

بررسی اثر میدان شعوری فرادرمانی بر رده سلولی MDA-MB-231 (سرطان پستان)

محمدعلی طاهری^۱، ناهید مددی-گلی^۲، کمال احمدی^{۳*}

* نویسنده مسئول: کمال احمدی، بخش میکروبی شناسی انستیتوپاستور، انستیتو پاستور تهران، ایران،

ایمیل: kamal.ahmadi55@yahoo.com

DOI: doi.org/10.61450/joci.FA.v2i10.148

۱- بخش تحقیق و توسعه Sciencefact، مرکز تحقیقات Cosmointel Inc،

انتاریو، کانادا

۲- بخش میکروبی شناسی انستیتوپاستور، انستیتو پاستور تهران، ایران

چکیده

سرطان پستان شایع‌ترین بدخیمی زنان در دنیا و یک بیماری چند عاملی است که عوامل مختلفی در ایجاد آن دخیل می باشد. میدان شعوری فرادرمانی (FCF) توسط محمدعلی طاهری بنیانگذاری شده است که نه انرژی است و نه ماده و همچنین فاقد کمیت است، بنابراین نمی توان آن را مستقیماً مورد اندازه گیری قرار داد. با این وجود، ارزیابی اثرات آنها به طور غیر مستقیم از طریق آزمایشات کنترل شده در آزمایشگاه امکان پذیر است. هدف از این مطالعه بررسی اثر میدان شعوری فرادرمانی بر سلول های سرطان پستان (MDA-MB-231) به روش فلوسایتومتری در زمان ۲۴ ساعت بود. به منظور تعیین مرگ سلولی در نمونه‌ی تیمار شده با میدان شعوری فرادرمانی و مقایسه‌ی آن با کنترل، رنگ آمیزی سلول‌ها با دو رنگ Annexin-V و پروپیدیوم یدید (PI) انجام گرفت. نتایج نشان داد که در زمان ۲۴ ساعت، درصد آپوپتوز زودرس و تأخیری، آپوپتوز تام و نکروز در نمونه تحت تأثیر میدان شعوری فرادرمانی، نسبت به رده‌های سلولی کنترل به ترتیب ۵/۹۲ درصد، ۳/۴۹ درصد، ۹/۴۱ درصد و ۴/۶۸ درصد افزایش یافت. نهایتاً میزان مرگ برنامه‌ریزی شده سلول‌های سرطانی در این زمان حدود ۹/۴۱ درصد، تحت تأثیر این میدان در رده‌ی سلولی این مطالعه افزایش یافته است.

کلمات کلیدی: سرطان پستان، میدان‌های شعوری طاهری، فرادرمانی، سلول‌های سرطانی

فلوسایتومتري

به منظور تعیین درصد سلولهای آپتوز شده در یک جمعیت سلولی تیمار شده با فرادرمانی و قیاس آن با جمعیت سلولی در کنترل، رنگآمیزی سلولها با دو رنگ Annexin-V و پروپیدیوم یدید (Sigma-Aldrich, Germany) انجام گرفت. به این صورت که پس از تیمار سلولها با میدان شعوری فرادرمانی بعد از ۲۴ ساعت، سلولها را تریپسینه کرده و شستوشوی سلولها با بافر فسفات سالین (PBS) استریل انجام گرفت. به رسوب حاصل از سانتریفیوژ سلولها، ۱۰۰ میکرولیتر بافر بایندینگ به میکروتیوپ ۱/۵ میلی لیتر اضافه شد. در ادامه ۱۰ میکرو لیتر از رنگ پروپیدیوم یدید (PI) و پنج میکرولیتر از رنگ آنکسین (Annexin-V) نیز به محتویات موجود در میکروتیوپ اضافه شد. سپس تمامی محتویات را به آرامی با حرکت دست و تکان دادن میکروتیوپ با یکدیگر مخلوط و یکدست کرده طوری که رسوب سلولها با مواد موجود به راحتی حل شود. در مرحلهی بعد، نمونهها در دمای اتاق (۲۵ درجهی سانتیگراد) به مدت زمان ۱۰ دقیقه در تاریکی انکوبه شد. در نهایت با دستگاه فلوسایتومتري (BD Biosciences, San Diego, CA, USA) آنالیز سلولی انجام گرفت. به منظور تعیین اثرات فرادرمانی در جهت القا آپتوز یا نکروز، درصد سلولهای مستقر در هر ناحیه به وسیلهی نرم افزار دستگاه فلوسایتومتري (FCS Express) محاسبه و گزارش شد.

تحلیل آماری

جهت انجام محاسبات آماری از برنامهی گراف پد ۹ و SPSS نسخهی ۲۰۱۶ استفاده شده است. اطلاعات پس از جمع آوری با استفاده از آزمون آنوا یکطرفه، آنالیز واریانس و آزمون توکی (Tukey) تجزیه و تحلیل شد. سنجشها سه بار تکرار شد. اختلاف در سطح ۰/۰۵ معنادار تلقی شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج جدول ۱ و شکل ۱، تغییرات معناداری بین گروه کنترل و تیمار مشاهده شد ($P < 0.001$). دادهها نشان داد که درصد آپتوز اولیه و تاخیری و مجموع آپتوز و نکروز در ردههای سلولی تیمار شده با FCF نسبت به ردههای سلولی بدون تیمار (کنترل) افزایش داشته است (شکل ۱).

سرطان پستان به عنوان یکی از شایعترین سرطانها در میان زنان به شمار می رود. طبق آمارهای سازمان جهانی بهداشت، سرطان پستان حدود ۳۰ درصد سرطانها در بین زنان را شامل می شود. این نوع سرطان بعد از سرطان ریه دومین عامل مرگومیر ناشی از سرطان در زنان گزارش شده است. تخمین زده شده است که شیوع سرطان پستان از دو میلیون بیمار در سال ۲۰۱۸ به بیش از سه میلیون بیمار در سال ۲۰۴۶ افزایش می یابد که نشان دهنده افزایشی ۴۶ درصدی است (۱، ۲). سرطان پستان بیماری است که در آن سلولهای بدخیم از بافت پستان منشا گرفته و به طور نامنظم و فزاینده ای تکثیر می یابند. این سلولها اغلب از بافتهای پستان، سلولهای پوشاننده، مجاری شیری و لوبوهای اطراف مجاری (لوبولار) منشاء می گیرد (۳). رده سلولی MDA-MB-231 مربوط به سرطان پستان، از نظر مورفولوژی، اپیتالی و دوکی شکل است. قدرت تهاجمی این رده سلولی از طریق توانایی تخریب پروتولیتیک ماتریکس خارج سلولی میانجی گری می شود (۴، ۵). هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر میدان شعوری فرادرمانی بر سلولهای سرطان پستان (MDA-MB-231) است.

مواد و روشها

کاربرد میدان شعوری فرادرمانی

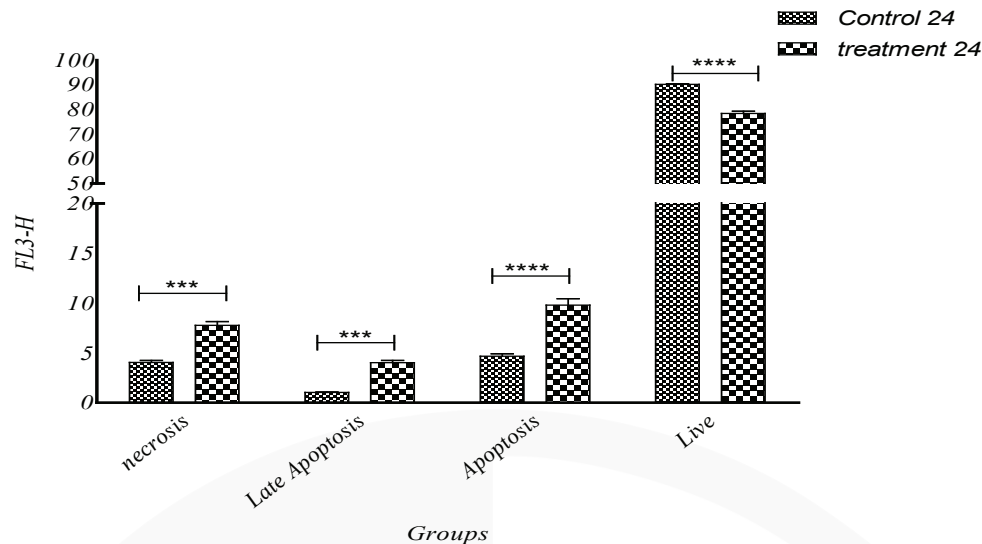
در این مطالعه، سلولهای MDA-MB-231 با یک بار اعلام، از شروع مطالعه تا انتها (زمان ۲۴ ساعت) در معرض میدان شعوری فرادرمانی (FCF) قرار گرفتند. همچنین سلولهای MDA-MB-231 بدون تاثیر فرادرمانی، به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند.

کشت سلولی

در این پژوهش از ردهی سلولی سرطان پستان MDA-MB-231 که از بانک سلولی انسیتو پاستور تهیه شده، استفاده شد. سلولهای MDA-MB-231 در محیط کشت DMEM¹ (Gibco, USA) با ۲ میلی مولار L-گلوتامین غنی شده با سرم جنین گاوی (Gibco, USA) و محلول ۱٪ آنتی بیوتیکهای پنی سیلین / استرپتومایسین (Biosera, France) تحت شرایط کنترل شدهی دما (۳۷ درجهی سانتی گراد) و دی اکسید کربن ۵٪ کشت داده شدند. سلولها به صورت تک لایه در فلاسک رشد کردند. این محیط کشت هفتهای سه بار تعویض شد و برای برداشت کردن سلولها نیز از محلول سترون تریپسین-EDTA استفاده شد.

جدول ۱: اثر FCF بر آپتوز در سلولهای MDA-MB-231 در گروه های تیمار شده و کنترل در فاصله زمانی ۲۴ ساعته. درصد سلولهای نکروزی (Q1)؛ درصد سلولهای آپتوز دیررس (Q2)؛ درصد سلولهای آپتوز اولیه (Q3) و درصد سلولهای زنده (Q4).

	Q1	Q2	Q3	Q2+Q3	Q4
Control (-)	3.72%	0.93%	4.68%	5.61%	90.7%
FCF	8.40%	4.42%	10.6%	15.02%	76.6%
Difference of FCF from negative control	4.68%	3.49%	5.92%	9.41%	14.1%



شکل ۱. نمودار تغییرات مرگ سلولی در فاصله زمانی ۲۴ در گروه‌های کنترل و تیمار سنجش شده با روش فلوسایتومتری. ****: از نظر آماری معنادار (P<0.0001). ***: از نظر آماری معنادار (P<0.001).

مشاهدات این مطالعه بر رده سلولی MDA-MB-231 نشان داد که فرادمانی می‌تواند زنده‌مانی این رده سلولی را کاهش و مرگ برنامه‌ریزی شده را افزایش دهد. تکمیل این آزمایش با استفاده از آزمون MTT و همچنین ارزیابی زنده‌مانی سلولها با روش فلوسایتومتری در فواصل زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت در دستور کار نویسندگان این مطالعه قرار دارد. به‌عنوان قدم بعدی، پیشنهاد می‌کنیم در مطالعات آتی، اثر FCF بر سطح بیان مولکول‌های القا کننده آپوپتوز مانند Fas(CD95) بررسی شود. همچنین اثر این میدان شعوری (ط) بر رفتار رده‌های سلولی مختلف در محیط کشت‌های دو بعدی، سه بعدی و مدل موجود زنده مورد مقایسه و ارزیابی قرار گیرد.

پیش از این مشاهده شده است که رفتار رده‌های سلولی تحت تاثیر میدان‌های شعور (ط) در محیط‌های رشدی مختلف متفاوت است. به‌عنوان مثال، هنگامی که در محیط کشت دو بعدی و در شرایط *in vitro* سلول‌ها تحت میدان‌ها قرار می‌گیرند افزایش تکثیر مشاهده می‌شود (۶). در حالی که در مدل موش و شرایط *in vivo* مهار متاستاز گزارش شده است (۷). علاوه بر مطالعات سلولی، در آزمایش‌های میکروبیولوژی نیز گزارش شده است که تکثیر ویروس در محیط کشت و تحت تاثیر میدان‌های شعوری (ط) افزایش می‌یابد. در حالیکه در مدل موش صحرایی، فرادمانی پاسخ ایمنی القا شده توسط واکسن غیر فعال ویروس تب برفکی را بهبود می‌بخشد (۸).

منابع

- 1- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2021 May;71(3):209-49
- 2- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2019; 69(1):7-34.
- 3- Shah R, Rosso K, Nathanson SD (2014). Pathogenesis, prevention, diagnosis and treatment of breast cancer. *World journal of clinical oncology*. 5(3):283.
- 4- Chavez KJ, Garimella SV, Lipkowitz S (2010). Triple negative breast cancer cell lines: one tool in the search for better treatment of triple negative breast cancer. *Breast disease*. 32(1-2):35.
- 5- Łukasiewicz S, Czezelewski M, Forma A, Baj J, Sitarz R, Stanisławek A (2021). Breast Cancer-Epidemiology, Risk Factors, Classification, Prognostic Markers, and Current Treatment Strategies-An Updated Review. *Cancers (Basel)*. 13(17):4287.

6- Taheri, M. A., Mahdavi, M., Afsartala, Z., Amani, L., & Semsarha, F. (2022). The Influence of Faradarmani Consciousness Field on the Survival and Death of MCF-7 Breast Cancer Cells: An Optimization Perspective. *Journal of Cosmointel*, 1(6), 8–21

7- Taheri, M. A., Karimi, H., Torabi, S., Nabavi, N., & Semsarha, F. (2022). Effect of Faradarmani Consciousness Field on the Mice 4T1 Breast Cancer Model. *Journal of Cosmointel*, 1(6), 54–63

8- Taheri, M. A., Amani, L., Khalili, A., Vaziri, A. Z., & Keyvani, H. (2022). Effect of the Faradarmani Consciousness Field on immune response induced by an inactivated vaccine against Foot and Mouth disease virus (FMDV) in rats and replication of FMDV in vitro. *Journal of Cosmointel*, 1(3), 51-59.

