لیزر در پزشکی ۱۳۹۹/ دوره ۱۷ / شماره ۴ / صفحات ۳۹-۳۰.

مقاله پژوهشی

# مطالعهٔ اثر درمان ترکیبی اسانس زنیان و لیزر کم‌توان بر بقاء سلولی سلول‌های سرطان سینه ردهٔ MDA-MB-231

سپیده ذریعه[۱]
زهرا کیان‌مهر[۱]*
خاطره خرسندی[۲]*

۱.گروه‌بیوشیمی،دانشکدهٔ‌علوم‌زیستی،دانشگاه آزاداسلامی‌واحدتهران‌شمال،تهران،ایران
۲. گروه پژوهشی فتودینامیک، مرکز تحقیقات لیزردرپزشکی، پژوهشکدهٔ یارا، جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

نویسندگان مسئول:
خاطره خرسندی، زهرا کیان‌مهر
پست الکترونیک:
khorsandi.kh@ut.ac.ir
z.kianmehr@ut.ac.ir
شماره تماس: ۰۲۱-۶۶۴۶۴۸۶۲

## خلاصه

**مقدمه:** سرطان در بسیاری از جوامع از جمله ایران دومین عامل مرگ‌ومیر بعد از بیماری‌های قلبی عروقی است. یکی از روش‌های سنتی برای کنترل پیشرفت بیماری سرطان سینه شیمی‌درمانی است که اغلب با عوارض شدید همراه می‌باشد. تحقیقات نشان می‌دهد که گیاهان دارویی منبع عالی و قابل اعتماد برای توسعهٔ داروهای جدید ضد سرطان می‌باشند. در مطالعهٔ حاضر اثر اسانس گیاه زنیان به تنهایی و همراه با لیزر کم‌توان بر سلول‌های سرطانی سینه ردهٔ MDA-MB-231 بررسی شده است.

**روش بررسی:** پس از کشت سلول‌های سرطانی سینه ردهٔ MDA-MB-231 این سلول‌ها با غلظت‌های مختلف اسانس زنیان (صفر تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به مدت ۲٤ ساعت تیمار شدند و سپس در معرض تابش لیزر کم‌توان با طول موج ٦٦۰ نانومتر و انرژی ۳ J/cm2 به مدت ۹۰ ثانیه قرار گرفتند. اثر اسانس زنیان و لیزر کم‌توان بر بقاء سلولی، تغییرات مورفولوژی سلول‌ها و وقوع آپوپتوز به ترتیب با استفاده از تست MTT، میکروسکوپ نوری و میکروسکوپ فلورسانس بررسی گردید.

**یافته‌ها:** غلظت مؤثرهٔ (IC50) اسانس زنیان در ۳۵ µg/ml در سلول‌های سرطانی سینه ردهٔ MDA-MB-231 به دست آمد. داده‌های حاصل از تست MTT نشان داد که سلول‌های سرطانی سینه ردهٔ MDA-MB-231 در معرض تابش لیزر کم‌توان تنها از بین نمی‌روند و همچنین درمان ترکیبی یعنی وقتی ابتدا سلول‌ها با اسانس زنیان تیمار و سپس در معرض لیزر کم‌توان قرار داده شدند، نسبت به تیمار با اسانس زنیان تنها، مرگ و میر بیشتری ایجاد می‌کند. تصاویر حاصل از میکروسکوپ نوری و میکروسکوپ فلورسانس نیز مؤید مرگ و میر سلولی بیشتر در روش ترکیبی تیمار سلول‌ها با اسانس زنیان و سپس لیزر کم‌توان بود.

**بحث و نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان داد اسانس زنیان علاوه بر خواص دارویی متعددی که در سایر مطالعات ذکر شده است، دارای اثرات ضدسرطانی نیز می‌باشد و همچنین درمان ترکیبی متشکل از اسانس زنیان و لیزر کم‌توان باعث افزایش اثرات ضدسرطانی اسانس زنیان و کاهش بیشتر بقاء سلول‌های سرطانی سینه ردهٔ MDA-MB-231 می‌شود. بررسی اثرات ضد سرطانی اسانس زنیان و نیز مواد مؤثرهٔ آن در سایر سلول‌های سرطانی و نیز مدل حیوانی توموری در مطالعات آینده پیشنهاد می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** سلول‌های سرطانی سینه، اسانس زنیان، لیزر کم‌توان درمانی (LLLT)، آپوپتوز

[ Downloaded from icml.ir on 2026-11-07 ]

## ۱. مقدمه

سرطان به معنی رشد، تکثیر و گاهی انتشار غیرطبیعی سلول‌های بدن است. سرطان به دنبال تقسیم غیرقابل کنترل سلول‌ها به وجود می‌آید که نتیجهٔ اثر عوامل محیطی و اختلالات ژنتیکی است. چهار دسته از ژن‌های کلیدی که در هدایت سلول‌های سرطانی نقش دارند شامل آنکوژن‌ها، ژن‌های مهارکنندهٔ توموری، ژن‌های ترمیم‌کنندهٔ DNA و ژن‌های مرگ برنامه‌ریزی‌شده هستند. چنانچه یك جهش ژنتیکی مهم و با معنی در سلول تولید شود و ترمیم نشود، سلول‌های طبیعی از مسیر خود خارج می‌شوند و تحت تأثیر فرمانده‌های جدید قرار می‌گیرند که به سوی سلول‌های سرطانی‌شدن پیشرفت می‌کنند[۱].

سرطان پستان بیماری است که در آن سلول‌های بدخیم از بافت سینه منشأ می‌گیرند، به طور نامنظم و فزاینده‌ای تکثیر می‌یابند و بدون این که موجب عکس‌العمل تدافعی و تهاجمی در سیستم ایمنی بدن شوند، از سیستم ایمنی و دفاعی بدن عبور می‌کنند. سرطان سینه اکثر اوقات به صورت یک تودهٔ بدون درد و سفت در قسمت فوقانی و خارجی سینه شروع می‌شود و به طور کلی می‌تواند در هر جایی از سینه ایجاد گردد. خطر ابتلا به سرطان سینه با افزایش سن افزایش می‌یابد به عنوان مثال خطر ابتلا به این بیماری بعد از سن ۴۰ و ۵۰ سالگی بیشتر است. سرطان سینه از شایع‌ترین سرطان‌ها (نرخ بروز ۱/۲میلیون در سال، شایع‌ترین بدخیمی و ۲۳ درصد تمام سرطان‌ها در زنان سراسر جهان) و پنجمین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در بین زنان ایرانی گزارش شده است[۲]. روش‌های مختلفی برای درمان سرطان سینه وجود دارد که عبارتند از: جراحی، شیمی‌درمانی، پرتودرمانی، ایمونودرمانی، ژن‌درمانی و حتی تلفیقی از این روش‌ها. یکی از روش‌هایی که به طور سنتی برای کنترل پیشرفت بیماری سرطان سینه استفاده می‌شود، شیمی‌درمانی است[۳و۴]. شیمی‌درمانی با وجود داشتن محدودیت‌هایی مانند عدم انتخابی بودن سمیت و هدفمند نبودن داروهای آن، نیازمند بودن به دوزهای بالای دارو برای مبارزه با سلول‌های سرطانی، مقاومت دارویی و عوارض جانبی متعدد، هنوز هم یکی از روش‌های درمانی مؤثر در نبرد با سلول‌های سرطانی به شمار می‌آیند[۵] .

یکی از راهکارهای مورد توجه پژوهشگران به عنوان جایگزین شیمی‌درمانی استفاده از ترکیبات استخراج‌شده از گیاهان است. در سال‌های اخیر نقش ترکیب‌های طبیعی موجود در رژیم غذایی به ویژه فلاونوئیدها در مهار سرطان‌زایی و درمان سرطان مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است[۶و۷]. در مطالعات نشان داده شده است که گیاهان دارویی منبع عالی و قابل اعتماد برای توسعهٔ داروهای جدید ضدسرطان می‌باشند. اسانس‌ها مخلوطی از ترکیبات روغنی فرار می‌باشند که به عنوان یک متابولیت ثانویه در گیاهان دارویی ساخته می‌شوند. براساس نظریهٔ سازمان استانداردسازی بین‌المللی، اسانس‌ها به عنوان محصولات استخراجی از منابع گیاهی یا میوه‌جات با استفاده از روش تقطیر با بخار یا آب در نظر گرفته می‌شوند. اسانس‌ها به دلیل ویژگی ضدمیکروبی، ضداکسیدانی، ضدالتهابی و ضدسرطان می‌توانند کاربردهای متعددی در زمینه‌های غذایی و دارویی داشته باشند.

گیاه زنیان یا نانخواه با نام علمی Trachyspermum ammi L از تیرهٔ چتریان (Apieaceae) است و دارای اسامی انگلیسی چون Lovagel، Carum و Ajowan می‌باشد (شکل۱). مطالعات فیتوشیمیایی عصارهٔ اتانولی زنیان حضور فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها، کربوهیدرات‌ها، فنل‌ها، تانن‌ها و ترپن‌ها را نشان داده است[۸و۹]. در مطالعات دارویی مختلف خواص ضدالتهابی[۱۰و۱۱]، آنتی‌اکسیدان[۱۸-۱۲] و ضدباکتریایی[۱۹و۲۰] و ضدآکنه[۲۱] میوهٔ گیاه زنیان تأیید شده است. مطالعهٔ حاضر بر روی بررسی اثرات ضدسرطانی اسانس زنیان متمرکز شده است.



شکل ۱: دانه‌های گیاه زنیان

اما، از دیگر روش‌هایی که در سال‌های اخیر در زمینه‌های پزشکی مختلف مورد توجه و استفاده قرار گرفته است، لیزر کم‌توان (LLL, Low Level Laser) است. لیزر کم‌توان یک نوع خاص از لیزر است که بر روی سیستم‌های بیولوژیکی اثر می‌گذارد[۲۲]. لیزرهای پزشکی که در لیزردرمانی ( Low Level Laser Therapy

[ Downloaded from icml.ir on 2026-11-07 ]

(LLLT)) مورد استفاده قرار می‌گیرند، عموماً در بخش نور مرئی (قرمز) و نزدیک مادون قرمز (NIR) طیف نور (٦٠٠ تا ١٠٧٠ نانومتر) عمل می‌کنند. انتخاب طول موج لیزری به شدت به هدف زیستی وابسته است. به طور کلی، لیزرهایی که در محدودهٔ ٦٠٠-٧٠٠ نانومتر عمل می‌کنند، برای درمان بافت‌های سطحی استفاده می‌شوند. به نظر می‌رسد اثرات درمانی این روش توسط واکنش‌های فتوشیمیایی که باعث تغییر نفوذپذیری غشاء سلولی و به دنبال آن افزایش ساخته شدن mRNA و پرولیفراسیون سلولی می‌شود، حاصل می‌گردد. این لیزرها با بافت وارد واکنش می‌گردند و بدون ایجاد حرارت باعث تحریک یا مهار در سلول می‌شوند. واکنش‌های اولیهٔ لیزرهای کم‌توان در سطح سلولی براساس جذب انرژی نور لیزر توسط مولکول‌های زنجیرهٔ تنفسی آغاز می‌شود و سیتوکروم-c اکسیداز یک کروموفور اصلی در پاسخ به لیزر کم‌توان است. تابش نور لیزر کم‌توان بر روی میتوکندری‌های ایزوله‌شده افزایش پتانسیل الکتروشیمیایی پروتون، افزایش سنتز NADH، سنتز RNA و پروتئین، افزایش مصرف اکسیژن، افزایش پتانسیل غشای میتوکندریایی و در نهایت افزایش سنتز ATP را نشان می‌دهد[۲۳].

با توجه به اهمیت ترکیبات گیاهی در درمان سرطان و همچنین شناخت بهتر اثر لیزر کم‌توان بر سلول‌های سرطانی در این مطالعه اثر اسانس زنیان به تنهایی و نیز در حضور لیزر کم‌توان بر سلول‌های سرطان سینهٔ انسانی ردهٔ MDA-MB-231 بررسی شده است.

## ۲. روش بررسی

### ۲-۱. مواد و وسایل آزمایش

سلول‌های سرطانی سینه ردهٔ MDA-MB-231 از مراکز ذخایر ژنتیکی ایران خریداری شدند. محیط کشت DMEM، سرم جنین گاوی (FBS) و تریپسین از شرکت Gibco، پودر MTT، اتیدیوم‌بروماید و آکریدین‌اورنج از شرکت Sigma و بافر PBS و اتانول ٩٦ درصد از شرکت مرک خریداری شدند.

### ۲-۲. آماده‌سازی اسانس زنیان

دانهٔ گیاه زنیان (Trachyspermum ammi) از عطاری خریداری شد. اسانس زنیان از ١٠٠ گرم دانهٔ خشک پودرشده با روش تقطیر به وسیلهٔ دستگاه کلونجر (Clevenger) آماده شد. حاصل تقطیر، اسانس روغنی و آب معطر (عرق) است که اسانس روغنی به طور معمول در بالای آب معطر قرار می‌گیرد و از طریق یک قیف دکانتور از آب معطر جدا می‌شود. اسانس و عرق به دست‌آمده در دمای ٤ درجهٔ سانتی‌گراد درون ظروف شیشه‌ای کدررنگ نگهداری شد.

### ۲-۲-۲. آنالیز و شناسایی اجزای اسانس زنیان

برای جداسازی و شناسایی اجزای اسانس زنیان دستگاه گاز کروماتوگرافی با ستون موئین سیلیکا HP-5 (به طول ٣٠ متر، قطر داخلی ٠/٢٥ میلی‌متر و ضخامت لایهٔ ٠/٢٥ میکرومتر) مجهز به طیف نگار جرمی (GC/MS) مدل Agilent 5975C استفاده شد. درصد نسبی هر یک از ترکیبات با توجه به سطح زیر منحنی هر ترکیب در طیف کروماتوگراف گازی (GC) محاسبه گردید. شاخص‌های بازداری (RI) با توجه به زمان بازداری (RT) n-آلکان‌های ٨ تا ٢٥ کربنه (C8-C25) به عنوان استاندارد تعیین شد که بعد از اسانس در شرایط مشابه کروماتوگرافی به دستگاه تزریق شدند. شناسایی اجزای اسانس با استفاده از نرم‌افزار دستگاه GC-MS و پارامتر شاخص بازداری و طیف‌های جرمی و مقایسهٔ آن‌ها با ترکیبات استاندارد گزارش‌شده در کتابخانه‌های Wiley و NIST (کتابخانه‌های NIST05a و Wiley 7n) صورت گرفت.

### ۲-۲-۳. آماده‌سازی امولسیون زنیان

از آنجا که اسانس به دست آمده محلول در چربی می‌باشد و پایداری کمی دارد، برای سهولت کار از آن امولسیون تهیه شد که محلول در آب می‌باشد. برای تهیهٔ امولسیون پلی‌سوربات - اسانس روغنی - آب معطر، یک میلی‌لیتر اسانس به ١٠٠ میلی‌لیتر آب معطر اضافه شد. سپس پلی‌سوربات ٢٠ (١٠٠ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به مخلوط اسانس و آب معطر اضافه گردید و مخلوط در دمای ٣٠ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت و سپس در ٤ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ٤٨ ساعت انکوبه شد. در این زمان امولسیون شیری رنگی تشکیل می‌شود. میزان کل فنل در امولسیون اسانس - عرق با استفاده از واکنش فولین - سیوکالتو و گالیک‌اسید به عنوان استاندارد تعیین شد[٢٤] این امولسیون شیری رنگ برای انجام آزمایشات مختلف بعدی استفاده شد.

### ۲-۳. کشت سلول

سلول‌های سرطانی سینه ردهٔ MDA-MB-231 در محیط کشت DMEM به همراه ١٠ درصد سرم جنین گاوی، پنی‌سیلین (١٠٠ واحد بر میلی‌لیتر) و استرپتومایسین (١٠٠ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و در شرایط ٣٧ درجهٔ سانتی‌گراد، مقدار ٥ درصد CO2، رطوبت ٩٥ درصد کشت داده شدند.

[ Downloaded from icml.ir on 2026-11-07 ]

**۲-٤. تست MTT و اندازه‌گیری بقاء سلول**

سنجش بقای سلولی به روش MTT پرکاربردترین روش بررسی تکثیر و بقای سلولی محسوب می‌شود. تست MTT یک روش رنگ‌سنجی برای ارزیابی فعالیت متابولیکی سلول مبتنی بر فعالیت میتوکندری می‌باشد. آنزیم‌های اکسیدوردوکتاز میتوکندریایی وابسته به NAD(P)H تحت شرایط تعریف شده تعداد سلول‌های زنده را منعکس می‌کنند. این آنزیم‌ها باعث احیا شدن و شکسته شدن کریستال‌های زردرنگ تترازولیوم با فرمول شیمیائی MTT 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide به کریستال‌های بنفش - آبی رنگ نامحلول و رسوبی فورمازان می‌شوند. ایزوپروپانول یا دی‌متیل سولفواکسید (DMSO) باعث حل شدن رسوب کروموفور فورمازان می‌شوند. شدت رنگ تولیدشده در طول موج ٥٤٠ تا ٦٣٠ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود و به طور مستقیم با تعداد سلول‌های زنده متناسب است. سلول‌های مرده چنین توانایی را ندارند و بنابر این سیگنالی را نشان نمی‌دهند. در این روش تمام مراحل آزمایش از ابتدای کشت سلولی تا قرائت نتایج با فتومتر در یك میکروپلیت انجام می‌شوند. لذا، تکرارپذیری، دقت و حساسیت آزمایش بالا است.

برای انجام آزمایش MTT بعد از اتمام زمان انکوباسیون سلول‌های تیمارشده، ٥٠ میکرولیتر از محیط رویی سلول‌ها دور ریخته شد ٥ میکرولیتر از محلول استوک MTT (٥ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بافر نمکی فسفات) به هر چاهک اضافه گردید. پس از چهار ساعت نگهداری در انکوباتور ۳۷ درجه، به دنبال خروج محیط کشت رویی، واکنش با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر DMSO متوقف گردید و میزان جذب، توسط دستگاه الایزاریدر در طول موج ٥٧٠ نانومتر اندازه‌گیری شد. نتایج حاصله به صورت درصد مقادیر حاصل از کنترل بیان گردید.

**۲-٥. بررسی اثر اسانس زنیان به تنهایی و بدون تابش نور لیزر (تاریکی) بر روی سلول‌های سرطانی سینه**

برای بررسی اثر اسانس زنیان بر سلول‌های سرطانی سینه ردهٔ MDA-MB-231 در غیاب تابش نور لیزر در هر چاهك از پلیت‌های کشت سلولی ٩٦ خانه‌ای، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی حاوی ١٠٤×١ سلول سرطانی کشت داده شد و پلیت‌ها در انکوباتور (۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد و ٥ درصد CO2 ) قرار گرفتند. ٢٤ ساعت بعد از کشت، سلول‌ها با غلظت‌های متفاوتی از اسانس زنیان شامل صفر تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تیمار و به مدت ٢٤ ساعت در تاریکی انکوبه شدند. سپس میزان مرگ‌ومیر سلولی با استفاده از تست MTT بررسی شد. IC50 یعنی غلظتی از اسانس زنیان که در حضور آن ٥٠ درصد رشد سلول‌ها در مقایسه با کنترل مهار شده باشد، با رسم نمودار درصد بقاء سلولی علیه غلظت‌های مختلف اسانس زنیان محاسبه شد.

**۲-٦. بررسی اثر درمان ترکیبی اسانس زنیان و تابش لیزر کم‌توان بر روی سلول‌های سرطانی سینه**

در این آزمایش ٢٤ ساعت بعد از کاشت سلولی در دو پلیت ٩٦ خانه، سلول‌ها با غلظت‌های مختلف اسانس زنیان (صفر تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به صورت سه بار تکرار) به مدت ٢٤ ساعت تیمار شدند. یک پلیت به عنوان کنترل (تاریکی) در نظر گرفته شد و پلیت دیگر تحت تابش لیزر کم‌توان با طول موج ٦٦٠ نانومتر و انرژی $J/cm^2$ ۳ به مدت ۹۰ ثانیه قرار گرفت و سپس مجدداً در انکوباتور قرار داده شد. جهت اندازه‌گیری بقاء سلولی در هر دو پلیت، تست MTT انجام شد.

**۲-۷. مشاهدهٔ تغییرات مورفولوژیک سلول‌ها با میکروسکوپ نوری**

پس از تیمار سلول‌های سرطانی سینه ردهٔ MDA-MB-231 با اسانس زنیان به تنهایی یا همراه با تابش لیزر کم‌توان مانند آزمایش فوق، تغییرات مورفولوژیک سلول‌ها با میکروسکوپ نوری اینورت و بزرگ‌نمایی 40X مورد مطالعه قرار گرفت.

**۲-۸. بررسی وقوع آپوپتوز با میکروسکوپ فلورسانس (رنگ‌آمیزی دوگانهٔ اتیدیوم‌بروماید و آکریدین‌اورنج)**

در این تست از رنگ‌های فلورسانس آکریدین‌اورنج و اتیدیوم‌بروماید استفاده می‌شود. آکریدین اورنج پس از جذب وارد DNA سلول زنده می‌شود و در زیر میکروسکوپ یک نمای سبز رنگ به کروماتین سلول می‌دهد. اتیدیوم بروماید فقط وارد DNA سلول مرده می‌شود و در زیر میکروسکوپ فلورسانس به کروماتین سلول مرده رنگ نارنجی می‌دهد. در نتیجه با استفاده از این روش سلول‌های زنده سبز رنگ و سلول‌های مرده به رنگ نارنجی تا قهوه‌ای دیده می‌شوند.

برای این رنگ‌آمیزی ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر آکریدین‌اورنج را به همراه ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر اتیدیوم‌بروماید به نسبت مساوی در ۱ میلی‌لیتر محلول بافر سالین حل شدند و سپس ٥ میکرولیتر از محلول فوق با ۲۵ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی حاصل از سلول‌های تیمارشده در شرایط مختلف مخلوط کرده و از این مخلوط ۱۰ میکرولیتر روی لام تمیز ریخته و روی آن با لامل پوشانده شد. سپس با عدسی 40X میکروسکوپ فلورسانس، سلول‌ها از نظر زنده بودن و غیرزنده بودن بررسی شدند.

[ Downloaded from icml.ir on 2026-11-07 ]

### ۹-۲. آنالیز آماری

تمامی داده‌های به دست آمده از این مطالعه حاصل سه بار تکرار از سه آزمایش مستقل بودند و داده‌ها با Microsoft Excel 2019 و آزمون آماری Student-t-test مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و داده‌های با ارزش $P < ۰/۰۵$ از نظر آماری معنی‌دار تلقی شدند.

## ۳- یافته‌ها

### ۱-۳. نتایج آنالیز اسانس زنیان

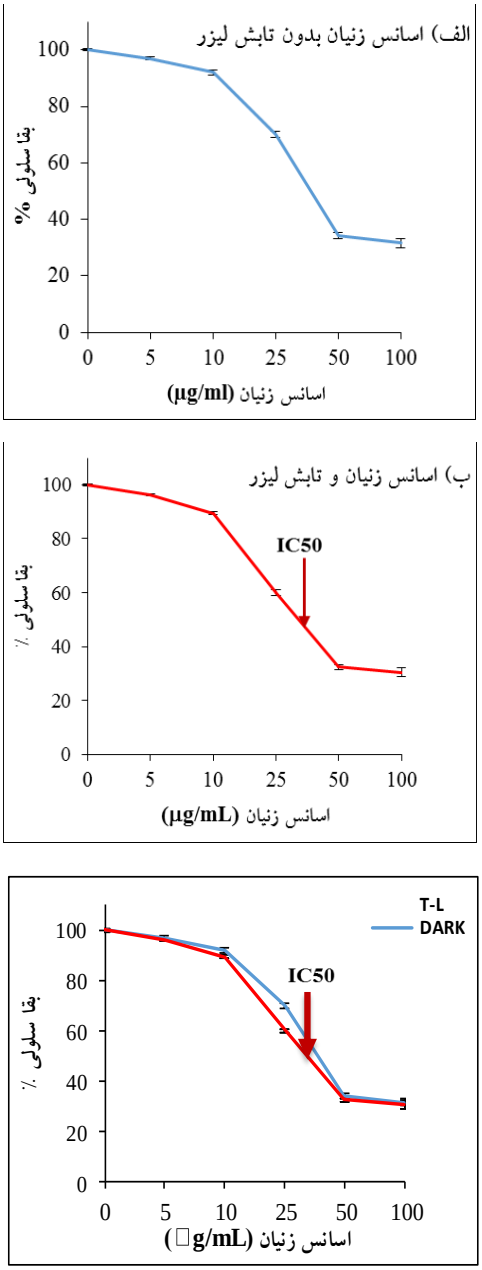
اسانس روغنی متمایل به زرد دانهٔ زنیان با استفاده از دستگاه کلونجر و روش تقطیر (hydro-distillation) آماده شد. نتایج آنالیز ترکیب شیمیایی اسانس زنیان توسط GC-MS حاکی از وجود ۲۳ ترکیب در اسانس زنیان بود که از این میان، اجزای اصلی تشکیل‌دهنده شامل تیمول (٤۰/۲۵ درصد)، γ-ترپینن (۳۸/٦۸ درصد) و پاراسیمن (۱۵/۸٤ درصد) بودند.

### ۲-۳. بررسی تأثیر اسانس زنیان بر بقای سلول‌های سرطانی سینه در تاریکی

نتایج حاصل از این آزمایش که بررسی اثر اسانس زنیان بر سلول‌های سرطانی ردهٔ MDA-MB-231 در تاریکی می‌باشد، نشان داد که در غلظت‌های ۰ ، ۵ ، ۱۰ ، ۲۵ ، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر از اسانس زنیان در تاریکی درصد بقاء سلول‌ها به ترتیب ۱۰۰، ۹۷، ۹۲، ۷۰، ۳٤/۳ و ۳۱/۰٦ درصد کاهش می‌یابد که بیانگر این است که با افزایش غلظت اسانس زنیان درصد بقاء سلول کاهش می‌یابد (شکل۲ الف). غلظت IC50 اسانس زنیان ۳۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد.

### ۳-۳. بررسی تأثیر تیمار با اسانس زنیان سپس تابش لیزر کم‌توان بر سلول‌های سرطانی سینه

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که درصد بقاء سلول‌ها پس از تیمار با غلظت‌های ۰ ، ۵ ، ۱۰ ، ۲۵ ، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر از اسانس زنیان و سپس تابش لیزر کم‌توان با طول موج ٦٦۰ نانومتر به مدت ۹۰ ثانیه، به ترتیب ۱۰۰، ۹٦/۲، ۸۹/٤، ٦۰، ۳۲/٤۳، ۳۰/۵ درصد کاهش می‌یابد (شکل۲ ب). بیانگر این است که با افزایش غلظت اسانس زنیان و تابش لیزر کم‌توان درصد بقای سلول‌های سرطانی کاهش می‌یابد. در نمودار سوم مقایسهٔ بین دوحالت تاریکی و اول تیمار با اسانس زنیان و سپس تابش لیزر کم‌توان نشان داده است.



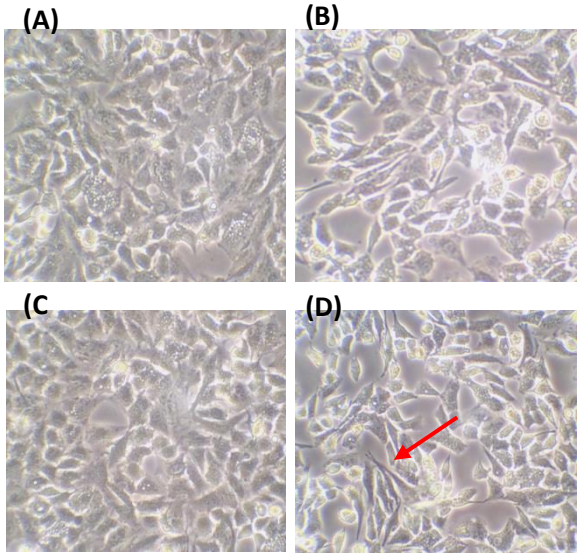

شکل۲: الف) اثر تیمار با غلظت‌های مختلف اسانس زنیان به‌تنهایی بر سلول‌های سرطانی سینه در تاریکی و ب) اثر تیمار با غلظت‌های مختلف اسانس زنیان و تابش لیزر کم‌توان با طول موج ٦٦۰ نانومتر و انرژی ۳ J/cm2 بر سلول‌های سرطانی سینه. .نتایج به صورت میانگین SD (n = 3) ± نشان داده شده است. * به معنای P <۰/۰۵ و معنی‌دار نسبت به گروه کنترل (بدون تیمار) تلقی می‌شود.

[ Downloaded from icml.ir on 2026-11-07 ]

**۴-۳. بررسی اثر اسانس زنیان و لیزر کم‌توان بر مورفولوژی سلول‌های سرطانی سینه با استفاده از میکروسکوپ نوری**

مورفولوژی سلول‌های سرطانی سینه در حالات مختلف از جمله غلظت صفر و تاریکی (شکل۳، قسمت A) و غلظت ۳۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از اسانس زنیان و تاریکی (شکل۳، قسمت B) و تابش لیزر کم‌توان به مدت ۹۰ ثانیه و انرژی J/cm2 ۳ (شکل۳، قسمتC) و تیمار سلول‌ها با غلظت ۳۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس زنیان و تابش لیزر کم‌توان با انرژی J/cm2 ۳ به مدت ۲۴ ساعت (شکل۳، قسمت D) با میکروسکوپ اینورت نوری و بزرگنمایی 40X مورد مطالعه قرار گرفتند.

مقایسهٔ تصاویر به دست آمده بیانگر این است که بیشترین تغییر مورفولوژی در سلول‌های سرطانی سینه ردهٔ MDA-MB-231 در حالت تیمار سلول‌ها با غلظت ۳۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس زنیان و تابش لیزر کم‌توان با انرژی J/cm2 ۳، (شکل۳، قسمتD) اتفاق افتاده است به صورتی که سلول‌ها از حالت دوکی‌شکل و چسبنده به حالت گرد و از کف پلیت جداشده تغییر شکل داده‌اند



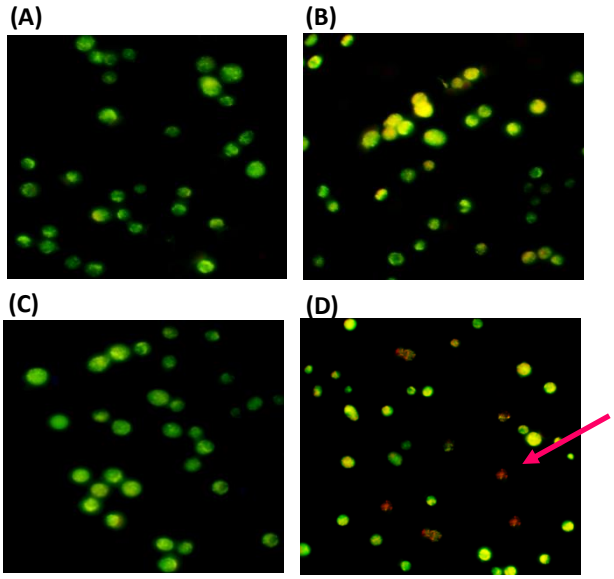

شکل۳: مورفولوژی سلول‌های سرطانی سینه ردهٔ MDA-MB-231 در تاریکی و عدم حضور اسانس زنیان (A) و تیمار با ۳۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از اسانس زنیان در تاریکی (B)، تابش لیزر کم‌توان با انرژی J/cm2 ۳ به مدت ۹۰ ثانیه (C) و درمان ترکیبی، تیمار سلول‌ها با غلظت ۳۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و سپس تابش لیزر کم‌توان با انرژی J/cm2 ۳ به مدت ۹۰ ثانیه (D)

**۵-۳. بررسی وقوع آپوپتوز با میکروسکوپ فلورسانس و رنگ‌آمیزی دوگانهٔ اتیدیوم‌بروماید و اکریدین‌اورنج**

به منظور بررسی القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی سینه ردهٔ MDA-MB-231 تیمارشده با اسانس زنیان، لیزر کم‌توان و درمان ترکیبی با اسانس زنیان و لیزر کم‌توان از روش رنگ‌آمیزی دوگانهٔ اکریدین‌اورنج - اتیدیوم‌بروماید استفاده شد. اکریدین‌اورنج توسط سلول‌های زنده و نرمال که غشای آن‌ها سالم است، جذب می‌شود و هنگامی که به DNA دو رشته وصل می‌شود، رنگ فلوئورسانس سبز را ساطع می‌کند. اتیدیوم‌بروماید توسط سلول‌هایی که در آن‌ها آپوپتوز رخ داده و غشای آن‌ها آسیب دیده است، جذب می‌شود و هنگامی که به قطعات متراکم DNA یا اجسام آپوپتوزی وصل می‌شود، رنگ فلوئورسانس نارنجی – قرمز را ساطع می‌کند[۲۵].

شکل٤ تصاویر فلورسنت مربوط به سلول‌های سرطانی سینه ردهٔ MDA-MB-231 در حالات مختلف از جمله در عدم حضور اسانس زنیان به عنوان کنترل (A)، تیمارشده با غلظت ۳۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس زنیان در تاریکی (B)، تیمارشده با تابش لیزر کم‌توان به مدت۹۰ ثانیه (C) و تیمارشده با غلظت ۳۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس زنیان و سپس تیمار با لیزر کم‌توان با انرژی J/cm2 ۳ (D) را پس از رنگ‌آمیزی با اکریدین‌اورنج – اتیدیوم‌بروماید نشان می‌دهد. همان‌طور که شکل٤ -A و C نشان داده است، هیچ‌گونه خصوصیات آپوپتوزی قابل توجهی در سلول‌های کنترل منفی مشاهده نشد در حالی که سلول‌های MDA-MB-231 تیمارشده با اسانس زنیان به تنهایی و نیز اسانس زنیان همراه با تابش لیزر کم‌توان، آپوپتوز (پیکان قرمز) را نشان می‌دهند (شکل‌های٤ -B و ٤ -D). با این حال، تعداد سلول‌های آپوپتوزی در سلول‌های تیمارشده با اسانس زنیان همراه با تابش لیزر کم‌توان بیشتر از تعداد سلول‌های آپوپتوزی القاءشده توسط اسانس زنیان به تنهایی بود.

[ Downloaded from icml.ir on 2026-11-07 ]




شکل ٤: تصاویر میکروسکوب فلورسانت از سلول‌های سرطانی سینه ردهٔ MDA-MB-231 (A) عدم‌حضور اسانس زنیان در تاریکی، (B) حضور ۳۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از اسانس زنیان در تاریکی، (C) تابش لیزر کم‌توان و (D) حضور غلظت ۳۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس زنیان و سپس تیمار با لیزر کم‌توان

## ٤- بحث و نتیجه‌گیری

با بالارفتن پایدار نرخ رشد و پیری، آمار سرطان به طور پیوسته در حال افزایش است و امروزه یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر در جهان مربوط به همین بیماری است[٢٦]. سرطان سینه، دومین علت رایج مرگ ناشی از سرطان است. سرطان سینه یک بیماری به شدت ناهمگن است که در اثر تأثیر متقابل عامل‌های خطر وراثتی و محیطی ایجاد می‌شود و به تجمع پیشروندهٔ تغییرات ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی در سلول‌های سرطان سینه منجر می‌شود. اگرچه شواهد اپیدمیولوژیک بر وجود عامل‌های خطر ویژه (مانند سن، چاقی، مصرف الکل و برخورد با استروژن در طول زندگی) تأکید دارد، وجود سابقهٔ خانوادگی سرطان سینه قوی‌ترین عامل خطر برای این بیماری به شمار می‌آید[٢٧].

فرآورده‌های بر پایهٔ گیاهان، دارای پتانسیل بالایی برای ساخت ترکیبات دارویی می‌باشند. بسیاری از داروهای ضدسرطانی ساخته شده از جمله تاکسان‌ها، وینکاآلکالوئیدها، پودوفیلوتوکسین‌ها و کامپتوتسین‌ها و ... از ترکیبات موجود در گیاهان ساخته شده‌اند و در درمان سرطان‌های مختلف متاستاتیک و غیرمتاستاتیک مورد استفاده قرار می‌گیرند.

زنیان (Trachyspermum ammi)، یکی از گیاهان دارویی مهم است که داراي خواص دارویی بیشماری از قبیل کاهش‌دهندهٔ کلسترول خون، مؤثر بر فعالیت آنزیم‌هاي هضم‌کنندهٔ پانکراس و رودهٔ کوچک، ضدعفونت‌های قارچی، پاک‌کنندهٔ جریان خون، آرام‌بخش و درمان درد کلیه می‌باشد[١٥, ١٩و٢٠]. هرچند مطالعات متعددی در مورد شناسایی اجزای تشکیل‌دهندهٔ اسانس زنیان و نیز بررسی خواص ضدمیکروبی، ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی اسانس زنیان انجام شده است، اما مطالعات اندکی در مورد بررسی اثرات ضدسرطانی محصولات بر پایهٔ این گیاه دارویی ارزشمند وجود دارد. از جملهٔ این مطالعات می‌توان به این موارد اشاره کرد:

Dhivya و همکاران، اثرات سمیت عصارهٔ آبی بذر خشک زنیان در سلول‌های سرطان پستان را بررسی کردند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که پرولیفراسیون سلولی وابسته به دوز این عصاره در غلظت‌های بالاتر از ٢٠٠ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. در صورتی که در غلظت‌های زیر ٢٠٠ میکروگرم بر میلی‌لیتر اثر مهارکنندگی نسبی روی سلول‌ها دیده شد. این مطالعه نشان داد که عصارهٔ آبی بذر خشک زنیان سمیت نسبی و کمی، روی سلول‌های سرطانی دارد و حتی در برخی از غلظت‌ها باعث پرولیفراسیون و تکثیر سلول‌های سرطانی می‌شود[٢٨].

Vitali و همکاران اثرات بیولوژیکی متنوع اسانس دانهٔ زنیان را بررسی کردند و نشان دادند که تیمول (٦٧/٤%)، پاراسیمن (١٧/٩%) و تری‌پنن (١١/٣%) اجزای اصلی تشکیل‌دهندهٔ اسانس زنیان هستند و نیز اسانس زنیان دارای فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. همچنین نتایج تست MTT به دنبال تیمار با غلظت‌های مختلف اسانس زنیان (٠/٧٨ تا ٢٠٠ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به مدت ٧٢ ساعت در سه ردهٔ سلول سرطانی ملانوما (A375)، آدنوکارسینومای پستان (MDA-MB 231) و سرطان رودهٔ بزرگ (HCT116) نشان داد اسانس زنیان دارای اثرات ضدسرطانی است و IC50 آن به ترتیب ١٦/٩٣، ٦٦/٥٢ و ٩/٦ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد[٢٩].

از سویی دیگر طبق پژوهش‌های قبلی مشخص شده است که لیزر کم‌توان به عنوان یک درمان چندمنظورهٔ ایمن و مؤثر به طور بالقوه برای استفاده با سایر درمان‌ها یا به عنوان یک روش مستقل در درمان سرطان و دیگر بیماري‌هاي پیچیده می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. لیزر به واسطهٔ تأثیر بر روی کروموفورهای موجود در میتوکندری،

[ Downloaded from icml.ir on 2026-11-07 ]

بر سلول اثر می‌گذارد و محرک مکانیسم‌های واکنشی متعاقب در سلول می‌گردد و یا به واسطهٔ تأثیر بر نفوذپذیری غشای سلولی منجر به تغییر در عکس‌العمل سلول در مقابل یک تیمار بخصوص می‌گردد.

با توجه به توضیحات فوق، مطالعهٔ حاضر با هدف برررسی اثرات ضدسرطانی اسانس زنیان به تنهایی و نیز همراه با لیزر کم توان طرح‌ریزی شد برای یافتن پاسخ این سؤال که آیا استفاده از لیزر کم‌توان موجب بهبود توانایی ضدسرطانی اسانس زنیان می‌شود؟ چه آنکه نتایج مطالعات مختلفی که در آن‌ها اثر درمان ترکیبی متشکل از یک مادهٔ ضدسرطان و لیزر کم‌توان بررسی شده است، حاکی از اثر مثبت لیزر کم‌توان در پایین آوردن دوز مؤثر مادهٔ ضد سرطان می‌باشد از جملهٔ این مطالعات عبارتند از:

در مطالعهٔ کیان‌مهر و همکاران اثر پاراکوماریک‌اسید به عنوان ترکیب فنولی در حضور لیزر کم‌توان بر سلول‌های سرطانی ملانومای انسانی ردهٔ A375 بررسی گردید. نتایج حاصل نشان داد که بقاء سلول‌های سرطانی نسبت به پاراکوماریک‌اسید رفتار وابسته به دوز نشان می‌دهد. همچنین در روش پیش تیمار سلول‌های A375 با لیزر کم‌توان و سپس تیمار سلول‌ها با پاراکوماریک‌اسید، بقاء و رشد سلول‌های سرطانی نسبت به گروه تاریکی بیشتر کاهش می‌یابد[۳۰].

خرسندی و همکاران اثر گالیک‌اسید به عنوان ترکیب فنولی در حضور لیزر کم‌توان بر سلول‌های سرطانی سینهٔ انسانی ردهٔ MDA-MB-231 و سلول‌های سرطانی ملانومای انسانی ردهٔ A375 را بررسی کردند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که بقای سلول‌های MDA-MB-231 و A375 در حضور گالیک‌اسید به صورت وابسته به دوز کاهش می‌یابد. پیش‌تیمار سلول‌های MDA-MB-231 و A375 با لیزر کم‌توان و سپس تیمار با گالیک‌اسید موجب کاهش چشمگیر بقاء و رشد هر دو ردهٔ سلول‌های سرطانی نسبت به تیمار با گالیک‌اسید به تنهایی می‌شود[۳۱].

نتایج مطالعهٔ حاضر نشان داد که اجزای اصلی تشکیل‌دهندهٔ اسانس دانهٔ زنیان شامل تیمول (۴۰/۲۵ درصد)، γ-ترپینن (۳۸/۶۸ درصد) و پاراسیمن (۱۵/۸۴ درصد) می‌باشند. بقای سلول‌های سرطانی سینهٔ انسانی ردهٔ MDA-MB-231 در اثر تیمار با اسانس زنیان در یک رفتار وابسته به دوز کاهش می‌یابد و دوز مؤثره (IC50) اسانس زنیان ۳۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. یعنی در مقایسه با مطالعهٔ Vitali و همکاران که دوز مؤثرهٔ اسانس زنیان در سلول‌های MDA-MB-231 را ۶۶/۵۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند، تقریباً نصف می‌باشد که ممکن است ناشی از تفاوت درصد اجزای تشکیل‌دهندهٔ اسانس مورد استفاده باشد. آب و هوا و ارتفاع (تنوع جغرافیایی)، گونه، تفاوت مرحلهٔ‌رشد، زمان جمع‌آوری (تنوع فصلی)، روند آماده‌سازی اسانس و سایر عوامل ممکن است در ترکیب نهایی اسانس و تفاوت درصد اجزای تشکیل‌دهندهٔ اسانس تأثیر بگذارند. بنابراین، اسانس به دست آمده از گیاه زنیان که در مناطق مختلف کشورها کشت می‌شود، از نظر رنگ و طعم، ویسکوزیته و ترکیبات شیمیایی متفاوت می‌باشد.

همچنین پیش‌تیمار سلول‌های MDA-MB-231 با غلظت مشخصی از اسانس زنیان و سپس تیمار این سلول‌ها با لیزر کم‌توان، نسبت به حضور اسانس زنیان به تنهایی (تاریکی) بقاء و رشد سلول‌های سرطانی سینه را بیشتر کاهش داده است. بررسی تغییرات مورفولوژی با میکروسکوپ نوری و بررسی القای آپوپتوز با میکروسکوپ فلورسانس در حالات مختلف آزمایش، مؤید کاهش بیشتر بقای سلولی در حالت تیمار با اسانس زنیان به همراه لیزر کم‌توان بود.

در مطالعهٔ ما نیز مطابق با هر دو مطالعهٔ کیان‌مهر و همکاران[۳۰] و خرسندی و همکاران [۳۱] مشخص شد که هرچند لیزر کم‌توان به تنهایی قادر به از بین بردن سلول‌های سرطانی نیست، اما استفاده از لیزر کم‌توان می‌تواند به نوعی نفوذپذیری سلول‌های سرطانی را نسبت به داروی ضدسرطان بهبود بخشد و درنتیجه اثر ضدسرطانی آن افزایش یابد.

در مجموع نتایج مطالعهٔ حاضر حاکی از اثر مثبت لیزر کم‌توان (انرژی دانسیتهٔ کم) در بهبود نسبی اثرات ضدسرطانی اسانس زنیان (در غلظت کم IC50= 35µg/ml) می‌باشد اما، برای قضاوت بهتر در مورد اثر لیزر کم‌توان در افزایش اثرات ضدسرطانی اسانس زنیان که ترکیبی از مواد مؤثرهٔ مختلف می‌باشد، می‌توان پیشنهاد داد که در رده‌های مختلف سلول‌های سرطانی اثر درمان ترکیبی اسانس زنیان با لیزر کم‌توان و نیز اثر تک‌تک اجزای اصلی تشکیل‌دهندهٔ اسانس زنیان به تنهایی و همراه با لیزر کم‌توان و همچنین اثر اسانس بازسازی‌شده (ترکیب اجزای اصلی در آزمایشگاه با همان درصد موجود در اسانس طبیعی) بررسی شود.

بنابراین به نظر می‌رسد در صورت بررسی اثرات ضدسرطانی آن‌ها در آزمایشات بیشتر احتمالاً قابلیت کاربرد در موارد بالینی را خواهد داشت.

## تقدیر و تشکر

نویسندگان از تمامی افرادی که در انجام این پژوهش کمک کردند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

[ Downloaded from icml.ir on 2026-11-07 ]

## References:

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020, CA. Cancer J. Clin. 2020; 70: 7–30. doi:10.3322/caac.21590.

2. Waks AG, Winer EP. Breast Cancer Treatment, JAMA - J. Am. Med. Assoc. 2019; 321: 316. doi:10.1001/jama.2018; 20751.

3. Fisusi FA, Akala EO. Drug Combinations in Breast Cancer Therapy, Pharm. Nanotechnol. 2019; 7: 3–23. doi:10.2174/2211738507666190122111224.

4. Zeng ZJ, Li JH, Zhang YJ, Zhao ST. Optimal combination of radiotherapy and endocrine drugs in breast cancer treatment, Cancer/Radiothérapie. 2013; 17: 208–14. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.canrad.2013.01.014.

5. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials, Lancet. 2005; 365: 1687–717. doi:10.1016/S0140-6736(05)66544-0.

6. Pandey KB, Rizvi SI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease, Oxid. Med. Cell. Longev. 2009; 2: 270–8. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2835915/.

7. Yang CS, Landau JM, Huang MT, Newmark HL. INHIBITION OF CARCINOGENESIS BY DIETARY POLYPHENOLIC COMPOUNDS, Annu. Rev. Nutr. 2001; 21: 381–406. doi:10.1146/annurev.nutr.21.1.381.

8. Bairwa R, Rajawat B, Sodha R. Trachyspermum ammi, Pharmacogn. Rev. 2012; 6: 56.doi:10.4103/0973-7847.95871.

9. Dubey S, Kashyap P. Trachyspermum ammi: A Review on its Multidimensional Uses in Indian Folklore Medicines, Res. J. Med. Plant. 2015: 9: 368–74. doi:10.3923/rjmp.2015.368.374.

10. Thangam C, Dhananjayan R. Antiinflammatory potential of the seeds of Carum copticum Linn, Indian J. Pharmacol. 2003; 35: 388–91.

11. Umar S, Asif M, Sajad M, Ansari MM, Hussain U, Ahmad W. Anti-inflammatory and antioxidant activity of Trachyspermum ammi seeds in collagen induced arthritis in rats, Int J Drug Dev Res. 2012; 4: 210–9.

12. Antioxidant Activity of Essential Oil Extracted by SC-CO2 from Seeds of Trachyspermum ammi, Medicines. 2017; 4: 53. doi:10.3390/medicines 4030053.

13. Chatterjee S, Goswami N, Kothari N. Evaluation of antioxidant activity of essential oil from Ajwain (Trachyspermum ammi) seeds, Int. J. Green Pharm. 2013; 7: 140. doi:10.4103/0973-8258.116396.

14. Bajpai VK, Agrawal P. Studies on Phytochemicals, Antioxidant, Free Radical Scavenging and Lipid Peroxidation Inhibitory effects of Trachyspermum ammi seeds, Indian J. Pharm. Educ. Res. 2015; 49: 58–65. doi:10.5530/ijper.49.1.8.

15. Ranjbaran A, Kavoosi G, Mojallal-Tabatabaei Z, Ardestani SK. The antioxidant activity of Trachyspermum ammi essential oil and thymol in murine macrophages, Biocatal. Agric. Biotechnol. 2019; 20: 101220. doi:10.1016/j.bcab.2019.101220.

16. Saxena SN, Agarwal D, Saxena R, Rathore SS. Analysis of anti-oxidant properties of ajwain (Trachyspermum ammi L) seed extract, Int J Seed Spices. 2012; 2: 550–5.

17. Prashanth MK, Revanasiddappa HD, Rai KML, Raveesha KA, Jayalakshmi B. Antioxidant and antibacterial activity of ajwain seed extract against antibiotic resistant bacteria and activity enhancement by the addition of metal salts, J. Pharm. Res. 2012; 5:1952–6.

18. Chatterjee S, Goswami N, Bhatnagar P. Estimation of Phenolic Components and in vitro Antioxidant Activity of Fennel (Foeniculum vulgare) and Ajwain (Trachyspermum ammi) seeds, Adv Biores. 2012; 3: 109–18.

19. Sharifi Mood B, Shafeghat M, Metanat M, Saeidi S, Sepehri N. The Inhibitory Effect of Ajowan Essential Oil on Bacterial Growth, Int. J. Infect. 2014; 1. doi:10.17795/iji-19394.

20. Manayi A, Vazirian M, Omidpanah S, Hosseinkhani F, Hasseli A. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of Trachyspermum ammi, Planta Med. 2014; 80. doi:10.1055/s-0034-1394937.

21. Talebi Z, Kord Afshari G, Ahmad Nasrollahi S, Firooz A, Ghovvati M, Samadi A. Potential of Trachyspermum ammi (ajwain) gel for treatment of facial acne vulgaris: a pilot study with skin biophysical profile assessment and red fluorescence photography, Res. J. Pharmacogn. 2020; 7: 61–9.

[ Downloaded from icml.ir on 2026-11-07 ]

22. Hamblin MR. Photobiomodulation or low-level laser therapy, J. Biophotonics. 2016: 9: 1122–4. doi:10.1002/jbio.201670113.

23. Chung H, Dai T, Sharma SK, Huang YY, Carroll JD, Hamblin MR. The Nuts and Bolts of Low-level Laser (Light) Therapy, Ann. Biomed. Eng. 2012; 40: 516–33. doi:10.1007/s10439-011-0454-7.

24. Ainsworth EA, Gillespie KM. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent, Nat. Protoc. 2007; 2: 875–7. doi:10.1038/nprot.2007.102.

25. Wu X. Dual AO/EB Staining to Detect Apoptosis in Osteosarcoma Cells Compared with Flow Cytometry, Med. Sci. Monit. Basic Res. 2015; 21: 15–20. doi:10.12659/MSMBR.893327.

26. Lee KW, Bode AM, Dong Z. Molecular targets of phytochemicals for cancer prevention, Nat. Rev. Cancer. 2011; 11: 211–8. doi:10.1038/nrc3017.

27. Wang C, Kar S, Lai X, Cai W, Arfuso F, Sethi G. Triple negative breast cancer in Asia: An insider's view, Cancer Treat. Rev. 2018; 62: 29–38. doi:10.1016/j.ctrv.2017.10.014.

28. Ramya N, Priyadharshini XX, Prakash R. Anti-cancer activity of Trachyspermum ammi against MCF7 cell lines mediates by p53 and Bcl-2 mRNA levels., J Phytopharm. 2017; 6: 78–83.

29. Vitali LA, Beghelli D, Biapa Nya PC, Bistoni O, Cappellacci L, Damiano S. Diverse biological effects of the essential oil from Iranian Trachyspermum ammi, Arab. J. Chem. 2016; 9: 775–86. doi:10.1016/j.arabjc.2015.06.002.

30. Kianmehr Z, Khorsandi K, Mohammadi M, Hosseinzadeh R. Low-level laser irradiation potentiates anticancer activity of p-coumaric acid against human malignant melanoma cells, Melanoma Res. 2020; 30: 136–46. doi:10.1097/CMR.0000000000000603.

31. Khorsandi K, Kianmehr Z, Hosseinmardi Z, Hosseinzadeh R. Anti-cancer effect of gallic acid in presence of low level laser irradiation: ROS production and induction of apoptosis and ferroptosis, Cancer Cell Int. 2020; 20: 18. doi:10.1186/s12935-020-1100-y.

[ Downloaded from icml.ir on 2026-11-07 ]