTT، غلظت ۲×MIC موجب کاهش ۷/۶ ± ۵۴/۷ تا ۲/۵ ± ۶۷/۷ درصد فعالیت متابولیک سلول‌های درون بیوفیلم شد و این افزایش نسبت به ۱×MIC از نظر آماری معنی‌دار بود ($P = 0.0012$ تا $P = 0.0280$). نتایج Real-Time PCR نیز نشان داد که پپتید Cliotide U1 موجب کاهش معنی‌دار بیان ژن‌های *ALS1* و *HWP1* شد ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: پپتید Cliotide U1 دارای فعالیت ضدقارچی و توانایی مهار تشکیل بیوفیلم است و می‌تواند به‌عنوان کاندیدای امیدوارکننده برای مطالعات تکمیلی در زمینه کنترل عفونت‌های مقاوم و مرتبط با بیوفیلم *کاندیدا آلبیکنس* مطرح شود. بررسی‌های بیشتر درون‌تن برای تأیید اثربخشی این پپتید ضروری است.

واژگان کلیدی: Cliotide U1؛ *کاندیدا آلبیکنس*؛ بیوفیلم؛ *ALS1*؛ *HWP1*؛ پپتید ضد میکروبی؛ بیان ژن؛ BIC_{50}

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Radmanesh N, Goudarzi M, Seyedjavadi SS, Jahanshiri Z. Evaluation of the Antimicrobial Peptide Cliotide U1 on Inhibition of *Candida albicans* Biofilm Formation and Reduction of A*LS1* and *HWP1* Gene Expression. Pejouhesh dar Pezeshki. 2026;50(1):24-35.

[*] **نویسنده مسئول مکاتبات:** سیما السادات سیدجوادی؛ **آدرس پست الکترونیکی:** sima_seyedjavadi@yahoo.com
گروه قارچ‌شناسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

مقدمه

عفونت‌های فرصت‌طلب ناشی از مخمر *کاندیدا آلبیکنس* (*Candida albicans*) همچنان یکی از چالش‌های مهم در طب بالینی هستند. این میکروارگانیسم به‌عنوان بخشی از فلور نرمال مخاط انسان در نواحی مختلفی مانند دهان، دستگاه گوارش و دستگاه ادراری-تناسلی حضور دارد، اما در شرایط نقص ایمنی می‌تواند به یک پاتوژن فرصت‌طلب تبدیل شود و طیفی از عفونت‌های سطحی تا کاندیدمی و عفونت‌های سیستمیک را ایجاد کند (۱، ۲).

یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زایی *کاندیدا آلبیکنس*، توانایی تشکیل بیوفیلم است. بیوفیلم‌ها اجتماعات سازمان‌یافته‌ای از سلول‌های قارچی هستند که به سطوح زنده یا غیرزنده مانند کاتترها، دریچه‌های قلبی و ایمپلنت‌های دندانی متصل شده و در ماتریکس برون‌سلولی محافظ قرار می‌گیرند. این ساختار موجب افزایش مقاومت نسبت به داروهای ضدقارچی رایج، عود مکرر عفونت و دشواری در ریشه‌کنی کامل عامل بیماری‌زا می‌شود (۳، ۴).

تشکیل بیوفیلم در *کاندیدا آلبیکنس* یک فرایند چندمرحله‌ای شامل چسبندگی اولیه، تشکیل میکروکلنی، بلوغ و پراکندگی سلول‌ها است (۵). در سطح مولکولی، ژن‌های خانواده Agglutinin-Like Sequence، به‌ویژه *ALS1*، و ژن Hyphal Wall Protein 1 یا *HWP1* در اتصال سلول‌های قارچی به سطوح و پایداری بیوفیلم نقش مهمی دارند (۶). مطالعات نشان داده‌اند که اختلال در بیان این ژن‌ها می‌تواند با کاهش توانایی تشکیل بیوفیلم و بیماری‌زایی *کاندیدا آلبیکنس* همراه باشد (۷).

با توجه به محدودیت داروهای ضدقارچی موجود و افزایش مقاومت‌های مرتبط با بیوفیلم، توجه پژوهش‌ها به ترکیبات جدید مانند پپتیدهای ضدمیکروبی افزایش یافته است. این پپتیدها معمولاً کوتاه و کاتیونی هستند و می‌توانند فعالیت ضدمیکروبی وسیع‌الطیف نشان دهند (۸). همچنین، برخی از پپتیدهای ضدمیکروبی توانایی مهار تشکیل بیوفیلم *کاندیدا آلبیکنس* را دارند و به‌عنوان گزینه‌هایی امیدبخش برای غلبه بر مقاومت بیوفیلمی مطرح شده‌اند (۹). در مطالعات پیشین، پپتیدهایی مانند Dermaseptin S4، hLF1-11 و synthetic killer peptide (KP) توانسته‌اند تشکیل بیوفیلم *کاندیدا آلبیکنس* را مهار کرده و بیان برخی ژن‌های مرتبط با چسبندگی، مورفوژنز و بیوفیلم، ازجمله *HWP1*، *EAP1*، *ALS3* و مسیر Ras1-cAMP-Efg1 را کاهش دهند (۱۲-۱۰).

پپتید Cliotide U1 یک پپتید ۳۵ اسیدآمینه‌ای با توالی LIVAASLVYDFYTWIAKKVALLRIAKKVLYLAR NA است که از برگ گیاه گزنه (*Urtica dioica*) جداسازی شده و فعالیت زیستی آن گزارش شده است (۱۳). با وجود گزارش‌هایی درباره فعالیت ضدمیکروبی این پپتید، اثر ضدقارچی و ضدبیوفیلمی آن علیه *کاندیدا آلبیکنس*، به‌ویژه سویه‌های بالینی، هنوز به‌طور کامل مشخص نشده است.

با توجه به اهمیت مقابله با مقاومت بیوفیلمی *کاندیدا آلبیکنس* و محدودیت‌های داروهای ضدقارچی موجود، این مطالعه با هدف بررسی اثر پپتید Cliotide U1 طراحی شد. بر اساس این هدف، سوالات پژوهش به شرح زیر مشخص شدند: آیا پپتید Cliotide U1 قادر به مهار تشکیل بیوفیلم *کاندیدا آلبیکنس* است و آیا این پپتید بر بیان ژن‌های کلیدی *ALS1* و *HWP1* تأثیر می‌گذارد؟ فرضیات پژوهش عبارتند از: ۱) پپتید Cliotide U1 توانایی کاهش تشکیل بیوفیلم را دارد و ۲) اثر مهاری پپتید بر بیوفیلم با کاهش بیان ژن‌های *ALS1* و *HWP1* همراه است. این مطالعه در سال ۱۴۰۴-۱۴۰۳ در بخش قارچ شناسی انستیتوپاستور ایران و بخش میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شد.

روش کار

نوع مطالعه

مطالعه حاضر یک مطالعه تجربی (*in vitro* experimental study) است. نمونه‌ها شامل سویه استاندارد SC5314 و پنج سویه بالینی *کاندیدا آلبیکنس* بودند که از بیماران مبتلا به کاندیدیازیس جداسازی شده‌اند. روش نمونه‌گیری غیرتصادفی و مبتنی بر دسترسی به سویه‌های موجود در مجموعه کشت قارچ‌های بیماری‌زای انستیتو پاستور ایران بوده است.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

سنتز پپتید

پپتید Cliotide U1 با توالی اسید آمینه‌ای LIVAASLVYDFYTWIAKKVALLRIAKKVLYLAR NA که پیش از این از برگ‌های گیاه گزنه (*Urtica dioica*) جداسازی و شناسایی شده بود (۱۳)، با خلوص بیش از ۹۵٪ از شرکت (Piscataway, NJ, USA [Lot NO: C833X243G0-1/PE7383]) Gen Script تهیه گردید. محلول ذخیره پپتید با غلظت ۱ میلی‌مولار در آب دیونیزه استریل تهیه و تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

سویه‌های قارچی و شرایط کشت و معیارهای ورود و خروج مطالعه

در این مطالعه از سویه استاندارد *کاندیدا آلبیکنس* SC5314 و همچنین پنج سویه بالینی جداشده از بیماران مبتلا به کاندیدیازیس (با تأیید آزمایشگاه قارچ‌شناسی) از مجموعه کشت قارچ‌های بیماری‌زای انستیتو پاستور ایران (http://fa.pasteur.ac.ir/MBankResult.aspx) استفاده گردید. این سویه ها از نمونه خون بیماران مبتلا به عفونت کاندیدایی جداسازی شده بودند. از نظر جنسیت بیماران، سه ایزوله مربوط به بیماران زن و دو ایزوله مربوط به بیماران مرد بود. اطلاعات هویتی بیماران در مطالعه وارد نشد و محرمانگی داده‌ها رعایت گردید. سویه‌های بالینی با استفاده از روش‌های استاندارد قارچ‌شناسی شامل کشت روی محیط سابورو دکستروز آگار (SDA ;Merck, Germany)، تست جوانه‌زنی، و بررسی ریخت‌شناسی روی محیط کروم آگار (CHROMagar Candida, France) *کاندیدا* شناسایی شدند (۱۴). تمامی سویه‌ها در محیط عصاره مخمر - پپتون - دکستروز (YPD ;Merck, Germany) حاوی گلیسرول در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و پیش از هر آزمایش، روی محیط سابورو دکستروز آگار (به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شدند. معیارهای ورود مطالعه شامل سویه استاندارد SC5314 و پنج سویه بالینی *کاندیدا آلبیکنس* از بیماران مبتلا به کاندیدیازیس بود که توسط آزمایشگاه قارچ‌شناسی تأیید شدند. معیارهای خروج شامل سویه‌های غیر*کاندیدا آلبیکنس* یا سویه‌های بالینی با رشد نامطلوب در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت قارچ‌کشی (MFC)

حداقل غلظت مهارکنندگی (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) پپتید Cliotide U1 علیه سویه‌های *کاندیدا آلبیکنس* مطابق با دستورالعمل‌های مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (Clinical and Laboratory Standards Institute; CLSI) مستند M27 (۱۵) با استفاده از روش رقت‌سازی در محیط کشت مایع انجام شد. این روش استاندارد CLSI M27 بوده و قابلیت تکرارپذیری بالایی دارد. به طور خلاصه، سوسپانسیون مخمری از کشت‌های ۲۴ ساعته روی محیط SDA تهیه و در محیط کشت (Sigma-Aldrich, USA) RPMI 1640 به غلظت نهایی $۰/۵-۲/۵\times۱۰^{۳}$ سلول در میلی‌لیتر تنظیم گردید. پپتیدCliotide U1 در محدوده غلظتی ۲ تا ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر (با رقت‌های دو برابری متوالی) در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای تهیه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون مخمری به هر چاهک اضافه گردید. پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. MIC به عنوان کمترین غلظت از پپتید تعریف گردید که از رشد قابل مشاهده قارچ (به صورت کدورت) نسبت به گروه کنترل (فاقد پپتید) جلوگیری به عمل آورد. تمامی آزمون‌ها در سه تکرار مستقل انجام شدند.

برای تعیین MFC، از هر چاهکی که هیچ رشدی مشاهده نشد، ۱۰۰ میکرولیتر روی محیط SDA کشت داده شد و کمترین غلظتی که منجر به مرگ ۹۹/۹٪ کلنی‌ها گردید، به عنوان MFC گزارش شد (۱۵). این آزمایش نیز در سه تکرار مستقل انجام شد.

بررسی مهار تشکیل بیوفیلم

توانایی پپتید Cliotide U1 در مهار تشکیل بیوفیلم *کاندیدا آلبیکنس* با استفاده از روش رنگ‌آمیزی کریستال ویوله (Crystal Violet) مطابق با پروتکل‌های استاندارد شده انجام شد (۱۶). این روش کل بیوفیلم که شامل سلول‌های زنده، مرده

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

و ماتریکس خارج‌سلولی را اندازه‌گیری می‌کند و امکان مقایسه کمی بیوفیلم در حضور و عدم حضور پپتید را فراهم می‌کند. به طور خلاصه، *کاندیدا آلبیکنس* به مدت یک شب در محیط کشت RPMI-1640 حاوی ۲٪ گلوکز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس سوسپانسیون سلول‌های مخمری در محیط کشت RPMI-1640 آماده شدند تا غلظتی برابر $۱۰^{۶}$×۵-۱ سلول در میلی‌لیتر (CFU/mL) بدست آید. حجم ۲۰۰ میکرولیتری از سوسپانسیون مخمر به هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه اضافه شد و پلیت‌ها به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند تا اتصال سلول‌ها تسهیل شود. سپس سلول‌های غیرچسبنده با شستشوی چاهک‌ها با بافر فسفات سالین استریل حذف شدند. پس از این مرحله، ۲۰۰ میکرولیتر از محیط کشت RPMI-1640 به هر چاهک اضافه شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت دیگر برای تسهیل تشکیل بیوفیلم انکوبه گردیدند. بیوفیلم چسبیده به دیواره چاهک با استفاده از ۲۰۰ میکرولیتر اتانول ۹۵٪ به مدت ۱۵ دقیقه تثبیت شد. پس از خشک شدن پلیت، رنگ‌آمیزی با ۱۰۰ میکرولیتر کریستال ویوله ۰/۱٪ (وزنی/حجمی) به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط انجام گرفت. رنگ اضافی با سه بار شستشو با بافر فسفات سالین (PBS) حذف گردید. سپس جذب نوری در طول موج ۵۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (EnSpire Multimode Plate Reader, PerkinElmer Inc., USA) اندازه‌گیری گردید.

سنجش فعالیت متابولیک بیوفیلم با استفاده از روش XTT

فعالیت متابولیک بیوفیلم‌های *کاندیدا آلبیکنس* با استفاده از سنجش احیای XTT مطابق با روش پیشین تعیین گردید (۱۷). این روش مکمل روش کریستال ویوله است. این سنجش مبتنی بر احیای XTT به محصول فورمازان رنگی با واسطه آنزیم دهیدروژناز میتوکندریایی می‌باشد. محلول XTT با غلظت ۰/۵ گرم بر لیتر درPBS همراه با ۱ میکرومولار منادیون (Menadione) تهیه و پس از افزودن به بیوفیلم‌ها، پلیت‌ها در تاریکی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت انکوبه شدند. مایع رویی (سوپرناتانت) به پلیت‌های جدید منتقل گردید و جذب نوری در طول موج ۴۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (EnSpire Multimode Plate Reader, PerkinElmer Inc., USA) اندازه‌گیری گردید.

تعیین غلظت مهار ۵۰ درصدی تشکیل بیوفیلم (BIC_{50})

به منظور تعیین کمّی پتانسیل مهار بیوفیلم پپتیدCliotide U1، غلظت مهار ۵۰ درصدی تشکیل بیوفیلم (Biofilm Inhibitory Concentration 50; BIC_{50}) با استفاده از روش رنگ‌سنجی XTTمطابق با پروتکل استاندارد Microplate-Based XTT Assay for *Candida* Biofilms (Ramage et al., 2001) تعیین گردید (۱۷). BIC_{50} به عنوان کمترین غلظت از پپتید تعریف می‌شود که منجر به کاهش ۵۰ درصدی فعالیت متابولیک سلول‌های درون بیوفیلم در مقایسه با گروه کنترل (فاقد پپتید) می‌گردد.

استخراج RNA و سنتز cDNA

برای بررسی بیان ژن‌های مرتبط با بیوفیلم، سلول‌های *کاندیدا آلبیکنس* در شرایط تشکیل بیوفیلم در حضور و عدم حضور غلظت BIC50 از پپتید Cliotide U1 به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. پس از پایان هر زمان انکوباسیون، بیوفیلم از سطح پلیت جمع‌آوری و به میکروتیوب منتقل گردید.

استخراج کل RNA با استفاده از کیت تجاری RNX-Plus Mini Kit (Sinaclon, Iran) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. غلظت و خلوص RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر نانو دراپ (NanoDrop 2000; Thermo Fisher Scientific, USA) در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

سنتز cDNA از یک میکروگرم RNA کل با استفاده از کیت سنتز cDNA Synthesis Kit (Parstous Biotechnology, Iran) مطابق با پروتکل شرکت سازنده انجام شد.

Real-Time PCR

بیان ژن در سطح mRNA با استفاده از روش Real-Time PCR با سامانه SYBR Green (PowerUp SYBR Green Master Mix; Applied Biosystems, USA) و دستگاه CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad) اندازه‌گیری شد. این روش دقیق، کمی و استاندارد برای بررسی

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

تغییرات ژنتیکی در سطح mRNA است. توالی پرایمرهای مورد استفاده برای ژن‌های هدف *ALS1* و *HWP1* و ژن خانه‌دار *ACT1* به‌عنوان کنترل داخلی، از مطالعات پیشین استخراج گردید؛ مطالعاتی که اختصاصیت این پرایمرها را برای *کاندیدا آلبیکنس* تأیید کرده‌اند (۱۱). توالی پرایمرهای مورد استفاده در Real-Time PCR در جدول ۱ ارائه شده است:

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده در Real-Time PCR

ژن	توالی پرایمر (′۳ -′۵)	اندازه محصول (bp)	مرجع
ALS1	Forward: GGTTATCGTCCATTTGTTGA	۱۳۹	(۱۱)
ALS1	Reverse: TTCTGTATCCAGTCCATCTT	۱۳۹	(۱۱)
HWP1	Forward: ACAGGTAGACGGTCAAGG	۸۷	(۱۱)
HWP1	Reverse: GGGTAATCATCACATGGTTC	۸۷	(۱۱)
ACT1	Forward: TAGGTTTGGAAGCTGCTGG	۱۲۴	(۱۱)
ACT1	Reverse: TCGTTGTAGAAAGTGTGATG	۱۲۴	(۱۱)

واکنش Real-Time PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر انجام گردید. برنامه حرارتی سایکلینگ در جدول ۲ قابل مشاهده است:

جدول ۲- شرایط دمایی واکنش Real-Time PCR

تعداد سیکل	زمان	دما	مرحله واکنش
۱ سیکل	۶۰ ثانیه	۹۵درجه سانتی‌گراد	دناتوراسیون اولیه
۴۰ سیکل	۱۵ ثانیه	۹۵ درجه سانتی‌گراد	دناتوراسیون
۴۰ سیکل	۳۰ ثانیه	۶۰ درجه سانتی‌گراد	اتصال/طویل‌سازی

آنالیز داده‌های Real-Time PCR

سطح بیان نسبی ژن‌ها با استفاده از روش $۲^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه شد (۱۸). مقادیر Ct (Cycle threshold) هر ژن هدف نسبت به Ct ژن کنترل داخلی (*ACT1*) در همان نمونه نرمال‌سازی شدند (ΔCt). سپس، ΔCt نمونه‌های تیمار شده با پپتید نسبت به ΔCt نمونه‌های کنترل (فاقد پپتید) مقایسه گردید (ΔΔCt). در نهایت، فولد تغییرات (Fold change) بیان ژن از رابطه $۲^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه شد. مقادیر فولد تغییر بزرگتر از ۱ به عنوان افزایش بیان و مقادیر کوچکتر از ۱ به عنوان کاهش بیان ژن در نظر گرفته شدند.

آنالیز آماری

در این مطالعه، متغیرهای مستقل شامل غلظت پپتید Cliotide U1 (میکروگرم بر میلی‌لیتر) و زمان انکوباسیون در شرایط تیمار بودند. متغیرهای وابسته شامل درصد مهار تشکیل بیوفیلم (با روش‌های کریستال ویوله وXTT)، فعالیت متابولیک سلول‌ها در بیوفیلم (XTT) و میزان بیان ژن‌های ALS1 و HWP1 (با Real-Time PCR) می‌باشند. تمامی داده‌ها بر اساس این متغیرها تحلیل شدند و برای مقایسه اثر دو غلظت MIC×۱و MIC×۲ از آزمون paired t-test استفاده شد.. سطح بیان ژن‌ها با روش $۲^{-\Delta\Delta Ct}$ نرمال‌سازی گردیدسطح معنی‌داری برابر با $p < 0.05$ در نظر گرفته شد. تمام آزمایش‌ها و اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار مستقل انجام شد تا خطای تصادفی کاهش یافته، تکرارپذیری نتایج افزایش یابد و امکان گزارش داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار فراهم شود. استفاده از تکرارهای مستقل یکی از اصول اساسی طراحی آزمایش است و برای افزایش اعتبار نتایج تجربی توصیه می‌شود (۱۹). داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد (Mean ± SD) گزارش گردیدند. کلیه محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

GraphPad Prism نسخه ۹ (GraphPad Software, USA) انجام پذیرفت.

یافته‌ها

فعالیت ضدقارچی پپتید Cliotide U1

فعالیت ضدقارچی پپتید Cliotide U1 در برابر پنج سویه بالینی *کاندیدا آلبیکنس* (CA1 تا CA5) و سویه مرجع SC5314 با استفاده از روش رقت‌سازی در محیط مایع مطابق با دستورالعمل CLSI M27-A4 ارزیابی گردید. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت قارچ‌کشی (MFC) پپتید در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۳- مقادیر MIC، MFC و BIC_{50} پپتید Cliotide U1 در برابر سویه استاندارد و سویه‌های بالینی *کاندیدا آلبیکنس*

سویه	MIC (µg/mL)	MFC (µg/mL)	BIC_{50}(µg/mL)
CA1	۱۶	۳۲	۶۴
CA2	۳۲	۶۴	۶۴
CA3	۱۶	۳۲	۳۲
CA4	۱۶	۳۲	۳۲
CA5	۱۶	۳۲	۳۲
SC5314	۱۶	۳۲	۳۲

نتایج نشان داد که پپتید Cliotide U1 فعالیت ضدقارچی قابل توجهی علیه تمامی سویه‌های مورد آزمایش دارد. میزان MIC برای همه سویه‌ها به جز CA2 معادل ۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای سویه CA2 معادل ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. همچنین مقادیر MFC در دامنه ۳۲ تا ۶۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر قرار گرفت.

تعیین غلظت مهار ۵۰ درصدی (BIC_{50})

به منظور ارزیابی کمی توانایی پپتید Cliotide U1 در مهار تشکیل بیوفیلم *کاندیدا آلبیکنس*، غلظت مهار ۵۰ درصدی بیوفیلم (BIC_{50}) با استفاده از روش سنجش XTT تعیین گردید. نتایج حاصل از این ارزیابی در جدول ۴ ارائه شده است.

نتایج نشان داد که پپتید Cliotide U1 توانایی قابل توجهی در مهار تشکیل بیوفیلم تمامی سویه‌های مورد آزمایش دارد. برای سویه استاندارد SC5314، مقدار BIC_{50} برابر با ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. در مورد سویه های بالینی، مقادیر BIC_{50} در محدوده ۳۲ تا ۶۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر قرار گرفت. به طور مشخص، از میان پنج سویه بالینی مورد بررسی، سه سویه (CA3، CA4 و CA5) مقدار BIC_{50} برابر با ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان دادند، در حالی که دو سویه (CA1 و CA2) مقدار BIC_{50} بالاتری معادل ۶۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر از خود بروز دادند.

درصد مهار تشکیل بیوفیلم

به منظور بررسی اثر پپتید Cliotide U1 بر مهار تشکیل بیوفیلم، ابتدا از روش رنگ‌آمیزی کریستال ویوله استفاده گردید. این روش کل توده بیوفیلم (شامل سلول‌های زنده، سلول‌های مرده و ماتریکس خارج سلولی) را اندازه‌گیری می‌کند. نتایج حاصل از این ارزیابی در غلظت‌های MIC×۱ و MIC×۲ برای سویه استاندارد SC5314 و سویه های بالینی در جدول ۴ ارائه شده است.

تیمار سویه‌های *کاندیدا آلبیکنس* با غلظت‌های MIC×۱و MIC×۲ منجر به کاهش تولید بیوفیلم شد. بر اساس نتایج حاصل از روش کریستال ویوله میانگین درصد کاهش تشکیل بیوفیلم در غلظت MIC× ۱ بین ۱ ± ۲۷ تا ۲/۱ ± ۳۷/۳ درصد گزارش شد، در حالی‌که افزایش غلظت به MIC×۲ موجب افزایش قابل توجه این کاهش، بین ۱ ± ۴۹ تا ۱ ± ۶۱ درصد گردید. بیشترین کاهش در غلظت MIC×۱ مربوط به سویه SC5314و بیشترین میزان مهار در غلظت MIC×۲ نیز مربوط به همان سویه بود. کمترین میزان مهار در غلظت MIC×۱

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

مربوط به سویه CA2 و کمترین میزان مهار در غلظت ۲×MIC نیز همین سویه بود.

مقایسه آماری بین دو غلظت نشان داد که افزایش غلظت موجب **افزایش معنی‌دار مهار بیوفیلم** در تمام سویه‌ها شد ($P < ۰/۰۵$). این نتایج نشان‌دهنده وابستگی اثر ضدبیوفیلمی به غلظت بوده و افزایش غلظت موجب افزایش قابل توجه مهار تشکیل بیوفیلم می‌گردد.

جدول ۴- اثر مهاری پپتید Cliotide U1 بر تشکیل بیوفیلم *کاندیدا آلبیکنس* با روش کریستال ویوله

سویه	MIC (%)	2×MIC (%)	p-value	نتیجه آماری
SC5314	۳۷/۳ ± ۲/۱	۶۱/۰ ± ۱/۰	۰/۰۰۳۷	معنی‌دار
CA1	۳۱/۷ ± ۱/۲	۵۵/۰ ± ۱/۰	۰/۰۰۰۲	معنی‌دار
CA2	۲۷/۰ ± ۱/۰	۴۹/۰ ± ۱/۰	۰/۰۰۲۱	معنی‌دار
CA3	۳۴/۰ ± ۱/۰	۵۲/۳ ± ۲/۵	۰/۰۰۵۲	معنی‌دار
CA4	۳۳/۰ ± ۱/۰	۵۱/۷ ± ۱/۵	۰/۰۰۶۰	معنی‌دار
CA5	۳۴/۷ ± ۱/۵	۵۶/۳ ± ۱/۵	۰/۰۰۰۲	معنی‌دار

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار حاصل از سه تکرار مستقل گزارش شده‌اند. مقایسه بین گروه‌های 1×MIC و 2×MIC با استفاده از آزمون paired t-test انجام شد. مقدار $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شد.

سنجش فعالیت متابولیک با استفاده از روش XTT

به منظور ارزیابی دقیق‌تر اثر مهاری پپتید Cliotide U1 بر سلول‌های زنده و دارای متابولیسم فعال درون بیوفیلم، از روش سنجش XTT استفاده گردید و نتایج آن در جدول ۵ قابل مشاهده می باشد. بر اساس نتایج حاصل از روش سنجش XTT، تیمار سویه‌های *کاندیدا آلبیکنس* با غلظت‌های ۱×MICو ۲×MIC موجب کاهش فعالیت متابولیک سلول‌های درون بیوفیلم شد. میزان کاهش فعالیت متابولیک سلول‌های درون بیوفیلم در غلظت MIC در سویه‌های مختلف بین ۱/۸ ± ۳۳/۸ تا ۱/۹ ± ۴۰/۵ درصد متغیر بود. در مقابل، افزایش غلظت به ۲×MIC باعث افزایش قابل توجه درصد کاهش فعالیت متابولیک سلول‌های درون بیوفیلم شد، به‌طوری‌که میزان مهار در این غلظت بین ۷/۶ ± ۵۴/۷ تا ۲/۵ ± ۶۷/۷ درصد گزارش گردید. بیشترین میزان کاهش فعالیت متابولیک سلول‌های درون بیوفیلم در غلظت MIC مربوط به سویه SC5314 با مقدار ۱/۹ ± ۴۰/۵ درصد بود، در حالی‌که در غلظت ۲×MIC نیز همین سویه بیشترین پاسخ را با مقدار ۲/۵± ۶۷/۷ درصد نشان داد.

کمترین میزان کاهش فعالیت متابولیک سلول‌های درون بیوفیلم در غلظت MIC مربوط به سویهCA2 با مقدار ۱/۸ ± ۳۳/۸ درصد بود و همین سویه در غلظت ۲×MIC نیز کمترین میزان کاهش فعالیت متابولیک سلول‌های درون بیوفیلم را با مقدار ۷/۶ ± ۵۴/۷ درصد نشان داد.

مقایسه آماری بین دو غلظت ۱×MIC و ۲×MIC نشان داد که افزایش غلظت ماده مورد بررسی موجب افزایش معنی‌دار موجب کاهش فعالیت متابولیک سلول‌های درون بیوفیلم در تمام سویه‌ها شد. مقادیر p به‌دست‌آمده برای تمامی سویه‌ها کمتر از ۰/۰۵ بود؛ بنابراین اختلاف مشاهده‌شده بین دو غلظت از نظر آماری معنی‌دار ارزیابی شد. این نتایج نشان می‌دهد که اثر ضدبیوفیلمی ترکیب مورد بررسی وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت از ۱×MIC به ۲×MIC ، توانایی آن در کاهش فعالیت متابولیک سلول‌های درون بیوفیلم به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

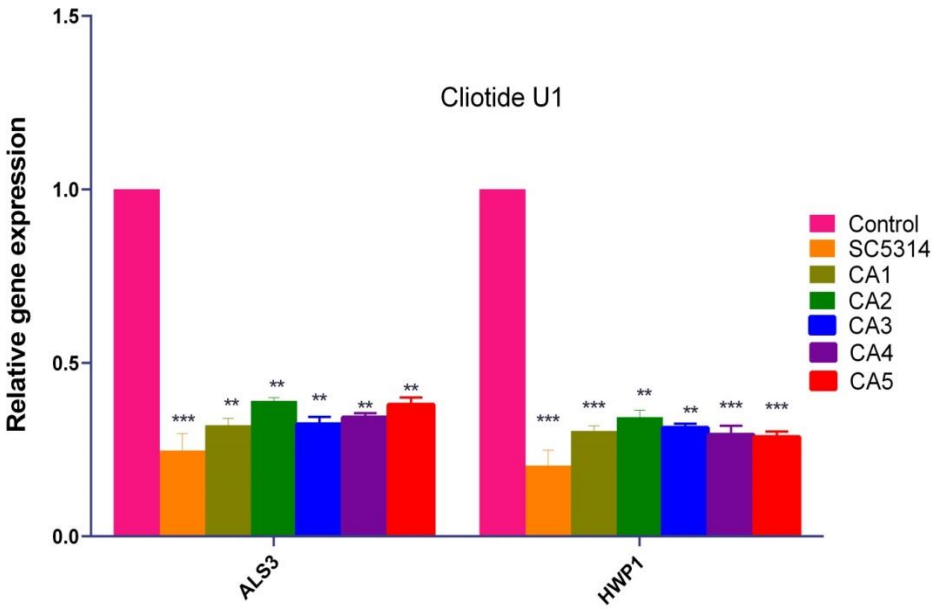
جدول ۵- سنجش فعالیت متابولیک با روش XTT

سویه	1×MIC (%)	2×MIC (%)	p-value	معنی‌داری
SC5314	۴۰/۵ ± ۱/۹	۶۷/۷ ± ۲/۵	۰/۰۰۵۱	معنی‌دار
CA1	۳۷/۲ ± ۱/۳	۶۲/۰ ± ۲/۰	۰/۰۰۴۱	معنی‌دار
CA2	۳۳/۸ ± ۱/۸	۵۴/۷ ± ۷/۶	۰/۰۲۸۰	معنی‌دار
CA3	۳۶/۰ ± ۱/۰	۶۱/۳ ± ۱/۵	۰/۰۰۱۲	معنی‌دار
CA4	۳۹/۷ ± ۱/۵	۶۰/۰ ± ۳/۰	۰/۰۱۶۰	معنی‌دار
CA5	۳۵/۰ ± ۱/۷	۶۰/۰ ± ۲/۰	۰/۰۰۶۴	معنی‌دار

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار حاصل از سه تکرار مستقل گزارش شده‌اند. مقایسه بین گروه‌های 1×MIC و 2×MIC با استفاده از آزمون paired t-test انجام شد. مقدار $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شد.

اثر پپتید Cliotide U1 بر بیان ژن‌های *ALS1* و *HWP1*

به منظور بررسی مکانیسم مولکولی اثر مهاری پپتید، سطح بیان ژن‌های کلیدی *ALS1* (مربوط به چسبندگی) و *HWP1* (مربوط به تشکیل هایفا و چسبندگی) با استفاده از Real-Time PCR اندازه‌گیری گردید. نتایج در نمودار ۱ نشان داد که پپتید Cliotide U1 به طور چشمگیری بیان هر دو ژن را در تمامی سویه های بالینی کاهش می‌دهد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که پپتید Cliotide U1 از طریق کاهش بیان ژن‌های کلیدی بیوفیلم به ویژه ژن مؤثر در تشکیل هایفا، فرآیند تشکیل بیوفیلم را مختل می‌کند.



نمودار ۱- اثر پپتید Cliotide U1 بر بیان ژن‌های *ALS1* و *HWP1* در سویه‌های *کاندیدا آلبیکنس*. سطح بیان نسبی ژن با روش Real-Time PCR اندازه‌گیری و با استفاده از ژن خانه‌دار *ACT1* به روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ نرمال‌سازی شد. گروه کنترل شامل سلول‌های تیمارنشده با پپتید بود و مقدار بیان ژن در این گروه به عنوان مبنای مقایسه برابر با ۱ در نظر گرفته شد .داده‌ها به صورت تغییرات فولد (Fold change) نسبت به گروه کنترل تیمارنشده به‌عنوان مبنای مقایسه و برابر با ۱/۰ در نظر گرفته شد.. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد از سه تکرار مستقل (n=3) ارائه شده است. ستاره‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل می‌باشند: (*p < 0/001. ؛ **p < 0/01؛*p < 0/05)**

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

بحث

یافته‌های این مطالعه نشان داد که پپتید Cliotide U1 دارای اثر ضدقارچی علیه سویه استاندارد *کاندیدا آلبیکنس* SC5314 و سویه‌های بالینی است، به‌طوری که MIC آن در محدوده ۳۲-۱۶ میکروگرو بر میلی لیتر و BIC_{50} در محدوده ۶۴-۳۲ میکروگرم بر میلی لیتر قرار داشت و در غلظت MIC×۲ پپتید موجب مهار ۵۴/۷ تا ۶۷/۷ درصدی فعالیت متابولیک سلول‌های درون بیوفیلم شد. همچنین، نتایج Real-Time PCR کاهش بیان ژن‌های کلیدی *ALS1* و *HWP1* را نشان داد که بیانگر اثر پپتید بر چسبندگی و تشکیل بیوفیلم است.

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که پپتیدهایی مانند Dermaseptin S4، hLF1-11 و synthetic killer peptide (KP) می‌توانند تشکیل بیوفیلم *کاندیدا آلبیکنس* و بیان ژن‌های مرتبط با چسبندگی و هیف را کاهش دهند (۱۲-۱۰). نتایج ما با این یافته‌ها همسو است و اثر ضدبیوفیلم Cliotide U1 را تأیید می‌کند، اگرچه دامنه غلظت مؤثر و قدرت مهار ممکن است بین پپتیدها متفاوت باشد.

یافته‌های این مطالعه نشان داد که پپتید Cliotide U1 دارای فعالیت ضد قارچی قارچ‌کشی علیه هر دو گروه سویه استاندارد و سویه های بالینی می‌باشد. MIC این پپتید در محدوده ۳۲-۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر قرار داشت. قابل توجه است که سویه بالینی CA2 با MIC برابر ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر، نسبت به سایر سویه‌ها مقاومت نسبی بالاتری نشان داد. این تنوع در حساسیت دارویی میان سویه های بالینی پدیده‌ای شایع است که می‌تواند به تفاوت‌های ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی بین سویه‌ها نسبت داده شود (۲۰).

نتایج حاصل از سنجش BIC_{50} نشان داد که مهار تشکیل بیوفیلم نیازمند غلظت‌های بالاتری از پپتید در مقایسه با مهار سلول‌های پلانکتونیک است (BIC_{50} = ۶۴-۳۲ در مقابل MIC=۳۲-۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر). این پدیده که مقاومت ذاتی بیوفیلم (Intrinsic biofilm resistance) نام دارد، به خوبی در ادبیات علمی مستند شده است (۵). چندین عامل در این مقاومت سهیم هستند که شامل ماتریکس خارج سلولی بیوفیلم (به عنوان یک سد فیزیکی از نفوذ پپتید به لایه‌های عمقی جلوگیری می‌کند)، وجود سلول‌های پایدار با متابولیسم کند (نسبت به عوامل ضد میکروبی تحمل بالایی دارند)، و بیان افتراقی ژن‌های مقاومت در سلول‌های درون بیوفیلم می باشد (۲۱). این یافته نشان می‌دهد که اگرچه بیوفیلم مقاومت بیشتری دارد، اما Cliotide U1 در غلظت‌های مورد آزمون توانست تا حدی بر مقاومت بیوفیلمی غلبه کند.

یکی از نقاط قوت این مطالعه، استفاده همزمان از دو روش مکمل کریستال ویوله و XTT (سنجش فعالیت متابولیک) برای ارزیابی مهار بیوفیلم بود. مهم‌ترین یافته این مطالعه، نشان دادن اثر مهاری چشمگیر پپتید Cliotide U1 بر بیان ژن‌های کلیدی *ALS1* و *HWP1* بود. کاهش بیان در سویه های بالینی، مکانیسم مولکولی مهار تشکیل بیوفیلم را به وضوح تبیین می‌کند. ژن *ALS1* نقش محوری در مراحل اولیه چسبندگی سلول‌های مخمر به سطوح ایفا می‌کند. کاهش بیان این ژن، توانایی قارچ برای اتصال اولیه به سطوح را به شدت مختل می‌کند که خود اولین و حیاتی‌ترین مرحله در تشکیل بیوفیلم است (۲۲). ژن *HWP1* نقشی دوگانه در چسبندگی و تشکیل هایفا دارد (۲۳). کاهش بیان *HWP1* تحت تیمار با Cliotide U1، نه تنها فرآیند چسبندگی را مختل می‌کند، بلکه مانع از تمایز به فرم هایفا شده و در نتیجه تشکیل بیوفیلم سه بعدی بالغ را متوقف می‌سازد.

مقایسه نتایج این مطالعه با تحقیقات پیشین نشان می‌دهد که Cliotide U1 از نظر فعالیت ضدبیوفیلمی با پپتیدهای شناخته شده قابل رقابت است. به عنوان مثال پپتید Dermaseptin S4 در مطالعه Samot و همکارانش در سال ۲۰۲۱ (۱۰) MIC معادل ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کاهش بیان *HWP1* را گزارش کرد. پپتید Cliotide U1 با کاهش بیان *HWP1* عملکردی مشابه این پپتیدها از خود نشان داد.

این مطالعه دارای محدودیت‌هایی نیز می‌باشد. اولاً، تمام آزمایشات به صورت برون‌تن (*in vitro*) انجام شده است و اثربخشی پپتید در مدل‌های درون‌تن (*in vivo*) مانند مدل‌های حیوانی کاندیدیازیس تأیید نشده است. ثانیاً، مکانیسم دقیق اثر

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

پپتید بر مسیرهای مولکولی تنظیم‌کننده بیان ژن‌های *ALS1* و *HWP1* نیازمند مطالعات بیشتری است. نقاط ضعف مطالعه حاضر شامل تعداد محدود سویه‌های بالینی، بررسی تعداد محدودی از ژن‌های مرتبط با تشکیل بیوفیلم و عدم بررسی مکانیسم دقیق اثر پپتید بر مسیرهای مولکولی تنظیم‌کننده بیوفیلم می‌باشد. همچنین، اثر ترکیبی Cliotide U1 با داروهای ضدقارچی رایج و اثر آن بر سایر گونه‌های *کاندیدا* در این مطالعه بررسی نشده است.

نتیجه‌گیری

پپتید Cliotide U1 دارای فعالیت ضدقارچی و ضدبیوفیلمی علیه *کاندیدا آلبیکنس* است و قادر به کاهش بیان ژن‌های کلیدی *ALS1* و *HWP1* می‌باشد. این پپتید می‌تواند به‌عنوان کاندیدای امیدوارکننده برای مطالعات تکمیلی در کنترل عفونت‌های مرتبط با بیوفیلم مطرح شود. با این حال، با توجه به اینکه مکانیسم اثر به‌طور مستقیم در این مطالعه بررسی نشده است، انجام مطالعات تکمیلی برای روشن شدن مسیرهای دقیق اثرگذاری پپتید پیشنهاد می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه، در دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بررسی، و با کد اخلاق IR.SBMU.MSP.REC.1403.439 ثبت شده است.

منافع مالی

این کار با حمایت مالی یک کمک‌هزینه تحقیقاتی از سوی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران، ایران با شماره ۴۳۰۱۲۰۸۴ انجام شده است. سازمان تأمین‌کننده اعتبار هیچ نقشی در طراحی پروژه، اجرای کار، تحلیل‌ها، تفسیر داده‌ها و نگارش و ارسال نسخه خطی نداشته است.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل بخشی از پایان‌نامه شماره ۱۲۳۹۴۸۴۴۱۳۲۵۱۲۰۳۷۳۰۳۸۱۶۳۱۶۳۱۸۷۰۷۸ خانم نیلوفر رادمنش برای دریافت درجه دکتری تخصصی در رشته زیست شناسی- میکروبیولوژی از دانشکده علوم و فناوری‌های همگرا دانشگاه علوم و تحقیقات بود.

از مشارکت‌کنندگان محترم و تمامی بزرگوارانی که در اجرای پژوهش حاضر ما را یاری نمودند، سپاسگزاریم.

تعارض منافع

نویسندگان، تعارض منافعی را گزارش نکرده‌اند.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

References

1. Pariano M, Puccetti M, Fabi C, Nunzi E, Balucchi S, Perioli L, Ricci M, Giovagnoli S, Garaci E, Romani L. Updates on *Candida albicans* infections: pathogenesis, resistance, and emerging nanopharmaceutical strategies. Expert Review of Anti-infective Therapy. 2025 Oct 3;23(10):951-67.

2. Rivas-Pinedo P, Motta JC, Gutierrez JM. Invasive candidiasis in contexts of armed conflict, high violence, and forced displacement in latin america and the caribbean (2005–2025). Journal of Fungi. 2025 Aug 6;11(8):583.

3. Amann V, Kissmann AK, Firacative C, Rosenau F. Biofilm-associated candidiasis: pathogenesis, prevalence, challenges and therapeutic options. Pharmaceuticals. 2025 Mar 25;18(4):460.

4. Atriwal T, Azeem K, Husain FM, Hussain A, Khan MN, Alajmi MF, Abid M. Mechanistic understanding of *Candida albicans* biofilm formation and approaches for its inhibition. Frontiers in Microbiology. 2021 Apr 30;12:638609.

5. Ramage G, Kean R, Rautemaa-Richardson R, Williams C, Lopez-Ribot JL. Fungal biofilms in human health and disease. Nature Reviews Microbiology. 2025 Jun;23(6):355-70.

6. Hamady A, Marei Y. Detection of als1 and hwp1 genes involved in biofilm formation in *Candida albicans* isolated from catheter associated candiduria. Microbes and Infectious Diseases. 2021 Aug 1;2(3):558-66.

7. Nas T, Kalkanci AY, Fidan IŞ, Hizel K, Bolat S, Yolbakan S, Yilmaz E, Ozkan S, Kustimur S. Expression of ALS1, HWP1 and SAP4 genes in *Candida albicans* strains isolated from women with vaginitis. Folia Microbiol (Praha). 2008 Jan 1;53(2):179-83.

8. Sharma A, Singh G, Bhatti JS, Gill SK, Arya SK. Antifungal peptides: Therapeutic potential and challenges before their commercial success. International Journal of Biological Macromolecules. 2025 Jan 1;284:137957.

9. Guisso LP, Ribeiro NP, Carmona WR, Roseno AC, Pessan JP, Monteiro DR. Novel Therapeutic Approaches to Control Fungal Biofilms. InFungal Biofilms 2025 Jun 7 (pp. 239-279). Cham: Springer Nature Switzerland.

10. Samot J, Rouabhia M. Effect of dermaseptin S4 on C. albicans growth and EAP1 and HWP1 gene expression. Probiotics and antimicrobial proteins. 2021 Feb;13(1):287-98.

11. Morici P, Fais R, Rizzato C, Tavanti A, Lupetti A. Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation by the synthetic lactoferricin derived peptide hLF1-11. PloS one. 2016 Nov 30;11(11):e0167470.

12. Paulone S, Ardizzoni A, Tavanti A, Piccinelli S, Rizzato C, Lupetti A, Colombari B, Pericolini E, Polonelli L, Magliani W, Conti S. The synthetic killer peptide KP impairs *Candida albicans* biofilm in vitro. PLoS One. 2017 Jul 13;12(7):e0181278.

13. Taheri MN, Seyedjavadi SS, Goudarzi M, Ebrahimipour G, Hashemi A. Cliotide U1, a Novel Antimicrobial Peptide Isolated From Urtica Dioica Leaves. Bioinformatics and biology insights. 2025 Jan;19:11779322251315291.

14. Hall GS. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 13th edn.

15. CLSI. 2017. *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts*. M27 4th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.

16. Roscetto E, Masi M, Esposito M, Di Lecce R, Delicato A, Maddau L, Calabrò V, Evidente A, Catania MR. Anti-biofilm activity of the fungal phytotoxin sphaeropsidin A against clinical isolates of antibiotic-resistant bacteria. Toxins. 2020 Jul 8;12(7):444.

17. Ramage G, Vande Walle K, Wickes BL, López-Ribot JL. Standardized method for in vitro antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* biofilms. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2001 Sep 1;45(9):2475-9.

18. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2− ΔΔCT method. methods. 2001 Dec 1;25(4):402-8.

19. Jones B, Montgomery DC. Design of experiments: A modern approach. (No Title). 2020.

20. Gerstein AC, Berman J. *Candida albicans* genetic background influences mean and heterogeneity of drug responses and genome stability during evolution in fluconazole. Msphere. 2020 Jun 24;5(3):10-128.

21. Silva S, Rodrigues CF, Araújo D, Rodrigues ME, Henriques M. *Candida* species biofilms' antifungal resistance. Journal of Fungi. 2017 Feb 21;3(1):8.

22. Hoyer LL. The ALS gene family of *Candida albicans*. Trends in microbiology. 2001 Apr 1;9(4):176-80.

23. Sundstrom P. Adhesion in *Candida* spp. Cellular microbiology. 2002 Aug;4(8):461-9.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]