ЦИТОЛОГИЯ, 2021, том 63, № 6, с. 531–537

УДК 573.7:616-006

РОЛЬ ВНЕ- И ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ЗНАЧЕНИЯ pH В РЕГУЛЯЦИИ ОПУХОЛЕВОГО ПРОЦЕССА

© 2021 г. В. А. Кобляков*

Научно-исследовательский медицинский центр онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, Москва, 115478 Россия

**E-mail: kobliakov@rambler.ru*

Поступила в редакцию 02.08.2021 г.
После доработки 10.08.2021 г.
Принята к публикации 10.08.2021 г.

В обзоре приводятся и обсуждаются данные о роли изменения pH вне- и внутри клетки, вызванного аэробным гликолизом в опухолевой ткани. По сравнению с нормальной тканью в опухоли происходит подкисление межклеточного пространства и увеличение pH внутри клеток опухоли. Основным фактором регуляции гликолиза является транскрипционный фактор HIFα. Изменения величины pH связано с тем, что конечным продуктом превращения глюкозы становится не пируват, а лактат. Лактат транспортируется через клеточную мембрану и подкисляет межклеточное пространство. Кроме того, фактор HIFα вызывает транскрипцию ряда протонных помп и матриксных протеиназ, которые активируются в кислой среде межклеточного пространства. Происходит разрушение межклеточного матрикса, что дает клеткам опухоли возможность инвазии. Подкисление межклеточного пространства благодаря функционированию протонных помп вызывает увеличение pH внутри клеток. Повышение внутриклеточного pH стимулирует ускоренное прохождение клетками фазы G_2 клеточного цикла. Обсуждаются молекулярные механизмы этого процесса. Делается заключение, что основные факторы опухолевого процесса – инвазия, ускоренная пролиферация, нестабильность генома – обусловлены аэробным гликолизом (эффектом Варбурга).

Ключевые слова: гликолиз, HIFa, инвазия, злокачественный рост, протеиназы, пролиферация

DOI: 10.31857/S0041377121060079

В настоящее время большое количество публикаций связно с понятием “перепрограммирование опухолевых клеток”. Под этим термином понимается существование в опухолевых клетках отличной от нормальных клеток системы регуляции функционирования клеточных процессов. Исторически сложилось так, что первым описанным различием в функционировании нормальных и опухолевых клеток стало показанное Варбургом наличие гликолиза в опухолевых клетках при нормальном уровне кислорода (Warburg et al., 1924; Lu et al., 2002). Варбург считал, что переход на гликолиз обусловлен поломками в опухолевых клетках функционирования митохондрий, что влечет за собой и другие изменения функций клеток, ведущих в конечном итоге к развитию опухоли. Согласно современным представлениям, переход на аэробный гликолиз опухолевых клеток, как правило, не связан с нарушением митохондриальных функций, а основным фактором развития опухоли являются неконтролируемое функционирование онкогенов и (или) нарушения в структуре генов-супрессоров.

В нормальных клетках переход на гликолиз происходит в условиях гипоксии. Различие превращения глюкозы при нормоксии и гипоксии связано с тем, что при нормоксии основным конечным продуктом превращения глюкозы является пируват (рис. 1), транспортируемый в митохондрии пируватдегидрогеназным комплексом и под воздействием пируватдегидрогеназы превращаемый в ацетилкоэнзим А. Ацетилкоэнзим А является важным элементом цикла Кребса. При гипоксии экспрессируется, во-первых, фермент пируватдегидрогеназы киназа, которая фосфорилирует пируватдегидрогеназу, инактивируя ее (Kim et al., 2006), а во-вторых, лактатдегидрогеназа А, которая превращает пируват в лактат (рис. 1).

Механизм перехода клеток при гипоксии на гликолиз хорошо изучен. Показано, что основным элементом этого события является функционирование транскрипционного фактора HIFα. При нормоксии этот белок окисляется по остаткам пролина в положении 402 и 405 ферментом пролилоксидазой (Benizri et al., 2003; Cash et al., 2007). Окисленный HIFα взаимодействует с убиквитинлигазой VHL и направляется в протеосомы, где разрушается (см. обзоры: Lee et al., 2007; Кобляков, 2010). При гипоксии в комплексе 3 дыхательной цепи митохондрий образуются активные формы кислорода в форме супероксидного аниона и пероксида водорода (Chandel et al., 2000; Lee et al., 2016). Активированные формы кислорода выходят из митохондрий, взаимодействуют с сульфгидрильными группами пролилоксидазы, блокируя активность фермента. В результате происходит накопление белка HIFα, который взаимодействует с другим компонентом транскрипционного комплекса – белком HIFβ (другое название ARNT), уровень

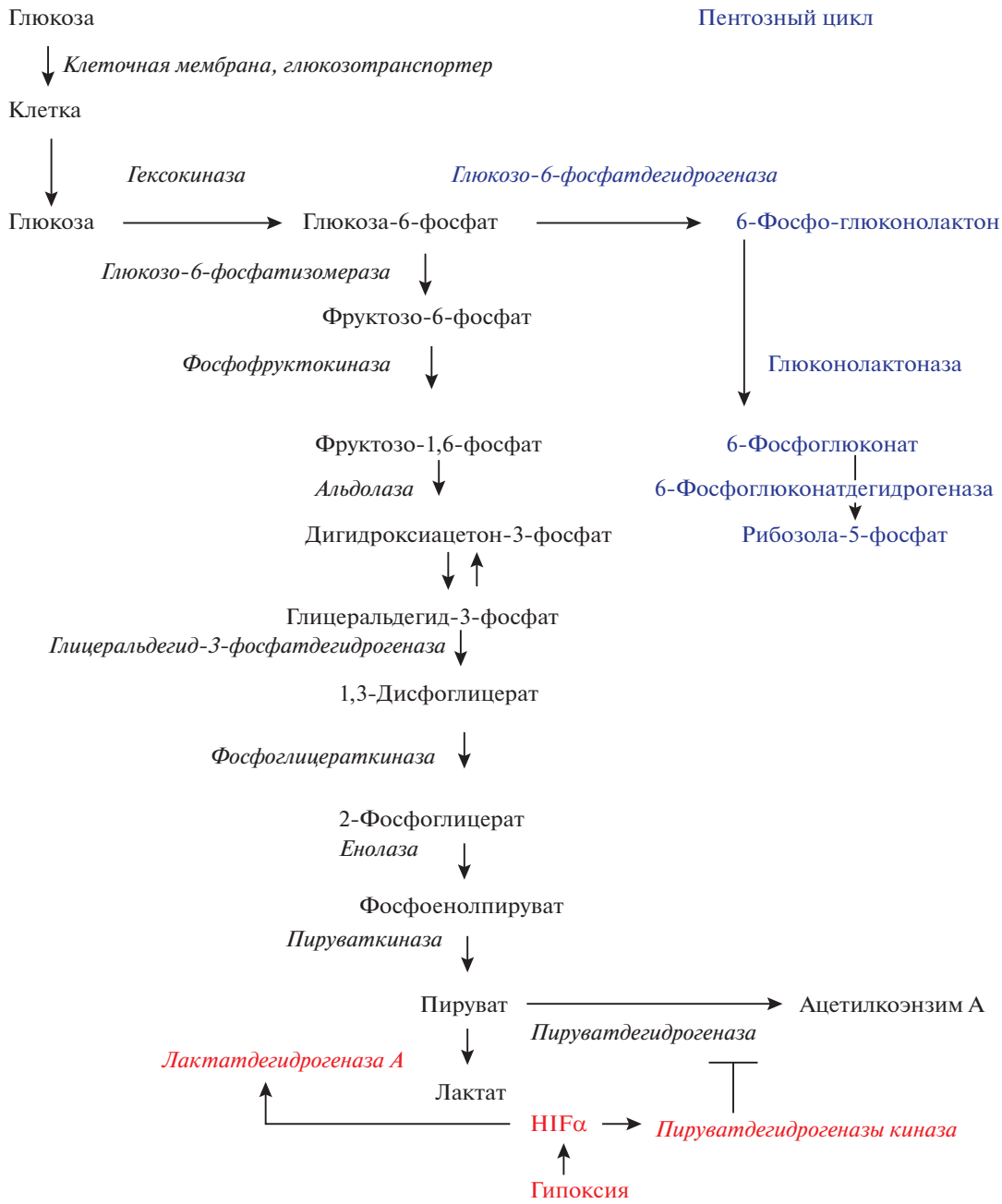

Рис. 1. Регуляция гликолиза. Глюкоза через клеточную мембрану транспортируется *глюкозотранспортером* внутрь клетки. Под действием *гексокиназы* образуется глюкоза-6-фосфат, который под *действием глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы* направляется в пентозный цикл, или под действием *глюкозо-6-фосфатизомеразы* и других ферментов превращается в пируват. Пируват под действием *пируватдегидрогеназы* преврашается в ацетилкоэнзим А и напраляется в цикл Кребса. В условиях гипоксии транскрипционный фактор HIFα вызывает синтез *пируватдегидрогеназы киназы*, которая ингибирует *пируватдегидрогеназу* и препятствует образованию ацетилкоэнзима А. Под действием *лактатдегидрогеназы А* пируват превращается в лактат.

которого в клетке постоянен. Активируемые этим транскрипционным комплексом гены синтезируют белки гликолиза, которые усиливают процесс превращения глюкозы. Синтезируется пируватдегидрогеназа киназа, блокирующая превращение пирувата в коэнзим А, благодаря дезактивации пируватдегидрогеназы (Kim et al., 2006). Экспрессируется лактатдегидрогеназа А, превращающая пируват в лактат. В результате, конечным продуктом превращения глюкозы становится не пируват, а лактат (рис. 1). Одновременно активируются гены, кодирующие монокарбоксилат-транспортеры, транспортирующие лактат вместе с протоном в межклеточное пространство. Помимо синтеза этих ферментов гликолиза, комплекс HIFα–HIFβ транскрибирует экспрессию большого количество других генов, белки которых, так или

иначе, участвуют в развитии опухолевого процесса. В настоящее время показано, что комплекс HIFα–HIFβ влияет на транскрипцию более 200 генов.

Анализ механизма действия различных онкогенов приводит к заключению, что синтезируемые ими онкобелки способны вызывать активацию аэробного гликолиза по различным механизмам, вызывая в конечном итоге стабилизацию и накопление HIFα (Кобляков, 2019). Одним из следствий функционирования HIFα является изменение pH в опухолевой ткани при анаэробном гликолизе. Происходят изменения pH как внутри, так и вне клеточного пространства.

В представленном обзоре анализируются механизмы изменения pH в опухолевой ткани, и делается заключение, что такие важные свойства опухолевого роста, как инвазия, нестабильность генома и повышенная пролиферативная активность обусловлены изменениями pH как внутри клеток опухоли, так и в межклеточном пространстве опухоли.

ЗНАЧЕНИЯ pH ВНУТРИ И ВНЕ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Одним из последствий перехода опухолевых клеток на гликолиз является изменение величины как внутриклеточного, так и внеклеточного pH. Переход клеток на гликолиз должен был бы понизить значение внутриклеточного pH благодаря образованию органических кислот в процессе гликолиза. Однако наблюдается обратная картина: в нормальных клетках при нормоксии различие между внутриклеточным и внеклеточным pH небольшое: незначительное превышение pH внеклеточного (~7.4) по сравнению с внутриклеточным (~7.2). В опухолевых клетках разброс между внутриклеточными (≥7.4) и внеклеточными (≤6.9) значениями pH значительно выше и наблюдается обратная картина: внутри клетки величина pH более щелочная, чем вне клетки. Считается, что изменение pH в опухолевой ткани является одним из самых ранних показателей опухолевой трансформации (Reshkin et al., 2000; Harguindey et al., 2013).

Связано это с тем, что в опухолевых клетках, благодаря функционированию транскрипционного фактора HIFα, синтезируются различные протонные помпы, которые выбрасывают протоны в межклеточное пространство, создавая протонный градиент между уровнем pH внутри и вне клетки. HIFα активирует следующие протонные помпы: монокарбоксилат-транспортеры, выводящие из клетки лактат вместе с протоном, карбоновые ангидразы, катализирующие образование протона при взаимодействии двуокиси углерода с водой в межклеточном пространстве (по схеме: $CO_2 + H_2O \rightarrow HCO_3^- + H^+$) и трансмембранный Na^+/H^+ обменник (NHE1 exchanger), транспортирующий в межклеточное пространство протон в обмен на ион натрия (см. обзор: Кобляков, 2017).

ИЗМЕНЕНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО ЗНАЧЕНИЯ pH В ОПУХОЛЕВОМ ПРОЦЕССЕ

Различия величин pH в нормальных клетках и опухолях во многом определяет злокачественный фенотип. Показано, что инвазия происходит из зон опухоли с пониженным уровнем pH, а в зонах опухоли с нормальным pH инвазию не наблюдают (Estrella et al., 2013). Введение животным с опухолью слабощелочного буферного раствора (карбонатного или ТРИС) уменьшает метастазирование и рост опухоли (McCarty and Whitaker, 2010; Martin et al., 2012; Fais et al., 2014). Показано также, что пониженный уровень pH в межклеточном пространстве опухоли уменьшает активность Т-лимфоцитов, что способствует росту опухоли (Ma et al., 2021).

Активированный при аэробном гликолизе транскрипционный комплекс HIFα–HIFβ транскрибирует активность генов различных протеиназ: катепсина B (Cheng Xiaofei et al., 2018), металлопротеаз (MMP) (Hui Zhang et al., 2019), сериновую протеазу тромбина (Deryugina, Quigley, 2012). Активность протеиназ вызывает разрушение межклеточного матрикса и способствует инвазии. Протеиназы разрушают также межклеточные связи, что дает возможность опухолевым клеткам отделиться от основной массы опухоли, что является начальной стадией метастазирования.

Катепсин B сначала был выявлен как лизосомный фермент, но в дальнейшем был показан его транспорт во внешнюю мембрану клетки. (Aggarwa, Sloane, 2014). Активность катепсина B увеличивается в кислой среде межклеточного пространства опухоли. Катепсин B, помимо того, сам разрушает компоненты межклеточного матрикса, активируя MMP, активность которых также увеличивается при низких pH внеклеточного пространства (Ning Cui et al., 2017).

Принято считать, что наибольшую роль в разрушении межклеточного матрикса играют MMP, насчитывающие 28 изоформ. Повышенная активность большинства изоформ MMP выявляется в опухолях человека (Ning Cui et al., 2017). Основными “опухолевыми” MMP считаются MMP-2 и MMP-9 (Shao-Wu Jing et al., 2012). Описан и другой механизм активации MMP. Так, при значениях pH ниже 6.5 активируется фосфолипаза D, стимулирующая транскрипционную активность фактора NF-κB и протеинкиназы p38, что вызывает экспрессию MMP-9 (Williger et al., 1999; Kato et al., 2005). Таким образом, при понижении pH вне клетки активация протеиназ может происходить с помощью нескольких механизмов.

ИЗМЕНЕНИЕ pH ВНУТРИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Увеличение внутриклеточного pH изменяет активность внутриклеточных ферментов. Активность ферментов, участвующих в основной цепи превращения глюкозы с образованием пирувата и лактата усиливается. Так, активность одного из ключевых ферментов гликолиза фосфофруктокиназы в опухоле-

вых клетках увеличивается в 100 раз при повышении значения pH на 0.2 единицы (Alfarouk et al., 2014).

Другая ветвь превращения глюкозы (пентозный цикл) в клетке связана с синтезом рибозы, необходимой для пролиферации и других синтетических процессов в клетке (рис. 1). Оптимальная активность ферментов пентозного цикла наблюдается при повышенном значении pH, характерном для опухолевых клеток. Так, для глюкозо-6-дегидрогеназы оптимальное значение pH 7.6, для транскетолазы – 7.4 (Alfarouk et al., 2020). Поэтому в опухолевых клетках резко усиливаются синтетические процессы, в основе которых лежит синтез нуклеиновых кислот.

Изменение каталитической активности белков связано с тем, что аминокислоты, pKa которых находится вблизи нейтрального значения pH, протонируются при понижении pH и теряют протон при повышении pH. Наиболее чувствительным к изменению pH является гистидин, поскольку pKa его аминогруппы ровно 6.5. Помимо гистидина, чувствительными к изменению pH являются глутамин, лизин и аспарагин (Brandon et al., 2020; Czowski et al., 2020). С изменением pH внутри клетки изменяется и аллостерическая структура белков. Если эти изменения затрагивают активный центр белка, то его активность меняется. Белки, функциональная активность которых меняется в зависимости от pH, характеризуются как pH-сенсоры. Присоединение к аминокислотному остатку в структуре белка фосфорной или ацетильной групп изменяет pKa этой аминокислоты, что приводит к изменению функциональной активности белка в зависимости от pH окружающей среды (Schönichen et al., 2013). Так, например, в опухолях простаты показано ацетилирование цитохрома *c* по лизину 53, что вызывает падение электрон-транспортных свойств фермента и уменьшает его способность активировать каспазу 3. (Bazylianska et al., 2021). Наблюдаемое в опухолях ацетилирование цитохрома *c* авторы связывают с эффектом Варбурга, считая, что переключение на гликолиз и меньшая чувствительность к апоптозу связаны с ацетилированием цитохрома *c*.

ВЛИЯНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ЗНАЧЕНИЯ pH НА ПРОХОЖДЕНИЕ ФАЗ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА В НОРМАЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ

Клетки, подвергнутые гипоксии, усиливают пролиферацию, что связано с функционированием фактора HIFα (Lee et al., 2008; Zhao et al., 2008). В процессе деления клеток в различных фазах клеточного цикла происходят кратковременные изменения внутриклеточного pH. Важным фактором здесь является то, что в конце фазы S происходит увеличение pH, что необходимо для прохождения границы фаз G_2/M (Putney, Barber, 2003).

При ингибировании временного повышения pH происходит уменьшение уровня циклина B (основного элемента, стимулирующего прохождения фаз G_2/M), стабилизация ингибиторного фосфорилирования циклинзависимой киназы 1 (Cdk1) по тирозину 15, а также увеличение уровня тирозинкиназы Wee-1, которая фосфорилирует Cdk1 по тирозину 15 (рис. 2). В нормальных клетках Wee-1 ингибирует вход клетки в митоз до полной готовности к митозу, что дает возможность ферментам репарации устранить нарушения в структуре ДНК, возникающие при ее репликации. Этот этап пролиферации обозначается как точка проверки (checkpoint). При окончании проверки происходит повышение pH, что ингибирует активность киназы Wee-1 (Schmidt et al., 2017). Выключение Wee-1 с помощью трансфекции клеток соответствующей siRNA приводит к исчезновению сверочной точки и нарушению структуры ДНК (Beck et al., 2010).

Увеличение уровня pH увеличивает уровень циклина B и активность фосфатазы Cdc25, которая дефосфорилирует циклинзависимую киназу Cdk1 по Tyr15, делая ее активной. Комплекс Cdk1–циклин B фосфорилирует тирозинкиназу Wee1, что вызывает ее убиквитирование и разрушение в протеосомах. Дефосфорилированный комплекс Cdk1–циклин B стимулирует вход клетки в фазы G_2 и M и ускоряет пролиферацию (Putney, Barber, 2003; White et al., 2017). Фосфатазы семейства Cdc25 экспрессируются при передаче митотического сигнала транскрипционным фактором E2F и активируются фосфорилированием в поздней G_1-фазе (Sur, Agrawa, 2016).

В нормальных клетках регулятором внутриклеточного pH при прохождении фаз G_2/M клеточного цикла является, по-видимому, трансмембранный протонно-натриевый обменник NHE1, поскольку ингибирование его активности предотвращает пролиферацию (Putney, Barbe, 2004). Другие регуляторы pH активируются в определенных функциональных состояниях клетки. Так, например, авторы утверждают, что каналы MCT (монокарбоксилат-ранпортеры), которые транспортируют лактат и протоны в межклеточное пространство, ответственны за увеличение внутриклеточного pH в быстро пролиферирующих клетках и первичных опухолях (Birkeland et al., 2020).

Активация NHE1-обменника обусловлена кратковременным повышением уровня HIFα в фазе G_2 клеточного цикла с последующей деградацией в фазе G_1 (Warfel et al., 2013; Hubbi et al., 2014). Повышение уровня HIFα происходит благодаря тому, что Cdk1 фосфорилирует HIFα по остатку Ser668, что стабилизирует его и позволяет избежать разрушения (Warfel et al., 2013). Однако повышенный уровень HIFα в клетке кратковременен и после митоза, когда клетки вступают в фазу G_1, уровень HIFα падает. Это связано с тем, что Cdk2, которая катализирует прохождение фазы клеточного цикла G_1, в комплексе с циклинами E и A взаимодействует с HIFα. В результате образуется комплекс HIFα с шапероном, и HIFα направляется на деградацию в лизосомы по механизму аутофагии (Hubbi et al., 2014; Druker et al., 2021).

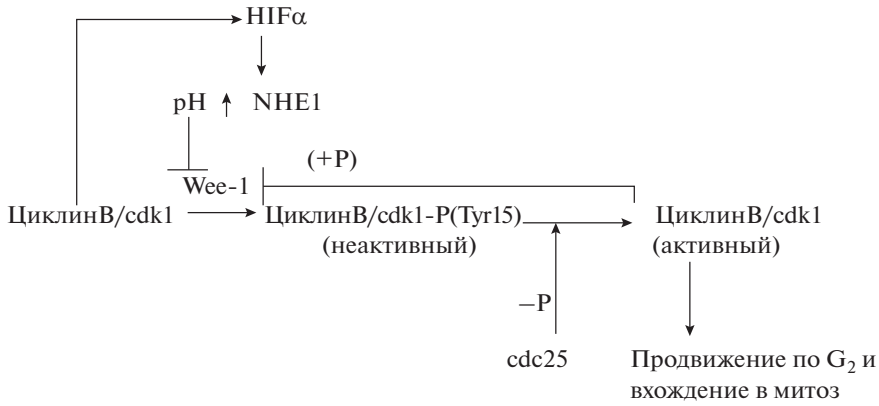

Рис. 2. Регуляция пролиферации клеток на стадии G_2 клеточного цикла. В фазе G_2 основным элементом продвижения клеток к митозу является циклинзависимая киназа cdk1 в комплексе с циклином B. После завершения S-фазы происходит проверка в контрольной точке (checkpoint) и исправление нарушений структуры ДНК после репликации. Для реализации контрольной точки киназа Wee-1 ингибирует активность cdk1, фосфорилируя остаток тирозина в положении 15. Для инактивации Wee-1 происходит повышение pH, благодаря стабилизации HIFα фосфорилированием cdk1. HIFα транскрибирует ген протонной помпы NHE1 (Na^+/H^+-обменника). Белок NHE1 увеличивает pH внутри клетки, что приводит к дезактивации Wee-1. Фосфатаза cdc25 дефосфорилирует киназу cdk1 по тирозину 15, активированный комплекс ЦиклинB/cdk1 фосфорилирует Wee-1, что ведет к ее деградации.

Косвенным подтверждением того, что Cdk1 активирует HIFα, являются данные, в которых показано, что разрушение в клетке Cdk1 блокирует не только пролиферацию клеток, но и ангиогенез (Xin Gao et al., 2019), который регулируется фактором HIFα, транскрибирующим гены фактора роста эндотелия сосудов VEGF (Masoud, Li, 2015; Choueiri, Kaelin, 2020). Поскольку киназа Cdk1 не является транскрипционным фактором, то ее влияние на ангиогенез может быть только опосредованным. Так как HIFα является транскрипционным фактором, вызывающим синтез VEGF, можно предположить, что при нарушении Cdk1 отсутствует активация HIFα и, соответственно, нет ангиогенеза. В опухоли, благодаря постоянно повышенному уровню pH и фактора HIFα, происходит постоянный нерегулируемый процесс пролиферации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что на ранних стадиях канцерогенеза трансформированные клетки переходят на гликолиз и при аэробных условиях (эффект Варбурга). Переход на гликолиз обусловлен функционированием различных онкогенов. Общим свойством активированных онкогенов является стабилизация и активация транскрипционного фактора HIFα, который вызывает экспрессию генов, кодирующих белки гликолиза, протонные помпы, матриксные протеиназы. В результате происходят изменения pH в межклеточном пространстве и внутри опухолевых клеток по сравнению с нормой. Пониженный уровень pH (≤6.9) в межклеточном пространстве активирует матриксные протеиназы, что вызывает разрушение межклеточного матрикса и межклеточного взаимодействия. В результате опухолевые клетки получают возможность прорастать в окружающую нормальную ткань (инвазировать) и образовывать одиночные опухолевые клетки, не связанные с основной массой опухоли, и в дальнейшем давать метастазы. Протонирование межклеточного пространства за счет транспорта протонов из клетки в межклеточное пространство вызывает стабильное увеличение pH внутри опухолевых клеток. В процессе пролиферации нормальных клеток наблюдаются изменения pH в зависимости от фаз клеточного цикла. На стадии G_2 нормальные клетки после репликации ДНК имеют возможность репарировать нарушения, связанные с ошибками при репликации. После этого происходит повышение pH, необходимое для вхождения в фазу G_2. Благодаря постоянной и более высокой величине pH внутри опухолевых клеток, у них отсутствует сверочная точка (checkpoint) после репликации ДНК и они входят в фазу G_2 без исправления нарушений в структуре ДНК, которые ведут к появлению мутаций, наблюдаемых в опухолевых клетках, и поддержанию определенного уровня геномной нестабильности, что в итоге способствует росту опухоли (Ghelli et al., 2020) наравне с другими факторами, вызывающими нестабильность генома, например, мутаций в гене фактора p53.

Таким образом, такие основные свойства опухоли, как инвазия, постоянная пролиферативная активность и нестабильность генома, обусловлены изменением pH по отношению к нормальной ткани, как в межклеточном пространстве, так и внутри клеток, вызываемом постоянно протекающим гликолизом в опухоли, как в аэробных, так и анаэробных условиях.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена за счет бюджетного финансирования Научно-исследовательского медицинского центра онкологии им. Н.Н. Блохина.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В экспериментах животные и люди не участвовали.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Кобляков В.А. 2010. Механизмы опухоль-промоторного действия активных форм кислорода. Биохимия. Т. 75. № 6. С. 757. (*Kobliakov V. A.* 2010. Mechanisms of tumor promotion by reactive oxygen species. Biochemistry (Moscow). V. 75. № 6. P. 757.)

Кобляков В.А. 2017. Роль протонных помп при злокачественном росте. Биохимия. Т. 82. № 4. С. 557. (*Kobliakov V.A.* 2017. Role of proton pumps in tumorigenesis. Biochemistry (Mosc.). V. 82. № 4. P. 401.)

Кобляков В.А. 2019. механизмы регуляции онкобелками аэробного гликолиза (эффект Варбурга) в процессе канцерогенеза. Биохимия. Т.84. № 10. С. 1371. (*Kobliakov VA.* 2019. The Mechanisms of regulation of aerobic glycolysis (Warburg effect) by oncoproteins in carcinogenesis. Biochemistry (Mosc.) V. 84. № 10. P.1117. https://doi.org/10.1134/S0006297919100018

Aggarwa N., Sloane B.F. 2014. Cathepsin B: Multiple roles in cancer. Proteomics Clin. Appl. V. 8. P. 427. https://doi.org/10.1002/prca.201300105

Alfarouk K.O., Ahmed S.B.M., Elliott R.L., Benoit A., Alqahtan S.S., Ibrahim M.E., Bashir A.H., Alhoufie S.T.S., Elhassan G.O., Wales C.C., Reshkin S.J. 2020. The pentose phosphate pathway dynamics in cancer and its dependency on intracellular pH. Metabolites. V.10. P. 285. https://doi.org/10.3390/metabo10070285

Alfarouk K.O., Verduzco D., Rauch C., Muddathir A.K., Adil H.H.B., Elhassan G.O., Ibrahim M.E., Orozco J.D.P., Cardone R., Reshkin S.J., Harguindey S. 2014. Glycolysis, tumor metabolism, cancer growth and dissemination. A new pH-based etiopathogenic perspective and therapeutic approach to an old cancer question. Oncoscience. V. 1. P. 777.

Bazylianska V., Kalpage H.A., Wan J., Vaishnav A., Mahapatra G., Turner A.A., D.D., Kim K., Morse P.T., Lee I., Brunzelle J.S. 2021. Lysine 53 acetylation of cytochrome *c* in prostate cancer: Warburg metabolism and evasion of apoptosis. Cells. V. 10. P. 802. https://doi.org/10.3390/cells10040802

Beck H., Nähse V., Larsen M.S., Groth P., Clancy T., Lees M., Jørgensen M., Helleday T., Syljuåsen R.G., Sørensen C.S. 2010. Regulators of cyclin-dependent kinases are crucial for maintaining genome integrity in S phase. J. Cell. Biol. V. 188. P. 629.

Benizri B.E., Ginouve E., Volmat V., Roux D., PouysBeck H., Nähse V., Larsen M.S., Groth P., Clancy T., Lees M., Jørgensen M., Helleday T., Syljuåsen R.G., Sørensen C.S. 2010. Regulators of cyclin-dependent kinases are crucial for maintaining genome integrity in S phase. J. Cell. Biol. V. 188. P. 629.

Birkeland E.S., Koch L.M., Dechant R. 2020. Another consequence of the warburg effect? Metabolic regulation of Na+/H+ exchangers may link aerobic glycolysis to cell growth. Front. Oncol. V. 10. P. 1561. https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01561

Czowski B.J., Romero-Moreno R., Trull K.J., White K.A. 2020. Cancer and pH dynamics: transcriptional regulation, proteostasis, and the need for new molecular tools. Cancers. V. 12. P. 2760. https://doi.org/10.3390/cancers12102760

Cash T.P., Pan Y., Simon M.C. 2007. Reactive oxygen species and cellular oxygen sensing. Free Radic. Biol. Med. V.43. P. 1219.

Chandel N.S., McClintock D.S., Feliciano C.E., Wood T.M., Melendez J.A., Rodriguez A.M., Schumacker P.T. 2000. Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1alpha during hypoxia: a mechanism of O2 sensing. J. Biol. Chem. V. 275. P. 25130.

Cheng Xiaofei, Li Yanqing, Zhou Dongkai, Chen Dong, Zhao Feng, Wang Weilin. 2018. Identification of cathepsin B as a novel target of hypoxia-inducible factor-1-alpha in HepG2 cells. Biochem. Biophys. Res. Com. V. 503. P. 1057. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.06.116

Choueiri T.K., Kaelin W.G. Jr. 2020. Targeting the HIF2-VEGF axis in renal cell carcinoma. Nat. Med. 2020. V. 26. P. 1519. https://doi.org/10.1038/s41591-020-1093-z

Deryugina E.L., Quigley J.P. 2012. Cell surface remodeling by plasmin: a new function for an old enzyme. J. Biomed. Biotechnol. V. 2012. Article ID 564259. https://doi.org/10.1155/2012/564259

Druker J., Wilson J.W., Child F., Shakir D., Fasanya T., Rocha S. 2021. Role of hypoxia in the control of the cell cycle. Int. J. Mol. Sci. V. 22. P. 4874. https://doi.org/10.3390/ijms22094874

Estrella V., Chen T., Lloyd M. 2013. Acidity generated by the tumor microenvironment drives local invasion. Cancer Res. V. 73. P. 1524.

Fais. S., Venturi. G., Gatenby. B. 2014. Microenvironmental acidosis in carcinogenesis and metastases: new strategies in prevention and therapy. Cancer Metastasis Rev. V. 33. P. 1095.

Ghelli A di Rorà L., Cerchione C., Martinelli G., Simonetti G. 2020. A WEE1 family business: regulation of mitosis, cancer progression, and therapeutic target. J. Hematol. Oncol. V. 13. Article number126. https://doi.org/10.1186/s13045-020-00959-2

Harguindey S., Arranz J.L., Polo Orozco J.D., Rauch C., Fais S., Cardone R.A., Reshkin S.J. 2013. Cariporide and other new and powerful NHE1 inhibitors as potentially selective anticancer drugs-an integral molecular/biochemical/metabolic/clinical approach after one hundred years of cancer research. Transl. Med. V. 11. P. 282. https://doi.org/10.1186/1479-5876-11-282

Hui Zhang, Qingju Yang, Xuanye Lian, Ping Jiang, Jing Cu. 2019. Hypoxia-inducible factor-1α (HIF-1α) promotes hypoxia-induced invasion and metastasis in ovarian cancer by targeting matrix metallopeptidase 13 (MMP13). Med. Sci. Monit. V. 25. P. 7202.

Hubbi M.E., Gilkesa D.M., Hu H., Ahmede I., Semenza G.L. 2014. Cyclin-dependent kinases regulate lysosomal degradation of hypoxia-inducible factor 1α to promote cell-cycle progression. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 111. P. E3325.

Kato Y., Lambert C.A., Colige A.C., Mineur P., Noël A., Frankenne F., Foidart J.M., Baba M., Hata R., Miyazaki K., Tsukuda M. 2005. Acidic extracellular pH induces matrix metalloproteinase-9 expression in mouse metastatic melanoma cells through the phospholipase D-mitogen-activated protein kinase signaling. J. Biol. Chem. V. 25. P. 10938.

Kim J.W., Tchernyshyov I., Semenza G.L., Dang C.V. 2006. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. Cell Metab. V. 3. P. 177.

Lee G., Won H.S., Lee Y.M., Choi J.W., Oh T.I., Jang J.H., Choi D.K., Lim B.O., Kim Y.J., Park J.W., Puigserver P.,

Lim J.H. 2016. Oxidative Dimerization of PHD2 is Responsible for its inactivation and contributes to metabolic reprogramming via HIF-1α activation. Sci. Rep. V. 6. P. 18928.
https://doi.org/10.1038/srep18928

Lee K.A., Roth R.A., LaPres J.J. 2007. Hypoxia, drug therapy and toxicity. Pharmacol. Ther. V. 13. P. 229.

Lee S.H., Lee M.Y., Han H.J. 2008. Short-period hypoxia increases mouse embryonic stem cell proliferation through cooperation of arachidonic acid and PI3K/Akt signalling pathways. Cell Prolif. V. 41. P. 230.

Lu H., Forbes R.A., Verma A. 2002. Hypoxia-inducible factor 1 activation by aerobic glycolysis implicates the Warburg effect in carcinogenesis J. Biol. Chem. V. 277. P. 23111.

Ma G., Li C., Zhang Z., Liang Ye, Liang Z., Chen Y., Wang L., Li D., Zeng M., Niu H. 2021. Targeted glucose or glutamine metabolic therapy combined with PD-1/PD-L1 checkpoint blockade immunotherapy for the treatment of tumors. mechanisms and strategies. Front. Oncol. V. 11. Article 697894.
https://doi.org/10.3389/fonc.2021.697894

Martin N.K., Robey I.F., Gaffney E.A. 2012. Predicting the safety and efficacy of buffer therapy to raise tumour pHe: an integrative modelling study. Br. J. Cancer. V. 106. P. 1280.

Masoud G.N., Li W. 2015. HIF-1α pathway: Role, regulation and intervention for cancer therapy. Acta Pharm. Sin. B. V. 5. P. 378.

McCarty M.F., Whitaker J. 2010. Manipulating tumor acidification as a cancer treatment strategy. Altern. Med. Rev. V. 15. P. 264.

Ning Cui, Min Hu, Raouf A. 2017. Khalil biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases. Prog. Mol. Biol. Transl. Sci. V. 147. P. 1.
https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.02.005

Putney D.L., Barber L.K. 2003. Na-H exchange-dependent increase in intracellular pH times G_2/M entry and transition. J. Biol. Chem. V. 278. P. 44645. https://doi.org
https://doi.org/10.1074/jbc.M308099200

Putney D.L., Barber LK. 2004. Expression profile of genes regulated by activity of the Na-H exchanger NHE1. BMC Genomics. V. 16. P. 46. https://doi.org
https://doi.org/10.1186/1471-2164-5-46

Reshkin S.J., Bellizzi A., Caldeira S., Albarani V., Malanchi I., Poignee M., Alunni-Fabbroni M., Casavola V., Tommasino M. 2000. Na+/H+ exchanger-dependent intracellular alkalinization is an early event in malignant transformation and plays an essential role in the development of subsequent transformation-associated phenotypes. FASEB J. V. 14. P. 2185.

Schönichen B., Webb A., Jacobson M.P., Barbe D.L. 2013. Considering protonation as a posttranslational modification regulating protein structure and function. Ann. Rev. Biophys. V. 42. P. 289.

Schmid M., Rohe A., Platzer C., Najja A., Erdmann F., Sippl W. 2017. Regulation of G2/M transition by inhibition of WEE1 and PKMYT1 kinases. Molecules. V. 22. P. 2045.
https://doi.org/10.3390/molecules22122045

Shao-Wu Jing, Ya-Di Wang, Masahiro Kuroda, Jing-Wei Su, Guo-Gui Sun, Qing Liu, Yun-Jie Cheng, Cong-Rong Yang. 2012. HIF-1α contributes to hypoxia-induced invasion and metastasis of esophageal carcinoma via inhibiting E-cadherin and promoting MMP-2 expression. Acta Med. Okayama. V. 66. P. 399.
https://doi.org/10.18926/AMO/48964

Sur S., Agrawa D.K. 2016. Phosphatases and kinases regulating CDC25 activity in the cell cycle: clinical implications of cdc25 overexpression and potential treatment strategies. Mol. Cell. Biochem. V. 416. P. 33.
https://doi.org/10.1007/s11010-016-2693-2

Warburg O., Posener K., Negelein E. 1924. Über den Stoffwechsel der Karzinomzellen. Biochemische Zeitschrift. V. 152. P. 309.

Warfel N.A., Dolloff N.G., Dicker D.T., Malysz J., El-Deiry W.S. 2013. CDK1 stabilizes HIF-1α via direct phosphorylation of Ser668 to promote tumor grwth. Cell Cycle. V. 12. P. 3689.

White K.A., Grillo-Hil B.K., Baber D.L. 2017. Cancer cell behaviors mediated by dysregulated pH dynamics at a glance. J. Cell. Sci. V. 130. P. 663.
https://doi.org/10.1242/jcs.195297

Williger B.T., Ho W.T., Exton J.H. 1999. Phospholipase D mediates matrix metalloproteinase-9 secretion in phorbol ester-stimulated human fibrosarcoma cells. J. Biol. Chem. V. 274. P. 735.
https://doi.org/10.1074/jbc.274.2.735

Xin Gao, Yuan Zhang, Rui Zhang, Zichan Zhao, Haorui Zhang, Jinhui Wu, Wei Shen, Ming Zhong. 2019. Cyclin-dependent kinase 1 disruption inhibits angiogenesis by inducing cell cycle arrest and apoptosis. Exp. Ther. Med . V. 18. P. 3062.
https://doi.org/10.3892/etm.27883

Zhao T., Zhang C.P., Liu Z.H., Wu L.Y., Huang X., Wu H.T., Xiong L., Wang X., Wang X.M., Zhu L.L., Fan M. 2008. Hypoxia-driven proliferation of embryonic neural stem/progenitor cells-role of hypoxia-inducible transcription factor-1alpha. FEBS J. V. 275. P. 1824.

The Role of Extra- and Intracellular pH in the Regulation of Tumor Process

V. A. Kobliakov*

Blochin Russian Cancer Research Centre, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, 115478 Russia

**e-mail: kobliakov@rambler.ru*

The review presents and discusses data on the role of changes in intra- and extracellular pH caused by aerobic glycolysis in tumor tissue. The main factor in the regulation of glycolysis is the transcription factor HIFα. Compared to normal tissue, the intercellular space in the tumor is acidified and the pH inside the tumor cells increases. Changes in pH are due to the fact that the final product of glucose conversion is not pyruvate, but lactate. Lactate is transported through the cell membrane and acidifies the intercellular space. HIFα also causes the transcription of a number of proton pumps and matrix proteases, which are activated in the acidic environment of the intercellular space. The intercellular matrix is destroyed and allows the tumor cells to be invaded. An increase in intracellular pH stimulates the accelerated passage of the G_2 phase of the cell cycle. The molecular mechanisms of this process are discussed. It is concluded that the main factors of the tumor process, invasion, accelerated proliferation, genome instability are due to aerobic glycolysis (the Warburg effect).

***Keywords**:* glycolysis, HIFa, invasion, malignancy, proteinase, proliferation