Journal of Birjand University of Medical Sciences

Birjand University of Medical Sciences

ایم

Short Communication

Evaluation of the antifungal effect of thymoquinone on standard *Candida* strains and cytotoxicity on the fibroblastic cell line, in vitro study

Safiyeh Golzar Yadegary[1], Fahimeh Ghasemi[2], Fatemeh Nikoomanesh[3]*

ABSTRACT

The present study aimed to assess the antifungal effect and compare different concentrations of thymoquinone on standard *Candida* strains, including *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilopsis*, and *Candida tropicalis*, and investigate the toxicity of thymoquinone on fibroblastic cell lines in laboratory conditions. The present in vitro study was designed to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimal fungicidal concentration (MFC) of thymoquinone in dilutions of 0.13-70 µg/ml on four yeast strains of *Candida* including *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida glabrata* (ATCC2001), *Candida tropicalis* (ATCC 200956), and *Candida parapsilosis* (ATCC22019) by broth microdilution method. The MTT test was used to evaluate the cytotoxicity of thymoquinone and fibroblast cell line. The results of MIC and MFC examinations of thymoquinone demonstrated that *Candida albicans* is more sensitive than other strains to thymoquinone (MIC: 2.18 µg/ml, MFC: 4.37 µg/ml) and cytotoxicity of thymoquinone on fibroblast cell line illustrated that the lowest toxicity was in 31.72 µg/ml and the highest toxicity was in 13.07 µg/ml. As a result, according to the MIC and MFC, these concentrations were non-toxic on the fibroblast cell line. As evidenced by the results of the present study, thymoquinone in specified concentrations had an inhibitory and fungicidal effect on *Candida* strains with the most negligible toxicity on the fibroblastic cell line.

Keywords: *Candida* spp, Cytotoxicity, *In vitro*, Thymoquinone

Citation: Ghasemi F, Golzar Yadegary S, Nikoomanesh F. [Evaluation of the antifungal effect of thymoquinone on standard *Candida* strains and cytotoxicity on the fibroblastic cell line, in vitro study]. J Birjand Univ Med Sci. 2024; 31(3): 234-241. [Persian]

DOI 10.61186/JBUMS.31.3.234

Received: June 26, 2024 **Accepted:** September 29, 2024

[1] Student Research Committee, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
[2] Department of Medical Biotechnology, School of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
[3] Cellular and Molecular Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

***Corresponding author:** Cellular and Molecular Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
Tel: +5632381549 Fax: +5632433004 E-mail: g.nikoomanesh@yahoo.com

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.3.234]

مقاله کوتاه

بررسی اثر ضدقارچی تیموکینون بر روی سویه‌های استاندارد *کاندیدا* و میزان سمیت بر روی رده سلولی فیبروبلاستی در شرایط آزمایشگاهی

صفیه گلزار یادگاری[1]، فهیمه قاسمی[2]، فاطمه نیکومنش[3]*

چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر ضدقارچی و مقایسه غلظت‌های مختلف تیموکینون بر روی سویه‌های استاندارد کاندیدا از جمله *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا*، *کاندیدا پاراپسیلوپسیس* و *کاندیدا تروپیکالیس* و بررسی سمیت تیموکینون بر روی رده سلولی فیبروبلاستی در شرایط آزمایشگاهی طراحی شده است. در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی جهت بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) تیموکینون در رقت‌های ۷۰-۰/۱۳ میکرولیتر بر میلی لیتر در محیط RPMI و از روش میکرودایلوشن براث بر روی چهار سویه قارچ مخمری کاندیدا شامل *کاندیدا آلبیکنس* (ATCC 10231)، *کاندیدا گلابراتا* (ATCC2001)، *کاندیدا تروپیکالیس* (ATCC 200956)، *کاندیدا پاراپسیلوزیس* (ATCC22019) استفاده شده است. برای ارزیابی سمیت سلولی تیموکینون از تست MTT و رده سلولی فیبروبلاستی استفاده شد. نتایج بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) حداقل غلظت کشندگی (MFC) تیموکینون بر روی سویه‌های کاندیدا نشان داد، *کاندیدا آلبیکنس* دارای حساسیت بیشتری نسبت به سایر سویه به تیموکینون (میکرولیتر بر میلی‌لیتر MIC: ۲/۱۸ و میکرولیتر بر میلی‌لیتر MFC:۴/۳۷) دارد. در ارزیابی سمیت سلولی تیموکینون بر روی رده سلولی فیبروبلاستی دارای کمترین سمیت در غلظت ۴/۳۷ میکرولیتر بر میلی‌لیتر بوده و بیشترین سمیت را در غلظت ۷۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر داشته است که با توجه به غلظت‌های MIC و MFC این غلظت‌ها عدم سمیت بر روی رده سلولی فیبروبلاستی بوده‌اند. همان‌طور که نتایج مطالعه حاضر نشان داده است تیموکینون در غلظت‌های مشخص شده دارای اثر مهارکنندگی و کشندگی بر روی سویه‌های *کاندیدا* با کمترین سمیت بر روی رده سلولی فیبروبلاستی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: کاندیدا، سمیت سلولی، برون‌تنی، تیموکینون

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۳؛ ۳۱ (۳): ۲۴۱-۲۳۴.

دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۰۶ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۰۸

[1] کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

[2] گروه زیست فناوری پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

[3] مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

***نویسنده مسئول:** مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

آدرس: خراسان جنوبی- بیرجند- دانشگاه علوم پزشکی بیرجند- دانشکده پزشکی

تلفن: ۰۵۶۳۲۳۸۱۵۴۹ نمابر:۰۵۶۳۲۴۳۳۰۰۴ پست الکترونیکی:g.nikoomanesh@yahoo.com

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.3.234]

مقدمه

بروز عفونت‌های قارچی در سال‌های اخیر به دلیل استفاده گسترده از شیمی درمانی‌ها و داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی در درمان بیماری‌های بدخیم و پیوند اعضا به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است. علاوه بر این ظهور پاتوژن‌های قارچی مقاوم به داروهای ضد قارچی و افزایش دوز دارو در درمان، عوارض جانبی دارو و مرگ و میر را در بیماران افزایش داده است. لذا موجب محدودیت در انتخاب مناسب داروهای ضدقارچی جهت درمان عفونت‌های قارچی شده است (۱).

ازجمله داروهای ضدقارچی گروه آزول‌ها هستند؛ اما اخیراً، پیدایش سویه‌های قارچی مقاوم به آزول باعث حذف آن‌ها شده است). داروی بعدی آمفوتریسین B است. آمفوتریسینB (آنتی‌بیوتیک پلی ین) داروی"استاندارد طلایی"برای عفونت‌های قارچی سیستمیک و عمیق بوده است؛ اما سمیت حاد کبدی و کلیوی استفاده از آن را در انسان محدود می‌کند. امروزه افزایش مصرف این داروهای ضدقارچی باعث ایجاد مقاومت دارویی، سمیت بالا و افزایش هزینه‌های درمان شده است از این رو، نیاز مبرمی به یافتن ترکیبات ضدقارچ ایمن و مؤثر وجود دارد (۳و ۲).

سیاهدانه (*Nigella sativa*) گیاهی است از خانواده آلاله (*Ranunculaceae*) که در طب سنتی در درمان بیماری‌های مختلفی مورد استفاده قرار می‌گیرد. بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که بسیاری از خواص درمانی سیاهدانه، مربوط به تیموکینون، مهم‌ترین ماده مؤثر موجود در اسانس دانه‌های این گیاه می‌باشد (۴). تیموکینون، یک ترکیب کینونی فعال است که اثرات فارماکولوژیک متعددی تاکنون برای آن شناخته شده است ؛از جمله مهم‌ترین اثرات تیموکینون، می‌توان به اثرات ضدایسکمی، ضدتشنجی، ضددردی، ضدالتهابی، ضدسرطانی و ضدمیکروبی (ضدقارچی) اشاره کرد. تیموکینون به عنوان ماده مؤثر عصاره سیاه دانه، فعالیت خود را در برابر انواع پاتوژن‌های قارچی از جمله *کاندیدا آلبیکنس* و *آسپرژیلوس فومیگاتوس* نشان داده‌اند (۵–۷). با این وجود شواهد و گزارش‌های اندکی در ارتباط با اثر ضدقارچی تیموکینون بر روی سایر گونه‌های قارچی در دست می‌باشد.

تاکنون مطالعات اندکی در مورد اثرات ضدقارچی تیموکینون انجام شده است. بدین ترتیب در مطالعه حاضر سعی شده است اثر ضدقارچی تیموکینون ماده مؤثر از گیاه سیاه دانه در مهارکنندگی و کشندگی بر روی چهار سویه کاندیدا شامل *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیداگلابراتا*، *کاندیدا تروپیکالیس* و *کاندیدا پاراپسیلوپسیس* بررسی شود.

روش تحقیق

طراحی مطالعه

در این مطالعه آزمایشگاهی ابتدا پس از دریافت مجوز از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بیرجند به شماره IR. BUMS. REC. 1401.144 از سویه های استاندارد از گونه‌های کاندیدا شامل: *کاندیدا آلبیکنس* (ATCC 10231)، *کاندیدا گلابراتا* (ATCC2001)، *کاندیدا تروپیکالیس* (ATCC 200956)، *کاندیدا پاراپسیلوزیس* (ATCC22019) برای مطالعه استفاده شده است. (سویه‌های مورد استفاده از انیستیتو پاستور ایران خریداری شده است و گونه سویه‌ها با استفاده از تست‌های تأییدی مانند کشت بر روی محیط کروم آگار، جرم تیوب و تکنیک مولکولی با استفاده از پرایمرهای اختصاصی گونه شناسایی و تأیید شده‌اند).

احیاء سویه‌های استاندارد کاندیدا

در ابتدا جهت احیاء و تهیه سوسپانسیون سلولی از سویه‌های قارچی از کشت تازه بر روی محیط سابورودکستروز (Merck, Germany) انجام شد. کشت‌ها در محدوده دمایی ۳۷–۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از ۲۴ ساعت از کشت‌های تازه، سوسپانسیون سلولی قارچی با شمارش سلولی توسط لام نئوبار، با غلظتی حدود $۲–۵/۵ \times ۱۰^{۳}$cfu/ml تهیه شد.

بررسی کمترین غلظت مهارکنندگی[1] و کشندگی[2]

جهت بررسی مهارکنندگی تیموکینون (Sigma Aldrich,

[1] Minimum Inhibitory Concentration
[2] Minimum Fungicidal Concentration

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.3.234]

(US) ، تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) تیموکینون به روش میکرو دایلوشن براث طبق پروتکل CLSI (M27,A3) در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای انجام شد (۸). تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) تیموکینون، در داخل پلیت ۹۶ خانه‌ای، به ترتیب در رقت‌های ۷۰، ۳۵، ۱۷/۵، ۸/۷۵، ۴/۳۷، ۲/۱۸، ۱/۰۹، ۰/۵۴، ۰/۲۷ و ۰/۱۳ میکرولیتر بر میلی‌لیتر در محیط RPMI تهیه شدند. سپس به هر یک از چاهک‌های حاوی غلظت مشخص ۱۰ میکرولیتر (10^{3}~ سلول در میکرولیتر) سوسپانسیون سلول قارچ افزوده شد. پس از انکوباسیون در ۳۷ °C به مدت ۲۴ ساعت، آخرین چاهک حاوی رقتی که قادر به عدم رشد میکروارگانیسم باشد به عنوان (MIC) در نظر گرفته شد و از آخرین چاهک عدم رشد بر روی محیط سابورودکستروز آگار حاوی کلرآمفنیکل جهت تعیین MFC کشت داده شد. همه نمونه‌ها جهت دقت بیشتر به صورت سه مرتبه تکرار آزمایش شدند. رشد و عدم رشد کلیه میکروپلیت‌ها در طی دو روز متوالی بررسی شد. به عنوان کنترل دارویی از ایتراکونازول استفاده شد.

بررسی سمیت تیموکینون بر روی رده سلولی فیبروبلاست

برای ارزیابی سمیت سلولی تیموکینون، آزمایش MTT انجام شد. در ابتدا در مطالعه حاضر جهت کشت سلول‌های فیبروبلاسیت انسانی از محیط DMEM حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS) استفاده شد. به منظور تهیه ۱۰۰ میلی‌لیتر در محیط کشت حاوی ۱۰٪ سرم (محیط کشت کامل)، ۱۰ میلی‌لیتر از FBS به ۹۰ میلی‌لیتر محیط کشت DMEM اضافه شد. به منظور جلوگیری از آلودگی باکتریایی ۱ میلی‌لیتراز مخلوط آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سلین / استرپتومایسین 100X به محیط کشت اضافه شد. سپس سلول‌ها داخل انکوباتور دارای ۵٪CO_2 با رطوبت و دمای ۳۷ °C انکوبه شدند. پس از مدت انکوباسیون ۷۰۰۰ سلول فیبروبلاست در پلیت ۹۶ خانه کشت شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت غلظت‌های مختلف ۷۰- ۲/۱۸ میکرولیتر بر میلی‌لیتر تیموکینون به سلول‌ها اضافه شد. درصد سلول‌های زنده در هر یک از غلظت‌ها پس از ۲۴ ساعت با روش MTT اندازه‌گیری شد. جهت دقت بیشتر به صورت سه مرتبه تکرار آزمایش شدند (۹). لازم به ذکر است در هر پلیت حداقل ۳ چاهک به عنوان کنترل بدون تیمار در نظر گرفته شد که مشابه چاهک‌های گروه‌های تیمار ۷۰۰۰ سلول در هر یک از آن‌ها کاشته شد؛ اما هر بار تنها با محیط کامل بدون دارو تعویض محیط شدند.

بررسی درصد سلول‌های زنده با استفاده از تست MTT

درون پلیت ۹۶ خانه‌ای ۲۰۰ میکرو لیتر رده سلولی مورد نظر را در ته پلیت ریخته و غلظت‌های تعیین شده از تیموکینون به هر کدام از چاهک‌ها افزوده شد سپس ۲۴ ساعت در انکوباتور Co2 دار در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از این مدت ۲۰ میکرولیتر از نمک تترازولیوم به چاهک‌ها اضافه شد و مجدد ۴ ساعت در ۳۷ درجه انکوبه گردید. بعد از مدت انکوباسیون ۱۰٪ DMSO به چاهک‌ها افزوده و در ۶۳۰nm و۵۷۰ با دستگاه الیزا ریدر (Stat Fax; Germany) Fax 2000 قرائت شد. کنترل حاوی محیط کشت سلول به اضافه نمک تترازولیوم می‌باشد. جذب نوری چاهک‌ها با جذب نوری کنترل مقایسه شد و درصد سلول‌های زنده با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

٪سلول‌های زنده=جذب نوری سلول‌های تیمار شده/جذب نوری کنترل×۱۰۰

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

در مطالعه آزمایشگاهی حاضر نتایج به صورت توصیفی (درصد) محاسبه و گزارش شده ست.

یافته‌ها

حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی (MIC/ MFC) تیموکینون بر روی سویه‌های قارچ کاندیدا

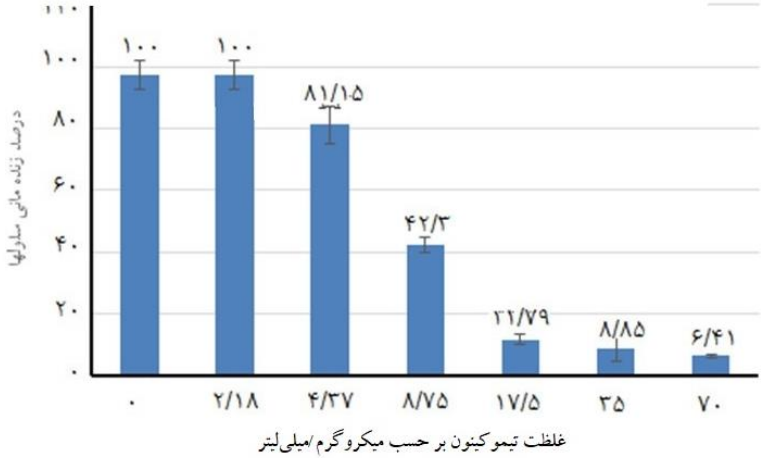
اثر مهارکنندگی رشد (MIC) و کشندگی (MBC) تیموکینون

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.3.234]

بر روی سویه‌های استاندارد *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا*، *کاندیدا پاراپسیلوپسیس* و *کاندیدا تروپیکالیس* با روش میکرودایلوشن براث انجام شد. همان‌طور که در جدول یک مشخص شده است غلظت ۲/۱۸ میکرولیتر بر میلی‌لیتر تیموکینون دارای اثر مهارکنندگی رشد بر روی *کاندیدا آلبیکنس* بوده است و نیز در غلظت ۳۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر دارای اثر مهارکنندگی رشد بر روی *کاندیدا گلابراتا* می‌باشد. به همین ترتیب تیموکینون دارای اثر کشندگی در غلظت‌های ۴/۳۷ و ۷۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر بر روی *کاندیدا آلبیکنس* و *گلابراتا* می‌باشد.

جدول ۱- نتایج مهارکنندگی و کشندگی (MIC, MFC) تیموکینون بر روی سویه استاندارد *کاندیدا آلبیکنس*، *کاندیدا گلابراتا*، *کاندیدا پاراپسیلوپسیس و کاندیدا تروپیکالیس*

سویه کاندیدا	تیموکینون (µg/ml)	
	MIC	MFC
کاندیدا آلبیکنس	۲/۱۸	۴/۳۷
کاندیدا گلابراتا	۳۵	۷۰
کاندیدا پاراپسیلوپسیس	۱۷/۵	۳۵
کاندیدا تروپیکالیس	۸/۷۵	۱۷/۵



شکل ۱- نتایج اثر سمیت سلولی تیموکینون بر روی رده سلولی فیبروبلاست

نتایج بررسی سمیت سلولی تیموکینون

نتایج بررسی سمیت غلظت‌های مختلف تیموکینون بر روی رده سلولی فیبروبلاستی در طی ۲۴ ساعت بر روی شکل ۱ نشان داده شده است.

نتایج نشان داد که تیموکینون در غلظت ۲/۱۸ میکرولیتر بر میلی‌لیتر فاقد اثر کشندگی بر روی رده سلولی می‌باشد و درصد سلول‌های زنده ۱۰۰ درصد محاسبه شد. در صورتی که در غلظت‌های ۷۰- ۸/۷۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر تعداد سلول‌های زنده روند کاهشی زیر ٪۵۰ بوده است و در غلظت ۷۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر کمترین تعداد سلول زنده یعنی ۶/۴۱ درصد محاسبه شد.

IC501 تیموکینون بر روی سلول‌های فیبروبلاستی ۷/۶۸ به‌دست آمد.

بحث

در سال‌های اخیر، به علت شیوع گونه‌های کاندیدای مقاوم در برابر داروهای ضدقارچی متداول که در درمان عفونت‌های قارچی استفاده می‌شد، کاربرد این داروها متأسفانه با شکست درمان و یا کاهش اثر مواجه شد. مقاومت دارویی موجب می‌شود که داروهای ضدمیکروبی که پیش از این در درمان عفونت‌ها موفق عمل

[1] Half maximum inhibitory concentration

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.3.234]

می‌کردند، در حال حاضر ناکارآمد و از لیست گزینه‌های درمان خارج شود. از سوی دیگر مقاومت دارویی باعث هزینه‌های گزاف درمان در جوامع می‌شود (۱۱و ۱۰). از این رو محققین سعی دارند که آنتی‌میکروبیال‌های مؤثر با نقطه اثر بیشتر در مقابل مقاومت دارویی را شناسایی کنند. امروزه مطالعه بر روی روش‌ها و ترکیبات فرعی با پایه طبیعی که عوارض جانبی کمتر داشته باشد یکی از موضوعات جذاب تحقیقات در دهه‌های اخیر بوده است (۳)

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تیموکینون دارای اثر مهارکنندگی و کشندگی بر روی سویه‌های مورد آزمون شده است. بدین ترتیب تیموکینون بر روی کاندیدا آلبیکنس و پس از آن کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا پاراپسیلوپسیس اثر مهارکنندگی و کشندگی بیشتری نسبت به کاندیدا گلابراتا نشان داد.

در مطالعه رهسپار در سال ۲۰۲۲، با هدف بررسی اثر ضدقارچی تیموکینون-زئین نانوپارتیکل اثر ضد کاندیدیایی تیموکینون خالص بر روی سویه کاندیدا آلبیکنس (ATCC10231)، ۷/۴ میکرولیتر بر میلی‌لیتر گزارش کردند (۱۲) و نیز در مطالعه نوری و همکارانش در سال ۲۰۲۳، نشان داد، تیموکینون اثر مهار کنندگی در غلظت ۵۰میکرولیتر بر میلی‌لیتر بر روی ایزوله سویه استاندارد گونه کاندیدا گلابراتا داشته است (۵). در مقایسه نتایج مطالعات مذکور با نتایج مطالعه حاضر در مورد سویه کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا گلابراتا هم‌خوانی داشته است. در مطالعه Almshawit و همکارانش در سال ۲۰۱۷، با هدف بررسی استرس اکسیداتیو تیموکینون در مهارکنندگی رشد بر روی سویه‌های کاندیدا، حداقل غلظت مهارکنندگی رشد برای سویه کاندیدا آلبیکنس ۵۰ میکرولیتر بر میلی لیتر و سویه کاندیدا گلابراتا ۲۵-۱۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر گزارش کردند که نتایج این مطالعه با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی نداشته است (۱۳).

در مطالعات انجام شده بر روی مکانیسم ضدمیکروبی تیموکینون این احتمال وجود دارد که تیموکینون با استفاده از واکنش استرس اکسیداتیو و تولید رادیکال فعال اکسیژن و بالا بردن سطح احیاء گلوتاتیون، اختلال عملکرد میتوکندری منجر به مرگ سلول می‌شود. در مطالعه Kaypetch نشان دادند، مواجهه کاندیدا البیکنس با غلظت ۳۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر از تیموکینون باعث اختلال در دیواره سیتوپلاسمی و دیواره سلولی می‌شود و در اثر ROS1 و NO2 سیتوپلاسم و هسته دچار از هم پاشیدگی می‌شوند و در نهایت مرگ سلول را باعث می‌شود (۱۴). لذا تاکنون مطالعات اندکی در بررسی اثر سمیت تیموکینون بر روی رده سلولی انسانی انجام شده است. از این رو در مطالعه حاضر اثر سمیت سلولی غلظت‌های تیموکینون در بررسی اثر مهارکنندگی رشد سویه‌های کاندیدا بر روی رده سلولی فیبروبلاستی نیز بررسی شده است. نتایج نشان داد که تیموکینون در غلظت ۲/۱۸ میکرولیتر بر میلی لیتر فاقد اثر کشندگی بر روی رده سلولی می‌باشد. لذا تیموکینون در غلظت MIC کاندیدا آلبیکنس فاقد اثر سمیت می‌باشد و با افزایش غلظت تیموکینون موجب کاهش سلول‌های زنده کمتر از ۵۰٪ می‌باشد.

در سال‌های اخیر، درمان بیماری‌های ناشی از گونه‌های کاندیدا به واسطه شیوع سویه‌های مقاوم به برخی از داروهای ضدقارچی، یکی از چالش‌های درمان می‌باشد. فراوانی سایر گونه‌های غیرآلبیکنس به واسطه درمان‌های نابجا (در مواردی که عامل اتیولوژیکی شناخته نشده است) درمان با دوز کم دارو، طولانی بودن مدت درمان، تداخلات دارویی و نیز خصوصیات فیزیولوژیک ارگانیسم مانند تشکیل بیوفیلم، تغییر در ژن‌های کد کننده pump efflux ها، باعث بروز مقاومت به یک یا چند داروی ضدقارچی در سویه‌های کاندیدا گلابراتا شده است. از این رو سویه کاندیدا گلابراتا به‌عنوان مقاوم‌ترین سویه کاندیدا به عوامل ضد قارچی شناخته شده است. در یک مطالعه اخیر میزان مقاومت بالا در کاندیدا گلابراتا، تا ۶۰ درصد برای فلوکونازول، ۸۳ درصد برای ایتراکونازول و ۴۴ درصد برای وریکونازول گزارش شده است (۱۵).

نتیجه‌گیری

همان‌طور که نتایج مطالعه حاضر نشان داده است تیموکینون در غلظت‌های بیشتر از ۲/۱۸ میکرولیتر بر میلی‌لیتر دارای اثر مهارکنندگی و کشندگی بر روی چهار سویه *کاندیدا* مورد مطالعه می‌باشد. از سوی دیگر تیموکینون در غلظت کمتر فاقد سمیت بر روده رده سلول فیبروبلاستی می‌باشد؛ لذا پیشنهاد می‌شود از این

[1] Reactive Oxygen Species
[2] Nitric Oxide

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.3.234]

ماده می‌توان به عنوان یک ماده مؤثر گیاهی به تنهایی و یا همراه با سایر داروهای رایج در درمان عفونت‌های کاندیدیایی بهره گرفت.

تقدیر و تشکّر

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند به دلیل پشتیبانی و حمایت بی‌دریغشان در مورد این مطالعه کمال تشکر را داریم.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر پس از تأیید شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند و کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بیرجند با کد IR. BUMS. REC. 1401.144 انجام شد.

حمایت مالی

پژوهش حاضر با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند با کد پایان‌نامه ۴۵۶۷۸۲ به انجام رسیده است.

مشارکت نویسندگان

فهیمه قاسمی: نگارش پروپوزال، انجام تست‌های سمیت سلولی و نگارش اولیه مقاله

صفیه گلزار یادگاری: نگارش پروپوزال، انجام آزمایش‌ها و تفسیر نتایج و نگارش اولیه مقاله

فاطمه نیکومنش: طراحی موضوع تحقیق، نگارش و ادیت پروپوزال، انجام مطالعات آزمایشگاهی و تفسیر نتایج، نگارش و اصلاحات مقاله

همه نویسندگان نسخه نهایی مقاله را تأیید نمودند.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Roudbary M, Kumar S, Kumar A, Cernáková L, Nikoomanesh F, Rodrigues CF. Overview on the Prevalence of Fungal Infections, Immune Response, and Microbiome Role in COVID-19 Patients. J. Fungi. 2021; 7(9): 720.DOI: 10.3390/jof7090720
2. Kadkhodaei M, Sharif MR, Saba MA, Mousavi GA. Assessing the nosocomial infections'rate and the antibiotic resistance pattern among the patient hospitalized in Beheshti Hospital during 2013. Int Arch Health Sci. 2018; 5(1): 11-5. DOI: 10.4103/iahs.iahs_39_17
3. Ebrahimzadeh A, Allahyari E, Nikoomanesh F, Zare_Bidaki M. A Comparative Analysis of Nosocomial Infections between Internal and Surgical Intensive Care Units of a University Hospital in Birjand, Iran from 2015 to 2016: A Retrospective Study. J Bas Res Med Sci. 2021; 8(4):32-41 DOI: 10.21203/rs.3.rs-42477/v1
4. Erboga M, Kanter M, Aktas C, Sener U, Erboga ZF, Donmez YB, et al. Thymoquinone ameliorates cadmium-induced nephrotoxicity, apoptosis, and oxidative stress in rats is based on its anti- apoptotic and anti-oxidant properties. Biol Trace Elem Res. 2016; 170(1): 165-72. DOI: 10.1007/s12011-015-0453-x
5. Nouri N, Mohammadi SR, Beardsley J, Aslani P, Ghaffarifar F, Roudbary M, et al. Thymoquinone Antifungal Activity against Candida glabrata Oral Isolates from Patients in Intensive Care Units-An In Vitro Study. Metabolites. 2023; 13(4): 580. DOI: 10.3390/metabo13040580
6. Khan MA, Aldebasi YH, Alsuhaibani SA, AlSahli MA, Alzohairy MA, Khan A, et al. Therapeutic potential of thymoquinone liposomes against the systemic infection of Candida albicans in diabetic mice. PLoS One. 2018; 13(12): e0208951. DOI: 10.1371/journal.pone.0208951
7. Ksiezopolska E, Gabaldón T. Evolutionary emergence of drug resistance in Candida opportunistic pathogens. Genes. 2018; 9(9): 461. DOI: 10.3390/genes9090461

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.3.234]

8. dos Santos ER, Dal Forno CF, Hernandez MG, et al Suscetibilidade de Candida spp. isoladas de hemocultivos, Avaliadas pelos breakpoints dos documentos M27-A3 e M27-S4 do CLSI. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2014; 56(6): 477–82. DOI: 10.1590/S0036-46652014000600004

9. Zarimeidani R, Roudbar mohammadi S, Roudbary M, Nikoomanesh F, Aslani P, Yaalimadad S. In-Vitro Antifungal Activity of Nano Encapsulated Caprylic Acid and EFG1 Gene Expression Profile in Candida albicans. Infect epidemiol microbiol. 2021; 7(3): 229-36. DOI: 10.52547/iem.7.3.229

10. Fisher MC, Alastruey-Izquierdo A, Berman J, Bicanic T, Bignell EM, Bowyer P, *et al.* Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health. *Nat Rev Microbiol.* 2022; 20(9): 557–71 DOI: 10.1038/s41579-022-00720-1

11. Beardsley J, Halliday CL, Chen SC, Sorrell TC. Responding to the emergence of antifungal drug resistance: perspectives from the bench and the bedside. Future Microbiol. 2018; 13(10): 1175-91. DOI: 10.2217/fmb-2018-0059

12. Rahsepar S, Delavari H, Roudbari M, Mohammad Hassan Z. Design and Synthesis of Novel Thymoquinone-Zein Nanoparticles; Evaluation of the Inhibitory Effect on Candida albicans and Biofilm Formation in Vitro. Infect. epidemiol. microbiol. 2022; 8(2): 169-76. DOI: 10.52547/iem.8.2.169

13. Almshawit H, Macreadie I. Fungicidal effect of thymoquinone involves generation of oxidative stress in Candida glabrata. Microbiol Res. 2017; 195: 81-8. DOI: 10.1016/j.micres.2016.11.008

14. Kaypetch R, Rudrakanjana P, Churnjitapirom P, Tua-Ngam P, Tonput P, Tantivitayakul P. Geraniol and thymoquinone inhibit Candida spp. biofilm formation on acrylic denture resin without affecting surface roughness or color. J Oral Sci. 2022; 64(2): 161-6. DOI: 10.2334/josnusd.21-0435

15. Malani A, Hmoud J, Chiu L, Carver PL, Bielaczyc A, Kauffman CA. Candida glabrata fungemia: experience in a tertiary care center. Clinical infectious diseases. 2005; 41(7): 975-81. DOI: 10.1086/432939

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.3.234]