

# بررسی چرخه‌ی سلولی رده‌های Jurkat (لوکمیای) و LA-N-5 (نوروبلاستوما) تحت تاثیر میدان‌های شعوری طاهری

محمدعلی طاهری<sup>۱</sup>، سارا ترابی<sup>۲</sup>، شیما روشنی<sup>۳</sup>، حدیث قراچه<sup>۴</sup>، فرید سمسارها<sup>۵</sup>\*

\*نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تلفن: +۹۸-۹۱۲۱۷۸۶۵۷۷

ایمیل: Semsarha@.ut.ac.ir

DIO: [doi.org/10.61450/joci.FA.v2i10.150](https://doi.org/10.61450/joci.FA.v2i10.150)

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

اتاریو، کانادا

۲- گروه بیولوژی گیاهی، دانشکده زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران،

ایران

۳- گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۴- گروه مهندسی شیمی و مواد، انستیتو فناوری نیوجرسی، دانشگاه هایتس، نیوآرک،

نیوجرسی، ایالات متحده آمریکا

۵- مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک، دانشگاه تهران، تهران، ایران

## چکیده

محمد علی طاهری، شعور را به عنوان یکی دیگر از سه عنصر جهان هستی علاوه بر ماده و انرژی معرفی کرده است. انواع مختلفی از میدان‌های شعوری طاهری (TCFs) وجود دارد که مستقیماً قابل اندازه‌گیری نیستند، اما، میتوان اثرات آنها را بر موضوعات مختلفی آزمایش کرد. قبلاً، زندهمانی و مرگ انواع مختلف رده‌های سلول سرطانی تحت تاثیر TCFS ارزیابی شده است. این آزمایش با هدف تکرار نتایج بدست آمده و همینطور بررسی اثر دو نوع میدان شعوری ۱ و ۲ بر رفتار مرگ و بقای رده‌های سلولی Jurkat و LA-N-5 به ترتیب با مورفولوژی لیمفوبلاست و فیبروبلاستی که باعث لوکمی و نوروبلاستوما میشوند، طراحی شد. به این ترتیب، ابتدا اثر میدان‌های شعوری با آزمون MTT بر رده‌ی سلولی Jurkat در زمانهای ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت بررسی شد. همچنین بعد از ۴۸ ساعت، آنالیز چرخه‌ی سلولی در هر دو رده‌ی سلولی با استفاده از فلوسایتومتری انجام شد. طبق داده‌های بدست آمده میدان شعوری ۲ در ساعت ۱۲ زندهمانی رده‌ی سلولی Jurkat را افزایش داد و میدان شعوری ۱ باعث افزایش معنادار G2/M شد که میتواند پیشنهادکننده‌ی فعال شدن چک پوینت و تجمع سلولها در این مرحله تحت تاثیر میدان باشد. در مورد LA-N-5 نتایج نشان داد که میدان شعوری ۲ منجر به افزایش معنادار درصد فاز S شد. این افزایش با کاهش فاز G2/M همراه بود که ممکن است نشان دهنده‌ی ارسط فاز S است. اما، میدان شعوری ۱ تغییر معناداری ایجاد نکرد. این مشاهده، مشخص میکند که کاربرد میدان‌های شعوری مختلف میتواند منجر به نتایج متفاوت بشود. مطالعات بیشتری نیاز است تا اثرات میدان‌های شعوری در سطوح زیستی مشخص شود.

**کلمات کلیدی:** میدان‌های شعوری طاهری، نوروبلاستوما، فلوسایتومتری، LA-N-5، Jurkat، leukemia

## آزمون MTT

آزمون MTT برای ارزیابی سمیت و زنده ماندن سلولی پس از اعمال میدانهای شعوری در مطالعه حاضر مورد استفاده قرار گرفت. برای سنجش MTT، تعدادی سلول  $3 \times 10^3$  در یک صفحه کشت ۹۶ چاهکی کشت شد. اثرات میدانهای شعوری بر زنده ماندن سلولهای نمونه با استفاده از روش MTT (دی متیل تیازول - دی فینیل تترازولیوم بروماید) ارزیابی شد. برای این منظور از MTT (Sigma, Taufkirchen, Germany) در غلظت 0.2 mg/ml در محیط RPMI-1640 استفاده شد. سپس سلولها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از ۴ ساعت محیط با ۱۰۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکسید (DMSO) و ۲۵ میکرولیتر از بافر سورنسون (حاوی گلیسین ۰.۱ مولار، NaCl ۰.۱ مولار، تنظیم شده بر pH: 10.5 با استفاده از ۰.۱ مولار NaOH) جایگزین شد. پس از تکان دادن ملایم، سلولها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. برای اندازهگیری جذب در ۵۷۰ نانومتر از دستگاه میکروپلیت ریدر (esirnuS, naceT, سوئیس) استفاده شد.

## آنالیز چرخه سلولی

تجزیه و تحلیل پیشرفت چرخه سلولی از طریق رنگ آمیزی با یدید پروپیدیوم انجام شد. سلولها در صفحات ۶ چاهکی ( $1 \times 10^5$  سلول در چاهک) کشت داده شدند و یک شب در انکوباتور استاندارد نگهداری شدند. سلولهای گروه آزمایش شسته، جدا و برداشت شدند، مجدداً معلق شدند، در اتانول ۷۰ درصد تثبیت و به مدت ۷۲ ساعت دیگر در دمای چهار درجه سانتی گراد نگهداری شدند. سلولها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت با استفاده از ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر PI رنگ آمیزی شدند. نسبت سلولها در مراحل مختلف چرخه سلولی با استفاده از فلوسیتومتر در سیستم (Milteny Biotec FACS Quant 10) FACSCalibur ارزیابی شد.

## روش فلوسایتومتری

میزان تغییرات احتمالی در آپوپتوز پس از تیمار میدانهای شعوری با استفاده از روش فلوسایتومتری انکسین V/ پروپیدیوم یدید اندازهگیری شد. تعدادی سلول آزمایشی  $1 \times 10^5$  در پلیت کشت ۶ چاهی برای این سنجش در نظر گرفته شد. پس از آن، تیمار با میدانهای شعوری ادامه یافت و ۲۴ ساعت بعد، سلولها ترپسینیه شدند و در دور ۱۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس سلولها با انکسین V و PI طبق دستورالعمل سازنده (روش) رنگ آمیزی شدند. برای رنگ آمیزی انکسین V، ۲ میکرولیتر انکسین V، ۱ میکرولیتر یدید پروپیدیوم و ۱۰۰ میکرولیتر بافر اتصال به نمونه ها اضافه شد. سپس سلولها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در شرایط تاریک انکوبه شدند. نمونهها با دستگاه فلوسایتومتری (Macs Quant Analyzer 10, Miltenyi Biotec, Germany) آنالیز شدند. میزان آپوپتوز به وسیلهی نرم افزار

رده سلولی Jurkat یک رده سلولی لنفوسیت T نامیراست که در اصل از خون محیطی یک پسر مبتلا به لوسمی سلول T بدست آمده است. این رده سلولی اغلب به عنوان یک رده سلولی T اولیه برای مطالعه چندین رویداد در زیست شناسی سلول T، از جمله سیگنال دهی سلول T و رویدادهای مولکولی در چرخه زندگی ویروس HIV استفاده شده است (۱). از سوی دیگر بسیاری از شایع ترین سرطانهای تشخیص داده شده در دوران کودکی تومورهای مغزی، تومور ویلمز، رابدومیوسارکوم، و نوروبلاستوما پرخطر، نرخ بقای بسیار پایینی دارند (۲).

نوروبلاستوما، شایع ترین تومور جامد خارج جمجمه ای در کودکان است. شیوع این بیماری ۱ در ۸۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ تولد و نرخ بقای ۵ ساله بیش از ۹۵٪ برای کودکان در گروه های کم خطر و متوسط است (۳). این تومورها بسیار متاستاتیک هستند و به درمانهای معمولی مانند پرتودرمانی و شیمی درمانی مقاوم هستند و رده سلولی LA-N-5 یکی از مدل های سلولی نوروبلاستوما است (۴).

بر اساس نظریه‌ی طاهری، میدانهای شعوری با ماهیتی غیرفراکانسی وجود دارند که زیرمجموعه‌ی شبکه‌ی شعور کیهانی هستند. اثرات این میدانها از طریق ذهن اعلام کننده (فرا درمانگر) و با توجهی گوتاه و آنی آغاز می‌شود. این فرضیه مطرح است که اطلاعات منتقل شده از این میدانها می‌تواند تغییراتی در موضوع مورد مطالعه ایجاد کند. پیش از این، اثرات میدانهای شعوری طاهری (TCFs) بر رده‌های سلولی در شرایط *in vitro* بررسی شده است (۵، ۶). در این مطالعه، اثر دو نوع TCF1 و TCF2 بر رده‌های Jurkat و LA-N-5 که منجر به نوروبلاستوما می‌شود، مورد آزمایش قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

کاربرد میدانهای شعوری طاهری: در این مطالعه، نمونه‌ها در زمانهای ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت تحت تأثیر TCFs قرار گرفتند. کنترل در این مطالعه به شرح زیر است: کنترل منفی سلولهایی است که با TCFs و یا دارو تیمار نشده و کنترل مثبت برای رده‌ی سلولی Jurkat سلولهایی است که داروی تموزولامید و در مورد رده‌ی سلولی LA-N-5، داروی دوکسوروبیسین دریافت کرده‌اند.

## کشت سلول

رده‌های سلولی این مطالعه، از انستیتو پاستور ایران خریداری شد و در محیط کشت Roswell Park Memorial Institute 1640 حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی (Gibco Laboratories, Grand Island, NY)، 100 IU در میلی لیتر پنی سیلین و ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر استرپتومایسین کشت شد. کشتها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد (Schwabach, Memmert, آلمان) با ۵٪ CO2 و اتمسفر مرطوب نگهداری شدند. در تمام مراحل آزمایشی، سلولها در فاز

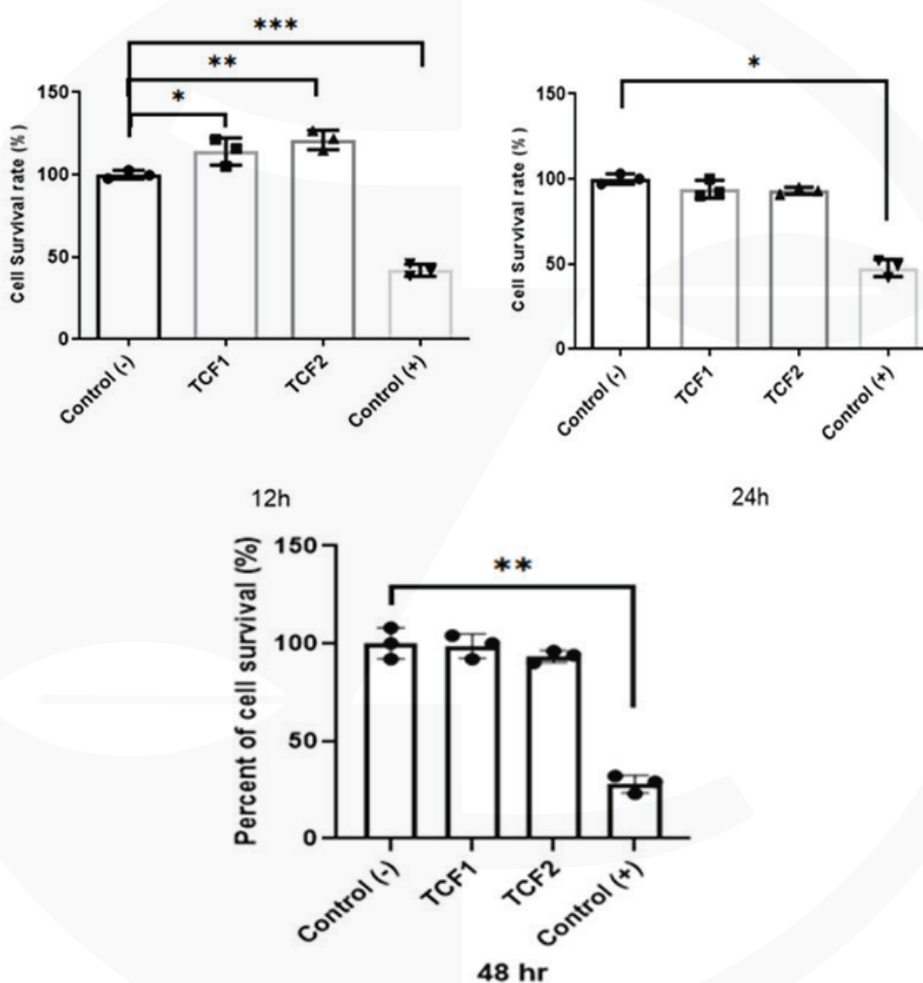
نتایج و بحث

FlowJo (Tree Star, San Carlos, CA) ارزیابی شد.

آنالیز آماری

نتایج آزمون MTT رده سلولی Jurkat در شکل ۱ نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه میشود، TCF2 در ساعت ۱۲ منجر به افزایش بقا شد اما در دیگر زمانها میدانهای شعوری اثر معناداری را نشان ندادند.

داده ها با نرم افزار آماری GraphPad Prism نسخه ۶.۰، San Diego, CA) تجزیه و تحلیل شد. تمام مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد بیان شد. تمام آنالیزها حداقل سه بار تکرار شدند. برای تعیین معنیداری تفاوتها از آزمونهای t و آنالیز واریانس (ANOVA) استفاده شد و مقادیر  $p > 0.05$  معنیدار در نظر گرفته شد.



شکل ۱. نتایج آزمون MTT رده سلولی Jurkat در ساعت‌های ۱۲، ۲۴ و ۴۸ (تحت تاثیر میدانهای شعوری TCF1 و TCF2).  $p > 0.05$ : \*،  $p > 0.01$ : \*\*،  $p > 0.001$ : \*\*\*

است و احتمالاً بیانگر تجمع سلولها قبل از ورود به میتوز تحت تاثیر TCF1 میباشد. ضمناً فاز S افزایش نیافت که این امر بیشتر تأیید میکند که اثر اصلی محدود به مرز M/G2 است و نه سنتز DNA. در مقابل، TCF2 تغییر کمتری در پروفایل چرخه سلولی ایجاد کرد، بهطوری که M/G2 تنها کمی نسبت به کنترل افزایش یافت (۵.۲۴٪). درصدهای S و G1 تقریباً بدون تغییر باقی ماندند. این تغییر خفیف نشان میدهد که TCF2 تأثیر قابل توجهی بر پیشرفت چرخه سلولی این رده نداشت.

دادههای به دست آمده از تجزیه و تحلیل چرخه سلولی Jurkat در جدول ۱ آمده است. تحلیل توزیع چرخه سلولی نشان داد که سلولهای Jurkat نسبت به TCF1 و TCF2 پاسخهای متفاوتی دارند. در گروه کنترل بدون اثر میدان، اکثر سلولها در فاز G1 بودند (۷۵.۱۱٪). قرار گرفتن در معرض TCF1 منجر به افزایش قابل توجه جمعیت M/G2 شد (از ۳.۷۳٪ در کنترل به ۸.۹۹٪)، همراه با کاهش جزئی در فازهای S و G1. این افزایش بخش M/G2 نشاندهنده تأخیر یا فعالسازی چکپوینت در گذار M/G2

میکنند. اما نکرز بیشتری در سلولهای تحت تاثیر TCF2 قابل ملاحظه است. بهطور کلی، به نظر میرسد TCF1 مکانیسمهای تنظیمی مربوط به گذار M/G2 را تحت تاثیر قرار میدهد، در حالی که TCF2 پروفایل چرخه سلولی نزدیک به کنترل را حفظ میکند که با اثر قبلا مشاهده شده آن در بهبود بقای سلول سازگار است. ترکیب پایداری زندهمانی و تغییر توزیع M/G2 تحت TCF1، اثر احتمالی تنظیمی و نه سمیت این میدان بر تکثیر سلولهای Jurkat را برجسته میکند.

همچنین، ارزیابی آپوپتوز نشان داد که تغییر معناداری در این رده سلولی تحت تاثیر میدانهای شعوری مشاهده نشد (جدول ۲). جمعیت سلولهای زنده (Q4) در همه شرایط بالای ۹۷٪ باقی ماند و افزایش معناداری در بخشهای آپوپتوتیک (Q3/Q2) یا نکروتیک (Q1) مشاهده نشد. این دادهها نشان میدهد که نه TCF1 و نه TCF2 سمیت سلولی یا آپوپتوز قابل تشخیص در زمان انجام آزمایش ایجاد نکردند که در تطابق با نتایج حاصل از آزمون MTT است. شایان ذکر است که افزایش جزئی M/G2 تحت تاثیر TCF1 با افزایش آپوپتوز همراه نبود که این موضوع، تأخیر چرخه سلولی را پیشنهاد

جدول ۱. آنالیز چرخه سلولی ردهی سلولی Jurkat تحت تاثیر میدانهای شعوری طاهری (TCFs) در مقایسه با کنترل.

Samples	Cell cycle percentage		
	G1	S	G2/M
Control (-)	75.11	21.16	3.73
TCF1	72.78	18.23	8.99
TCF2	73.15	21.61	5.24

جدول ۲. آنالیز فلوسایتومتری ردهی سلولی Jurkat در مقایسه با کنترل.

Sample	% of each cell state			
	Q1	Q2	Q3	Q4
Control (-)	0.538	0.461	1.25	97.8
TCF1	0.518	0.604	1.09	97.39
TCF2	0.621	0.679	1.3	97.49

TCF: میدان شعوری (ط)، درصد سلولهای نکروتیک (Q1)؛ درصد سلولهای آپوپتیک تاخیری (Q2)؛ درصد سلولهای آپوپتیک اولیه (Q3) و درصد سلولهای زنده (Q4).

های فاز G2/M در حدود ۶۰٪ شد. این مشاهده نشان میدهد که اثر میدانهای شعوری بسته به نوع ردهی سلولی میتواند متفاوت باشد.

به علاوه میدانهای شعوری ۱ و ۲ چرخهی سلولی LA-N-5 را نیز تحت تاثیر قرار دادند (جدول ۳)؛ به ویژه، تیمار TCF۲ که منجر به افزایش معنادار در فاز S (حدود ۱۶٪) و کاهش معنادار سلول

جدول ۳. آنالیز چرخه سلولی ردهی سلولی LA-N-5 تحت تاثیر میدانهای شعوری طاهری (TCFs) در مقایسه با کنترل.

Sample	Cell cycle percentage		
	G1	S	G2/M
Control (-)	71.32	22.61	6.7
TCF1	68.71	24.17	7.12
TCF2	71.11	26.18*	2.71*

\*: p-value<0.05

تکرارهای کافی، بیانگر اثرات میدان‌های شعوری(ط) باشد. طبق نتایج این مطالعه، بیش از پرداختن به چگونگی اثرگذاری این میدان‌ها، به گزارش نتایج و مشاهدات آزمایش پرداخته شده است. پیشنهاد می‌شود آزمایش‌های بیشتری در این زمینه طراحی گردد تا با مشخص شدن تاثیر هر یک از میدان‌های شعوری(ط)، درک بهتری از مکانیسم آنها نیز حاصل شود.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان از گروه زیست‌شناسی، دانشگاه تبریز به دلیل ارائه خدمات جمع‌آوری داده‌ها برای این کار تحقیقاتی تشکر و قدردانی می‌کنند.

همانطور که در مقدمه ذکر شد، میدان‌های شعوری(ط) متنوعی توسط محمد علی طاهری معرفی شده‌اند. این میدان‌ها هر کدام کارکردهای مشخصی دارند. تا کنون اثربخشی برخی از آنها مانند میدان‌های شعوری(ط) ۱، ۲ و ۳ در آزمایش‌هایی مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۷). مطابق با این تئوری، هنگامی که موضوع مورد مطالعه که در اینجا دو نوع رده سلولی بود، در معرض این میدان‌های شعوری(ط) قرار می‌گیرند، اطلاعاتی را دریافت می‌کنند. بر اساس تئوری طاهری، علاوه بر بخش فیزیکی که به اصطلاح سخت‌افزاری نامیده شده است، سلول‌ها دارای نرم‌افزار هستند که مدیریت و هدایت بخش سخت‌افزاری را به عهده دارند. نتایج مشاهده شده در این مطالعه، تایید می‌کنند که اطلاعات دریافتی توسط سلول باعث تغییر رفتار آنها شده است. لازم است به این نکته توجه شود که اثر این میدان‌ها به صورت دو سرکور و بدون هیچ‌گونه مداخله مادی اعمال می‌شود. به این ترتیب، این روش باعث می‌شود نتایج ارائه شده بدون بایاس و سوگیری و با

### منابع

- 1- Schneider, U., Schwenk, H.U. and Bornkamm, G. (1977) Characterization of EBV genome negative “null” and “T” cell lines derived from children with acute lymphoblastic leukemia and leukemic transformed non-Hodgkin lymphoma. *Int J Cancer*, 19: 621 – 626.
- 2- American Childhood Cancer Organization (2014). Special Section: Cancer in Children & Adolescents. *ACS Special Report* 25–42
- 3- Maris, J. M., Hogarty, M. D., Bagatell, R., & Cohn, S. L. (2007). Neuroblastoma. *Lancet* (London, England), 369(9579), 2106–2120. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60983-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60983-0)
- 4- Shastry, P., Basu, A., & Rajadhyaksha, M. S. (2001). Neuroblastoma cell lines--a versatile in vitro model in neurobiology. *The International journal of neuroscience*, 108(1-2), 109–126. <https://doi.org/10.3109/00207450108986509>
- 5- 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.
- 6- Taheri, M. A., Torabi, S., & Semsarha, F. (2022). Screening the Effect of Faradarmani Consciousness Field on the Ex vivo Controlled Microenvironment on Solid 4T1 Tumors. *Journal of Cosmointel*, 1(6), 46–53.
- 7- Taheri, M. A., Torabi, S., & Semsarha, F. (2022). The Effect of Taheri Consciousness Fields on the ATP Production in HEK-293 Cell Line by Measuring Luciferase Activity. *Journal of Cosmointel*, 1(9), 34-55.