

اثر میدان شعوری فرادرمانی بر میزان بیان ژن فاکتور رونویسی $NF-\kappa B$ و فاکتورهای پیش التهابی $IL-6$ ، $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ در نمونه خون بیماران مبتلا به عفونت COVID-19

* نویسنده مسئول: حسین کیوانی
ایمیل: Keyvanlab@yahoo.com

محمدعلی طاهری^۱، لاله امانی^۲، بهزاد عظیمی^۳، سیمین شریفی^۴، احمد خلیلی^۵، علی
زمان وزیری^۶، حسین کیوانی^{۶*}

DOI: <https://doi.org/10.61450/joci.FA.v1i1.83>

۱. بخش تحقیق و توسعه‌ی ساینس‌فکت، مرکز تحقیقات کازمواینتل، انتاریو، کانادا
۲. گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳. دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۴. گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۵. مرکز تحقیقات زیست‌پزشکی سرطان، تهران، ایران
۶. گروه ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

چکیده

بیماری کرونا ۲۰۱۹ (COVID-19) به چالشی جهانی تبدیل شده است. سندروم حاد تنفسی (ARDS) که ویروس کرونا آن را ایجاد می‌کند اغلب با طوفان سایتوکاین همراه است. میدان شعوری فرادرمانی، یکی از بسیار میدان‌های شعوری است که محمدعلی طاهری معرفی کرده است؛ این میدان‌ها نه ماده‌اند و نه انرژی. بنابراین، غیر قابل سنجش‌اند و نمی‌توان آن‌ها را به‌طور مستقیم اندازه‌گیری کرد اما می‌توان اثرات‌شان را به وسیله‌ی آزمایش‌های استاندارد علمی به‌طور غیرمستقیم بررسی کرد. این مطالعه با هدف بررسی اثر میدان شعوری فرادرمانی بر فاکتورهای التهابی در نمونه‌های خون بیماران مبتلا به کووید-۱۹ انجام شد. نمونه‌ی خون از ۵۳ بیمار مبتلا به کووید-۱۹ گرفته شد و فرادرمانی به نمونه‌های خون گروه تیمار اعمال شد. سپس بررسی بیان mRNA ژن‌های $TNF-\alpha$ ، $IL-1\beta$ ، $NF-\kappa B$ و $IL-6$ در نمونه‌های خون تیمار و کنترل (غیرتیمار) انجام گرفت. نتایج نشان داد بیان ژن‌های $NF-\kappa B$ ، $IL-1\beta$ به‌طور معناداری کاهش یافت ($p < 0.05$) و بیان ژن $TNF-\alpha$ در نمونه‌های مورد مطالعه تحت تاثیر فرادرمانی به‌طور معناداری افزایش یافت ($p < 0.05$). اما بیان $IL-6$ تغییر معناداری نکرد ($p > 0.05$). به این ترتیب نتیجه می‌گیریم تعدیل سیستم ایمنی در سطح $NF-\kappa B$ و $IL-1\beta$ به وسیله‌ی میدان شعوری فرادرمانی ممکن است منجر به کاهش طوفان سایتوکاین در بیماران COVID-19 شود. با این حال، در شناسایی اثرات این میدان شعوری باید تحقیقات بیش‌تری انجام شود.

کلیدواژه‌ها: COVID-19، فرادرمانی، میدان شعوری(ط)، فاکتورهای پیش التهابی

کاربرد میدان شعوری فرادرمانی

نمونه‌های مورد مطالعه بر اساس دستورالعمل ارائه شده در وبسایت مدیریت تحقیقات در حوزه‌ی میدان‌های شعوری (ط) تحت تاثیر این میدان‌ها قرار گرفتند. جزییات بیش‌تر در بخش ملاحظات مشترک این شماره ارائه شده است. در مطالعه‌ی حاضر، دو نمونه خون از هر ۵۳ بیمار مبتلا به کووید-۱۹ گرفته شد. نمونه‌ها تا زمان آنالیز و جمع‌آوری در دمای ۷۲- درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. سپس یک گروه از نمونه‌ها تحت تاثیر میدان شعوری فرادرمانی قرار گرفت و گروه دیگر به عنوان کنترل و بدون اعمال میدان شعوری در نظر گرفته شد. بیان RNA ژن‌های $TNF-\alpha$ ، $IL-1\beta$ ، $NF-\kappa B$ و $IL-6$ در نمونه‌های خون گروه تحت تاثیر میدان شعوری فرادرمانی و گروه کنترل بررسی شد.

آماده‌سازی سلول‌ها و ارزیابی بیان RNA ژن‌های NF-kB، NF-IL-1β و IL-6

استخراج RNA بر اساس دستورالعمل سازنده‌ی شرکت با استفاده از کیت FavorPrep Blood/Cultured cell Total RNA Mini انجام شد و غلظت RNA با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر نانودراپ (ThermoFisher) اندازه‌گیری شد. برای سنتز cDNA، از کیت سنتز (cDNA BioFACT) استفاده شد. واکنش مربوطه با مخلوط کردن ۱۰۰۰ نانوگرم از RNA استخراج شده، یک میکرولیتر پرایمر رندوم هگزامر، یک میکرولیتر oligo-d (T)، ۱۰ میکرولیتر آنزیم رونویسی معکوس (RT) تهیه شد و حجم نهایی از طریق افزودن آب بدون RNase به ۲۰ میکرولیتر رسید. بر اساس دستورالعمل، کل محلول‌های cDNA به مدت پنج دقیقه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس cDNAها به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد آماده شدند. real-time PCR با استفاده از ۷/۵ میکرولیتر از (BioFACT) 2X real-time PCR master mix، ۱/۵ میکرولیتر cDNA، ۱/۶ میکرولیتر از هر پرایمر و ۴/۸ میکرولیتر آب استریل برای ارزیابی بیان RNA انجام شد. توالی‌های پرایمر استفاده شده در این مطالعه در جدول ۱ ذکر شده است.

شرایط چرخه‌ی حرارتی ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و به دنبال آن ۴۰ سیکل ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، دمای انیلینگ برای ۲۵ ثانیه و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه بود. مقادیر کمی نسبی از طریق فرمول بیان $2^{-\Delta\Delta Cq}$ محاسبه شد.

کووید-۱۹ نوعی بیماری تنفسی جدید است که اغلب بیماران علائم خفیف تا متوسطی از این بیماری را نشان می‌دهند. اما حدود ۱۵٪ از بیماران علائم شدید را تجربه می‌کنند و حدود ۵٪ در نهایت به سندرم دیسترس حاد تنفسی (ARDS)، شوک سپتیک یا نارسایی چند اندام مبتلا می‌شوند [۱، ۲]. درمان اصلی بالینی شامل مدیریت علامتی و اکسیژن درمانی با ونتیلاتور برای موارد با نارسایی تنفسی است. با وجود این که داروهای ضدویروسی متعددی به‌طور فعال مورد بررسی قرار می‌گیرند، هیچ‌یک به‌طور قطعی علیه کووید-۱۹ تایید نشده است. علاوه بر تولید واکسن و رویکردهایی که به‌طور مستقیم ویروس را هدف قرار می‌دهند یا از ورود ویروس جلوگیری می‌کنند، درمان‌های ایمنوپاتولوژی بیماری، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. عفونت COVID-19 می‌تواند پاسخ‌های ایمنی اکتسابی و ذاتی را تحریک کند. با وجود این، اختلال در پاسخ‌های ایمنی اکتسابی و پاسخ‌های التهابی ذاتی کنترل نشده ممکن است باعث آسیب بافتی مضر، هم به‌صورت سیستمیک و هم به‌صورت موضعی شود [۳]. کووید-۱۹ باعث فعال شدن فاکتور رونویسی، NF-kB (NF-kappa B) و باعث تولید $TNF-\alpha$ ، $IL-1$ ، $IL-2$ ، $IL-6$ ، $IL-12$ ، GM-CSF، $LT-\alpha$ ، $LT-\beta$ و کموکاین‌های متعدد می‌شود [۴]. مرگ‌ومیر بیماران مبتلا به کووید-۱۹ به طوفان سایتوکاین‌ها که ویروس آن را القا می‌کند، نسبت داده شده است [۵]. برخی ویژگی‌های بالینی متداول سندرم طوفان سایتوکاین عبارت‌اند از بزرگ شدن طحال، تب مداوم، هپاتومگالی، انعقاد خون، بشورات پوستی و غیره [۶]. نتیجه‌ی دیگر طوفان سایتوکاینی آسیب ریه و نارسایی چند اندام است [۷]. سندرم دیسترس تنفسی حاد منجر به پایین آمدن میزان اشباع اکسیژن می‌شود و دلیل اصلی مرگ در کووید-۱۹ است. اگرچه سازوکار دقیق سندرم دیسترس تنفسی حاد کاملاً درک نشده است اما تولید بیش از حد سایتوکاین‌های پیش‌التهابی به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده در بیماران مبتلا به کووید-۱۹ قلمداد می‌شود [۱، ۵، ۸].

بر اساس نظریه‌ی طاهری، میدان‌های شعوری متنوعی با عملکردهای گوناگون وجود دارند که زیرمجموعه‌ی شبکه‌ی شعور کیهانی هستند. این میدان‌ها ماهیت مادی یا انرژیایی ندارند. بنابراین، نمی‌توان با استفاده از ابزارهای کمی آن‌ها را اندازه‌گیری کرد. این امکان وجود دارد که اثرات این میدان‌ها را با طراحی آزمایش‌هایی مورد بررسی قرار داد [۹]. در تحقیقات قبلی تاثیر میدان‌های شعوری (ط) بر رده‌ی سلول سرطانی MCF7 [۱۰]، حافظه‌ی فضایی و رفتار اجتنابی یک مدل موش صحرایی با بیماری آلزایمر [۱۱]، گیاه گندم [۱۲]، رشد جمعیت باکتریایی [۱۳] و فعالیت الکتریکی مغز در طول مدت انجام فرادرمانی در میان جمعیت فرادمانگرها [۱۴] نشان داده شده است. در مطالعه‌ی حاضر، اثر میدان شعوری فرادرمانی بر میزان بیان ژن NF-kB و عوامل پیش‌التهابی $TNF-\alpha$ ، $IL-6$ و $IL-1\beta$ در نمونه‌های خون جداشده از بیماران مبتلا به عفونت کووید-۱۹ مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۱. توالی‌های پرایمرهای استفاده شده

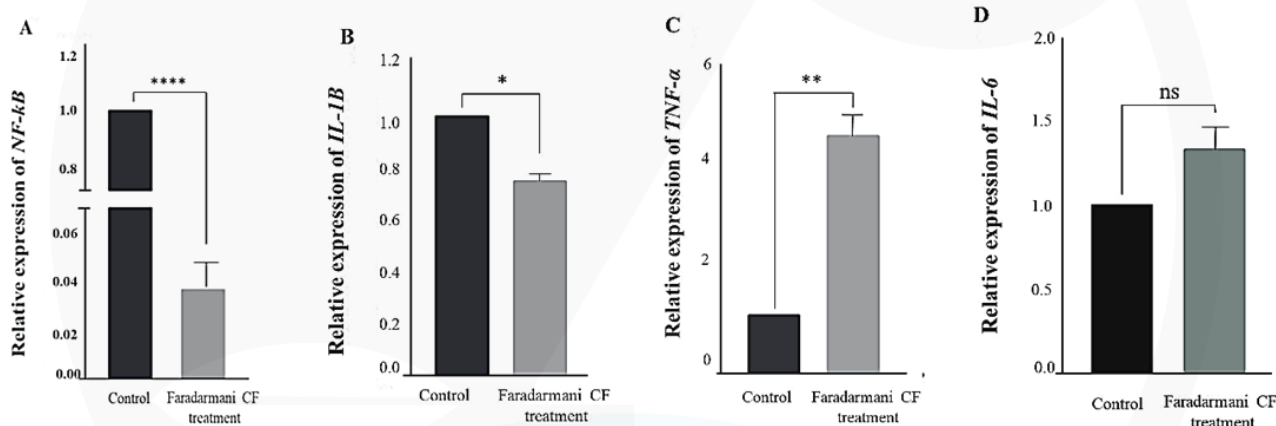
Genes	Primer sequences (5'→3')	Product length (bp)	Annealing temperature (°C)
<i>IL-1β</i>	F: CAGAAGTACCTGAGCTCGCC R: AGATTCGTAGCTGGATGCCG	153	55
<i>IL-6</i>	F: CTTCTGGTCCAGTTGCCTTCT R: GATGCCGTCGAGGATGTACC	169	55
<i>NF-κB</i>	F: ACCAGCCTCTGTGTTTGTCC R: CACTACCACCGCCGAAACTA	161	57
<i>TNF-α</i>	F: TCTCTCGAACCCCGAGTGA R: TATCTCTCAGCTCCACGCCA	126	61
<i>GAPDH</i>	F: GTGGTCTCCTCTGACTCAAC R: GGAAATGAGCTTGACAAAGTGG	96	60

آنالیز آماری

نتایج

در مطالعه‌ی حاضر، تاثیر فرادرمانی بر میزان بیان ژن‌های *NF-κB* و عوامل پیش‌التهابی *TNF-α* و *IL-6*، *IL-1β* در نمونه‌های خون جداشده از بیماران مبتلا به عفونت کووید-۱۹ از طریق *real-time RT-PCR* ارزیابی شد. نتایج نشان داد بیان ژن‌های *IL-1β* و *NF-κB* به‌طور معنادار کاهش ($p < 0.05$) و بیان *TNF-α* به‌طور معنادار افزایش یافت ($p < 0.05$)، اما تغییر در بیان *IL-6* از نظر آماری معنادار نبود ($p > 0.05$).

داده‌ها به‌صورت میانگین و انحراف معیار ارائه شده‌اند. برای مقایسه‌ی تفاوت میان گروه میدان شعوری فرادرمانی و گروه کنترل از آزمون *t-test* استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری از طریق GraphPad Prism8 انجام شد و $p\text{-value} < 0.05$ از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.



شکل ۱- میزان بیان ژن‌های ارزیابی شده در گروه میدان شعوری فرادرمانی و گروه کنترل روی نمونه‌های خون بیماران مبتلا به عفونت کرونا. A- *NF-κB*، B- *IL-1β*، C- *TNF-α* و D- *IL-6* علامت یک ستاره تفاوت معناداری ($p < 0.05$) را بین گروه‌های تست و کنترل نشان می‌دهد.

بیماری همه‌گیر کووید-۱۹ مطالعاتی انجام شده است که نتایج آن، مرگ‌ومیر بسیاری از بیماران کووید-۱۹ را به طوفان‌های سایتوکاینی نسبت داده است [۱۸، ۱۹]. ضدسایتوکاین درمانی مثل آنتاگونیست گیرنده‌ی *IL-6* و *IL-1*، برای درمان کووید-۱۹ پیشنهاد شده است [۲۰-۲۲]. نتایج ما نشان داد بیان ژن‌های *IL-1β*، *NF-κB* و *IL-6* تحت تاثیر میدان شعوری فرادرمانی به‌طور معناداری کاهش یافت.

بحث

مسیرهای ویژه‌ی سیگنالینگ طی پاسخ‌های التهابی در بیماران مبتلا به ویروس کرونا به‌طور کامل شناسایی نشده‌اند [۱۵، ۱۶]. با این حال، گزارش شده چندین سایتوکاین در سرم در بیماران کووید-۱۹ بالاتر از افراد سالم است [۱]. مطالعه‌ی قبلی پیشنهاد کرده میان مسیرهای مختلف سیگنالینگ که ویروس‌ها آن‌ها را فعال می‌کنند، *NF-κB* نقش مهمی در القای بیان ژن‌های رمزکننده‌ی سایتوکاین‌ها و کموکین‌ها دارد [۱۷]. در طول

در تهران انجام شده است. ما از اعضای این آزمایشگاه برای کمک در انجام آزمایش‌ها تشکر می‌کنیم.

تضاد منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تضاد منافی اعلام نکردند.

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد میدان شعوری فرادمانی بیان ژن‌های $IL-1\beta$ و $TNF-\alpha$ ، $NF-\kappa B$ را به عنوان ژن‌های پیش‌التهابی در نمونه‌های خون تحت تاثیر قرار می‌دهد. با این حال، باید برای بررسی سازوکار و میزان اثرات بهبوددهنده‌ی آن بر بیماری کووید-۱۹ تحقیقات بیش‌تری انجام شود.

تقدیر و تشکر

این مطالعه در آزمایشگاه تخصصی ویروس‌شناسی کیوان (KVSL)

منابع

- Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., & Gu, X. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 395(10223), 497–506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
- Xu, Z., Shi, L., Wang, Y., Zhang, J., Huang, L., Zhang, C., Liu, S., Zhao, P., Liu, H., & Zhu, L. (2020). Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *The Lancet Respiratory Medicine*, 8(4), 420–422. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30076-X](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30076-X)
- Cao, X. (2020). COVID-19: Immunopathology and its implications for therapy. *Nature Reviews Immunology*, 20(5), 269–270. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0308-3>
- Hariharan, A., Hakeem, A. R., Radhakrishnan, S., Reddy, M. S., & Rela, M. (2021). The role and therapeutic potential of NF- κ B pathway in severe COVID-19 patients. *Inflammopharmacology*, 29(1), 91–100. <https://doi.org/10.1007/s10787-020-00773-9>
- Ragab, D., Salah Eldin, H., Taeimah, M., Khattab, R., & Salem, R. (2020). The COVID-19 cytokine storm: What we know so far. *Frontiers in Immunology*, 11, 1446. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01446>
- Shimizu, M. (2019). Clinical features of cytokine storm syndrome. In R. Cron & M. Behrens (Eds.), *Cytokine storm syndrome* (pp. 31–41). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-22094-5_3
- Sun, D., Li, H., Lu, X.-X., Xiao, H., Ren, J., Zhang, F.-R., & Liu, Z.-S. (2020). Clinical features of severe pediatric patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan: A single center's observational study. *World Journal of Pediatrics*, 16(3), 251–259. <https://doi.org/10.1007/s12519-020-00354-4>
- Lai, C.-C., Shih, T.-P., Ko, W.-C., Tang, H.-J., & Hsueh, P.-R. (2020). Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(3), 105924. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105924>
- Taheri, M. A. (2013). *Human from another outlook* (2nd ed.). Interuniversal Press. ISBN: 9781939507006
- Taheri, M. A., Semsarha, F., Mahdavi, M., Afsartala, Z., & Amani, L. (2020). The influence of the Faradarmani consciousness field on the survival and death of MCF-7 breast cancer cells: An optimization perspective. *SSRN Electronic Journal*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.3705537>
- Taheri, M. A., Torabi, S., Nabavi, N., & Semsarha, F. (2021). Influence of Faradarmani consciousness field (FCF) on spatial memory and passive avoidance behavior of scopolamine model of Alzheimer disease in male Wistar rats. *SSRN Electronic Journal*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.3761188>

12. Torabi, S., Taheri, M. A., & Semsarha, F. (2020). Alleviative effects of Faradarmani consciousness field on *Triticum aestivum* L. under salinity stress. *F1000Research*, 9, 1089. <https://doi.org/10.12688/f1000research.25247.4>
13. Taheri, M. A., Zarrini, G., Torabi, S., Nabavi, N., & Semsarha, F. (2021). Influence of Faradarmani consciousness field on bacterial population growth. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2021.01.08.426007>
14. Taheri, M. A., Semsarha, F., & Modarresi-Asem, F. (2020). An investigation on the electrical activity of the brain during Fara-Darmani connection in the Fara-therapist population. *SSRN Electronic Journal*. <https://doi.org/10.20944/preprints202009.0679.v1>
15. Channappanavar, R., & Perlman, S. (2017). Pathogenic human coronavirus infections: Causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Seminars in Immunopathology*, 39(5), 529–539. <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0629-x>
16. Battagello, D. S., Dragunas, G., Klein, M. O., Ayub, A. L., Velloso, F. J., & Correa, R. G. (2020). Unpuzzling COVID-19: Tissue-related signaling pathways associated with SARS-CoV-2 infection and transmission. *Clinical Science*, 134(16), 2137–2160. <http://doi.org/10.1042/CS20200904>
17. Mogensen, T. H., & Paludan, S. R. (2001). Molecular pathways in virus-induced cytokine production. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65(1), 131–150. <https://doi.org/10.1128/MMBR.65.1.131-150.2001>
18. Mehta, P., McAuley, D. F., Brown, M., Sanchez, E., Tattersall, R. S., & Manson, J. J. (2020). COVID-19: Consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet*, 395(10229), 1033–1034. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30628-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30628-0)
19. Ruan, Q., Yang, K., Wang, W., Jiang, L., & Song, J. (2020). Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Medicine*, 46(5), 846–848. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-05991-x>
20. Cavalli, G., De Luca, G., Campochiaro, C., Della-Torre, E., Ripa, M., Canetti, D., Oltolini, C., Castiglioni, B., Din, C. T., & Boffini, N. (2020). Interleukin-1 blockade with high-dose anakinra in patients with COVID-19, acute respiratory distress syndrome, and hyperinflammation: A retrospective cohort study. *The Lancet Rheumatology*, 2(6), e325–e331. [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30127-2](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30127-2)
21. Conti, P., Gallenga, C., Tetè, G., Caraffa, A., Ronconi, G., Younes, A., Toniato, E., Ross, R., & Kritas, S. K. (2020). How to reduce the likelihood of coronavirus-19 (CoV-19 or SARS-CoV-2) infection and lung inflammation mediated by IL-1. *Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents*, 34(2), 333–338. <https://doi.org/10.23812/20-Editorial-Conti-2>
22. Radbel, J., Narayanan, N., & Bhatt, P. J. (2020). Use of tocilizumab for COVID-19-induced cytokine release syndrome: A cautionary case report. *Chest*, 158(1), e15–e19. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2020.04.024>