



Evaluation the Effect of Renin-Angiotensin System Antagonists on the Cytotoxicity of Doxorubicin against MDA-MB-231 and MCF-7 Cell Lines

Andayeshgar A^a, Shakeri R^{b*}, Ghamari F^c

^a MSc, Department of Biological Science, Faculty of Science, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.

^b Assistant Professor, Department of Biological Science, Faculty of Science, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.

^c Assistant professor, Department of science, Payame noor University, P.O.Box 19395-4697, Tehran, Iran

Original Article

Use your device to scan and read the article online



Citation: Andayeshgar A, Shakeri R, Ghamari F. Evaluation the Effect of Renin-Angiotensin System Antagonists on the Cytotoxicity of Doxorubicin against MDA-MB-231 and MCF-7 Cell Lines. Journal of Cell and Tissue . 2024; 15(1):71-96.

<https://10.52547/JCT/15.1.71>

KEYWORDS

Include at least 3 and at most 5 keywords or phrases in separate lines.

Breast Cancer
Renin Angiotensin System
Chemotherapy
Angiotensin receptor blockers
ACE Inhibitors

ABSTRACT

Aim:: The renin-angiotensin system (RAS) is an endocrine system essential for regulating blood pressure and fluid balance. Components of this system are expressed not only in various body cells but also in breast cancer cells. Angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors, which are widely used as antihypertensive agents, have been proposed to have an additional benefit in reducing the risk of certain cancers. Doxorubicin is a commonly used chemotherapy drug, also employed in the treatment of breast cancer. One of the side effects of doxorubicin is its toxicity to cardiac cells. This research aims to investigate the effect of cytotoxicity of four RAS antagonists (enalapril, captopril, valsartan, and losartan) in the presence and absence of doxorubicin against two breast cancer cell lines including MCF-7 and MDA-MB-231. The study's objective is to determine whether these RAS inhibitors can modulate the cytotoxicity of doxorubicin and their potential impact on breast cancer cell survival. **Material and methods:** MTT is one of the colorimetric methods to investigate cell survival. This assay is based on the conversion of the MTT reagent to a formazan product by metabolically active cells, providing a quantitative measure of cell viability. The effect of RAS inhibitors in the presence and absence of doxorubicin on the survival of cancer cells was measured using the MTT test. Chemotherapy drugs, such as doxorubicin, typically reduce cell survival by inducing apoptosis. One of the markers of apoptosis induction in cells is the evaluation of caspase-3/7 activity. The induction of apoptosis in MDA-MB-231 cells treated with the RAS inhibitors

* Corresponding author. Tel.: +98-8733664600; Fax: +98-8733622702

E-mail address: r.shakeri@uok.ac.ir

DOI: <https://10.52547/JCT/15.1.71>

Received: 6 Mar. 2024; Received in revised form: 10 Jun. 2024; Accepted: 23 Jun. 2024

Original Article

© Author



was investigated using a caspase-3/7 activity assay kit, which quantifies the enzymatic activity in cell lysates. **Results:** Enalapril had no significant cytotoxic effect on breast cancer cells at concentrations up to 500 µg/mL. Captopril and losartan were toxic to breast cancer cells. Valsartan had no cytotoxic effect on breast cancer cells and increased cell proliferation over time. The cytotoxic effects of captopril and losartan on breast cancer cells may be attributed to their inhibitory effects on the RAS. The RAS plays a crucial role in regulating blood pressure and fluid balance, but it also has inhibitory effects on tumor growth and progression. By blocking the activity of the RAS with captopril and losartan, the cells may experience reduced proliferation and ultimately cytotoxicity. Enalapril, captopril, valsartan, and losartan protected breast cancer cells from doxorubicin cytotoxicity in a concentration- and time-dependent manner. Captopril and losartan treatment increased caspase-7/3 activity in MDA-MB-231 cells. The increase in caspase-7/3 activity in MDA-MB-231 cells suggests that captopril and losartan-induced cytotoxicity may be accompanied by apoptosis. Apoptosis is a desirable outcome in cancer treatment as it allows for the elimination of cancer cells while preserving normal tissue function.

Conclusion: RAS inhibitors can interfere with the cytotoxic effects of doxorubicin on breast cancer cells, depending on the concentration and duration of exposure. Further research is required to understand the optimal use and dosage of RAS system inhibitors in this context to ensure a balance between protecting the heart from doxorubicin-induced cardiotoxicity and maintaining the efficacy of cancer treatment.



بررسی اثر آنتاگونیست‌های سیستم رنین - آنژیوتانسین بر سمیت سلولی

دوکسوروبیسین بر رده‌های سلولی MDA-MB-231 و MCF-7

آمنه اندایشگر^۱، راحله شاکری^{۲*}، فاطمه قمری^۳

^۱ کارشناس ارشد، گروه علوم زیستی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران، ameneandayeshgar@gmail.com

^۲ استادیار، گروه علوم زیستی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران، r.shakeri@uok.ac.ir

^۳ استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، Fatemehghamari@outlook.com

چکیده	واژگان کلیدی
<p>هدف: سیستم رنین آنژیوتانسین یک سیستم غدد درون ریز است. اجزا این سیستم در تعدادی از سلول‌های بدن و همچنین در سرطان پستان بیان می‌شوند. مهارکننده‌های آنزیم مبدل آنژیوتان سین (ACE) به‌طور گسترده به‌عنوان عوامل ضد فشارخون مورد استفاده قرار می‌گیرند. پیشنهاد شده است که آن‌ها خطر ابتلا به برخی سرطان‌ها را کاهش می‌دهند. دوکسوروبیسین از داروهای متداول شیمی‌درمانی است که برای درمان سرطان پستان نیز از آن استفاده می‌کنند. یکی از عوارض جانبی دوکسوروبیسین، سمیت آن برای سلول‌های قلبی است. هدف این پژوهش بررسی اثر متقابل آنتاگونیست‌های رنین-آنژیوتان سین بر سمیت سلولی دوکسوروبیسین است. مواد و روش‌ها: اثر مهارکننده‌های سیستم رنین آنژیوتان سین شامل انالاپریل، کاپتوپریل، والسارتان و لوزارتان بر روی بقای سلول‌های سرطانی پستان در حضور و غیاب دوکسوروبیسین با تست MTT بررسی شد. القای آپوپتوزیس در سلول‌های MDA-MB-231 با کیت سنجش فعالیت کاسپاز-۳/۷ بررسی شد. نتایج: انالاپریل سمیت زیادی برای سلول‌های سرطانی نداشت اما کاپتوپریل و لوزارتان اثر سیتوتوکسیک داشتند. والسارتان نه تنها بر سلول‌ها اثر سیتوتوکسیک نداشت بلکه با افزایش زمان، تکثیر سلول‌ها را افزایش داد. بررسی فعالیت کاسپاز-۳/۷ در سلول‌های MDA-MB-231 تحت تیمار با کاپتوپریل و لوزارتان نشان داد که سلول‌های تیمار شده فعالیت کاسپاز-۳/۷ بالاتری در مقایسه با کنترل دارند که نشانگر القای آپوپتوزیس است. بررسی درصد بقای سلول‌ها در حضور دوکسوروبیسین و هر کدام از داروها در غلظت‌های کمتر از IC₅₀، نشان داد که انالاپریل، کاپتوپریل، والسارتان و لوزارتان بسته به غلظت و زمان قادر به حفاظت از سلول‌های سرطانی در برابر اثر سیتوتوکسیک دوکسوروبیسین هستند.</p> <p>نتیجه‌گیری: مهارکننده‌های سیستم رنین-آنژیوتانسین بسته به غلظت و زمان می‌توانند در اثر سیتوتوکسیک دوکسوروبیسین تداخل ایجاد کنند.</p>	<p>سرطان پستان سیستم رنین-آنژیوتانسین شیمی‌درمانی محدود کننده‌های گیرنده آنژیوتانسین مهار کننده ACE</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۶ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۳/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۰۳</p>

۱- مقدمه

سرطان سینه یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها در بین زنان است که هر ساله سبب مرگ تعداد بسیار زیادی از زنان در سراسر جهان می‌شود. سرطان سینه از تقسیم کنترل‌نشده‌ی سلول‌های سینه آغاز و سبب ایجاد توده‌ایی به نام تومور می‌شود. تومورهای سینه در صورت عدم درمان، تهاجمی می‌شوند و با حمله به بافت‌های اطراف باعث متاستاز می‌شوند (۱). وجود غده در سینه، تغییر اندازه و ابعاد سینه، تفاوت در رنگ پوست سینه و درد سینه از علائم بالینی افراد مبتلا به سرطان سینه است. عوامل مختلفی مانند سن، ژنتیک، سبک زندگی و مصرف داروهای ضدبارداری در بروز سرطان سینه دخیل هستند. سرطان سینه یک بیماری پیچیده و ناهمگن (Heterogeneous) است که براساس مشخصات بالینی مانند اندازه‌ی تومور، درگیری غدد لنفاوی و وضعیت گیرنده‌های هورمونی مانند گیرنده‌های استروژن، پروژسترون و گیرنده‌ی فاکتور رشد اپیدرمی شماره‌ی دو انسانی (Her2) (Human epidermal growth factor receptor) به گروه‌های مختلفی دسته‌بندی می‌شود (۲). الگوی بیان این گیرنده‌ها در انتخاب روش درمانی اهمیت بسیار زیادی دارد. رده‌های سلولی (Cell lines) از مهم‌ترین مدل‌های آزمایشگاهی برای تحقیقات سرطان هستند که به دلیل نامیرا بودن (Immortalized) و خودهمانندسازی، جمعیت سلولی همگن (Homogeneous) را برای تحقیقات سلولی و مولکولی در اختیار محقق قرار می‌دهند. MCF-7 و MDA-MB-231 از مهم‌ترین رده‌های سلولی سرطان سینه هستند. سلول‌های MCF-7 با داشتن گیرنده‌ی استروژن، قابلیت متاستازی شدن پائینی دارند اما سلول‌های MDA-MB-231 فاقد گیرنده‌ی استروژن و دارای قدرت تهاجمی بالا هستند (۳-۵). روش‌های ارائه‌شده برای درمان سرطان سینه شامل جراحی، شیمی‌درمانی، پرتودرمانی و هورمون‌درمانی است (۶). داروهای بسیاری برای درمان (شیمی‌درمانی) سرطان سینه تأیید شده یا تحت بررسی می‌باشند. تحقیقات نشان داده است که اهداف سلولی داروهای کاهنده‌ی فشارخون در رشد و تکثیر سلولی نیز دخیل است (۷). گزارش شده است که در بیمارانی که از مهارکننده‌های آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) (Angiotensin-converting enzyme) و مهارکننده‌های گیرنده‌ی آنژیوتانسین II استفاده کرده‌اند، خطر ابتلا به برخی از انواع سرطان‌ها کمتر بوده است (۸). سیستم رنین-آنژیوتانسین (RAS) (Renin-angiotensin system) یک سیستم غدد درون‌ریز است که با تنظیم فشار خون و تعادل مایعات در حفظ همئوستازی بدن نقش بسیار مهمی دارد. زمانی که حجم خون کم است، آسپارتیل پروتئنازی به نام رنین از کلیه ترشح می‌شود که با تاثیر آنزیمی بر پروتئین پلاسمایی به نام آنژیوتانسینوژن ترشحی از کبد، باعث تبدیل آن به آنژیوتانسین I می‌شود. آنژیوتانسین I توسط آنزیم ACE در عروق ریوی به آنژیوتانسین II تبدیل می‌شود. آنژیوتانسین II از یک طرف با اتصال به گیرنده‌ی آنژیوتانسین در عروق، باعث انقباض و تنگ شدن عروق و از طرف دیگر با تحریک ترشح آلدوسترون از غده‌ی فوق کلیه، باعث افزایش بازجذب سدیم و آب توسط کلیه و در نهایت افزایش حجم و فشار خون می‌شود. اجزای سیستم RAS به ویژه گیرنده‌ی آنژیوتانسین II در انواع مختلف سرطان‌ها مانند مغز، ریه، پانکراس، پستان، پروستات، پوست و غیره بیان می‌شود (۹). گزارش شده است، آنژیوتانسین II رشد سلول‌های سرطانی پستان را به روشی وابسته به غلظت و زمان از طریق مسیر پیام‌رسانی PI3-Kinase/Akt تحریک می‌کند (۱۰). ACEI با مسدود کردن سیگنال گیرنده‌های سیستم رنین آنژیوتانسین توسط مسدودکننده‌های AngII می‌توانند رشد تومور، رگ زایی و متاستاز را کاهش دهند (۱۱). داروهایی که سیستم رنین آنژیوتانسین را هدف قرار می‌دهند، اخیراً به دلیل کاربرد بالقوه آن‌ها به‌عنوان درمان سرطان مورد توجه قرار گرفته‌اند. استفاده از ARBها و ACEIها برای مدیریت فشارخون بالا در بیماران سرطانی با بهبود نتایج بقای سرطان کلیه، پروستات، پستان و ریه مرتبط است (۱۲). همچنین مطالعه‌ی یک گروه بزرگ نشان داد که استفاده از مهارکننده‌های ACE با کاهش بروز سرطان‌های کشنده مرتبط است. علاوه بر این در دهه گذشته گزارش‌های متعددی نشان داده‌اند که مهارکننده‌های ACE و مسدودکننده‌های AT1R ممکن است علیه سرطان عمل کنند، بنابراین استراتژی‌های درمانی جدیدی برای بدخیمی‌ها پیشنهاد می‌شود (۱۱).

با توجه به تائید داروهای کاهنده‌ی فشارخون در مصارف انسانی و همپوشانی اهداف سلولی آن‌ها با مسیرهای رشد و تکثیر سلول، از این ترکیبات می‌توان در جهت کاهش عوارض جانبی دوکسوروبیسین و استفاده از دوزهای پائین‌تر دارو بهره‌برداری کرد. براین اساس هدف این مطالعه، بررسی اثر آنتاگونیست‌های سیستم رنین - آنژیوتانسین بر روی رشد سلول‌های MDA-MB-231 و MCF-7 و هم‌چنین اثر آن‌ها بر سمیت دوکسوروبیسین بر سلول‌های فوق است.

۲- مواد و روش‌ها

مواد: محیط کشت سلولی DMEM High Glucose، تریپسین، سرم جنین گاوی (FBS)، بافر فسفات سالین (PBS) و آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین-استرپتومایسین از شرکت ایده‌زیست نو ترکیب خریداری شدند. پلیت ۹۶ خانه کشت سلول از Nunc، دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) و متانول از Carlo Ebra، پودر MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) و بافر فسفات از شرکت سیگما خریداری شدند. رده‌های سلولی MCF-7 و MDA-MB-231 از شرکت بن‌یاخته خریداری شدند.

کشت سلولی: رده‌های سلولی به‌طور جداگانه در محیط کشت سلولی DMEM-High Glucose با غلظت ۱۰ درصد از FBS و غلظت ۱ درصد از پنی‌سیلین-استرپتومایسین در فلاسک کشت سلولی T-75 کشت و جهت رشد به انکوباتور حاوی CO₂ منتقل شد. پس از رسیدن تراکم سلولی ۸۰ درصد، محیط کشت سلولی دور ریخته شد و سلول‌ها با PBS شسته شدند. سپس با تریپسین، سلول‌ها از کف فلاسک کنده شدند و با افزودن محیط کشت سلولی حاوی FBS، فعالیت تریپسین متوقف شد. سوسپانسیون سلولی سانتریفیوژ شد و رسوب سلولی در یک میلی‌لیتر محیط کشت حل شد. پس از شمارش سلولی، سلول‌ها به تعداد ۱۵۰۰۰ سلول در ۰/۲ میلی‌لیتر محیط کشت سلولی حاوی FBS، در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه‌ی استریل توزیع و به‌مدت ۱۶ ساعت در انکوباتور حاوی CO₂ قرار گرفتند. پس از مشاهده‌ی سلول‌ها در زیر میکروسکوپ اینورت و حصول اطمینان از چسبیدن آن‌ها به کف پلیت و گرفتن مورفولوژی، محیط کشت آن‌ها با محیط کشت حاوی غلظت‌های مختلف از داروهای مورد مطالعه تعویض شد و مجدد به انکوباتور حاوی CO₂ منتقل شد.

تست MTT: یکی از روش‌های ارزیابی میزان بقای سلول‌ها، تست MTT است. MTT روش رنگ‌سنجی است که در آن سلول‌های زنده به‌دلیل فعال بودن آنزیم سوکسینان دهیدروژناز میتوکندریایی در آن‌ها، می‌توانند نمک تترازولیوم را به کریستال‌های بنفش رنگ فورمازان تبدیل کنند. DMSO حلال کریستال‌های فورمازان است (۱۳). برای انجام تست MTT، ابتدا محتویات هر چاهک تخلیه و سلول‌ها با محلول ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از MTT به‌مدت ۳ ساعت در انکوباتور حاوی CO₂ با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و در تاریکی انکوبه شدند. در ادامه‌ی کار، مجدد محتویات هر چاهک تخلیه و با ۱۰۰ میکرولیتر محلول DMSO جایگزین شد. پس از حصول اطمینان از حل شدن کریستال‌های فورمازان در DMSO، جذب هر چاهک دستگاه پلیت ریدر با مدل Epoch ساخت شرکت BioTek در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت شد. درصد مهار با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$۱۰۰ \times ((\text{جذب کنترل منفی}) / (\text{جذب تست} - \text{جذب کنترل منفی})) = \text{درصد مهار}$$

IC₅₀ (غلظتی از دارو که موجب مهار ۵۰ درصدی رشد سلولی می‌شود) با استفاده از ترسیم منحنی داده‌های درصد مهار در برابر غلظت‌های مختلف دارو محاسبه شد. درصد بقای سلولی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد مهار} - ۱۰۰ = \text{درصد بقای سلولی}$$

سنجش فعالیت کاسپاز-۷/۳: جهت سنجش فعالیت کاسپاز-۷/۳ در لیز سلولی از کیت سنجش فعالیت آنزیمی کاسپاز-۷/۳ شرکت کیازیست (KCAS96) استفاده شد. مطابق روش کار مندرج در کیت، ابتدا سلول‌های MDA-MB-231 در پتری‌دیش به تعداد ۵۰۰ هزار سلول در ۳ میلی‌لیتر محیط کشت سلولی کشت داده شدند و پس از ۱۶ ساعت با غلظت IC_{50} از دارو به مدت ۱۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و CO_2 ۵ درصد تیمار شدند. سپس سلول‌ها با تریپسین از کف پتری‌دیش جدا و پس از سانتریفیوژ و شستشو مطابق دستورالعمل مندرج در کیت، فعالیت آنزیمی کاسپاز-۷/۳ در لیز سلولی سنجش شد. لازم به ذکر است قبل از سنجش آنزیمی میزان پروتئین تام در لیز سلولی با روش برادفورد اندازه‌گیری شد.

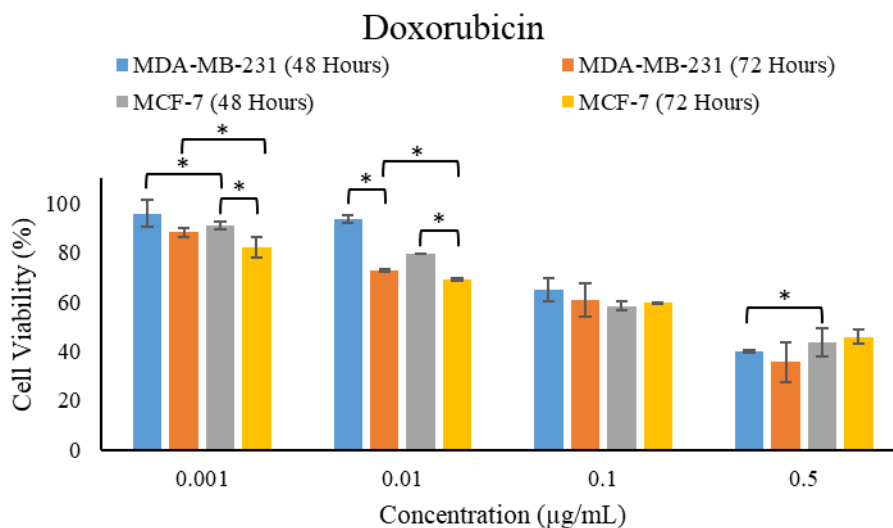
۳- آنالیز آماری

همه‌ی تست‌ها حداقل سه بار تکرار شد. از آزمون T و تحلیل واریانس یک‌طرفه برای مقایسه‌ی اختلاف بین نمونه‌ها استفاده شد. برای ترسیم منحنی‌ها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

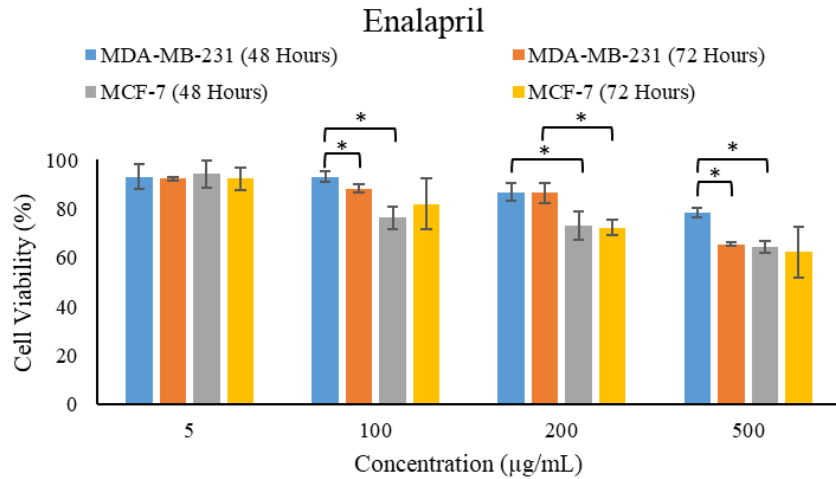
۴- نتایج

درصد بقای سلول‌های سرطان پستان رده‌ی MDA-MB-231 و MCF-7 تیمار شده با داروهای مهارکننده‌ی سیستم رنین-آنژیوتانسین

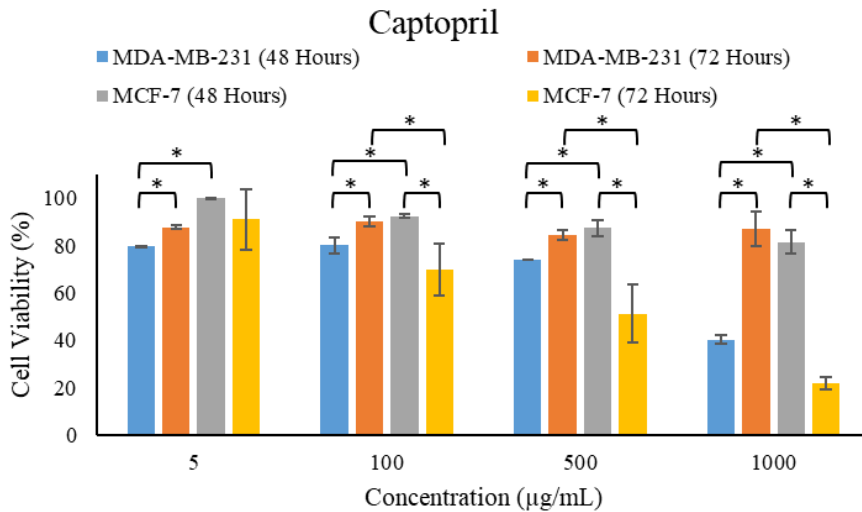
انالپریل، کاپتوپریل، والسارتان و لوزارتان با مهار سیستم رنین-آنژیوتانسین فشارخون را کاهش می‌دهند. جهت بررسی اثر سیتوتوکسیک این داروها، سلول‌های سرطانی MDA-MB-231 و MCF-7 با غلظت‌های مختلف از داروهای فوق و دوکسوروبیسین (کنترل مثبت) در دو بازه‌ی زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. سپس میزان بقای سلولی با تست MTT بررسی شد. درصد بقای سلول‌ها در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین، انالپریل، کاپتوپریل، والسارتان و لوزارتان به ترتیب در شکل‌های ۱ تا ۵ نشان داده شده است. IC_{50} (غلظتی از دارو که سبب مرگ ۵۰ درصد سلول‌ها می‌شود) داروها در جدول ۱ آمده است.



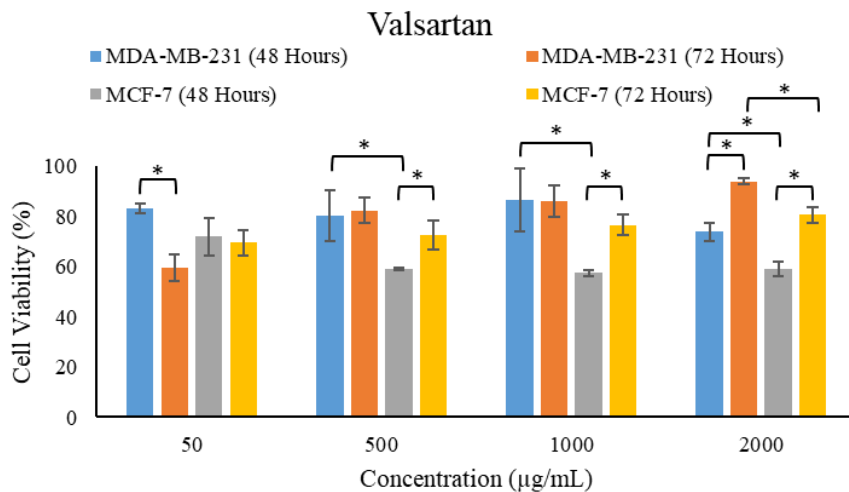
شکل ۱: نمودار درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 و MCF-7 در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین در دو بازه‌ی زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است ($P\text{-value} < 0.05^*$).



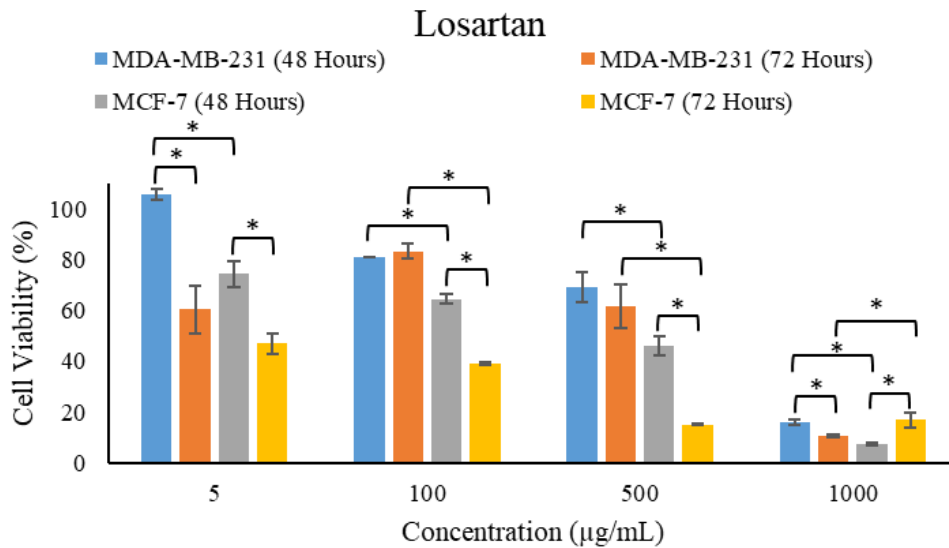
شکل ۲: نمودار درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 و MCF-7 در حضور غلظت‌های مختلف انالاپریل در دو بازه‌ی زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است ($P\text{-value} < 0.05^*$).



شکل ۳: نمودار درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 و MCF-7 در حضور غلظت‌های مختلف کاپتوپریل در دو بازه‌ی زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است ($P\text{-value} < 0.05^*$).



شکل ۴: نمودار درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 و MCF-7 در حضور غلظت‌های مختلف والسارتان در دو بازه‌ی زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است ($P\text{-value} < 0.05^*$).



شکل ۵: نمودار درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 و MCF-7 در حضور غلظت‌های مختلف لوزارتان در دو بازه‌ی زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است ($P\text{-value} < 0.05$).

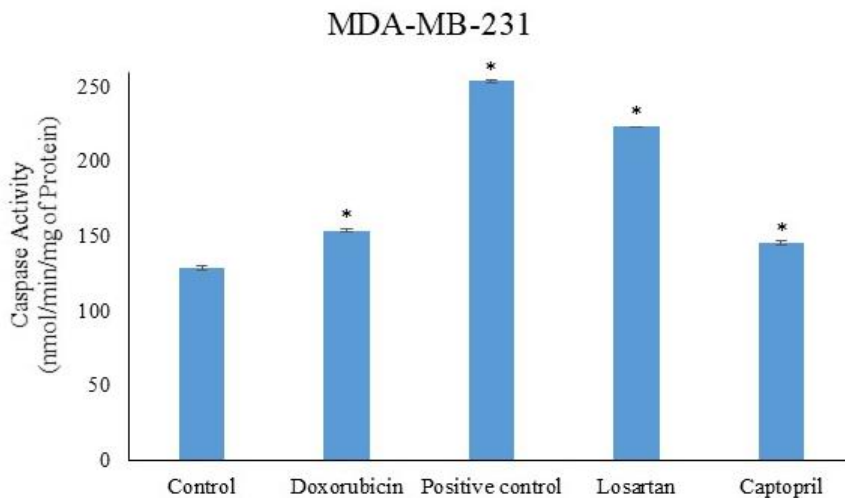
همان‌طور که در شکل ۱ قابل مشاهده است، درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 و MCF-7 با افزایش غلظت دوکسوروبیسین در دو بازه‌ی زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت کاهش می‌یابد. آنالیزهای ۵، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بر میزان بقای هر دو رده‌ی سلولی اثر ناچیزی دارد و براین اساس برای القای مرگ در ۵۰ درصد از سلول‌ها باید از غلظت بیشتر از ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از آنالیز استفاده شود (شکل ۲). کاپتوپریل در غلظت‌های مورد استفاده در مدت زمان ۴۸ ساعت، مرگ سلول‌های MDA-MB-231 را افزایش داد. روند تغییرات بقای سلول‌های MDA-MB-231 در تیمار ۷۲ ساعته با کاپتوپریل، وابسته به غلظت نیست و درصد بقای سلولی در تمامی غلظت‌ها تقریباً ۱۰ درصد کاهش یافته است. میزان بقای سلول‌های MCF-7 در حضور کاپتوپریل با افزایش غلظت و زمان کاهش یافت و روند کاهشی بقای سلولی، در مدت‌زمان ۷۲ ساعت سریع‌تر از ۴۸ ساعت بود (شکل ۳). والسارتان در غلظت‌های مختلف در مدت‌زمان ۴۸ ساعت بر رده‌ی سلولی MDA-MB-231 بی‌اثر بود، اما همان‌طور که در شکل ۴ قابل مشاهده است، درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 با افزایش غلظت والسارتان در مدت زمان ۷۲ ساعت روند افزایشی دارد. نتایج اثر والسارتان بر بقای سلول‌های MCF-7 نشان داد که در مدت زمان ۴۸ ساعت میزان بقای سلولی کاهش می‌یابد، اما با افزایش زمان مانند رده‌ی MDA-MB-231 میزان بقای سلولی افزایش می‌یابد. با توجه به اینکه روند تغییر میزان بقای هر دو رده‌ی سلولی با افزایش غلظت والسارتان، صعودی و یا کاهشی غیروابسته به غلظت است، محاسبه IC_{50} برای والسارتان امکان‌پذیر نیست. اثر لوزارتان بر بقای سلول‌های MDA-MB-231 و MCF-7 وابسته به غلظت و زمان است. با افزایش غلظت و همچنین افزایش زمان میزان مرگ‌ومیر سلول‌ها در حضور لوزارتان بیشتر شد (شکل ۵). IC_{50} مربوط به اثر سیتوتوکسیک داروها در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱: IC₅₀ داروهای مهارکننده‌ی سیستم رنین-آنژیوتانسین و دوکسوروبیسین به‌عنوان کنترل مثبت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است.

دارو	IC ₅₀ (µg/mL)			
	MDA-MB-231		MCF-7	
	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت
دوکسوروبیسین	۰/۳۶ ± ۰/۰۹۴	۰/۱۹۹ ± ۰/۰۱۹	۰/۳۱۸ ± ۰/۰۶۳	۰/۱۹۳ ± ۰/۰۸۷
انالاپریل	>۵۰۰	>۵۰۰	>۵۰۰	>۵۰۰
کاپتوپریل	۷۵۰ ± ۴۲/۲۰	>۱۰۰۰	>۱۰۰۰	۵۳۵/۴ ± ۳۷/۶۹۰
والسارتان	-	-	-	-
لوزارتان	۸۴۶/۵ ± ۱۵۹/۱	۵۹۱/۰۵ ± ۱۴/۶	۱۰۲/۳ ± ۱۸/۳۸	۵۵/۳ ± ۵/۸۷

فعالیت کاسپاز-۷/۳ در سلول MDA-MB-231 تحت تیمار با دوکسوروبیسین، کاپتوپریل و لوزارتان

یکی از شاخص‌های القای آپوپتوزیس فعال شدن کاسپاز-۷/۳ است. جهت ارزیابی نوع مرگ سلولی القا شده توسط داروهای مهارکننده‌ی سیستم رنین-آنژیوتانسین با کمترین IC₅₀، میزان فعالیت کاسپاز-۷/۳ در سلول‌های MDA-MB-231 تیمار شده با دوکسوروبیسین، کاپتوپریل و لوزارتان با استفاده از سوبسترای کروموزنیک کاسپاز-۷/۳ بررسی شد. همان‌طور که در شکل ۶ قابل مشاهده است، کاپتوپریل و لوزارتان با فعال کردن کاسپاز-۷/۳ سبب القای مرگ سلولی در رده‌ی MDA-MB-231 می‌شوند.



شکل ۱: میزان فعالیت کاسپاز-۷/۳ در سلول MDA-MB-231 تیمار شده غلظت IC₅₀ از دوکسوروبیسین، کاپتوپریل و لوزارتان. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. * (فعالیت کاسپاز-۷/۳ در مقایسه با کنترل) P value < 0.05 معنادار است.

بررسی اثر سیتوتوکسیک دوکسوروبیسین در حضور داروهای مهارکننده‌ی سیستم رنین-آنژیوتانسین بر بقای سلول‌های MDA-MB-231 و MCF-7

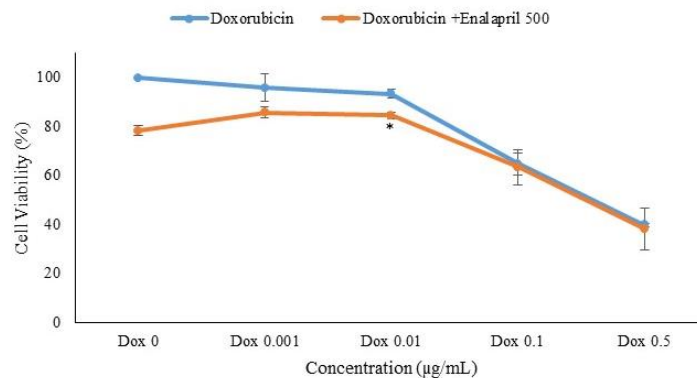
دوکسوروبیسین یکی از داروهای شیمی‌درمانی پرکاربرد در درمان بیماران مبتلا به سرطان پستان است. جهت بررسی اثربخشی دوکسوروبیسین در القای مرگ در سلول‌های سرطانی در حضور داروهای مهارکننده‌ی سیستم رنین-آنژیوتانسین، در این قسمت درصد بقا و درصد مهار سلول‌های سرطان پستان رده‌ی MDA-MB-231 و MCF-7 در حضور ترکیب غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین و داروهای مهارکننده‌ی سیستم رنین آنژیوتانسین با غلظت‌های مشخص شامل انالاپریل با غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، کاپتوپریل با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، والسارتان با غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و

لوزارتان با دو غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در زمان‌های ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به‌صورت نمودار و جدول در شکل‌های ۶ تا ۲۱ آمده است. قسمت بالای هر شکل مربوط به نمودار درصد بقای سلول‌ها در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین در ترکیب با داروی مربوطه است. در قسمت پایین هر شکل، درصد مهار داروها به‌صورت عددی در جدول آمده است.

بررسی اثر سیتوتوکسیک دوکسوروبیسین در حضور انالاپریل ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بر رده‌ی MDA-MB-231 نشان داد (شکل‌های ۷ و ۸)، که اثر سیتوتوکسیک دوکسوروبیسین در همه‌ی غلظت‌ها به استثنای غلظت ۰/۰۱، در حضور و غیاب انالاپریل مشابه اثر دوکسوروبیسین به‌تنهایی در مدت‌زمان ۴۸ ساعت است. میزان بقای سلول‌های MDA-MB-231 در حضور دوکسوروبیسین ۰/۰۱ و انالاپریل کاهش معناداری در مقایسه با دوکسوروبیسین به‌تنهایی دارد. این کاهش ناشی از اثر سیتوتوکسیک انالاپریل است. البته این کاهش به‌اندازه‌ی اثر تجمیعی دوکسوروبیسین و انالاپریل نیست. درصد مرگ سلول‌های MDA-MB-231 در حضور دوکسوروبیسین به‌تنهایی و در ترکیب با انالاپریل به‌صورت عددی در جدول مندرج در بخش پائینی نمودار مربوطه آمده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، درصد مرگ‌ومیر سلول‌ها در حضور دوکسوروبیسین و انالاپریل کمتر از درصد مرگ‌ومیر تجمیعی (حاصل جمع اثر دوکسوروبیسین و انالاپریل به‌صورت جداگانه) است که احتمالاً نشانگر کاهش توانایی دو دارو در القای مرگ سلولی در حضور یکدیگر است. در مدت‌زمان ۷۲ ساعت هم اثر دوکسوروبیسین در همه‌ی غلظت‌ها به‌استثنای ۰/۰۱ در حضور و غیاب انالاپریل مشابه اثر دوکسوروبیسین به‌تنهایی بر روی سلول MDA-MB-231 است. میزان بقای سلول‌های MDA-MB-231 در حضور دوکسوروبیسین ۰/۰۱ و انالاپریل کاهش معناداری در مقایسه با دوکسوروبیسین به‌تنهایی دارد. این کاهش ناشی از اثر سیتوتوکسیک انالاپریل است. البته این کاهش به‌اندازه‌ی اثر تجمیعی دوکسوروبیسین و انالاپریل نیست. درصد مرگ سلول‌های MDA-MB-231 در حضور دوکسوروبیسین به‌تنهایی و در ترکیب با انالاپریل به‌صورت عددی در جدول مندرج در بخش پائینی نمودار مربوطه آمده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، درصد مرگ‌ومیر سلول‌ها در حضور دوکسوروبیسین و انالاپریل کمتر از درصد مرگ‌ومیر تجمیعی (حاصل جمع اثر دوکسوروبیسین و انالاپریل به‌صورت جداگانه) است که نشانگر کاهش توانایی دو دارو در القای مرگ سلولی در حضور یکدیگر است.

بررسی اثر سیتوتوکسیک دوکسوروبیسین در حضور انالاپریل با غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بر رده‌ی MCF-7 در مدت‌زمان ۴۸ ساعت نشان داد (شکل ۹) که درصد بقای سلولی در حضور غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۱ و ۰/۱ دوکسوروبیسین در ترکیب با انالاپریل، با اثر جداگانه‌ی دوکسوروبیسین در همه‌ی غلظت‌ها، تفاوت معناداری ندارد؛ اما با اثر سیتوتوکسیک انالاپریل به‌تنهایی اختلاف معناداری دارند. دوکسوروبیسین ۰/۵ در ترکیب با انالاپریل سبب افزایش بقای سلولی در مقایسه با دوکسوروبیسین به‌تنهایی شده است. میزان بقای سلول‌های MCF-7 در حضور غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۰۱ دوکسوروبیسین همراه با انالاپریل بیشتر از بقای سلولی در حضور انالاپریل به‌تنهایی است؛ اما میزان بقای سلولی در حضور غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵ دوکسوروبیسین همراه با انالاپریل کمتر از بقای سلولی در حضور انالاپریل به‌تنهایی است. بررسی درصد مرگ سلولی دوکسوروبیسین در ترکیب با انالاپریل در مقایسه با اثر تجمیعی نشان داد که اثر سیتوتوکسیک دوکسوروبیسین با اثر انالاپریل تجمیع نشده است. در مدت‌زمان ۷۲ ساعت هم باوجود کاهش بقای سلول‌های MCF-7 در حضور دوکسوروبیسین و انالاپریل نسبت به دوکسوروبیسین به‌تنهایی، با اثر تجمیعی داروها اختلاف دارند که نشانگر عدم توانایی کامل دو دارو در القای مرگ سلولی در حضور یکدیگر است (شکل ۱۰).

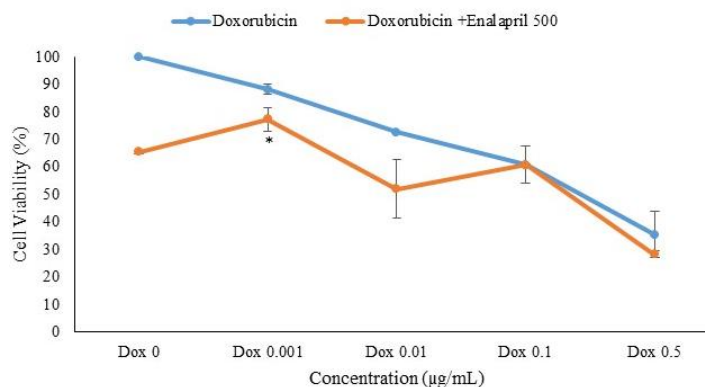
MDA-MB-231 (48 Hours)



Concentration (µg/mL)	0.00	0.01	0.10	0.50	500
Doxorubicin	4.12	6.50	35.22	60.21	
Doxorubicin + Enalapril 500	14.13	15.32	36.52	61.77	
Enalapril					21.57
Sum (Doxorubicin + Enalapril500)	25.69	28.07	56.78	81.77	
Diff (Doxorubicin + Enalapril500)	-11.56	-12.75	-20.26	-20.00	

شکل ۲: نمودار درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین و انالاپریل در بازه‌ی زمانی ۴۸ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. اختلاف معنادار درصد بقای سلولی در مقایسه با دوکسوروبیسین به تنهایی با * نشان داده شده است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است ($P\text{-value} < 0.05^*$). درصدهای مهار دوکسوروبیسین، انالاپریل ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و دوکسوروبیسین در ترکیب با انالاپریل ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در جدول نشان داده شده است. مجموع پیش‌بینی شده از درصد مهار دوکسوروبیسین و دارو با علامت Sum در یک ردیف آمده است. اختلاف بین درصد مهار پیش‌بینی شده و درصد مهار مشاهده شده با علامت Diff در یک ردیف نشان داده شده و اختلاف‌های معنی‌دار از نظر آماری با رنگ قرمز مشخص شده است.

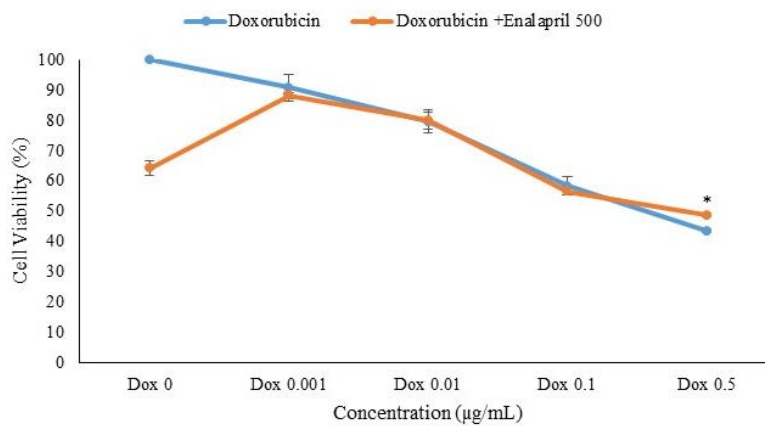
MDA-MB-231 (72 Hours)



Concentration (µg/mL)	0.001	0.01	0.1	0.5	500
Doxorubicin	11.78	27.34	39.24	69.23	
Doxorubicin + Enalapril 500	24.74	40.46	39.15	71.76	
Enalapril					35.13
Sum (Doxorubicin + Enalapril500)	46.91	62.47	74.37	104.36	
Diff (Doxorubicin + Enalapril500)	-22.17	-22.01	-35.22	-32.60	

شکل ۳: نمودار درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین و انالاپریل در بازه‌ی زمانی ۷۲ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. اختلاف معنادار درصد بقای سلولی در مقایسه با دوکسوروبیسین به تنهایی با * نشان داده شده است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است ($P\text{-value} < 0.05^*$). درصدهای مهار دوکسوروبیسین، انالاپریل ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و دوکسوروبیسین در ترکیب با انالاپریل ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در جدول نشان داده شده است. مجموع پیش‌بینی شده از درصد مهار دوکسوروبیسین و دارو با علامت Sum در یک ردیف آمده است. اختلاف بین درصد مهار پیش‌بینی شده و درصد مهار مشاهده شده با علامت Diff در یک ردیف نشان داده شده و اختلاف‌های معنی‌دار از نظر آماری با رنگ قرمز مشخص شده است.

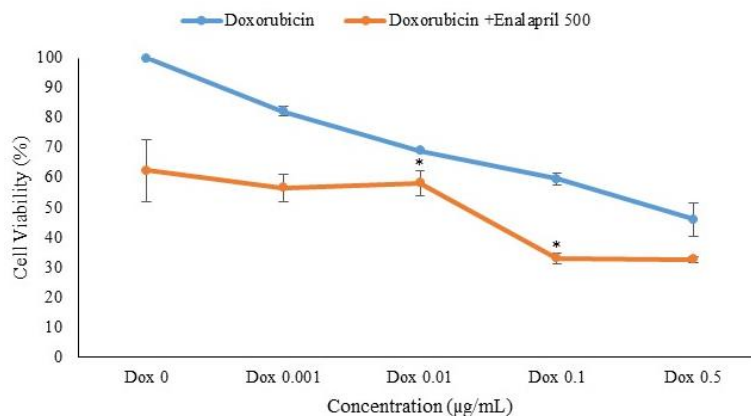
MCF-7 (48 Hours)



Concentration (µg/mL)	0.001	0.01	0.1	0.5	500
Doxorubicin	9.22	20.37	41.66	56.57	
Doxorubicin +Enalapril 500	11.84	20.07	43.44	51.34	
Enalapril					35.77
Sum (Doxorubicin + Enalapril500)	44.99	56.14	77.43	92.34	
Diff (Doxorubicin +Enalapril500)	-33.15	-36.07	-33.99	-41.01	

شکل ۴: نمودار درصد بقای سلول‌های MCF-7 در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین و انالاپریل بازه‌ی زمانی ۴۸ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. اختلاف معنادار درصد بقای سلولی در مقایسه با دوکسوروبیسین به تنهایی با * نشان داده شده است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است (*P-value < 0.05). درصدهای مهار دوکسوروبیسین، انالاپریل ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و دوکسوروبیسین در ترکیب با انالاپریل ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در جدول نشان داده شده است. مجموع پیش‌بینی‌شده از درصد مهار دوکسوروبیسین و دارو با علامت Sum در یک ردیف آمده است. اختلاف بین درصد مهار پیش‌بینی‌شده و درصد مهار مشاهده‌شده با علامت Diff در یک ردیف نشان داده شده و اختلاف‌های معنی‌دار از نظر آماری با رنگ قرمز مشخص شده است.

MCF-7 (72 Hours)

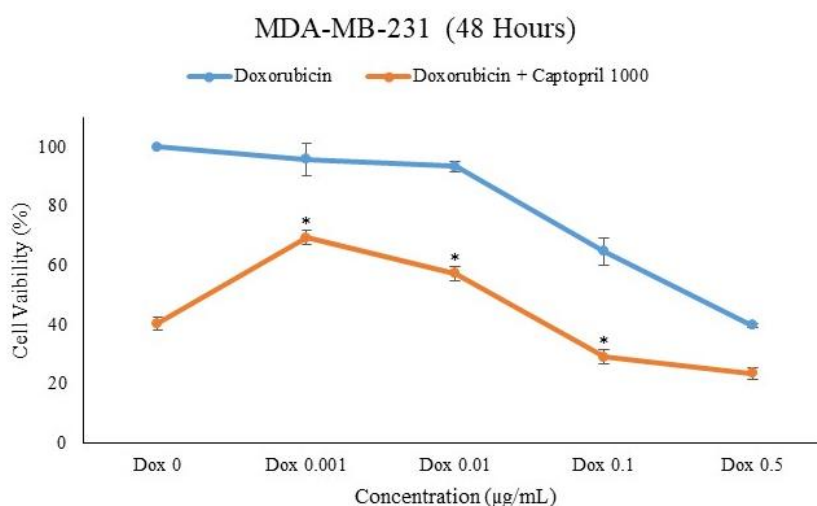


Concentration (µg/mL)	0.001	0.01	0.1	0.5	500
Doxorubicin	17.90	31.09	40.51	54.09	
Doxorubicin +Enalapril 500	43.43	41.83	67.00	67.40	
Enalapril					37.72
Sum (Doxorubicin + Enalapril500)	55.61	68.81	78.23	91.81	
Diff (Doxorubicin +Enalapril500)	-12.18	-26.98	-11.23	-24.41	

شکل ۵: نمودار درصد بقای سلول‌های MCF-7 در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین و انالاپریل در بازه‌ی زمانی ۷۲ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. اختلاف معنادار درصد بقای سلولی در مقایسه با دوکسوروبیسین به تنهایی با * نشان داده شده است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است (*P-value < 0.05). درصدهای مهار دوکسوروبیسین، انالاپریل ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و دوکسوروبیسین در ترکیب با انالاپریل ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در جدول نشان داده شده است. مجموع پیش‌بینی‌شده از درصد مهار دوکسوروبیسین و دارو با علامت Sum در یک ردیف آمده است. اختلاف بین درصد مهار پیش‌بینی‌شده و درصد مهار مشاهده‌شده با علامت Diff در یک ردیف نشان داده شده و اختلاف‌های معنی‌دار از نظر آماری با رنگ قرمز مشخص شده است.

نتایج ارزیابی بقای سلول‌های MDA-MB-231 و MCF-7 در حضور دوکسوروبیسین در ترکیب با کاپتوپریل در شکل‌های

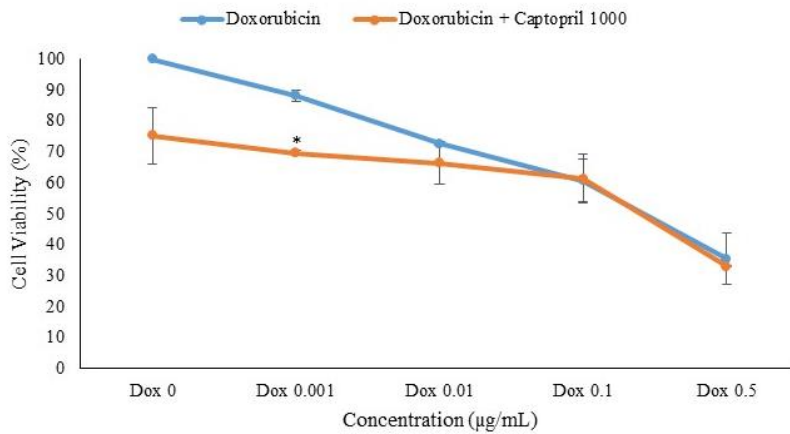
۱۰ تا ۱۳ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، اثر کلیه‌ی غلظت‌های دوکسوروبیسین در ترکیب با کاپتوپریل روی MDA-MB-231 در مدت‌زمان ۴۸ ساعت، تجمیع نشده است (شکل ۱۱). در حالی که اثر آن‌ها روی همین رده‌ی سلولی در ۷۲ ساعت تجمیعی است (شکل ۱۲). در رده‌ی MCF-7، به استثنای غلظت ۰/۰۱ از دوکسوروبیسین، در سایر غلظت‌ها اثر مشاهده‌شده‌ی دو دارو با اثر تجمیعی اختلاف معنی‌داری ندارد (شکل ۱۳). در حالی که در ۷۲ ساعت، اثر دو دارو روی MCF-7 تجمیعی نیست و افزایش بقای سلولی در مقایسه با اثر دوکسوروبیسین به‌تنهایی نشانگر تداخل اثر سیتوتوکسیک دو دارو روی این رده‌ی سلولی است (شکل ۱۴).



Concentration (µg/mL)	0.001	0.01	0.1	0.5	1000
Doxorubicin	4.124363	6.504518576	35.2151437	60.20678	
Doxorubicin +Captopril 1000	30.49202	42.69031946	70.8430957	77.30671	
Captopril					59.61173714
Sum (Doxorubicin + Captopril1000)	63.7361	66.11625572	94.8268809	119.8185	
Diff (Doxorubicin +Captopril1000)	-33.2441	-23.42593626	-23.983785	-42.51181	

شکل ۶: نمودار درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین و کاپتوپریل در بازه‌ی زمانی ۴۸ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. اختلاف معنادار درصد بقای سلولی در مقایسه با دوکسوروبیسین به‌تنهایی با * نشان داده شده است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است (*P-value < 0.05). درصد‌های مهار دوکسوروبیسین، کاپتوپریل ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و دوکسوروبیسین در ترکیب با کاپتوپریل ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در جدول نشان داده شده است. مجموع پیش‌بینی‌شده از درصد مهار دوکسوروبیسین و دارو با علامت Sum در یک ردیف آمده است. اختلاف بین درصد مهار پیش‌بینی‌شده و درصد مهار مشاهده‌شده با علامت Diff در یک ردیف نشان داده شده و اختلاف‌های معنی‌دار از نظر آماری با رنگ قرمز مشخص شده است.

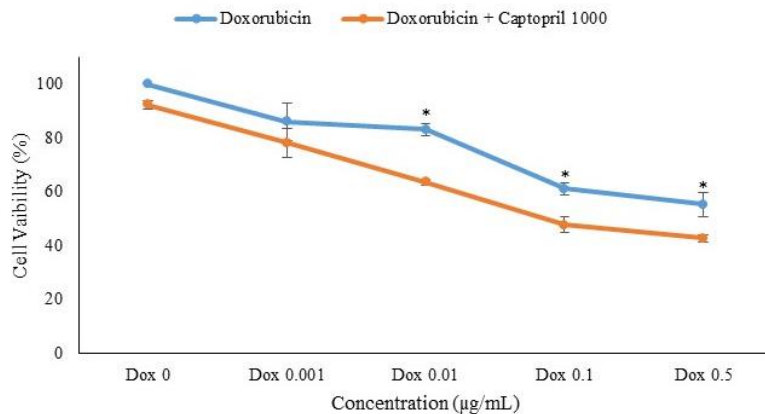
MDA-MB-231 (72 Hours)



Concentration (µg/mL)	0.001	0.01	0.1	0.5	1000
Doxorubicin	9.874359	25.77221391	37.9280628	68.56715199	
Doxorubicin +Captopril 1000	30.30303	33.57753358	38.6946387	66.93306693	
Captopril					24.77522478
Sum (Doxorubicin + Captopril1000)	34.64958	50.54743868	62.7032876	93.34237677	
Diff (Doxorubicin +Captopril1000)	-4.34655	-16.9699051	-24.008649	-26.40930984	

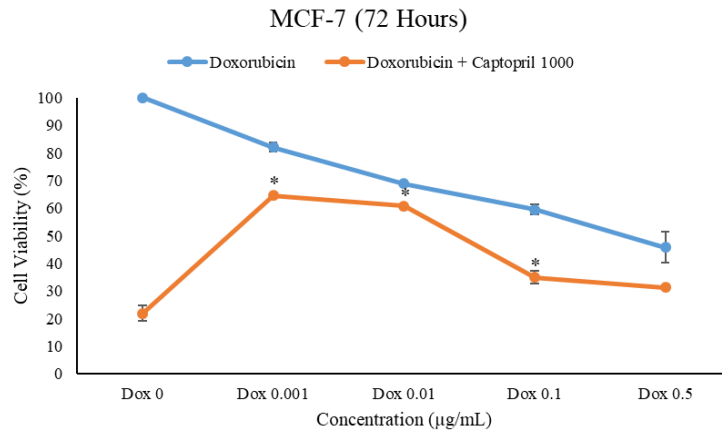
شکل ۷: نمودار درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین و کاپتوپریل در بازه‌ی زمانی ۷۲ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. اختلاف معنادار درصد بقای سلولی در مقایسه با دوکسوروبیسین به تنهایی با * نشان داده شده است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است (*P-value < 0.05). درصد‌های مهار دوکسوروبیسین، کاپتوپریل ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و دوکسوروبیسین در ترکیب با کاپتوپریل ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در جدول نشان داده شده است. مجموع پیش‌بینی شده از درصد مهار دوکسوروبیسین و دارو با علامت Sum در یک ردیف آمده است. اختلاف بین درصد مهار پیش‌بینی شده و درصد مهار مشاهده شده با علامت Diff در یک ردیف نشان داده شده و اختلاف‌های معنی‌دار از نظر آماری با رنگ قرمز مشخص شده است.

MCF-7 (48 Hours)



Concentration (µg/mL)	0.001	0.01	0.1	0.5	1000
Doxorubicin	13.92393	16.83090264	38.9042176	44.65247668	
Doxorubicin +Captopril 1000	21.75798	36.27644199	52.1580607	57.2657995	
Captopril					7.71580607
Sum (Doxorubicin + Captopril1000)	21.63973	24.54670871	46.6200236	52.36828275	
Diff (Doxorubicin +Captopril1000)	0.11825	11.72973328	5.53803705	4.897516752	

شکل ۸: نمودار درصد بقای سلول‌های MCF-7 در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین و کاپتوپریل در بازه‌ی زمانی ۴۸ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. اختلاف معنادار درصد بقای سلولی در مقایسه با دوکسوروبیسین به تنهایی با * نشان داده شده است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است (*P-value < 0.05). درصد‌های مهار دوکسوروبیسین، کاپتوپریل ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و دوکسوروبیسین در ترکیب با کاپتوپریل ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در جدول نشان داده شده است. مجموع پیش‌بینی شده از درصد مهار دوکسوروبیسین و دارو با علامت Sum در یک ردیف آمده است. اختلاف بین درصد مهار پیش‌بینی شده و درصد مهار مشاهده شده با علامت Diff در یک ردیف نشان داده شده و اختلاف‌های معنی‌دار از نظر آماری با رنگ قرمز مشخص شده است.



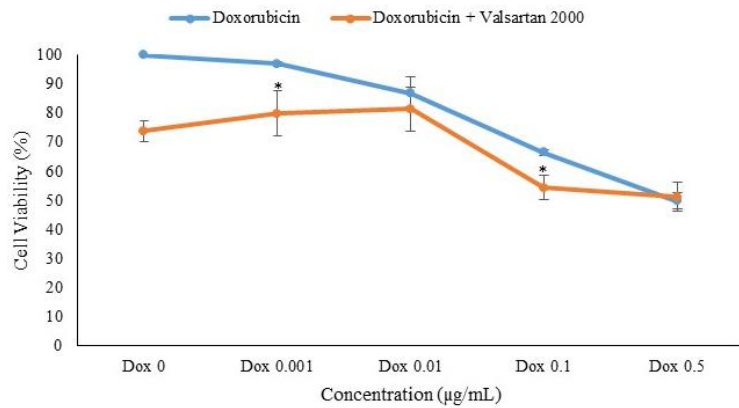
Concentration (µg/mL)	0.001	0.01	0.1	0.5	1000
Doxorubicin	17.89577	31.09328909	40.5113078	54.09292035	
Doxorubicin + Captopril 1000	35.56416	39.06710914	65.1087758	68.65781711	
Captopril					78.06047198
Sum (Doxorubicin + Captopril1000)	95.95624	109.1537611	118.57178	132.1533923	
Diff (Doxorubicin + Captopril1000)	-60.3921	-70.08665192	-53.463004	-63.49557522	

شکل ۹: نمودار درصد بقای سلول‌های MCF-7 در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین و کاپتوپریل در بازه‌ی زمانی ۷۲ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. اختلاف معنادار درصد بقای سلولی در مقایسه با دوکسوروبیسین به تنهایی با * نشان داده شده است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است (**P-value < 0.05). درصدهای مهار دوکسوروبیسین، کاپتوپریل ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و دوکسوروبیسین در ترکیب با کاپتوپریل ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در جدول نشان داده شده است. مجموع پیش‌بینی‌شده از درصد مهار دوکسوروبیسین و دارو با علامت Sum در یک ردیف آمده است. اختلاف بین درصد مهار پیش‌بینی‌شده و درصد مهار مشاهده‌شده با علامت Diff در یک ردیف نشان داده شده و اختلاف‌های معنی‌دار از نظر آماری با رنگ قرمز مشخص شده است.

نتایج بررسی بقای سلول‌های MDA-MB-231 و MCF-7 پس از تیمار با غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین در ترکیب با والسارتان در شکل‌های ۱۴ تا ۱۷ آمده است. در مدت‌زمان ۴۸ ساعت (شکل ۱۵)، درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 در حضور غلظت‌های ۰/۰۰۱ و ۰/۱ دوکسوروبیسین در ترکیب با والسارتان، کاهش معناداری در مقایسه با دوکسوروبیسین به تنهایی دارد؛ اما در غلظت ۰/۱ و ۰/۵ اختلاف معناداری مشاهده نشد. بررسی اختلاف اثر مشاهده‌شده و اثر تجمیعی نشان داد که درصد مرگ‌ومیر سلول‌ها در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵ از دوکسوروبیسین معادل اثر تجمیعی دوکسوروبیسین و والسارتان نیست که نشانگر تداخل اثر سیتوتوکسیک این دو دارو با یکدیگر است. در مدت‌زمان ۷۲ ساعت (شکل ۱۶)، درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 در حضور والسارتان به‌تنهایی نسبت به ۴۸ ساعت افزایش یافته است. اثر دوکسوروبیسین در کلیه‌ی غلظت‌ها در حضور و غیاب والسارتان با یکدیگر تفاوت معناداری ندارند.

در رده‌ی MCF-7، اختلاف اثر دوکسوروبیسین در بازه‌ی ۴۸ ساعت در حضور و غیاب والسارتان معنادار است (شکل ۱۷)؛ اما میزان کاهش بقای سلولی در حضور دو دارو به‌اندازه‌ی اثر تجمیعی نیست که نشانگر تداخل اثر دو دارو با یکدیگر است. والسارتان در ۷۲ ساعت سبب افزایش بقای سلول‌های MCF-7 در مقایسه با ۴۸ ساعت شده است. اثر ترکیبی دوکسوروبیسین و والسارتان در مدت‌زمان ۷۲ ساعت در رده‌ی MCF-7 فقط در غلظت ۰/۱ از دوکسوروبیسین از نظر آماری کمتر از اثر تجمیعی دو دارو است (شکل ۱۸).

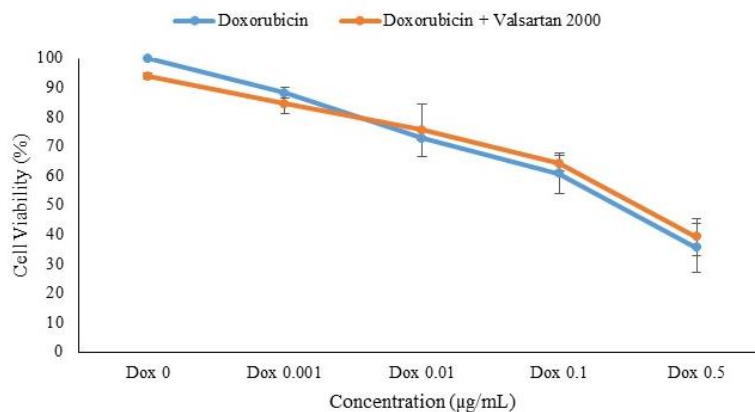
MDA-MB-231 (48 Hours)



Concentration (µg/mL)	0.001	0.01	0.1	0.5	2000
Doxorubicin	3.017394	13.19370489	33.380665	50.06508106	
Doxorubicin + Valsartan 2000	24.24565	18.58951603	45.6395693	48.76345995	
Valsartan					26.12708555
Sum (Doxorubicin + Valsartan2000)	29.14448	39.32079044	59.5077506	76.19216661	
Diff (Doxorubicin + Valsartan2000)	-4.89883	-24.97929239	-13.868181	-27.42870666	

شکل ۱۰: نمودار درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین و والسارتان در بازه‌ی زمانی ۴۸ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. اختلاف معنادار درصد بقای سلولی در مقایسه با دوکسوروبیسین به تنهایی با * نشان داده شده است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است (*P-value < 0.05). درصدهای مهار دوکسوروبیسین، والسارتان ۲۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و دوکسوروبیسین در ترکیب با والسارتان ۲۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در جدول نشان داده شده است. مجموع پیش‌بینی شده از درصد مهار دوکسوروبیسین و دارو با علامت Sum در یک ردیف آمده است. اختلاف بین درصد مهار پیش‌بینی شده و درصد مهار مشاهده شده با علامت Diff در یک ردیف نشان داده شده و اختلاف‌های معنی‌دار از نظر آماری با رنگ قرمز مشخص شده است.

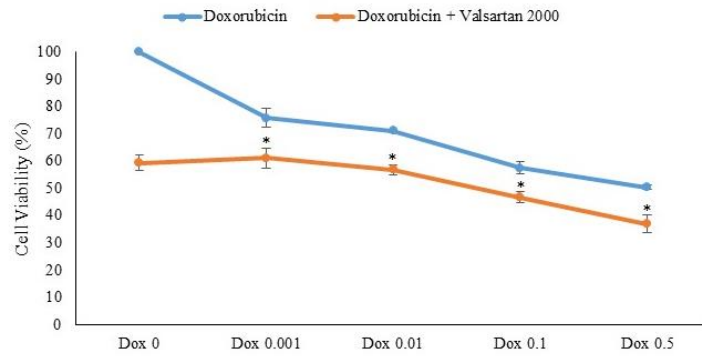
MDA-MB-231 (72 Hours)



Concentration (µg/mL)	0.001	0.01	0.1	0.5	2000
Doxorubicin	9.874359	25.77221391	37.9280628	68.56715199	
Doxorubicin + Valsartan 2000	17.48252	29.37062937	37.2294372	64.33566434	
Valsartan					6.071706072
Sum (Doxorubicin + Valsartan2000)	15.94607	31.84391998	43.9997688	74.63885807	
Diff (Doxorubicin + Valsartan2000)	1.536452	-2.473290608	-6.7703316	-10.30319373	

شکل ۱۱: نمودار درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین و والسارتان در بازه‌ی زمانی ۷۲ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. اختلاف معنادار درصد بقای سلولی در مقایسه با دوکسوروبیسین به تنهایی با * نشان داده شده است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است (*P-value < 0.05). درصدهای مهار دوکسوروبیسین، والسارتان ۲۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و دوکسوروبیسین در ترکیب با والسارتان ۲۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در جدول نشان داده شده است. مجموع پیش‌بینی شده از درصد مهار دوکسوروبیسین و دارو با علامت Sum در یک ردیف آمده است. اختلاف بین درصد مهار پیش‌بینی شده و درصد مهار مشاهده شده با علامت Diff در یک ردیف نشان داده شده و اختلاف‌های معنی‌دار از نظر آماری با رنگ قرمز مشخص شده است.

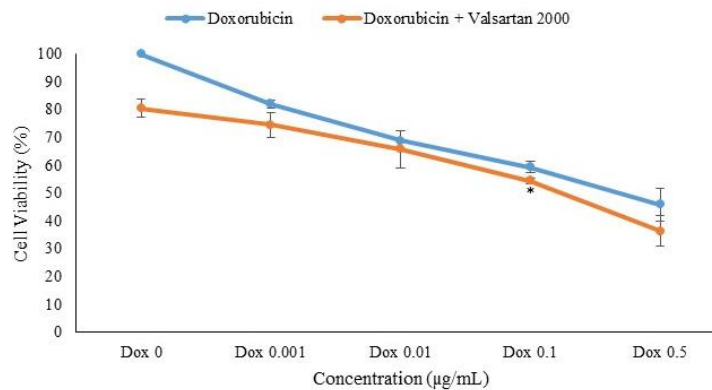
MCF-7 (48 Hours)



Concentration (µg/mL)	0.001	0.01	0.1	0.5	2000
Doxorubicin	24.22614	28.93323101	42.4788949	49.65464313	
Doxorubicin + Valsartan 2000	41.05909	44.09056025	53.6454336	63.13635201	
Valsartan					40.75211051
Sum (Doxorubicin + Valsartan2000)	64.97826	69.68534152	83.2310054	90.40675365	
Diff (Doxorubicin + Valsartan2000)	-23.9192	-25.59478127	-29.585572	-27.27040164	

شکل ۱۲: نمودار درصد بقای سلول‌های MCF-7 در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین و والسارتان در بازه‌ی زمانی ۴۸ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. اختلاف معنادار درصد بقای سلولی در مقایسه با دوکسوروبیسین به تنهایی با * نشان داده شده است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است (P-value < 0.05). درصدهای مهار دوکسوروبیسین، والسارتان ۲۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و دوکسوروبیسین در ترکیب با والسارتان ۲۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در جدول نشان داده شده است. مجموع پیش‌بینی شده از درصد مهار دوکسوروبیسین و دارو با علامت Sum در یک ردیف آمده است. اختلاف بین درصد مهار پیش‌بینی شده و درصد مهار مشاهده شده با علامت Diff در یک ردیف نشان داده شده و اختلاف‌های معنی‌دار از نظر آماری با رنگ قرمز مشخص شده است.

MCF-7 (72 Hours)



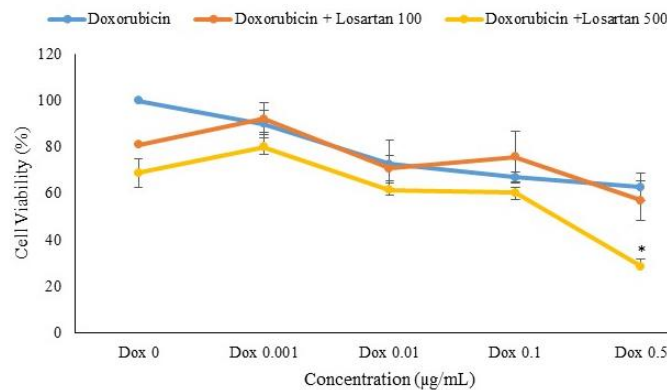
Concentration (µg/mL)	0.001	0.01	0.1	0.5	2000
Doxorubicin	17.89577	31.09328909	40.5113078	54.09292035	
Doxorubicin + Valsartan 2000	25.39199	34.15163248	45.4924898	63.50605486	
Valsartan					19.39204218
Sum (Doxorubicin + Valsartan2000)	37.28781	50.48533126	59.9033499	73.48496253	
Diff (Doxorubicin + Valsartan2000)	-11.8958	-16.33369878	-14.41086	-9.978907668	

شکل ۱۳: نمودار درصد بقای سلول‌های MCF-7 در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین و والسارتان در بازه‌ی زمانی ۷۲ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. اختلاف معنادار درصد بقای سلولی در مقایسه با دوکسوروبیسین به تنهایی با * نشان داده شده است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است (P-value < 0.05). درصدهای مهار دوکسوروبیسین، والسارتان ۲۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و دوکسوروبیسین در ترکیب با والسارتان ۲۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در جدول نشان داده شده است. مجموع پیش‌بینی شده از درصد مهار دوکسوروبیسین و دارو با علامت Sum در یک ردیف آمده است. اختلاف بین درصد مهار پیش‌بینی شده و درصد مهار مشاهده شده با علامت Diff در یک ردیف نشان داده شده و اختلاف‌های معنی‌دار از نظر آماری با رنگ قرمز مشخص شده است.

درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 و MCF-7 تیمار شده با دوکسوروبیسین و لوزارتان در شکل‌های ۱۹ تا ۲۲ آمده است. همان‌طور که در شکل ۱۹ مشاهده می‌شود درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 پس از ۴۸ ساعت تیمار با دوکسوروبیسین در ترکیب با لوزارتان ۱۰۰ اختلاف معناداری با تیمار با دوکسوروبیسین به تنهایی ندارد. مقایسه‌ی اختلاف اثر مشاهده‌شده‌ی ترکیبی دو دارو با اثر تجمیعی پیش‌بینی شده نشانگر اختلاف معنادار در غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۱ از دوکسوروبیسین در ترکیب با لوزارتان ۱۰۰ است. نتایج تیمار سلول‌ها با دوکسوروبیسین و لوزارتان ۵۰۰ هم مشابه لوزارتان ۱۰۰ است با این تفاوت که درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 در حضور دوکسوروبیسین ۰/۵ و لوزارتان ۵۰۰ کاهش معناداری با دوکسوروبیسین به تنهایی دارد که ناشی از اثر سیتوتوکسیک لوزارتان ۵۰۰ است. نتایج تیمار MDA-MB-231 با دوکسوروبیسین و لوزارتان ۱۰۰ و ۵۰۰ در مدت‌زمان ۷۲ ساعت (شکل ۲۰) نشان داد که دوکسوروبیسین در کلیه‌ی غلظت‌ها قادر به القای اثر سیتوتوکسیک در حضور لوزارتان ۱۰۰ است. میزان بقای سلول‌های MDA-MB-231 در حضور دوکسوروبیسین و لوزارتان ۵۰۰ کاهش معناداری با دوکسوروبیسین تنها دارد. همان‌طور که در جدول مندرج در شکل ۲۰ مشاهده می‌شود، اثر دوکسوروبیسین در غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۱ و ۰/۵ در ترکیب با لوزارتان ۱۰۰ معادل اثر تجمیعی دو دارو نیست. در حالی که اثر دوکسوروبیسین در کلیه‌ی غلظت‌ها در ترکیب با لوزارتان ۵۰۰ تجمیعی است.

در سلول‌های MCF-7، درصد بقای سلولی پس از تیمار با دوکسوروبیسین و لوزارتان ۱۰۰ یا ۵۰۰ در مدت ۴۸ ساعت (شکل ۲۱) به استثنای غلظت ۰/۰۱ با لوزارتان ۱۰۰، در سایر غلظت‌ها دوکسوروبیسین اختلاف معناداری دارد که بیانگر افزایش بیشتر مرگ‌ومیر سلول‌ها است. البته بررسی درصد مرگ‌ومیر مشاهده‌شده با درصد مرگ‌ومیر تجمیعی نشان می‌دهد که اثر مشاهده‌شده کمتر از اثر تجمیعی است. این امر ممکن است ناشی از تداخل اثر سیتوتوکسیک دوکسوروبیسین و لوزارتان با یکدیگر باشد. در مدت‌زمان ۷۲ ساعت (شکل ۲۲) هم میزان بقای سلولی در حضور دوکسوروبیسین و لوزارتان کاهش معناداری دارد اما باز هم این کاهش به‌اندازه‌ی اثر تجمیعی نیست که نشانگر تداخل این دو دارو در عملکرد یکدیگر است.

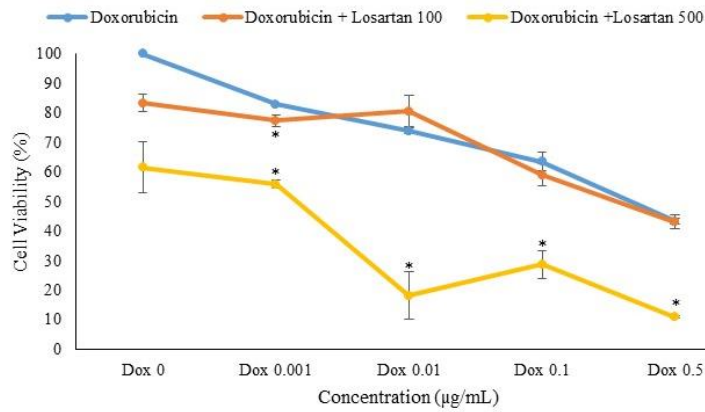
MDA-MB-231 (48 Hours)



Concentration (µg/mL)	0.001	0.01	0.1	0.5	100	500
Doxorubicin	10.10802	27.36625514	32.973251	37.24279835		
Doxorubicin + Losartan 100	11.88272	29.16666667	24.1769547	42.97839506		
Doxorubicin + Losartan 500	19.98457	38.50308642	39.5833333	71.24485597		
Losartan					18.98148148	31.01852
Sum (Doxorubicin + Losartan 100)	29.08951	46.34773663	51.9547325	56.22427984		
Sum (Doxorubicin + Losartan 500)	41.12654	58.38477366	63.9917695	68.26131687		
Diff (Doxorubicin + Losartan 100)	-17.2068	-17.18106996	-27.777778	-13.24588477		
Diff (Doxorubicin + Losartan 500)	-21.142	-19.88168724	-24.408436	2.983539095		

شکل ۱۴: نمودار درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین و لوزارتان در بازه‌ی زمانی ۴۸ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. اختلاف معنادار درصد بقای سلولی در مقایسه با دوکسوروبیسین به تنهایی با * نشان داده شده است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است (*P-value < 0.05). درصدهای مهار دوکسوروبیسین، لوزارتان ۱۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و دوکسوروبیسین در ترکیب با لوزارتان ۱۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در جدول نشان داده شده است. مجموع پیش‌بینی شده از درصد مهار دوکسوروبیسین و دارو با علامت Sum در یک ردیف آمده است. اختلاف بین درصد مهار پیش‌بینی شده و درصد مهار مشاهده شده با علامت Diff در یک ردیف نشان داده شده و اختلاف‌های معنی‌دار از نظر آماری با رنگ قرمز مشخص شده است.

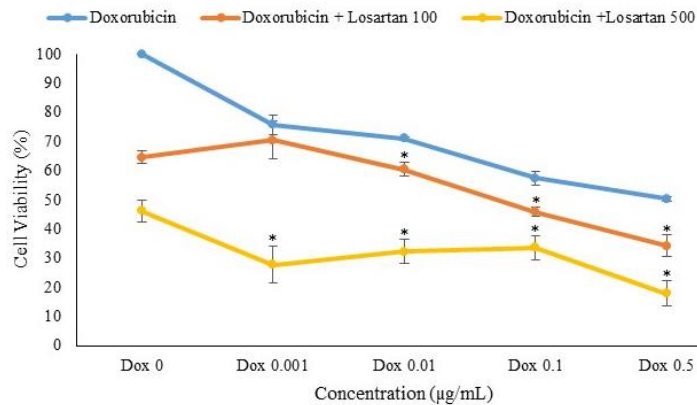
MDA-MB-231 (72 Hours)



Concentration (µg/mL)	0.001	0.01	0.1	0.5	100	500
Doxorubicin	17.10376	26.03572786	36.4120106	56.59445078		
Doxorubicin + Losartan 100	22.50095	19.30824781	40.8969973	56.89851767		
Doxorubicin + Losartan 500	44.0707	81.75598632	71.2656784	88.97757507		
Losartan					16.64766249	38.42645
Sum (Doxorubicin + Losartan 100)	33.75143	42.68339035	53.0596731	73.24211326		
Sum (Doxorubicin + Losartan 500)	55.53022	64.46218168	74.8384645	95.0209046		
Diff (Doxorubicin + Losartan 100)	-11.2505	-23.37514253	-12.162676	-16.34359559		
Diff (Doxorubicin + Losartan 500)	-11.4595	17.29380464	-3.572786	-6.043329532		

شکل ۱۵: نمودار درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین و لوزارتان در بازه‌ی زمانی ۷۲ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. اختلاف معنادار درصد بقای سلولی در مقایسه با دوکسوروبیسین به تنهایی با * نشان داده شده است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است ($P\text{-value} < 0.05$). درصدهای مهار دوکسوروبیسین، لوزارتان ۱۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و دوکسوروبیسین در ترکیب با لوزارتان ۱۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در جدول نشان داده شده است. مجموع پیش‌بینی شده از درصد مهار دوکسوروبیسین و دارو با علامت Sum در یک ردیف آمده است. اختلاف بین درصد مهار پیش‌بینی شده و درصد مهار مشاهده شده با علامت Diff در یک ردیف نشان داده شده و اختلاف‌های معنی‌دار از نظر آماری با رنگ قرمز مشخص شده است.

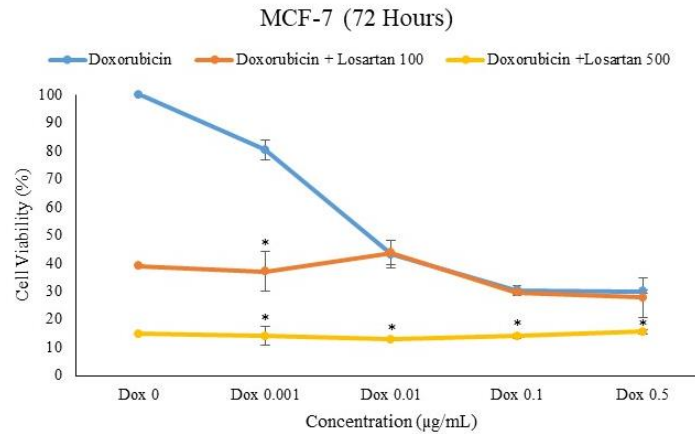
MCF-7 (48 Hours)



Concentration (µg/mL)	0.001	0.01	0.1	0.5	100	500
Doxorubicin	24.22614	28.93323101	42.4788949	49.65464313		
Doxorubicin + Losartan 100	29.52162	39.52417498	54.1570734	65.77129701		
Doxorubicin + Losartan 500	72.2947	67.79227424	66.3596828	82.0926068		
Losartan					35.43105654	53.79893
Sum (Doxorubicin + Losartan 100)	59.6572	64.36428754	77.9099514	85.08569967		
Sum (Doxorubicin + Losartan 500)	78.02507	82.73215656	96.2778204	103.4535687		
Diff (Doxorubicin + Losartan 100)	-30.1356	-24.84011256	-23.752878	-19.31440266		
Diff (Doxorubicin + Losartan 500)	-5.73037	-14.93988232	-29.918138	-21.36096188		

شکل ۱۶: نمودار درصد بقای سلول‌های MCF-7 در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین و لوزارتان در بازه‌ی زمانی ۴۸ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. اختلاف معنادار درصد بقای سلولی در مقایسه با دوکسوروبیسین به تنهایی با * نشان داده شده است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است ($P\text{-value} < 0.05$). درصدهای مهار دوکسوروبیسین، لوزارتان ۱۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و دوکسوروبیسین در ترکیب با لوزارتان ۱۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در جدول نشان داده شده است. مجموع پیش‌بینی شده از درصد مهار دوکسوروبیسین و دارو با

علامت Sum در یک ردیف آمده است. اختلاف بین درصد مهار پیش‌بینی‌شده و درصد مهار مشاهده‌شده با علامت Diff در یک ردیف نشان داده شده و اختلاف‌های معنی‌دار از نظر آماری با رنگ قرمز مشخص شده است.



Concentration (µg/mL)	0.001	0.01	0.1	0.5	100	500
Doxorubicin	19.53195	56.91569157	69.5769577	70.1170117		
Doxorubicin + Losartan 100	62.91629	56.25562556	70.4770477	72.2722772		
Doxorubicin + Losartan 500	85.83858	87.09870987	85.9585959	84.39843984		
Losartan					61.05610561	85.05851
Sum (Doxorubicin + Losartan 100)	80.58806	117.9717972	130.633063	131.1731173		
Sum (Doxorubicin + Losartan 500)	104.5905	141.9741974	154.635464	155.1755176		
Diff (Doxorubicin + Losartan 100)	-17.6718	-61.71617162	-60.156016	-58.8958959		
Diff (Doxorubicin + Losartan 500)	-18.7519	-54.87548755	-68.676868	-70.77707771		

شکل ۱۷: نمودار درصد بقای سلول‌های MCF-7 در حضور غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین و لوزارتان در بازه‌ی زمانی ۷۲ ساعت. نتایج میانگین سه آزمایش مستقل است. اختلاف معنادار درصد بقای سلولی در مقایسه با دوکسوروبیسین به تنهایی با * نشان داده شده است. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شده است (*P-value < 0.05). درصدهای مهار دوکسوروبیسین، لوزارتان ۱۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و دوکسوروبیسین در ترکیب با لوزارتان ۱۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در جدول نشان داده شده است. مجموع پیش‌بینی‌شده از درصد مهار دوکسوروبیسین و دارو با علامت Sum در یک ردیف آمده است. اختلاف بین درصد مهار پیش‌بینی‌شده و درصد مهار مشاهده‌شده با علامت Diff در یک ردیف نشان داده شده و اختلاف‌های معنی‌دار از نظر آماری با رنگ قرمز مشخص شده است.

۵- بحث

مهارکننده‌های آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) به‌طور گسترده به‌عنوان عوامل ضد فشارخون مورد استفاده قرار می‌گیرند. پیشنهاد شده است که آن‌ها خطر ابتلا به برخی سرطان‌ها را کاهش می‌دهند، اگرچه داده‌های موجود متناقض هستند (۱۴). انالاپریل از داروهای مهارکننده آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) است که بر روی سیستم رنین-آنژیوتانسین-آلدوسترون، که مسئول تنظیم فشارخون و هومئوستازی مایعات و الکترولیت‌ها است، اثر می‌گذارد. این دارو یک عامل ضد فشارخون غیرسولفیدریل خوراکی فعال و طولانی اثر است که سیستم رنین-آنژیوتانسین-آلدوسترون را برای کاهش فشارخون سرکوب می‌کند. انالاپریل به‌عنوان یک پیش‌دارو، به‌سرعت به متابولیت فعال خود، انالاپریلات تبدیل می‌شود، که مسئول اعمال دارویی انالاپریل است. متابولیت فعال انالاپریل به‌طور رقابتی ACE را مهار می‌کند تا از تولید آنژیوتانسین II، یک جزء کلیدی سیستم رنین-آنژیوتانسین-آلدوسترون که باعث انقباض عروق و باز جذب کلیوی یون‌های سدیم در کلیه‌ها می‌شود، جلوگیری کند. درنهایت، انالاپریلات فشارخون و حجم مایع خون را کاهش می‌دهد (۱۵). گزارش‌های مختلفی در ارتباط با اثر داروهای مهارکننده‌ی سیستم رنین-آنژیوتانسین بر تکثیر و بقای سلول‌ها وجود دارد. انالاپریل با القای آپوپتوزیس، تکثیر و بقای سلول‌های HL-60 (رده سلولی لوسمی انسانی) را به‌صورت وابسته به غلظت و زمان کاهش می‌دهد. مقدار IC₅₀ انالاپریل از نمودارهای بقای سلولی HL-60 برابر با ۷ میکرومولار بود (۱۶). شیمی‌درمانی با دوکسوروبیسین می‌تواند باعث عوارض قلبی شود. در یک مطالعه‌ی انسانی، اثر انالاپریل در جلوگیری از عوارض قلبی دوکسوروبیسین بررسی شد. نتایج نشان داد که دوکسوروبیسین تغییری در فارماکوکینتیک انالاپریل ایجاد نمی‌کند و هیچ تداخلی بین دوکسوروبیسین و انالاپریل وجود ندارد (۱۷). در این پژوهش مقدار

IC50 انالاپريل برای سلول‌های سرطان پستان بیشتر از ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر (۱۳۰۰ میکرومولار) بود. بررسی درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 و MCF-7 در حضور دوکسوروبیسین و انالاپريل نشان داد که انالاپريل در اثر سیتوتوکسیک دوکسوروبیسین تداخل ایجاد می‌کند.

کاپتوپريل، یکی از معدود مهارکننده‌های ACE که یک پیش‌دارو نیست، با آنژیوتانسین I برای اتصال به ACE رقابت می‌کند و پروتئولیز آنزیمی AngI به AngII را مهار می‌کند. میل ترکیبی کاپتوپريل برای ACE تقریباً ۳۰۰۰۰ برابر بیشتر از AngI است (۱۸). در یک مطالعه گزارش شده است که کاپتوپريل از تکثیر سلول‌های بنیادی و پیش‌ساز در کشت‌های طولانی‌مدت مغز استخوان موش جلوگیری می‌کند (۱۹). گزارش شده است که کاپتوپريل با القای آپوپتوزیس، زنده ماندن سلول‌های LNM35 (رده‌ی سلولی سرطان ریه) را مهار می‌کند (۱۴). در پژوهش دیگری هیچ ارتباط واضحی بین استفاده از داروهای ضد فشارخون و سرطان پروستات مشاهده نشد. با این حال، تمرکز ویژه روی مصرف‌کنندگان کاپتوپريل نشان داد که این افراد خطر کمتری برای ابتلا به سرطان پروستات دارند (۲۰). گزارش شده است که کاپتوپريل دارای فعالیت ضدگزامی تحت شرایط برون‌تنی و در مدل‌های حیوانی است (۲۱-۲۳). در یک پژوهش اثر ارزیابی‌های بیوشیمیایی اثرات مهارکننده آنزیم مبدل آنژیوتانسین حاوی سولفیدريل (کاپتوپريل) بر سمیت کلیوی ناشی از دوکسوروبیسین در موش‌های سالم انجام شد. نتایج نشان داد که کاپتوپريل غلظت سولفیدريل غیرپروتئینی (-SH) یا محتوای پروتئین در بافت کلیه را تغییر نمی‌دهد؛ بنابراین کاپتوپريل می‌تواند به‌عنوان یک عامل محافظ در برابر سمیت کلیوی ناشی از دوکسوروبیسین مفید باشد (۲۴). در مطالعه‌ای دیگر، کاپتوپريل همچنین به‌طور قابل توجهی سطح گلوتاتیون (GSH) را در میتوکندری‌های تحت تیمار با دوکسوروبیسین افزایش داد. براین اساس به نظر می‌رسد که کاپتوپريل به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدانت عمل کرده و قادر است از میتوکندری در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از دوکسوروبیسین محافظت کند. احتمال دارد این اثر به دلیل گروه‌های سولفیدريل کاپتوپريل باشد که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان یا پاک‌کننده گونه‌های فعال اکسیژن عمل می‌کنند (۲۵). در این پژوهش کاپتوپريل در مدت‌زمان ۴۸ ساعت با افزایش غلظت سبب مرگ سلول‌های MDA-MB-231 و MCF-7 شد. با افزایش زمان، بقای سلول‌های MCF-7 در حضور غلظت‌های مختلف کاپتوپريل کاهش بیشتری داشت. بررسی فعالیت سیتوتوکسیک دوکسوروبیسین در حضور کاپتوپريل نشان داد که در مدت‌زمان ۴۸ ساعت فعالیت سیتوتوکسیک دوکسوروبیسین در حضور کاپتوپريل کمتر از دوکسوروبیسین به تنهایی است که نشانگر اثر محافظتی کاپتوپريل از سلول‌های MDA-MB-231 در اثر سیتوتوکسیک دوکسوروبیسین در مدت‌زمان ۴۸ ساعت است. اثر تداخلی کاپتوپريل با دوکسوروبیسین در مدت‌زمان ۷۲ ساعت برای سلول‌های MDA-MB-231 مشاهده نشد که این امر ممکن است به دلیل افزایش تکثیر سلول‌های MDA-MB-231 در حضور کاپتوپريل در مقایسه با ۴۸ ساعت باشد. همان‌طور که در شکل ۱۱ قابل مشاهده است، درصد بقای سلول‌های MDA-MB-231 پس از ۷۲ ساعت تیمار با کاپتوپريل بیشتر از تیمار ۴۸ ساعته است؛ بنابراین کاپتوپريل با داشتن گروه سولفیدريل و خواص آنتی‌اکسیدانی نه تنها از سلول‌های سالم مانند کلیه در برابر اثر سیتوتوکسیک دوکسوروبیسین محافظت می‌کند، بلکه چنین اثری را هم در سلول‌های سرطانی دارد.

والسارتان متعلق به خانواده داروهای مسدودکننده گیرنده آنژیوتانسین II (ARB) است که شامل تلمیسارتان، کاندسارتان، لوزارتان، اولمسارتان و ایرسارتان نیز می‌شود. ARBها به‌طور انتخابی به گیرنده آنژیوتانسین I متصل می‌شوند و از اتصال پروتئین AngII و اعمال اثرات فشارخون بالا که شامل انقباض عروق، تحریک و سنتز آلدوسترون و ADH، تحریک قلبی و باز جذب کلیوی سدیم و غیره است، جلوگیری می‌کنند. به‌طور کلی، اثرات فیزیولوژیکی والسارتان منجر به کاهش فشارخون، کاهش سطح آلدوسترون، کاهش فعالیت قلبی و افزایش دفع سدیم می‌شود (۲۶). نتایج بررسی اثر غلظت‌های مختلف والسارتان بر بقای سلول‌های MDA-MB-231 و MCF-7 نشان داد که این دارو فاقد اثر سیتوتوکسیک بر سلول‌های سرطانی سینه است و با افزایش

زمان، تکثیر سلول‌ها را افزایش می‌دهد. یک پژوهش اثر والسارتان به‌تنهایی و در ترکیب با ۵-فلوئوراوراسیل در مدل‌های آزمایشگاهی برون‌تنی و درون‌تنی از سرطان روده بزرگ را مورد بررسی قرارداد. نتایج نشان داد که والسارتان رشد سلول‌های سرطان روده‌ی بزرگ را سرکوب می‌کند و به‌طور هم‌افزایی اثر ضد توموری ۵-فلوئوراوراسیل را با القای آپوپتوزیس و تعدیل چرخه‌ی سلولی افزایش می‌دهد (۲۷). در یک مطالعه‌ی درون‌تنی بر روی موش‌ها، گزارش شده است که والسارتان اثر محافظتی در برابر سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین دارد (۲۸). مسیر سیگنالینگ AT1R/NOX/ROS/MAPK در سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین نقش دارد. تیمار کاردیومیوسیت‌های H9c2 با والسارتان به‌طور قابل‌توجهی سمیت قلبی ناشی از دوکسوروبیسین را کاهش می‌دهد، بدون این‌که اثر ضد توموری دوکسوروبیسین را تحت تأثیر قرار دهد. هم‌چنین تیمار هم‌زمان والسارتان و دوکسوروبیسین بر بقای سلولی سلول‌های سرطان سینه MDA-MB-231 یا سلول‌های سرطان ریه A549 تأثیری نداشت، اما به‌طور قابل‌توجهی زنده‌مانی سلول‌های کاردیومیوسیت H9c2 تیمار شده با دوکسوروبیسین را بهبود بخشید (۲۹). نتایج ما نشان داد که والسارتان در مدت‌زمان ۴۸ ساعت اثر محافظتی از سلول‌های MDA-MB-231 در برابر سمیت ناشی از غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر از دوکسوروبیسین دارد. این اثر محافظتی پس از ۷۲ ساعت تیمار سلول‌های MDA-MB-231 با غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین مشاهده نشد. در رده‌ی MCF-7 هم والسارتان در مدت‌زمان ۴۸ ساعت در کلیه‌ی غلظت‌های دوکسوروبیسین تداخل ایجاد کرد، در حالی‌که پس از ۷۲ ساعت تیمار، اثر تداخلی فقط در غلظت ۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر از دوکسوروبیسین مشاهده شد. بنابراین نتایج این پژوهش نشان می‌دهد والسارتان بدون داشتن اثر سیتوتوکسیک بر سلول‌های سرطان سینه، از سلول‌های سرطانی در برابر اثر سیتوتوکسیک دوکسوروبیسین محافظت می‌کند.

Ang II یک پپتید فعال زیستی از سیستم رنین-آنژیوتانسین است که نه‌تنها به‌عنوان منقبض‌کننده عروق بلکه به‌عنوان یک محرک رشد از طریق AT1R در برخی سرطان‌ها عمل می‌کند. آنژیوتانسین II رشد سلول‌های MCF-7 را به روشی وابسته به دوز و زمان تحریک می‌کند. لوزارتان به‌عنوان آنتاگونیست AT1R به‌طور قابل‌توجهی سطح اثرات تکثیری ناشی از Ang II را کاهش می‌دهد (۱۰). AT1R در انواع مختلف بیماری‌ها، از تنظیم فشارخون و هموستاز قلبی عروقی تا پیشرفت سرطان نقش دارد. گزارش شده است بیان بیش‌ازحد AT1R باعث افزایش تکثیر سلولی، مهاجرت و تهاجم سلولی MCF-7 با بیان بالای AT1R می‌شود؛ اما بر سلول‌های MCF-7 معمولی (فاقد بیان بالای AT1R) بی‌تأثیر است. لوزارتان به‌عنوان آنتاگونیست AT1R، رشد تومور و رگ‌زایی را تحت شرایط درون‌تنی سرکوب می‌کند (۳۰). مقاومت ذاتی و اکتسابی به تاموکسیفن در سرطان پستان با گیرنده استروژن (ER+) یک مشکل مهم در شیمی‌درمانی است. مکانیسم‌های اساسی مقاومت به تاموکسیفن هنوز به‌خوبی شناخته‌نشده است. بررسی نقش سیستم رنین-آنژیوتانسین مقاومت به تاموکسیفن در رده سلولی سرطان سینه انسان MCF-7 و نقش بالقوه ترکیب کاپتوپریل و کاپتوپریل + لوزارتان در پیشگیری و عود بیماری نشان داد ترکیب کاپتوپریل یا کاپتوپریل + لوزارتان با تاموکسیفن منجر به پیشگیری و حتی بازگشت فنوتیپ مقاوم به تاموکسیفن می‌شود (۳۱). داده‌های این پژوهش نشان داد که لوزارتان بر سلول‌های MDA-MB-231 و MCF-7 دارای اثر سیتوتوکسیک است. سمیت لوزارتان برای MCF-7 بیشتر از MDA-MB-231 بود. MDA-MB-231 برخلاف رده‌ی MCF-7، یک رده‌ی سلولی متاستازی با قدرت تهاجمی است. به نظر می‌رسد لوزارتان بر سلول‌های سرطانی و غیرمتاستازی اثر سمی بیشتری دارد. در یک پژوهش با هدف بهبود نفوذ دوکسوروبیسین به سلول‌های توموری، اثربخشی دوکسوروبیسین در حضور لوزارتان به‌عنوان یک آنتاگونیست انتخابی در برابر AT1R، در مدل موشی بررسی شد. نتایج نشان داد که تیمار با لوزارتان به‌تنهایی رشد تومور را سرکوب نمی‌کند. در مقابل، تیمار با دوکسوروبیسین به‌تنهایی رشد تومور را کاهش می‌دهد. تجویز ترکیبی لوزارتان و دوکسوروبیسین اثر هم‌افزایی داشت و رشد تومور را بسیار بیشتر مهار کرد (۳۲). بررسی اثر لوزارتان پتاسیم بر جهش‌زایی و نوترکیب‌زایی (Recombinogenicity) دوکسوروبیسین در سلول‌های سوماتیک مگس سرکه لوزارتان نشان داد که لوزارتان اثر جهش‌زایی ندارد و بر آسیب ناشی از

دوکسوروبیسین اثر تعدیلی دارد (۳۳). بررسی اثر ترکیبی لوزارتان بر سمیت قلبی مزمن ناشی از دوکسوروبیسین در موش‌های نر نژاد ویستار نشان داد که لوزارتان بیان بیش از حد اینترلوکین ۱ و ۶ ناشی از دوکسوروبیسین را در بطن چپ به طور قابل توجهی کاهش می‌دهد (۳۴). مشخص شده است که ۱۰-۲۰ درصد از کارسینوم‌های پستان با گیرنده استروژن مثبت به طور قابل توجهی آنژیوتانسین I را بیش از حد بیان می‌کنند. در یک پژوهش گزارش شده است با وجود آن که لوزارتان برای سلول‌های سرطان پستان سمی نیست و عمل ABC1 ها را تغییر نمی‌دهد اما سبب افزایش تجمع داخل سلولی دوکسوروبیسین و تقویت اثر سیتوتوکسیک آن می‌شود. باین حال در این پژوهش احتمال افزایش سمیت قلبی دوکسوروبیسین در حضور لوزارتان بررسی نشده است (۳۵). بررسی اثربخشی غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین بر بقای سلول‌های سرطانی MDA-MB-231 و MCF-7 در حضور دو غلظت از لوزارتان نشان داد که لوزارتان با برخی از غلظت‌های دوکسوروبیسین تداخل دارد. بررسی فعالیت کاسپاز-۳/۷ در سلول‌های MDA-MB-231 تحت تیمار با کاپتوپریل و لوزارتان نشان داد که سلول‌های تیمار شده فعالیت کاسپاز-۳/۷ بالاتری در مقایسه با کنترل دارند که نشانگر فعال شدن کاسپاز-۳/۷ به عنوان یکی از نشانگرهای آپوپتوزیس است.

۶- نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که انالاپریل اثر سیتوتوکسیک ناچیزی بر سلول‌های سرطانی رده‌ی MDA-MB-213 و MCF-7 دارد، در حالی که لوزارتان بیشترین اثر سیتوتوکسیک را به ویژه بر سلول‌های MCF-7 در هر دو بازه‌ی زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت نشان داد. کاپتوپریل نیز اثر سیتوتوکسیک نسبی بر سلول‌های MDA-MB-231 در ۴۸ ساعت و MCF-7 در ۷۲ ساعت داشت. والسارتان فاقد اثر سیتوتوکسیک بر سلول‌های سرطانی رده‌ی MDA-MB-231 و MCF-7 است و با افزایش زمان، سبب تکثیر سلول‌ها شد. بررسی اثر سیتوتوکسیک دوکسوروبیسین در حضور داروهای مهارکننده‌ی سیستم رنین-آنژیوتانسین نشان داد که انالاپریل، کاپتوپریل، لوزارتان و والسارتان از سلول‌های سرطانی در برابر اثر سیتوتوکسیک برخی از غلظت‌های دوکسوروبیسین محافظت می‌کنند (جدول ۲). هم‌چنین کاپتوپریل و لوزارتان سبب افزایش فعالیت کاسپاز-۳/۷ در سلول‌های MDA-MB-231 می‌شوند.

جدول ۲: نتایج اثر سیتوتوکسیک غلظت‌های مختلف دوکسوروبیسین در حضور آنتاگونیست‌های سیستم رنین-آنژیوتانسین (× اثر تداخلی، - بی‌اثر، √ اثر هم‌افزایی).

دارو	MCF-7								MDA-MB-231							
	۷۲ ساعت				۴۸ ساعت				۷۲ ساعت				۴۸ ساعت			
	۰.۵ (µg/mL)		۰.۱ (µg/mL)		۰.۰۱ (µg/mL)		۰.۰۰۱ (µg/mL)		۰.۵ (µg/mL)		۰.۱ (µg/mL)		۰.۰۱ (µg/mL)		۰.۰۰۱ (µg/mL)	
انالاپریل (500 µg/mL)	×	-	×	-	×	×	×	×	×	×	-	×	×	×	×	×
کاپتوپریل (1000 µg/mL)	×	×	×	×	-	-	√	-	-	-	-	-	×	×	×	×
والسارتان (2000 µg/mL)	-	×	-	-	×	×	×	×	-	-	-	-	×	×	-	-
لوزارتان (100 µg/mL)	×	×	×	-	×	×	×	×	×	-	×	×	-	×	-	×
لوزارتان (200 µg/mL)	×	×	×	×	×	×	×	-	-	-	-	-	-	×	-	-

۶- تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر در قالب پایان‌نامه دانشجوی کارشناسی‌ارشد تحت حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه کردستان انجام شد. از دانشگاه کردستان کمال تشکر و قدردانی می‌گردد. هیچ کدام از نویسندگان این مطالعه، افراد و یا دستگاهها تعارض منافی برای انتشار این مقاله ندارند.

۷- منابع

1. Tao Z, Shi A, Lu C, Song T, Zhang Z, Zhao J. Breast cancer: epidemiology and etiology. *Cell biochemistry and biophysics*. 2015;72(2):333-8.
2. Schnitt SJ. Classification and prognosis of invasive breast cancer: from morphology to molecular taxonomy. *Modern Pathology*. 2010;23(2):S60-S4.
3. Rondón-Lagos M, Di Cantogno LV, Marchiò C, Rangel N, Payan-Gomez C, Gugliotta P, et al. Differences and homologies of chromosomal alterations within and between breast cancer cell lines: a clustering analysis. *Molecular cytogenetics*. 2014;7(1):8.
4. Kao J, Salari K, Bocanegra M, Choi Y-L, Girard L, Gandhi J, et al. Molecular profiling of breast cancer cell lines defines relevant tumor models and provides a resource for cancer gene discovery. *PloS one*. 2009;4(7):e6146.
5. Holliday DL, Speirs V. Choosing the right cell line for breast cancer research. *Breast cancer research*. 2011;13(4):1-7.
6. Vorobiof DA. Recent advances in the medical treatment of breast cancer. *F1000Research*. 2016;5.
7. Akishita M, Nagai K, Xi H, Yu W, Sudoh N, Watanabe T, et al. Renin-angiotensin system modulates oxidative stress-induced endothelial cell apoptosis in rats. *Hypertension*. 2005;45(6):1188-93.
8. Lever AF, Hole DJ, Gillis CR, McCallum IR, McInnes GT, MacKinnon PL, et al. Do inhibitors of angiotensin-I-converting enzyme protect against risk of cancer? *The Lancet*. 1998;352(9123):179-84.
9. Deshayes F, Nahmias C. Angiotensin receptors: a new role in cancer? *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2005;16(7):293-9.
10. Zhao Y, Chen X, Cai L, Yang Y, Sui G, Fu S. Angiotensin II/angiotensin II type I receptor (AT1R) signaling promotes MCF-7 breast cancer cells survival via PI3-kinase/Akt pathway. *Journal of cellular physiology*. 2010;225(1):168-73.
11. Napoleone E, Cutrone A, Cugino D, Amore C, Di Santo A, Iacoviello L, et al. Inhibition of the renin-angiotensin system downregulates tissue factor and vascular endothelial growth factor in human breast carcinoma cells. *Thrombosis research*. 2012;129(6):736-42.
12. Coulson R, Liew SH, Connelly AA, Yee NS, Deb S, Kumar B, et al. The angiotensin receptor blocker, Losartan, inhibits mammary tumor development and progression to invasive carcinoma. *Oncotarget*. 2017;8(12):18640.
13. Van Meerloo J, Kaspers GJ, Cloos J. Cell sensitivity assays: the MTT assay. *Cancer cell culture: methods and protocols*. 2011:237-45.
14. Attoub S, Gaben AM, Al-Salam S, Al Sultan M, John A, Nicholls MG, et al. Captopril as a potential inhibitor of lung tumor growth and metastasis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 200.۲۲-۶۵:(۱)۱۱۳۸;۸
15. Davies RO, Gomez HJ, Irvin JD, Walker JF. An overview of the clinical pharmacology of enalapril. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 1984;18(S2):215S-29S.
16. Purclutepe O, Iskender G, Kiper HD, Tezcanli B, Selvi N, Avci CB, et al. Enalapril-induced apoptosis of acute promyelocytic leukaemia cells involves STAT5A. *Anticancer research*. 2012;32(7):2885-93.

17. Blaes A, Duprez D, Defor T, Shanley R, Beckwith H, Haddad T, et al. Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors (ACEI) and doxorubicin pharmacokinetics in women receiving adjuvant breast cancer treatment. *Springerplus*. 2015;4(1):1-7.
18. Atkinson A, Robertson J. Captopril in the treatment of clinical hypertension and cardiac failure. *The Lancet*. 1979;314(8147):836-9.
19. Chisi JE, Wdzieczak-Bakala J, Thierry J, Briscoe CV, Riches AC. Captopril inhibits the proliferation of hematopoietic stem and progenitor cells in murine long-term bone marrow cultures. *Stem Cells*. 1999;17(6):339-44.
20. Ronquist G, Rodríguez LAG, Ruigómez A, Johansson S, Wallander MA, Frithz G, et al. Association between captopril, other antihypertensive drugs and risk of prostate cancer. *The Prostate*. 2004;58(1):50-6.
21. Jones P, Christodoulos K, Dobbs N, Thavasu P, Balkwill F, Blann A, et al. Combination antiangiogenesis therapy with marimastat, captopril and fragmin in patients with advanced cancer. *British Journal of Cancer*. 2004;91(1):30-6.
22. Volpert OV, Ward WF, Lingen MW, Chesler L, Solt DB, Johnson MD, et al. Captopril inhibits angiogenesis and slows the growth of experimental tumors in rats. *The Journal of clinical investigation*. 1996;98(3):671-9.
23. Hii S, Nicol D, Gotley D, Thompson L, Green M, Jonsson J. Captopril inhibits tumour growth in a xenograft model of human renal cell carcinoma. *British Journal of Cancer*. 1998;77(6):880-3.
24. Mansour MA, El-Kashef HA, AL-SHABANAH OA. Effect of captopril on doxorubicin-induced nephrotoxicity in normal rats. *Pharmacological research*. 1999;39(3):233-7.
25. Niknahad H, Taghdiri A, MOHAMMADI BA, REZAEIAN MA. Protective effect of captopril against doxorubicin-induced oxidative stress in isolated rat liver mitochondria. 2010.
26. Black HR, Bailey J, Zappe D, Samuel R. Valsartan : More Than a Decade of Experience. *Drugs*. 2009;69(17):2393-414.
27. Asgharzadeh F, Mostafapour A, Ebrahimi S, Amerizadeh F, Sabbaghzadeh R, Hassanian SM, et al. Inhibition of angiotensin pathway via valsartan reduces tumor growth in models of colorectal cancer. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2022;440:115951.
28. Alhazzani K, Alotaibi MR, Alotaibi FN, Algerian K, As Sobeai HM, Alhoshani AR, et al. Protective effect of valsartan against doxorubicin-induced cardiotoxicity: Histopathology and metabolomics in vivo study. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2021;35(9):e2.۲۸۴۲
29. Cheng D, Tu W, Chen L, Wang H, Wang Q, Liu H, et al. MSCs enhances the protective effects of valsartan on attenuating the doxorubicin-induced myocardial injury via AngII/NOX/ROS/MAPK signaling pathway. *Aging (Albany NY)*. 2021;13(18):22556.
30. Oh E, Kim JY, Cho Y, An H, Lee N, Jo H, et al. Overexpression of angiotensin II type 1 receptor in breast cancer cells induces epithelial–mesenchymal transition and promotes tumor growth and angiogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2016;1863(6):1071-81.
31. Namazi S, Rostami-Yalmeh J, Sahebi E, Jaberipour M, Razmkhah M, Hosseini A. The role of captopril and losartan in prevention and regression of tamoxifen-induced resistance of breast cancer cell line MCF-7: An in vitro study. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2014;68(5):565-71.
32. Xiao L, Hu S, Wang L, Liu J, Li X. Losartan improves the distribution and efficacy of doxorubicin in CT26 tumor. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015;19(19):3763-9.
33. Silva-Oliveira R, Orsolin P, Nepomuceno J. Modulating effect of losartan potassium on the mutagenicity and recombinogenicity of doxorubicin in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Food and Chemical Toxicology*. 2016;95:211-8.
34. Freiwan M, Kovács MG, Kovács ZZ, Szűcs G, Dinh H, Losonczy R, et al. Investigation of the Antiremodeling Effects of Losartan, Mirabegron and Their Combination on the Development of Doxorubicin-Induced Chronic Cardiotoxicity in a Rat Model. *International journal of molecular sciences*. 2022;23(4):2201.

35. Delou JMDA, Lopes AG, Capella MAM. Effects of Angiotensin, vasopressin and aldosterone on proliferation of mcf-7 cells and their sensitivity to Doxorubicin. Anticancer research. 2014;34(4):1843-8.