

تأثیرات میدان شعوری فرادرمانی بر محیط کشت سلولی، آلودگی باکتریایی کشت سلولی و نیز تکثیر ویروس کرونا در

آزمایشگاه

محمدعلی طاهری¹، لاله امانی²، احمد خلیلی³، علی زمان وزیری³، حسین کیوانی^{4*}

1. بخش تحقیق و توسعه Sciencefact، مرکز تحقیقات Cosmointel Inc.، انتاریو، کانادا

2. گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

3. مرکز تحقیقات زیست پزشکی سرطان، تهران، ایران

4. گروه ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

*نویسنده مسئول: حسین کیوانی، گروه ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران پست

الکترونیکی: Keyvanlab@yahoo.com

خلاصه

میدان شعوری فرادرمانی به عنوان یک میدان نوین که نه ماده است و نه انرژی، توسط محمدعلی طاهری ارائه شده است. میدان شعوری فرادرمانی کمیت پذیر نیست و ما نمی توانیم مستقیماً آن را اندازه گیری کنیم اما این امکان وجود دارد که تأثیرات آن توسط آزمایش های علمی کنترل شده بررسی شود.

بیماری COVID-19 بسیار مسری و تهدید کننده حیات به عنوان عضو جدیدی از بتاکروناویروس هاست که اولین بار از کشور چین در اواسط دسامبر 2019 گزارش شده است. عفونت COVID-19 به سرعت گسترش یافته و به عنوان یک پاندمی جهانی شیوع پیدا کرده است. تاکنون، هیچ درمان قطعی و موثری برای این بیماری یافت نشده است. هدف از مطالعه حاضر، مطالعه ی تأثیر فرادرمانی بر تکثیر ویروس کرونا در آزمایشگاه و در فلاسکهای کشت سلولی آلوده به باکتری است

نتایج نشان داد که در کشت ویروس، فرادرمانی باعث القا رشد و تکثیر ویروس شد و در فلاسک های کشت سلولی آلوده شده توسط باکتری، تفاوت های چشمگیری در رنگ، کدورت و ماندگاری کشت سلولی Vero در بین دو گروه کنترل و گروه تیمار مشاهده شد.

نتایج این آزمایش نشان داد که فرادرمانی اثر افزایشی بر رشد و تکثیر در محیط کشت و همچنین محافظت از سلول های vero در مقابل آلودگی باکتریایی دارد. به منظور بررسی اثربخشی میدان شعوری فرادرمانی، مطالعات بیشتر آزمایشگاهی و همچنین در سطح in vivo پیشنهاد می شود.

کلمات کلیدی: COVID-19، فرادرمانی، میدان شعوری، تکثیر

1. مقدمه

طی بیش از بیست سال، جهان توسط سه عامل بیماری زا در حال ظهور ویروس کرونا مورد حمله قرار گرفته است که شامل مرس (سندروم تنفسی خاورمیانه)، سارس و ویروس کرونا است. ویروس کرونا (COVID-19) عضو جدید جنس ویروس بتاکرونا است که اولین بار از اواسط دسامبر سال 2019 از چین گزارش شد. این ویروس به سرعت در سراسر جهان گسترش یافته و همه گیر و پاندمیک شد (Al-Tawfiq 2020). انتشار این ویروس، آن را به یک نگرانی جهانی از طرف سازمان بهداشت جهانی در یک دهه

گذشته تبدیل کرده است بنابراین، ضروری است که درمان های موثر برای جلوگیری از شیوع و مرگ و میر ناشی از ویروس های کرونا در نظر گرفته شود (Liu et al. 2020).

تئوری میدان های شعوری توسط محمد علی طاهری معرفی شده است. بر اساس این تئوری، شعور، به عنوان یکی از سه عنصر موجود در جهان هستی، نه ماده است و نه انرژی و از طریق میدان های مشخصی که میدان های شعوری نامیده می شوند، اثرات مستقیمی بر ماده و انرژی می گذارد. میدان های شعوری زیرمجموعه ای از شبکه شعور (اینترنت) کیهانی هستند. میدان های شعوری ذکر شده، یکی از دستاوردهای استفاده از شبکه (اینترنت) شعور کیهانی است که افراد بعنوان کاربر، به آن متصل شده و برنامه های عیب یابی، اصلاح و نهایتا درمان را دریافت می کنند.

میدان های شعوری بر اساس اثر و نوع ویژگی منحصر بفرد خود، انواع مختلفی دارند که فرادرمانی یکی از آنها است و قابل اعمال بر همه موجودات زنده و غیر زنده از جمله گیاه، حیوان، میکروارگانیسم ها، مولکولها و غیره است. فرادرمانی، پیوند شعوری بین شعور کل و جزء برقرار کرده و از این طریق، همه اجزاء اسکن و اصلاح می شوند.

برقراری ارتباط از طریق ذهن فرادمانگر (شخصی که این اتصال معنوی را برقرار می کند) واسطه گری می شود. به عبارت دیگر در این نوع اثرگذاری بر هم کنش ذهن - ماده طی اتصال به شبکه شعور کیهانی، اتفاق می افتد. بعبارت دیگر، مطابق با تئوری میدان های شعور، ذهن انسان، تنها نقش واسط در این اثر گذاری را دارد و عملکرد اصلی، در نتیجه کارکرد میدان های شعوری به دست می آید. اما در علوم شناختی و علوم اعصاب، ذهن با نقش عاملی و فاعلی در نظر گرفته می شود.

از آنجاکه شعور عنصری غیر مادی و غیر انرژیایی است، نمی توان برای آن کمیتی قائل شد، لذا شعور مستقیماً قابل اندازه گیری نیست و تنها از طریق تجربه، می توان به وجود آن پی برد. اگرچه مکانیسم اتصال با میدان های شعوری در حال حاضر توسط علم قابل تعریف نیست، اما می توان اثرات و تبعات آن را بطور علمی و تجربی اندازه گیری و بررسی کرد. (Taheri 2013).

بر این اساس، علم جدید ساینس فکت توسط محمدعلی طاهری در سال 2020 تعریف شده است. ساینس فکت به بررسی اثرات میدان های شعوری در دنیای ماده و انرژی و علم رایج به مطالعه ماده و انرژی می پردازد. نقطه اشتراک علم رایج و ساینس فکت، در تجربیات آزمایشگاهی تکرارپذیر قابل تجربه در سطح دنیای ماده و انرژی است. از سوی دیگر، مطالعه، استفاده و کاربرد شعور در علم جدید ساینس فکت، نقطه تمایز آن از علم رایج به شمار می رود، در واقع، علم رایج بعنوان ابزاری برای پدیدارسازی شواهد حاصل از علم ساینس فکت بحساب می آید.

بنابراین، در این مطالعه اثرات میدان شعوری فرادرمانی بر تکثیر SARS-CoV2 و بر فلاسک های کشت سلول آلوده به باکتری است.

2. مواد و روش ها

2.1 استفاده از میدان شعوری فرادرمانی

موضوعات مورد مطالعه تحت تأثیر میدان های شعوری بر اساس پروتکل های ذکر شده در وب سایت مدیریت تحقیقات در میدان های شعوری (www.cosmointel.com) قرار گرفتند. در خواست اتصال یا نظر رایگان می باشد (در بخش مربوط به اعلام اتصال). به منظور مطالعه در هر زمانی و در هر مکانی، محققین پس از ثبت نام در وب سایت ذکر شده، آزمایش مورد نظر را به مرکز راهنما معرفی نمایند. برای مثال، شماره نمونه ها، کنترل و نام قراردادی آنها باید مشخص گردد. لازم به ذکر است که این مطالعه به صورت دو سو کور انجام شده است. این بدین معناست که کارشناسان هیچ شناختی از تئوری میدان های شعوری نداشته اند. همچنین، فردی که ارتباط پیوند شعوری را برقرار کرده است هیچ گونه آشنایی با جزئیات این تحقیق نداشت. در این مطالعه،

اعمال میدان شعوری فرادرمانی همزمان با تلقیح ویروس به فلاسک های کشت سلول انجام شد. طراحی و سنجش آزمایشها توسط کارشناسان نا آشنا با فرادرمانی انجام شد.

2.1 آماده سازی ویروس و سلول

اثرات میدان شعوری فرادرمانی در کشت سلول Vero ، آلودگی سلولهای حاوی ویروس با باکتریها و نیز ویروس تلقیح شده به سلولها مورد ارزیابی قرار گرفت.

2.2 جمع آوری و انتقال نمونه های بالینی COVID-19 مثبت

سه نمونه سوپ از حفره های حلق و بینی بیماران با تشخیص COVID-19 مثبت بر طبق نتایج Real-Time PCR آنها در آزمایشگاه جمع آوری شد. سوپ ها به اندازه سه میلی لیتر در داخل محیط انتقالی ویروس قرار داده شدند و در همان روز به سرعت تحت دمای 4 درجه سانتی گراد به واحد آزمایشگاهی با سطح ایمنی 3 برای انجام آزمایشات انتقال داده شدند. محیط انتقالی DMEM با گلوکز بالا، 2٪ محلول پنی سیلین-استرپتومایسین و 5 میکروگرم بر میلی لیتر آمفوتریپسین بود.

2.3 کشت سلولهای Vero

هجده فلاسک T-25 (از فلاسک T-75 یکسان) با 5×10^6 سلول های vero در محیط کشت که از گلوکز بالا DMEM (Gibco) با 10٪ سرم گاوی جنین (Gibco) کشت داده شده و در 5٪ کربن دی اکسید در دمای 37 درجه سانتیگراد انکوبه شدند و وقتی به 80% confluency رسیدند، آنها به سه گروه با شش فلاسک تقسیم شدند.

در گروه یک، سه فلاسک به عنوان فلاسک تیمار، تحت تاثیر میدان شعوری و سه فلاسک بعنوان کنترل در نظر گرفته شد. این سلولها روزانه به مدت سه روز تا کامل شدن confluency بررسی شدند. در گروه دو، سه فلاسک کشت سلولی به عنوان فلاسک تیمار برای تاثیر میدان شعوری بر روی تکثیر ویروس، بررسی اثر سیتوپاتیک، تعیین TCID50 و CT value در نظر گرفته و سه

فلاسک برای کشت ویروس بعنوان کنترل مشخص شد. سه فلاسک کشت شده برای اثر میدان شعوری به عنوان تیمار بر بررسی آلودگی سلول با باکتری و سه مورد برای کنترل در نظر گرفته شدند.

4.2 تهیه نمونه های ویروس، تلقیح و جداسازی در کشت سلول

سوسپانسیون 12 نمونه با PBS (محلول بافر فسفات) رقیق و مخلوط شده انتخاب شد و سپس در دور 4000 دور در دقیقه به مدت حدود 25 دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس، سوسپانسیون در شرایط استریل و ایمن دو بار با فیلترهای غشایی با منافذ 0.45 و سپس 0.22 میکرومتر تحت هود لامینار فیلتر شد.

روش جداسازی با فلاسک T-25 با یک رده سلول Vero دنبال شد. در ابتدا، محیط فلاسک دور انداخته شد و به دنبال تلقیح (1000 میکرولیتر نمونه ویروس) و دوره جذب ویروس (1.5 ساعت در دمای 37 درجه سانتیگراد و 5٪ CO₂) و محیط کشت برداشته شد و محیط تازه (DMEM گلوکز بالا با 2٪ سرم) اضافه شد و در دمای 37 درجه سانتیگراد، 5٪ CO₂ انکوبه شدند. هر روز CPE طی 7 روز ثبت شد. در روز 7، نمونه ها برای تأیید جداسازی ویروس برای RT real time-PCR فرستاده شدند.

سپس، ویروسهای جدا شده با استفاده از روش Reed-Muench از رقت 10^3 تا 10^8 در میکروپلیت 96 خانه تیتراژ شدند (Reed et al. 1938). فلاسکی که در آن CPE مشاهده شده بود با تأیید تست RT real time-PCR و تیتراسیون ویروس برای ذخیره در فریزر -20 تا زمان استفاده برای کشت بعدی منتقل شدند.

5.2 آماده سازی و تیتراسیون ویروس

یک نمونه ویروس با 1×10^6 TCID₅₀/ml و تعداد کپی RNA 4×10^6 انتخاب شد و 1 میلی لیتر از آن به هر یک از فلاسک های گروه تست با فرادرمانی و گروه های کنترل اضافه شد.

6.2 اثر میدان شعوری فرادرمانی بر محیط کشت آلوده با باکتری

به موازات کشت ویروس، 6 کشت سلولی جهت تلقیح (کشت سلولی آلوده شده قبلاً با باکتری *Bacillus spp*) در نظر گرفته شدند. در گروه تست، همزمان با اعلام فرادرمانی 20 میکرولیتر (1×10^5 cfu/ml) مایع رویی فلاسک به طور مستقیم در 3 فلاسک کشت سلول تلقیح شد. همچنین سه فلاسک دیگر بعنوان کنترل بدون اعلام فرادرمانی تلقیح شدند. کشت ها از نظر تغییر در رنگ، کدورت، مرگ سلولی و سایر ویژگی های قابل مشاهده بطور روزانه در طول 3 روز بررسی شدند.

7.2 تحلیل آماری

داده ها در نسخه SPSS 21 با استفاده از T-Test و تحلیل نرمال مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

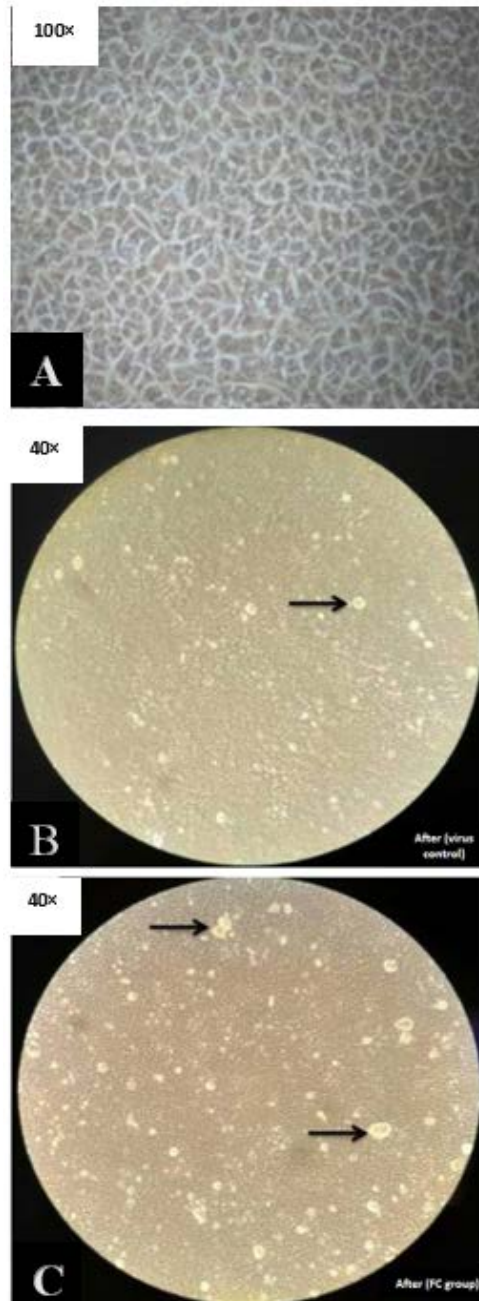
3 نتایج

1.3 نتایج کشت سلولی

تفاوت بین نتایج شمارش سلول و سرعت رشد بین گروه تست و کنترل معنی دار نبود ($P \geq 0.05$).

2.3 تکثیر ویروس در کشت سلولی

شکل 1، CPE ها را پس از 6 روز کشت، بر سلول های vero غیر آلوده (A)، کشت SARS-COV2 بدون اعمال اثر میدان شعوری (B) و با اعمال اثر میدان شعوری (C) را نشان می دهد. در روش TCID50، تیترو ویروس در سلولهای vero آلوده در گروه های تحت تیمار فرادرمانی و گروه کنترل به ترتیب $4 \times 10^{7.5}$ و $2 \times 10^{6.4}$ برای فلاسک های کشت بود. این پدیده نشان می دهد که تیترو ویروس افزایش قابل توجهی در فلاسک هایی که در آنها میدان شعوری اعمال شده بود، داشت ($p \leq 0.05$) (شکل 1). همچنین، در میکروسکوپ معکوس، مناطق CPE بیشتری در گروه تست (اعمال میدان شعوری) مشاهده شد (شکل 1C).

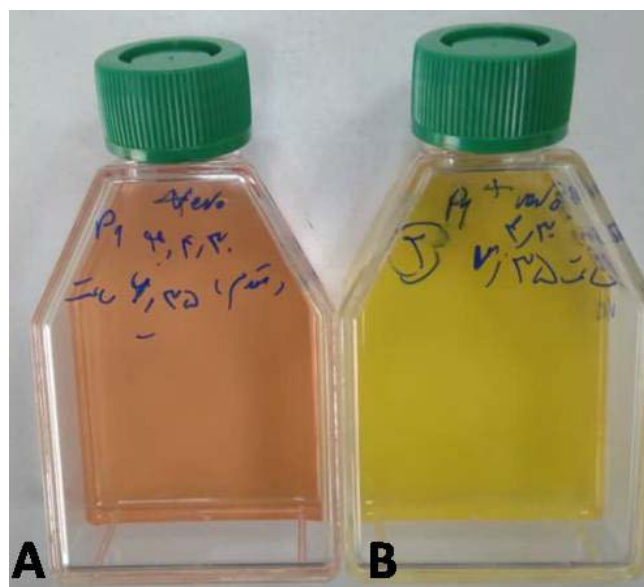


شکل 1: (A) سلولهای vero غیر آلوده (B) سلولهای vero آلوده به ویروس کرونا (C) سلولهای vero آلوده به ویروس کرونا با اعمال میدان شعوری توسط میکروسکوپ نوری معکوس با بزرگنمایی 100 X و 40 X نشان داده شده است. بعضی از CPE ها (نقاط روشن، گرد و جدا شده و جمع شده) توسط فلش های سیاه نشان داده شده است.

2.3 نتایج آلودگی محیط کشت سلول با باکتری

از فنل قرمز به عنوان نشانگر pH در محیط کشت سلول استفاده می شود (فنل دارای رنگ زرد در $pH = 6/4$ یا پایین و رنگ قرمز در $pH = 8/2$ و بالاتر خواهد بود). اسیدی شدن تدریجی (زرد شدن) نشانه ای از استفاده از گلوکز محیطی در کشت سلولی غیر آلوده است. به خصوص، در آلودگی های باکتریایی، رنگ محیط به سرعت زرد شده و محیط کدر می شود، بدون اینکه سلول ها در فلاسک رشد کنند.

فلاسک آلوده با اثر میدان شعوری (A) و فلاسک آلوده بدون اثر میدان شعوری (B) در شکل 1 نشان داده شد. تفاوت های قابل توجهی در رنگ، کدورت و زنده ماندن سلولهای کشت شده Vero دیده شد. اگر چه در هر دو کشت به وضوح آلودگی دیده شد و سلول ها پس از 18 ساعت از کف فلاسک B و 48 ساعت از A کاملاً جدا شده است.



شکل 2 نمونه های فلاسک کشت سلول T-25 آلوده پس از 24 ساعت. A: فلاسک آلوده با تیمار میدان شعوری، B: فلاسک آلوده و بدون تیمار میدان شعوری (کنترل). تفاوت قابل توجهی در رنگ و کدورت محیط های کشت دو گروه مشاهده شد.

4. بحث

نتایج مطالعه حاضر به وضوح نشان داد که میدان شعوری فرادرمانی اثرات فزاینده ای در رشد و تکثیر ویروس در کشت سلولی و همچنین محافظت از سلول Vero در برابر آلودگی باکتریایی داشت.

در کشت ویروس، فرادرمانی باعث افزایش تکثیر و رشد ویروس شد. در عین حال، سلول ها ماندگاری بیشتر و توانایی مقاومت در برابر شرایط سخت علیه ویروس را داشتند.

اکثر آزمایشگاه های ویروس شناسی معمول، به منظور محافظت از سلول ها در برابر اثرات مخرب آلودگی باکتریایی، به محیط کشت سلول آنتی بیوتیک اضافه می کنند (Cruickshank et al. 1952, Leifert et al. 2001). کشت سلولی تلقیح شده با نمونه های بالینی برای جداسازی ویروس به دلیل رشد بیش از حد باکتری ها علی رغم وجود آنتی بیوتیک کارایی خود را از دست می دهد (Gray et al. 1991). در این مطالعه اثر میدان شعوری فرادرمانی در آلودگی باکتریایی کشت سلولی بررسی شد. به نظر می رسد که میدان شعوری فرادرمانی مانع رشد باکتریها بر محیط کشت سلولی می شود. برای بررسی های بیشتر در مورد مکانیسم و چگونگی عملکرد میدان های شعوری در آزمایشگاه نیاز به تحقیقات بیشتری بر روی انواع محیط های کشت با انواع مختلف باکتریها می باشد.

بدیهی است که دانش ما در مورد میدان های شعوری در آغاز راه است. اگرچه، در مورد سلول ها، میکروارگانیسم ها و فرآیندهای بیولوژیکی و قوانین حاکم بر آن توضیح و تحقیق شده است، اما با سوالات زیادی در مورد رفتارها و عملکردهای مولکولی روبرو هستیم. همچنین، مکانیسم ارتباط میدان شعوری با موضوعات بیولوژیکی هنوز توسط علم قابل تعریف نیست بنابراین نتایج آن می تواند ارزیابی و بررسی علمی شود. در تحقیقات قبلی ما تأثیر میدان های شعوری بر روی رده سلولهای سرطانی (Taheri MCF-7) (et al. 2020a) ، بیماری آلزایمر مدل موش (Taheri et al. 2021b)، حافظه فضایی و رفتار اجتنابی مدل موش صحرایی

در بیماری آلزایمر (Taheri et al. 2021c)، گیاه گندم (Torabi et al. 2020)، رشد ویروسی (Taheri et al. 2021a)، رشد جمعیت باکتریایی (Taheri et al. 2021d) و فعالیت الکتریکی مغز در حین فرادرمانی در جمعیت فرادرمانگرها (Taheri et al. 2020b) نشان داده شده است. همانطور که در مقدمه اشاره شد، اگرچه، ما نمی توانیم میدان های شعوری قابل اندازه گیری نیستند اما تأثیرات آنها را می توان به طور غیرمستقیم با آزمایش های مختلف بررسی کرد. این نکته حائز اهمیت است که برای کشف تمام جنبه های اثر میدان شعوری فرادرمانی، مطالعات بیشتری در مورد اثرات این میدان بر SARS-CoV2 لازم است.

تقدیر و تشکر

این مطالعه در آزمایشگاه تخصصی ویروس شناسی کیوان (KVSL) در تهران انجام شده است، ما از اعضای این آزمایشگاه برای کمک در آزمایشات تشکر می کنیم.

تضاد منافع

نویسندگان هیچ گونه تضاد منافی را اعلام نکردند.

منابع

Al-Tawfiq J. A. (2020) Viral loads of SARS-CoV, MERS-CoV and SARS-CoV-2 in respiratory specimens: What have we learned?

- Cruickshank C. & Lowbury E. (1952) Effect of antibiotics on tissue cultures of human skin. *British medical journal*, 2, 1070.
- Gray J. & Brenwald N. (1991) The use of antibiotics to control bacterial overgrowth of cell cultures used for diagnostic virology. *Journal of virological methods*, 32, 163-170.
- Leifert C. & Cassells A. (2001) Microbial hazards in plant tissue and cell cultures. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 37, 133-138.
- Liu S.-L. & Saif L. 2020. Emerging viruses without borders: The Wuhan coronavirus. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Reed L. J. & Muench H. (1938) A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *American journal of epidemiology*, 27, 493-497.
- Taheri M. A. 2013. *Human from another outlook (2nd Edition)* ISBN-13: 978-1939507006, ISBN- 10: 1939507006.
- Taheri M. A., Etemadi M. R., Torabi S., Nabavi N. & Semsarha F. (2021a) Evaluation of the Influence of Faradarmani Consciousness Field on Viral Growth.
- Taheri M. A., Semsarha F., Mahdavi M., Afsartala Z. & Amani L. (2020a) The Influence of the Faradarmani Consciousness Field on the Survival and Death of MCF-7 Breast Cancer Cells: An Optimization Perspective. *Available at SSRN 3705537*.
- Taheri M. A., Semsarha F. & Modarresi-Asem F. (2020b) An Investigation on the Electrical Activity of the Brain during Fara-Darmani Connection in the Fara-Therapist Population.
- Taheri M. A., Torabi S., Nabavi N. & Semsarha F. (2021b) Faradarmani Consciousness Field Suppresses Alzheimer's Disease Development in Both in Vitro and in Vivo Models of The Disease.

Taheri M. A., Torabi S., Nabavi N. & Semsarha F. (2021c) Influence of Faradarmani Consciousness Field (FCF) on Spatial Memory and Passive Avoidance Behavior of Scopolamine Model of Alzheimer Disease in Male Wistar Rats.

Taheri M. A., Zarrini G., Torabi S., Nabavi N. & Semsarha F. (2021d) Influence of Faradarmani Consciousness Field on Bacterial Population Growth. *BioRxiv*.

Torabi S., Taheri M. A. & Semsarha F. (2020) Alleviative effects of Fara-darmani Consciousness Field on *Triticum aestivum* L. under salinity stress. *F1000Research*, 9, 1089.