[DOI: 10.52547/jmj.18.4.3]
Downloaded from jmj.jums.ac.ir at 21:21 +0330 on Saturday November 27th 2021

مقاله پژوهشی

تأثیر اسیدسیتریک بر میزان بیان ژن‌های *p53* و *p21* در رده سلولی آدنوکارسینومای معده انسان (AGS)

نویسندگان:

حامد نصر اصفهانی[۱]، لیلا روحی[۲*]، نوشا ضیاء جهرمی[۳]، خلیل خاشعی ورنامخواستی[۱،۴]

۱- گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۲- گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۳- گروه بیوشیمی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۴- گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی کازرون، کازرون، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.18, No.4, Winter 2021

چکیده:

مقدمه: آدنوکارسینومای معده دومین عامل مرگ ناشی از سرطان در سراسر جهان است. اسیدسیتریک یک اسید آلی طبیعی، به عنوان یک مهارکننده‌ی فیزیولوژیکی آنزیم‌های دخیل در مسیر گلیکولیز، در راستای حذف سلول‌های سرطانی مورد توجه می‌باشد. در این مطالعه اثر اسیدسیتریک بر میزان بیان ژن‌های *p53* و *p21* در رده سلولی آدنوکارسینومای معده انسان (AGS) مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: سلول‌های رده‌ی AGS با غلظت‌های مختلف اسیدسیتریک شامل ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر برای بررسی بیان ژن‌های *p53* و *p21* ظرف مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوبه شدند. سپس میزان بیان ژن‌های مذکور از طریق تحلیل Real Time- PCR مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این پژوهش حاکی از آن است که تیمار با اسیدسیتریک سبب افزایش معناداری در بیان ژن‌های *p53* و *p21* در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل شد. افزایش بیان ژن *p53* به صورت غیر وابسته به دوز و زمان در زمان‌های انکوباسیون ۲۴ و ۴۸ ساعته به ترتیب در غلظت ۱۶۰۰ میکرگرم/ میلی‌لیتر و ۸۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر در مقایسه با گروه کنترل معنادار بود. افزایش بیان برای ژن *p21* در هر دو زمان انکوباسیون به صورت وابسته به دوز و زمان بود.

نتیجه‌گیری: اسیدسیتریک قادر است با القاء بیان ژن‌های دخیل در مسیر آپوپتوز و جلوگیری از تکثیر، از میزان رشد سلول‌های آدنوکارسینومای معده کم کند. از این رو، به نظر می‌رسد اسیدسیتریک بتواند به عنوان یک ماده‌ی ضد سرطان در راستای درمان سرطان معده به کار رود.

واژگان کلیدی: اسیدسیتریک، آدنوکارسینوما، بیان ژن، *p53*، *p21*

Pars J Med Sci 2021;18(4):17-24

مقدمه:

سرطان به دسته‌ای از توده‌های سلولی با خصوصیت بدخیم اطلاق می‌شود. امروزه سرطان‌ها شایع‌ترین و شدیدترین بیماری‌های مشاهده شده در طب بالینی هستند [۲،۱]. در بین انواع بدخیمی‌ها، آدنوکارسینومای معده یکی از سرطان‌های شایع در سراسر جهان است. با وجود کاهش میزان بروز آدنوکارسینومای معده در سال‌های اخیر، همچنان این نوع سرطان به عنوان چهارمین سرطان شایع و دومین علت مرگ ناشی از سرطان در جهان محسوب می‌شود[۳]. سن شایع این بدخیمی دهه‌ی ششم عمر است، اما وقوع آن در سنین پایین‌تر نیز مشاهده شده است. سرطان معده از جمله بیماری‌هایی است که اگر زود تشخیص داده شود به طور کامل قابل علاج بوده، ولی در صورت تشخیص دیرهنگام ممکن است از معده فراتر رفته و به نقاط دیگر بدن دست‌اندازی کند. درمان اصلی این سرطان در مراحل اولیه با کمک فقط جراحی و در مراحل پیشرفته با انجام جراحی به همراه

* نویسنده مسئول، نشانی: گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
تلفن تماس: ۰۹۱۲۶۰۴۳۳۰۵ پست الکترونیک: lrouhi59@gmail.com
دریافت: ۱۳۹۹/۷/۱۳ اصلاح: ۱۳۹۹/۹/۲۲ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۱

[DOI: 10.52547/jmj.18.4.3]
Downloaded from jmj.jums.ac.ir at 21:21 +0330 on Saturday November 27th 2021

شیمی درمانی و رادیو درمانی است که معمولاً با نتایج خوبی همراه نیست [۴]. بنابراین، یک نیاز فوری برای یافتن راهکارهای درمانی موثرتر به منظور افزایش مدت زمان بقاء مبتلایان احساس می شود. از آن جائی که مقاومت به مرگ سلولی و عدم وجود تعادل بین تقسیم سلولی و مرگ سلولی، منجر به عدم کنترل تکثیر سلول‌های توموری معده می‌شود، هم‌اکنون بیشتر توجه‌ها به سوی شناسایی ترکیبات درمانی جلب شده است که می توانند تکثیر سلول‌های سرطانی معده را مهار کنند. برخی از این ترکیبات با هدف قرار دادن پروتئین‌های ضد آپوپتوزی منجر به افزایش پروتئین‌های پروآپوپتوزی از جمله *p53* و *p21* و تسهیل القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطانی شده و بدین طریق باعث مرگ سلول‌های توموری می‌شوند [۶،۵]. پروتئین *p53* توسط ژن سرکوبگر تومور *p53* واقع بر کروموزوم شماره‌ی ۱۷ رمزگذاری می‌شود. این پروتئین دارای نیمه عمر کوتاهی است و در سلول به طور طبیعی انباشته نمی‌شود، اما به محض وقوع آسیب به DNA، سطح آن به منظور ترمیم DNA یا القاء آپوپتوز افزایش می‌یابد. در این زمان پروتئین *p53* از طریق اتصال به DNA باعث تحریک ژن *WAF1* واقع در موقعیت کروموزومی *6p21.2* می‌شود که این ژن سازنده‌ی پروتئین *P21* است. پروتئین مذکور به پروتئین CDK2 می‌چسبد و اجازه‌ی ورود سلول به مرحله‌ی بعد را نداده و چرخه سلولی ترمیم را متوقف می‌کند. بدین ترتیب، پروتئین *p53* از طریق افزایش بیان پروتئین پروآپوپتوزی BAX آپوپتوز را القاء می‌کند [۸،۷]. از جمله‌ی این ترکیبات می‌توان به ترکیبات با منشاء طبیعی اشاره کرد. استفاده از ترکیبات طبیعی به عنوان دارو به دلیل دارا بودن اثرات جانبی کمتر در مقایسه با ترکیبات شمیایی همواره مورد توجه بوده است. از گذشته، ترکیبات طبیعی منبع منحصر به فردی برای تأمین داروهای مصرفی جامعه‌ی بشری بوده‌اند و به خاطر عدم بروز مشکلات بیشتر در اثر استفاده از آن ها نقش مهمی در درمان بیماری‌های انسانی ایفا کرده‌اند[۹]. اسیدسیتریک یک اسید آلی طبیعی است که عموماً در عصاره‌ی برخی از میوه‌جات و سبزیجات به ویژه مرکبات یافت می‌شود. این اسید آلی هم اکنون به طور گسترده به عنوان یکی از افزودنی‌ها و نگهدارنده‌های غذایی در صنعت مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۰]. علاوه بر آن، امروزه اسیدسیتریک به عنوان یک مهارکننده‌ی فیزیولوژیکی آنزیم‌های دخیل در مسیر گلیکولیز، در راستای حذف سلول‌های سرطانی از طریق القای مرگ برنامه‌ریزی شده نیز مورد توجه قرار گرفته است [۱۱]. ارتباط بین گلیکولیز و آپوپتوز به سطح آنزیم هگزوکیناز II بر می‌گردد. آنزیم مذکور گلوکز را به گلوکز ۶ فسفات تبدیل کرده و باعث پیشبرد فرآیند گلیکولیز به وسیله‌ی آبشار آنزیمی می‌شود و زمانی که منافذ غشاء خارجی میتوکندری باز هستند، باعث پایداری یک جزء ساختاری این منافذ با عنوان VDAC شده که نقش آن تنظیم نفوذپذیری منافذ است. بدین ترتیب، پایداری ایجاد شده در این جزء توسط هگزوکیناز II، نفوذپذیری را در غشاء خارجی غیرفعال می‌کند. با حذف هگزوکیناز II از مجموعه، نفوذپذیری در غشاء خارجی میتوکندری القاء می‌شود که به دنبال آن سیتوکروم C به درن سیتوپلاسم ترشح شده و آبشارکسپازی به راه افتاده باعث القاء آپوپتوز می‌شود. اسیدسیتریک از طریق تأثیرگذاری بر سطح آنزیم هگزوکیناز II و دیگر آنزیم‌های دخیل در مسیر گلیکولیز عملکرد ضد سرطانی خود را اعمال می کند [۱۴-۱۲]. ازاین رو، مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر این اسید و مدت زمان انکوباسیون با آن بر میزان بیان ژن‌های *p21* و *p53* در رده سلولی آدنوکارسینومای معده انسان انجام شد.

روش کار:

این مطالعه به صورت تجربی از اردیبهشت ۱۳۹۷ تا شهریور ۱۳۹۷ در مرکز تحقیقات سلولی- تکوینی و مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد با مجوز اخلاق در پژوهش به شماره IR.IAU.SHK.REC.1397.028 انجام شد. رده‌ی سلولی AGS از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران خریداری شد. در محیط کشت DMEM-F12 (Dulbecco's Modified Eagle's medium) (Gibco, USA) حاوی ۱۰ درصد FBS (Foetal Bovine Serum) (Gibco, USA) و یک درصد Penstrep (Penicillin-Streptomycin) (Gibco, USA) در انکوباتور (Memmert, Germany) با فشار ۵ درصد گاز CO2، رطوبت ۹۰ درصد و دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی گراد، در فلاسک ۷۵ کشت داده شد. محیط کشت هفته‌ای سه بار تعویض و برای برداشت سلول‌ها از محلول تریپسین/EDTA استفاده شد. اسیدسیتریک به صورت آماده و به حالت جامد از شرکت SIGMA-ALDRICH با نام تجاری Citric acid- anhydrous, cell culture tested و شماره محصول C۲۴۰۴ تهیه شد. به منظور بررسی میزان بیان ژن‌های *p53* و *P21* ، تعداد ۱۰۵×۳ سلول در پلیت‌های شش خانه کشت داده شدند. سپس با غلظت‌های ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر اسیدسیتریک [۱۵] در بازه‌های زمانی ۲۴و ۴۸ ساعت تیمار و انکوبه شدند. پس از گذشت زمان‌های مذکور سلول‌ها در سه گروه آزمایش با سه غلظت مختلف۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر و گروه کنترل برداشت و پس از شستشو با بافر PBS، Total RNA سلولی با استفاده از معرف بایوزول (Biozol Total RNA Extraction reagent)، با شماره محصول (BSC51M1)، (BioFlux, China) جداسازی شدند. به منظور انجام مرحله Heat block، نمونه‌های حاصل از مرحله‌ی قبل در دستگاه ترموسایکلر با دمای ۶۰ درجه

[DOI: 10.52547/jmj.18.4.3]
Downloaded from jmj.jums.ac.ir at 21:21 +0330 on Saturday November 27th 2021

سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند. در ادامه تمام توالی‌های RNA با استفاده از کیت سنتز cDNA (PrimeScript™ RT Reagent kit (Perfect Real Time))، (Takara)، به cDNA تبدیل و به فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد منتقل شدند. سنجش میزان بیان ژن‌های *p53* و *P21* با استفاده از دستگاه Real Time PCR مدل (Rotor gene 3000 corbett, Australia) ارزیابی شد. برای انجام واکنش، مخلوط واکنشی متشکل از cDNA، به مقدار ۱ میکرولیتر، پرایمر رفت و برگشت هر کدام به مقدار ۰/۵ میکرولیتر، RNase-free water، به مقدار ۵/۵ میکرولیتر و ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس (Master Mix RT-PCR) (Ampliqon) تهیه شد. توالی پرایمرهای پیش رو و پس رو ژن‌های GAPDH، *p53* و *P21* با استفاده از نرم افزار Oligo6 طراحی و سپس با Blast نمودن آن ها در NBCI از صحیح بودن آن ها اطمینان حاصل و در نهایت توسط شرکت Macrogen سنتز شدند (جدول ۱). از ژن GAPDH، به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. سپس مخلوط واکنش پس از آماده سازی با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر تحت تاثیر برنامه‌ی دمایی ذکر شده در جدول ۲ قرار گرفت. در نهایت تحلیل آماری با استفاده از آزمون من ویتنی با کمک نرم افزار SPSS انجام شد. حدود اطمینان برای تمام آزمون‌ها ۹۵٪ و سطح معناداری آماری ۵٪> P در نظر گرفته شد.

جدول ۱: مشخصات پرایمرهای مورد مطالعه

	Official Name (gene)	mRNA accession number		Primers		RNA	DNA	Intron-span
1	*P53*	NM-00546.5	F	ACATAGTGTGGTGGTGCCCT	20	152	-	-
			R	ACCTCAAAGCTGTTCCGTCC	20			
2	*P21*	NM-001291549.1	F	CATGTGGACCTGTCACTGTCTT	22	110	–	-
			R	CTGGTCTGCCGCCGTTTTC	19			
3	GAPDH	NM-001256799.2	F	CACATGGCCTCCAAGGAGTAAG	22	286	286	-
			R	AGGGGAGATTCAGTGTGGTG	20			

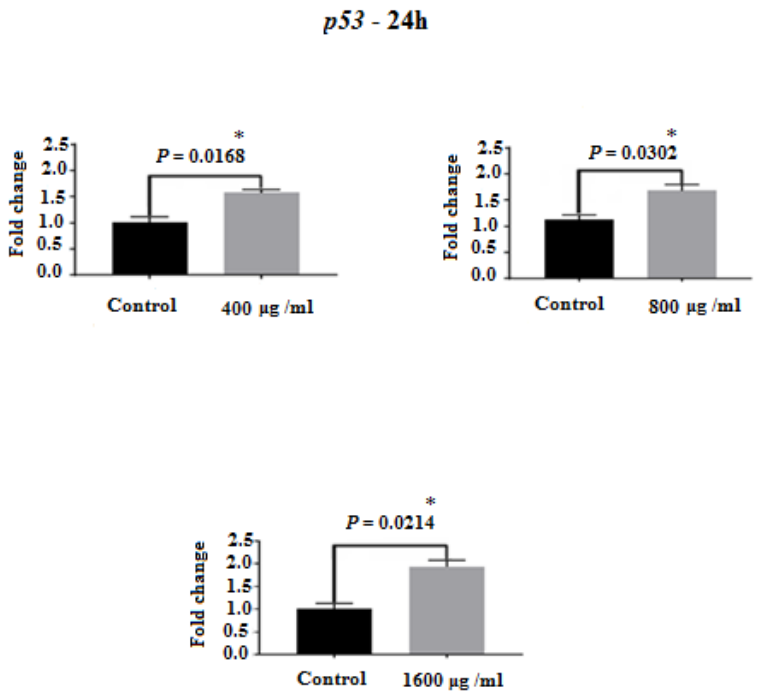
جدول۲: شرایط دمایی واکنش Rael Time PCR

PCR initial denaturation step	۱۰ دقیقه	۹۵ درجه‌ی سانتی گراد	۱ سیکل
Denaturation	۱۵ ثانیه	۹۵ درجه‌ی سانتی گراد	۴۰ سیکل
Annealing *p21* gene	۶۰ ثانیه	۶۲ درجه‌ی سانتی گراد	
Annealing *p53* gene	۶۰ ثانیه	۶۲ درجه‌ی سانتی گراد	
Annealing *GAPDH* gene	۶۰ ثانیه	۶۱ درجه‌ی سانتی گراد	

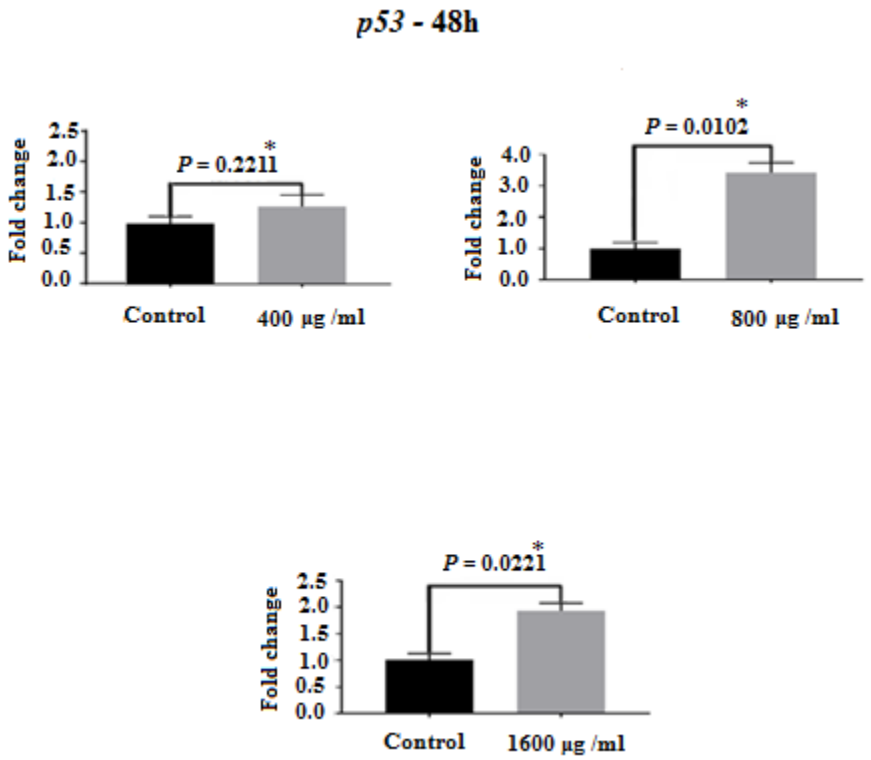
یافته‌ها:

میزان بیان ژن‌های *p53* و *p21* در رده سلولی AGS تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسیدسیتریک (۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر) بعد از گذشت زمان‌های دو گانه‌ی انکوباسیون (۲۴و ۴۸ ساعت) با استفاده از Real Time- PCR مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل مقادیر Ct حاصل با استفاده از فرمول 2-ΔΔct، بیانگر افزایش در میزان بیان هر دو ژن یاد شده در مقایسه با ژن مرجع در برخی از غلظت‌های مشخص است (شکل‌های ۱- ۴). این افزایش در میزان بیان ژن *p21*، در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل به صورت وابسته به دوز مشاهده شد. حال آن که افزایش در میزان بیان ژن *p53* به صورت غیر وابسته به دوز در برخی از غلظت‌های اسیدسیتریک نسبت به گروه کنترل به طور چشمگیرتری مشاهده شد. بیشترین میزان بیان ژن مذکور مربوط به تیمار با غلظت ۸۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر بود که در حقیقت نشان دهنده‌ی اثر گذاری بیشتر این دوز از اسیدسیتریک بر مهار روند رشد سلول‌های سرطانی است.

[DOI: 10.52547/jmj.18.4.3]
Downloaded from jmj.jums.ac.ir at 21:21 +0330 on Saturday November 27th 2021

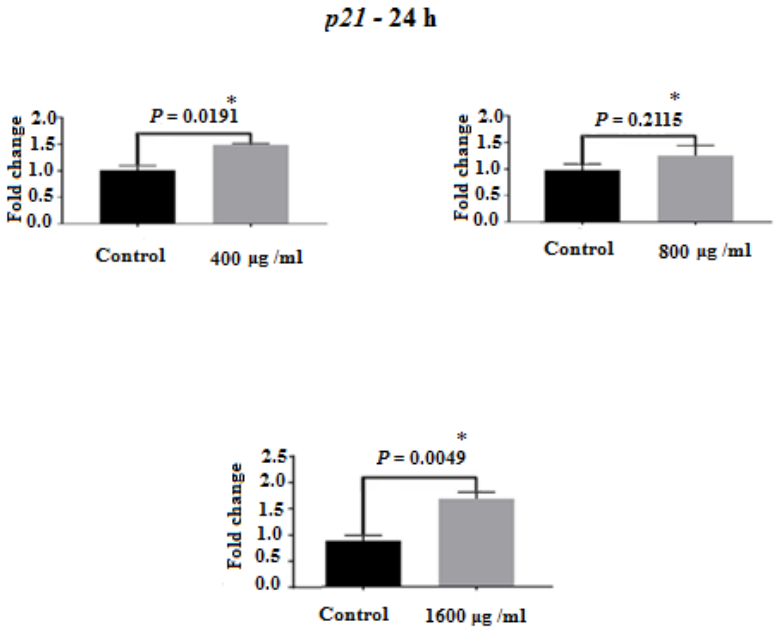


شکل ۱: نمودار میزان بیان ژن *p53* بر اساس Ct در غلظت‌های (۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر) و زمان انکوباسیون ۲۴ ساعت.
$*P<0.05$ اختلاف معنادار سایر گروه‌ها در مقابل گروه کنترل. داده‌ها به‌صورت mean ± SD نمایش داده شده‌اند.

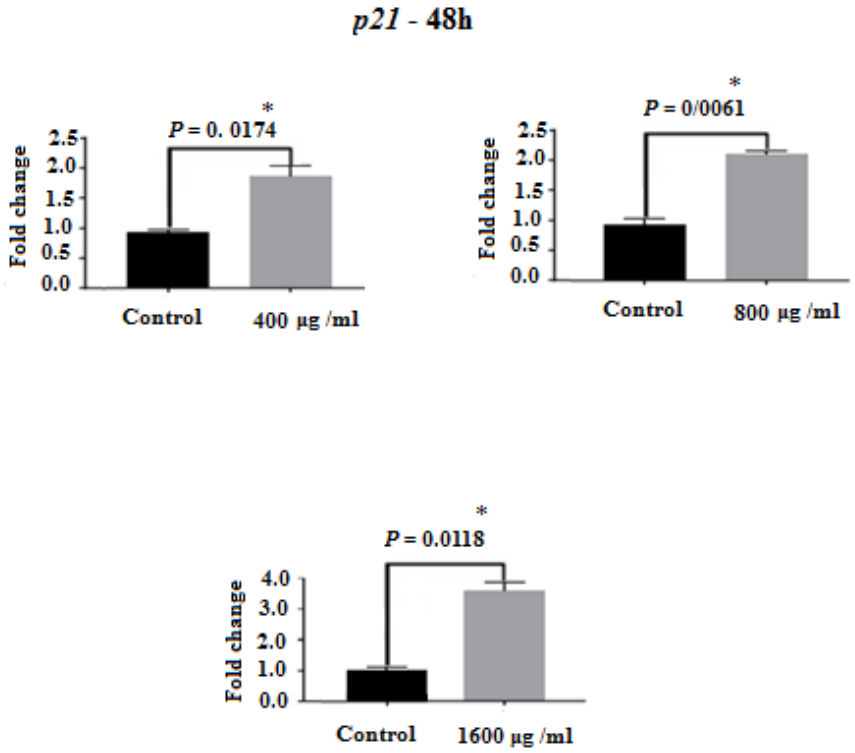


شکل ۲: نمودار میزان بیان ژن *p53* براساس Ct در غلظت‌های (۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر) و زمان انکوباسیون ۴۸ ساعت.
$*P<0.05$ اختلاف معنادار سایر گروه‌ها در مقابل گروه کنترل. داده‌ها به‌صورت mean ± SD نمایش داده شده‌اند.

[DOI: 10.52547/jmj.18.4.3]
Downloaded from jmj.jums.ac.ir at 21:21 +0330 on Saturday November 27th 2021



شکل ۳: نمودار میزان بیان ژن *p21* براساس Ct در غلظت‌های (۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر) و زمان انکوباسیون ۲۴ ساعت.
*$P<0.05$ اختلاف معنادار سایر گروه‌ها در مقابل گروه کنترل. داده‌ها به‌صورت mean ± SD نمایش داده شده‌اند.



شکل ۴: میزان بیان ژن *p21* براساس Ct در غلظت‌های (۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر) و زمان انکوباسیون ۴۸ ساعت.
*$P<0.05$ اختلاف معنادار سایر گروه‌ها در مقابل گروه کنترل. داده‌ها به‌صورت mean ± SD نمایش داده شده‌اند.

[DOI: 10.52547/jmj.18.4.3]
Downloaded from jmj.jums.ac.ir at 21:21 +0330 on Saturday November 27th 2021

بحث:

در پژوهش حاضر توانایی اسیدسیتریک در تغییر بیان ژن‌های رمزکننده‌ی پروتئین‌های پروآپوپتوزی دخیل در مسیر مرگ سلولی سلول‌های رده‌ی آدنوکارسینومای معده انسان مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش تیمار سلول‌های آدنوکارسینومای معده انسان با غلظت‌های مختلف اسیدسیتریک (۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر) و انکوباسیون با زمان های ۲۴ و ۴۸ ساعت نتایج قابل توجهی را در افزایش میزان بیان ژن‌های هدف پژوهش (*p53* و *p21*) نشان داد. شایان ذکر است که این افزایش در میزان بیان ژن *p21*، در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه کنترل به صورت وابسته به دوز و زمان مشاهده شد، حال آن که افزایش در میزان بیان ژن *p53* به صورت غیر وابسته به دوز و زمان در برخی از غلظت‌های اسیدسیتریک نسبت به گروه کنترل به طور چشمگیرتری مشاهده شد. بیشترین میزان بیان ژن *p53*، در زمان‌های انکوباسیون ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب مربوط به تیمار با غلظت۱۶۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر و ۸۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر بود که در حقیقت نشان دهنده‌ی اثر گذاری بیشتر این دوزها از اسیدسیتریک بر مهار روند رشد سلول‌های سرطانی است. بررسی انجام شده در سال ۲۰۰۸ در خصوص تاثیر اسیدسیتریک بر رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی نشان داد که اسیدسیتریک با تاثیر روی بیان پروتئین *p53*، بیان پروتئین *p21* و آزادسازی سیتوکروم C آپوپتوز را در سلول‌های سرطانی القاء می‌کند [۱۳]. بر اساس پژوهش انجام شده در سال ۲۰۱۱ نیز مشخص شد که اسیدسیتریک به عنوان یک آنتی‌گلیکولیتیک و مهارکننده‌ی آنزیم فسفو فروکتوکیناز قادر است از طریق کاهش بیان ژن Mcl-1 و افزایش بیان ژن‌های پروآپوتوزی *p53* و *p21* باعث تخریب سلول‌ها و آپوپتوز در آن‌ها شود [۱۶]. مطالعه‌ی دیگری در سال ۲۰۱۳ نشان داد که اسیدسیتریک نه تنها مانع از تکثیر سلول‌های HaCaT به صورت وابسته به دوز می‌شود، بلکه باعث القاء ژن‌های پروآپوپتوزی و توقف چرخه سلولی در مرحله G2/M می‌شود [۱۷]. در سال ۲۰۱۷ بررسی اثر درمانی اسیدسیتریک در سلول‌های مختلف سرطان نشان داد که تمایز سلول‌های سرطانی با اثر سیتریک اسید از طریق مهار چرخه‌ی تری کربوکسیلیک اسید متوقف می‌شود. بنابر این اسیدسیتریک می‌تواند برای درمان سرطان مفید باشد [۱۸]. از آن جائی که دخالت سایر ژن‌های دخیل در مسیرهای پیام رسان سلولی ممکن است بر تکثیر و فراوانی سلول‌های سرطانی معده از مرگ سلولی نقش ایفا کنند، پیشنهاد می شود مطالعات بیشتری در خصوص دیگر ژن‌ها انجام شود.

نتیجه‌گیری:

نتایج حاصل از Real Time PCR در پژوهش حاضر، بیانگر آن است که اسیدسیتریک قادر است با تاثیرگذاری بر بیان ژن‌های *p53* و *p21* و افزایش میزان تولید محصول آن‌ها مرگ را در سلول‌های آدنوکارسینومای معده انسان القاء کرده و از این طریق در درمان سرطان معده مؤثر واقع شود.

تشکر و قدردانی:

این مقاله حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد با عنوان بررسی اثر اسیدسیتریک بر میزان بیان ژن‌های *p21* و *p53* در رده سلولی آدنوکارسینومای معده انسان (AGS) مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد در سال ۱۳۹۷ است. بدین وسیله از کلیه عزیزانی که در انجام آن همکاری داشته‌اند سپاسگزاری می‌شود.

References:

1. Imanipour M. Principles of oncology nursing. Tehran, Tohfe & Boshra, Second ed 2009.[Persian]
2. Farazmandfar T, Janbabaei G, Azadeh H. Common on aspects of cancer. Sari, MazandaranUniversity of Medical Sciences, 1st ed, 2011.[Persian]
3. Hoda S, Aliee A, and Shakiba M. A study offrequency of cancerous organs in Guilanprovince (1999-2000). J Med Fac Guilan UniMed Sci 2003; 12: 84-92.
4. Harrison, Fauci, and Braunwald. Principle of internalmedicine. New York, McGraw Hill, 14th ed, 1998; 1610-1612.
5. Broecker-Preuss M, Viehof J, and Jastrow H. Cell death induction by the BH3 mimetic GX15-070 in thyroid carcinoma cells. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research 2015; 34(1): 15-186.
6. Broecker-Preuss M, Becher-Boveleth N, and Müller S. The BH3 mimetic drug ABT-737 induces apoptosis and acts synergistically with chemotherapeutic drugs in thyroid carcinoma cells. Cancer cell international 2016; 16(1): 303-8.
7. Xue X, Yu J-L, Sun D-Q. Curcumin induces apoptosis in SGC-7901 gastric adenocarcinoma cells via regulation of mitochondrial signaling pathways. APJCP 2013; 15(9): 3987-3992.
8. Broecker-Preuss M, Viehof J, Jastrow H. Cell death induction by the BH3 mimetic GX15-070 in thyroid carcinoma cells. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research 2015; 34(1): 15-186.
9. Zhu L, Li L, and Li Y. Chinese Herbal Medicine as an Adjunctive Therapy for Breast Cancer. Evid.comp.alter.med 2016; doi: 10.1155/2016/9469276.
10. Angumeena AR, Venkappayya D. An overview of citric acid production. LWT-Food Sci Technol 2013; 50(2): 367-370.

[DOI: 10.52547/jmj.18.4.3]
Downloaded from jmj.jums.ac.ir at 21:21 +0330 on Saturday November 27th 2021

11. Zhang XD, Varin E, and Icard P. Effect of citrate on malignantpleural mesothelioma cells: a synergistic effect with cisplatin. Anticancer Res 2009; 29: 1249-1254.
12. Pedersen PL, Mathupala S, and Rempel A. Mitochondrialbound type II hexokinase: a key player in the growth andsurvival of many cancers and an ideal prospect for therapeuticintervention. Biochim Biophys Acta 2002;1555: 14-20.
13. Pastorino JG, Hoek JB. Regulation of hexokinase binding to VDAC. J Bioenerg Biomembr 2008; 40: 171-82.
14. Matoba Satoaki. *P53* regulates mitochondrial respiration. Science 2006; 312(5780): 1650-1653.
15. Chen X, Lv Q, Liu Y, Deng W. Effect of food additive citric acid on the growth of human esophageal carcinoma cell line EC109. Cell Journal (Yakhteh) 2017;18(4):493.
16. Lu Y, Zhang X, Zhang H. Citrate induces apoptotic cell death: a promising way to treat gastric carcinoma? Anticancer research 2011; 31(3): 797-805.
17. Ying TH, Chen CW, Hsiao YP. Citric acid induces cell-cycle arrest and apoptosis of human immortalized keratinocyte cell line (HaCaT) via caspase-and mitochondrial-dependent signaling pathways. Anticancer research 2013; 33(10): 4411-20.
18. Ren JG, Seth P, and Ye H. Citrate Suppresses Tumor Growth in Multiple Models through Inhibition of Glycolysis, the Tricarboxylic Acid Cycle and the IGF-1R Pathway. Scientific reports 2017; 7(1): 4537.

[DOI: 10.52547/jmj.18.4.3]

Downloaded from jmj.jums.ac.ir at 21:21 +0330 on Saturday November 27th 2021

Original Article

Effect of citric acid on *p53* and *p21* genes expression of the human gastric Adenocarcinoma cell line (AGS)

Hamed Nasr Isfahani[1], Leila Rouhi[2*], Noosha Ziya Jahromi[3], Khalil Khashei Varnamkhasti[1,4]

Received:2020.10.04 Revised:2020.12.12 Accepted:2021.01.30

1. Department of Genetic, Shahrekord Branch, University of Islamic Azad, Shahrekord, Iran
2. Department of Physiology, Shahrekord Branch, University of Islamic Azad, Shahrekord, Iran
3. Department of Biochemistry, Shahrekord Branch, University of Islamic Azad, Shahrekord, Iran
4. Department of Genetics, School of Medicine, University of Islamic Azad, Kazerun, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.18, No. 4, Winter 2021

Pars J Med Sci 2021;18(4):17-24

Abstract:

Introduction:
Gastric adenocarcinoma is the second leading cause of death from cancer worldwide. Citric acid is a naturally organic acid that considered as a physiological inhibitor of enzymes involved in glycolysis pathway to remove cancer cells. In this study, the effect of citric acid on *p53* and *p21* genes expression of the human gastric adenocarcinoma cell line (AGS) was examined.

Materials and Methods:
AGS cells with different concentrations of citric acid (400, 800 and 1600 µg / ml) to examine the expression of genes *P53* and *p21* were incubated for 24 and 48 hours. Then, the expression of *p53* and *p21* genes were analyzed by Real Time PCR.

Results:
The results of this study indicate that treatment with citric acid increased the expression of *p53* and *p21* genes in the experimental groups compared to the control group. Over expression of *p53* gene at concentrations of 1600 and 800 µg / ml, respectively, was significant at 24 and 48 hours incubation times in dose and time independent manner. Expression of *p21* gene at both incubation times was dose- and time dependent manner.

Conclusion:
The results indicate that citric acid can reduce the growth of gastric adenocarcinoma cells by inducing expression of genes that involved in the apoptosis pathway and preventing proliferation. Therefore, citric acid seems to be used as an anticancer agent for the treatment of gastric cancer.

Keywords: Citric Acid, Adenocarcinoma, Gene Expression, *p53*, *p21*

* Corresponding author Email: lrouhi59@gmail.com