

Гипоксия и гликолиз как возможные объекты противоопухолевого воздействия

В.А. Кобляков

НИИ канцерогенеза ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Валерий Александрович Кобляков kobliakov@rambler.ru

Обзор посвящен роли гипоксии и гликолиза в развитии опухолевого процесса. Экспериментальные данные показывают, что функция гликолиза в опухолевых клетках не ограничивается только обеспечением энергии. При гликолизе происходит активация транскрипционного фактора HIF-1α. HIF-1α в комплексе с белком ARNT стимулирует экспрессию многочисленных генов. К ним относятся гены, кодирующие белки гликолиза, теломеразы, множественной лекарственной устойчивости, антиапоптотические белки семейства Bcl-2, ингибитор пируватдегидрогеназы — киназу пируватдегидрогеназы и др. Ингибирование дыхательной цепи митохондрий при ингибировании пируватдегидрогеназы вызывает накопление в клетке пирувата. Лактатдегидрогеназа превращает пируват в лактат. Накопление лактата в клетках опухоли стимулирует активность монокарбоксилат-транспортера. Происходит транспорт лактата и протонов в межклеточное пространство. Наблюдается падение уровня pH в ткани опухоли. Низкий уровень pH в опухолевой ткани стимулирует активность металлопротеаз, которые разрушают межклеточный матрикс. В участках опухоли с низким pH происходит усиление инвазии. Восстановление нормального уровня pH в ткани опухоли ингибирует инвазию и метастазирование. Таким образом, метаболиты гликолиза участвуют в инвазии и метастазировании. Можно заключить, что гипоксия — это особое физиологическое состояние клетки, поддерживающее и развивающее опухолевый процесс. Имеются данные о противоопухолевом действии ингибиторов различных стадий гликолиза. Ингибиторы гексокиназы — 2-дезоксиглюкоза и лонидамин — ингибируют образование аденозинтрифосфата. Подавляется активность P-гликопротеина. Для некоторых типов опухолей эти соединения обладают токсическим эффектом. Ингибирование P-гликопротеина усиливает противоопухолевую активность цитостатиков, используемых в химиотерапии, при совместном их действии. Дихлорацетат ингибирует активность киназы пируватдегидрогеназы. Включение функционирования дыхательной цепи в условиях недостатка кислорода вызывает образование активных форм кислорода, которые способны вызвать апоптоз. Показано, что для некоторых форм опухолей дихлорацетат является сильным токсическим агентом. Обсуждается возможность использования ингибиторов различных стадий гликолиза в качестве противоопухолевых соединений — как в монотерапии, так и в комплексе с известными цитостатиками.

Ключевые слова: гликолиз, гипоксия, HIF-1α, ингибиторы гликолиза, гексокиназа II, 2-дезоксиглюкоза, лактат, лонидамин, дихлорацетат, монокарбоксилат-транспортер, инвазия, метастазирование

Hypoxic state and glycolysis as a possible anticancer therapeutic target

V.A. Koblyakov

Scientific Research Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center,
Russia, 115478, Moscow, Kashirskoye shosse, 24

In this review the role of hypoxia and glycolysis in tumor expansion is described. Experimental results demonstrate that glycolysis functions in tumor cells are not restrict only energy supply. Glycolysis stimulates the activity of transcription factor HIF-1α. Assembly of HIF1α and protein ARNT stimulates expression of numerous genes. Among others there are genes coding glycolysis proteins, telomerase, P-glycoproteins, antiapoptotic proteins belonging to Bcl-2 family, inhibitor of pyruvate dehydrogenase — pyruvate dehydrogenase kinase and others. The inhibition of mitochondria respiratory chain by inhibition of pyruvate dehydrogenase stimulates accumulation in cell pyruvate. Lactate dehydrogenase transforms pyruvate in lactate. Accumulation of lactate in tumour cells activates monocarboxylate transporter. Lactate and proton transport into intercellular region. Due to it is observed pH drop in tumour tissue. The low level of pH in tumour tissue stimulates metalloprotease activity. Metalloprotease activity disrupt the intercellular matrix. In tumour region with low pH level the enhancement of invasion is observed. The restoration of normal pH level in tumor tissue inhibits invasion and metastasis. It is possible to conclude that hypoxia is a physiological tumour state that support and promote tumor process. It is some informaton about antitumour effects of inhibitors of different stages of glycolysis. Inhibitors of hexokinase — 2-deoxy-D-glucose and lonidamine inhibit adenosine triphosphate formation as well as P-glycoprotein activity. For some tumour types these compounds are toxic. The inhibition of P-glycoprotein activity stimulates antineoplastic activity of cytostatics. Dichloroacetate inhibits pyruvate dehydrogenase kinase activity. Inclusion of respiratory chain in situation when oxygen level is low stimulates reactive oxygen species formation. Reactive oxygen species are able stimulate apoptosis. It is shown that dichloroacetate is very toxic for some forms of tumour. It is discussed the possibility to use the different inhibitors of the different glycolytic stages as anticancer compounds

Key words: glycolysis, hypoxia, HIF-1α, glycolysis inhibitors, hexokinase II, 2-deoxyglucose, lactate, lonidamine, dichloroacetate, monocarboxylate transporter, invasion, metastasis

В середине XX века Отто Варбургом было показано, что в опухолевых клетках повышен уровень гликолиза даже в условиях достаточного количества кислорода (так называемый эффект Варбурга) [1]. Его теория, согласно которой опухоль образуется в результате хронического нарушения митохондриальных функций, пользовалась большой популярностью до 70-х годов прошлого века. Несмотря на то, что нарушения функций митохондрий как причина возникновения опухолей в настоящее время не рассматриваются, изменения в обеспечении опухолевых клеток энергией по сравнению с нормальными клетками широко исследуются. Это одно из немногих функциональных различий нормы и опухоли, которое можно использовать в лечении злокачественных новообразований.

Механизм переключения функционирования клеток с тканевого дыхания на гликолиз при гипоксии достаточно хорошо изучен. Независимо от того, происходит переключение клетки на гликолиз в результате нехватки O_2 или при псевдогипоксии (эффект Варбурга), механизм включения гликолиза и других эффектов, характеризующих гипоксию, одинаков. Основным фактором гипоксии является транскрипционный фактор HIF-1 α , содержание которого регулируется на уровне белка: при достаточном количестве кислорода сенсором O_2 является фермент пролилоксидаза, который окисляет HIF-1 α по пролинам. Окисленный по пролинам HIF-1 α взаимодействует с белком VHL, являющимся убиквитинлигазой [2, 3], и разрушается в протеасомах. При недостаточном уровне кислорода пролилоксидаза не окисляет HIF-1 α , белок VHL не взаимодействует с ним, и количество HIF-1 α

увеличивается (рис. 1). При гипоксии HIF-1 α накапливается и взаимодействует с белком ARNT (HIF-1 β), количество которого в клетке постоянно. Образовавшийся комплекс HIF-1 α –ARNT является транскрипционным фактором, вызывающим активацию более 200 генов, определяющих гипоксическое состояние клетки.

Если раньше считалось, что основной эффект гипоксии — это вынужденное переключение клетки на менее выгодное энергообеспечение ввиду невозможности использования более выгодного источника энергии — митохондриального окисления, то сейчас ясно, что гипоксия — это другое физиологическое состояние клетки, поддерживающее и развивающее опухолевый процесс. Клетки, подвергнутые гипоксии, показывают усиленную пролиферацию [4, 5], остановку в дифференцировке [6, 7], активируя дедифференцировочные гены *Okt4*, *Notch*, повышенную способность к миграции и инвазии [8, 9], устойчивость к апоптозу [10, 11] благодаря активации антиапоптотических генов семейства *Bcl-2* и стимуляции множественной лекарственной устойчивости [12]. Происходит резкое увеличение синтеза ферментов гликолиза: лактатдегидрогеназы, транспортера глюкозы и других, в том числе гексокиназы II [13] (рис. 2).

Важным элементом гипоксии является «отключение» дыхательной цепи митохондрий на уровне образования ацетилкоэнзима А из пирувата. Происходит активация гена киназы пируватдегидрогеназы, продукт которого фосфорилирует пируватдегидрогеназу, делая этот белок неактивным [14, 15].

Однако в ситуации гипоксии клетка, видимо, не чувствует нехватки энергии, поскольку повышенная

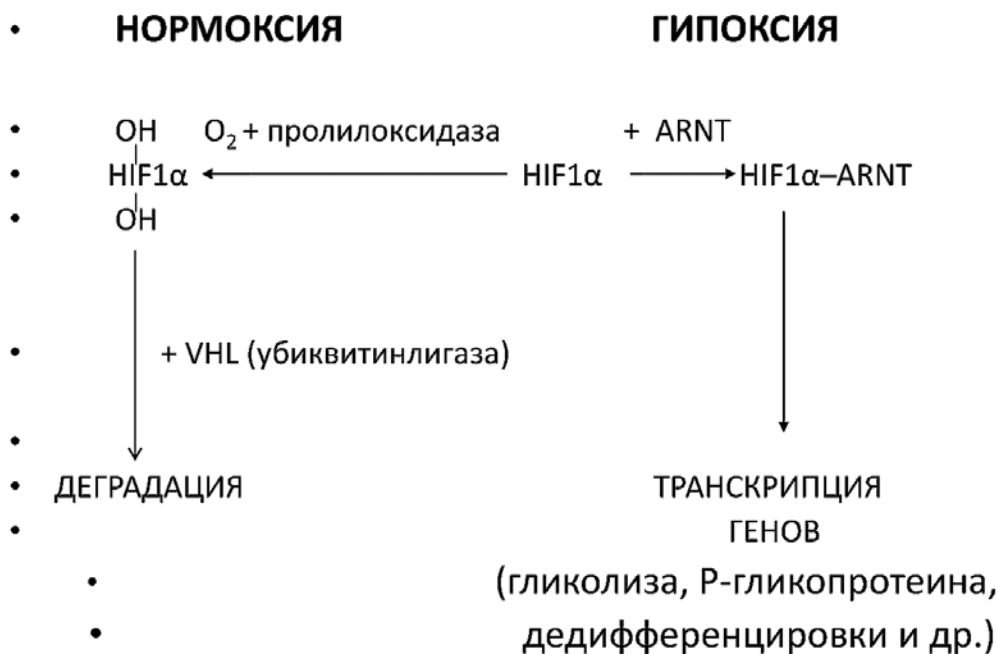


Рис. 1. Регуляция белка HIF-1 α . При нормоксии HIF-1 α окисляется по пролинам ферментом пролилоксидазой, являющимся сенсором кислорода в клетке. При гипоксии HIF-1 α накапливается в клетке, взаимодействует с белком ARNT, образуя транскрипционный комплекс, и вызывает синтез более 200 белков



Рис. 2. Эффекты, вызываемые HIF-1α в опухолевых клетках

экспрессия всех ферментов гликолиза вызывает усиление окисления глюкозы, и этим восполняется нехватка образования аденозинтрифосфата (АТФ). Помимо этого, при гликолизе АТФ синтезируется намного быстрее и более доступен, поскольку процесс происходит в цитоплазме, а не в митохондриях.

Окисление глюкозы приводит не только к синтезу АТФ, но и к образованию продуктов, необходимых для

пролиферации. Глюкозо-6-фосфат направляется как для окисления до пирувата и далее для функционирования дыхательной цепи митохондрий, так и в пентозный цикл, где синтезируется рибоза, необходимая для выработки нуклеотидов (рис. 3); из глицеральдегид-3-фосфата образуется глицерол, который участвует в синтезе липидов. Считается, что в антиапоптотической защите опухолевых клеток принимает участие

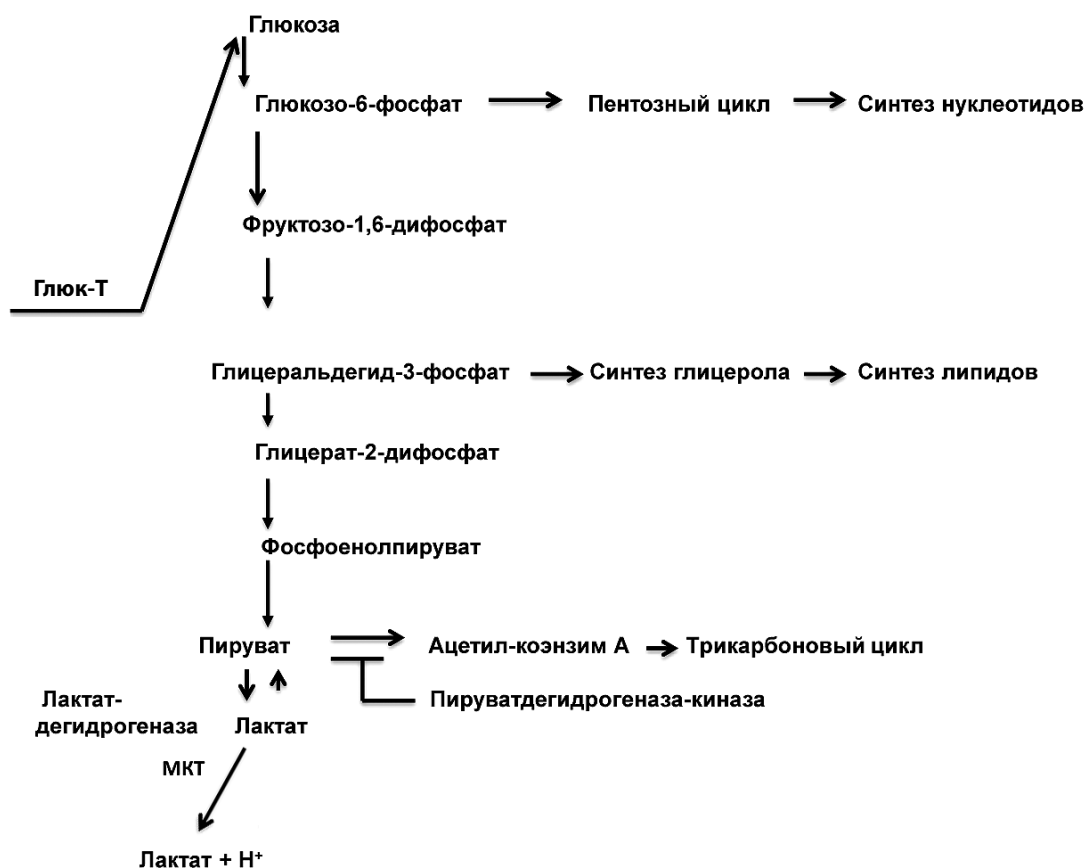


Рис. 3. Схема гликолиза. Глюкоза переносится через клеточную мембрану транспортером глюкозы (Глюк-Т). Лактат транспортируется через клеточную мембрану в межклеточное пространство посредством монокарбоксилат-транспортера (МКТ)

гексокиназа II, синтезирующаяся преимущественно в них. Этот фермент располагается на поверхности митохондрий, где находятся межмембранные каналы VDAC [16], через которые в цитоплазму из митохондрий при апоптозе транспортируется цитохром С. Такое расположение гексокиназы II препятствует выходу цитохрома С из митохондрий в цитоплазму.

В результате «отключения» дыхательной цепи митохондрий благодаря усиленному окислению глюкозы происходит накопление пирувата. Фермент лактатдегидрогеназа способен в зависимости от концентрации продуктов реакции образовывать как лактат из пирувата, так и пируват из лактата. При гипоксии, в отсутствие O_2 , реакция смещена в сторону образования лактата.

Накопление в клетке лактата сопровождается активацией МКТ, который транспортирует лактат и H^+ в межклеточное пространство. Лактат посредством МКТ поступает в клетки стромы, эндотелия и другие клеточные структуры, где превращается в пируват под действием лактатдегидрогеназы и становится источником энергии для этих клеток. Подкисление межклеточного пространства в опухоли является важным фактором опухолевой прогрессии. Кислая среда (рН 6,5–7,0) вызывает активацию металлопротеаз, которые разрушают белки матрикса, что способствует инвазии и метастазированию. Таким образом, гликолиз является не только поставщиком энергии, но и участвует в развитии опухолевого процесса. Исходя из этого, можно сделать предположение, что аэробный гликолиз в опухолевых клетках (эффект Варбурга) является не результатом поломки системы регуляции белка HIF-1 α , а регуляторным механизмом, поддерживающим процесс развития опухоли.

Одним из возможных подходов к терапии опухолей может быть ингибирование гипоксического состояния опухолевой ткани путем блокирования функции белка HIF-1 α . На модели культур опухолевых клеток показано, что введение siРНК против HIF-1 α нормализует такие клетки по многим параметрам. Однако попытки создать специфический и эффективный ингибитор HIF-1 α успеха пока не принесли. Гликолиз при гипоксии является, по-видимому, основным источником АТФ в клетке, и блокирование гликолиза должно вызывать «обезэнергичивание» клеток и, как следствие, ингибирование их роста или гибель. Поэтому в настоящее время исследуется действие ингибиторов гликолиза и их противоопухолевый эффект.

Широко изучается действие 2-дезоксиглюкозы (2-ДГ). Это соединение — аналог глюкозы. Оно фосфорилируется каталазой, образуя 2-ДГ-фосфат, соединение, которое не может далее метаболизироваться и накапливается в клетке, блокируя активность каталазы. В результате действия 2-ДГ происходит падение уровня образующегося АТФ. Это вызывает изменение соотношения аденозинмонофосфат (АМФ)/АТФ в пользу АМФ [17]. В результате активируется серин/трео-

ниновая АМФ-киназа, что приводит к ингибированию активности киназы mTOR. Одной из важных функций mTOR является активация белка трансляции S6-киназы. Ингибирование mTOR вызывает ингибирование пролиферации. Исследование действия 2-ДГ на опухолевые клетки показало, что это соединение способно как ингибировать рост клеток, так и вызывать в некоторых линиях опухолевых клеток апоптоз. Блокирование пролиферации, по-видимому, связано с перечисленными выше эффектами 2-ДГ. Механизм проапоптотического действия 2-ДГ не совсем понятен. С одной стороны, это действие, возможно, связано с тем, что 2-ДГ способствует отщеплению гексокиназы II от поверхности митохондрий и освобождению VDAC. С другой стороны, показано, что 2-ДГ вызывает падение уровня антиапоптотического белка семейства Bcl-2 — Mcl-1 [17, 18]. Применение 2-ДГ в некоторых случаях увеличивает эффект противоопухолевой терапии. Так, показано, что 2-ДГ усиливает противоопухолевое действие облучения в опытах *in vitro* и *in vivo* [19], 5-фторурацила [20], таксола [21], соединений группы АВТ-ингибиторов антиапоптотических белков семейства Bcl-2 [22].

Другой ингибитор гексокиназы II — лонидамин, производное имидазол-3-карбоксилловой кислоты, взаимодействующее с гексокиназой, — также уменьшает уровень АТФ [23] в клетке и потенцирует противоопухолевое действие цитостатиков: усиливает эффект облучения, как и 2-ДГ [24], и действие доксорубина [23]. Усиление противоопухолевого эффекта цитостатиков при действии ингибиторов ферментов гликолиза связано также с тем, что в результате уменьшения количества АТФ в клетке снижается активность белков множественной лекарственной устойчивости [23, 25], что приводит к накоплению в опухолевых клетках цитостатика.

Необходимым условием перехода клеток на гликолиз является «отключение» дыхательной цепи митохондрий. При гипоксии синтезируется киназа пируватдегидрогеназы, которая ингибирует активность пируваткиназы, образующей из пирувата ацетилкоэнзим А, источника окислительных субстратов для дыхательной цепи митохондрий. Ее «отключение» в условиях нехватки кислорода связано, по-видимому, с тем, что в дыхательной цепи в этих условиях образуются активные формы кислорода в количестве, способном вызвать токсический эффект в клетке. Таким образом, ингибирование киназы пируватдегидрогеназы может вызвать гибель клеток, находящихся в состоянии гипоксии. В качестве ингибитора киназы пируватдегидрогеназы используется дихлорацетат (ДХА). На опухолевые клетки он действует по нескольким механизмам. Показано, что при действии ДХА в клетках опухоли образуются активные формы кислорода [26], вызывающие апоптоз. Уменьшается уровень лактата и увеличивается рН опухолевой ткани [27]. Также вероятно, что «включение» дыхательной цепи в усло-

виях недостатка кислорода вызывает нарушение функционирования других клеточных систем, потребляющих кислород: синтеза стеролов, функций оксидаз, гидролаз и др. Показано, что многие опухоли чувствительны к действию ДХА. Так, он вызывает апоптоз и уменьшает скорость роста клеток глиомы С6 в опытах *in vivo* и *in vitro* [26], аденокарциномы молочной железы крыс 13762 МАТ [28]. В культуре клеток опухоли кишечника ДХА снижал скорость роста клеток и стимулировал апоптоз, не влияя при этом на функции нормальных клеток [29]. Продемонстрировано, что ДХА уменьшает метастазирование [28]. Как и ингибиторы гексокиназы, он усиливает противоопухолевый эффект цитостатиков и радиации. Так, сочетание ДХА + омепразол оказывало более эффективное тормозящее действие, чем один ДХА или один омепразол, на пролиферацию клеток фибросаркомы НТ1080 и опухоли кишечника RKO, но не действовало на пролиферацию фибробластов человека WI-38 [30]. Комбинация цисплатина и ДХА при действии на клетки HeLa приводит к значительному синергетическому эффекту благодаря различию в механизмах их действия, вызывающих апоптоз. *In vivo* ксенографт этой опухоли также чувствителен к совместному действию цисплатина и ДХА [31]. ДХА увеличивает чувствительность клеток опухоли желудка с высоким уровнем экспрессии киназы пируватдегидрогеназы, который ассоциируется с плохим прогнозом, к действию 5-фторурацила [32]. Токсическое действие на опухолевые клетки A549 и SCC25 при совместном введении ДХА с противоопухолевым соединением сулиндак (sulindac), чей эффект обусловлен образованием активных форм кислорода, резко усиливается [33].

Заключение

Таким образом, гипоксия является важным фактором опухолевого процесса. Гликолиз, сопровождающий гипоксию, не толькоставляет энергию взамен «отключенной» дыхательной цепи, но и, благодаря образованию лактата и вызываемому им подкислению ткани опухоли, способствует метастазированию и инвазии. Это подтверждают следующие факторы. Во-первых, наибольшая степень инвазии наблюдается в областях опухоли с минимальным рН, а в областях опухоли с нормальным рН инвазия отсутствует [34]. Во-вторых, соединения, увеличивающие буферную емкость крови и этим препятствующие падению рН в ткани опухоли, такие как бикарбонат натрия, уменьшают спонтанное метастазирование [35, 36]. Из этого следует, что возможным подходом к химиотерапии с воздействием на гликолиз является ингибирование протонных помп, «выбрасывающих» протоны в межклеточную среду и поддерживающих таким образом нужный рН в опухолевых клетках. Блокирование этих каналов вызывает понижение рН внутри клеток, что способно привести к их гибели. Помимо этого, появляется возможность разработки препаратов (например, алкилирующих агентов, разобщителей дыхания и фосфорилирования), эффект которых зависит от уровня рН. Использование ингибиторов протонных помп показало эффективность этих соединений на экспериментальных опухолях *in vitro* и *in vivo* [37, 38].

Препараты, ингибирующие различные стадии гликолиза, могут являться важными компонентами противоопухолевого воздействия, усиливая действие цитостатиков и не влияя на функционирование нормальных клеток.

ЛИТЕРАТУРА

- Warburg O. On the origin of cancer cells. *Science* 1956;123(3191):309–14.
- Lee K.A., Roth R.A., LaPres J.J. Hypoxia, drug therapy and toxicity. *Pharmacol Ther* 2007;13(2):229–463.
- Kobliakov V.A. Mechanisms of tumor promotion by reactive oxygen species. *Biochemistry (Mosc)* 2010;75(6):675–85.
- Zhao T., Zhang C.P., Liu Z.H. et al. Hypoxia-driven proliferation of embryonic neural stem/progenitor cells-role of hypoxia-inducible transcription factor-1alpha. *FEBS J* 2008;275(8):1824–34.
- Lee S.H., Lee M.Y., Han H.J. Short-period hypoxia increases mouse embryonic stem cell proliferation through cooperation of arachidonic acid and PI3K/Akt signalling pathways. *Cell Prolif* 2008;41(2):230–47.
- Lin Q., Lee Y.J., Yun Z. Differentiation arrest by hypoxia. *J Biol Chem* 2006;281(41):30678–83.
- Di Carlo A., De Mori R., Martelli F. et al. Hypoxia inhibits myogenic differentiation through accelerated MyoD degradation. *J Biol Chem* 2004;279(16):16332–8.
- Robertson S.E., Weaver V.M., Simon M.C. Hypoxia-inducible factor regulates alphavbeta3 integrin cell surface expression. *Mol Biol Cell* 2005;16(4):1901–12.
- Krishnamachary B., Berg-Dixon S., Kelly B. et al. Regulation of colon carcinoma cell invasion by hypoxia-inducible factor-1. *Cancer Res* 2003;63(5):1138–43.
- Piret J.P., Minet E., Cosse J.P. et al. Hypoxia-inducible factor-1-dependent overexpression of myeloid cell factor-1 protects hypoxic cells against tert-butyl hydroperoxide-induced apoptosis. *J Biol Chem* 2005;280(10):9336–44.
- Brahimi-Horn M.C., Pouyssegur J. Oxygen, a source of life and stress. *FEBS Lett* 2007;581(19):3582–91.
- Comerford K.M., Wallace T.J., Karhausen J. et al. Hypoxia-inducible factor-1-dependent regulation of the multidrug resistance (MDR1) gene. *Cancer Res* 2002;62(12):3387–94.
- Gwak G.Y., Yoon J.H., Kim K.M. et al. Hypoxia stimulates proliferation of human hepatoma cells through the induction of hexokinase II expression. *J Hepatol* 2005;42(3):358–64.
- Lu C.W., Lin S.C., Chen K.F. et al. Induction of pyruvate dehydrogenase kinase-3 by hypoxia-inducible factor-1 promotes metabolic switch and drug resistance. *J Biol Chem* 2008;283(42):28106–14.
- Kim J.W., Tchernyshyov I., Semenza G.L. et al. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell Metab* 2006;3(3):177–85.

16. Kim J.W., Dang C.V. Multifaceted roles of glycolytic enzymes. *Trends Biochem Sci* 2005;30(3):142–50.
17. Pradelli L.A., Bénéteau M., Chauvin C. et al. Glycolysis inhibition sensitizes tumor cells to death receptors-induced apoptosis by AMP kinase activation leading to Mcl-1 block in translation. *Oncogene* 2010;29(11):1641–52.
18. Meyne O., Zunino B., Haplo L. et al. Caloric restriction modulates mcl-1 expression and sensitizes lymphomas to BH3 mimetic in mice. *Blood* 2013;122(14):2402–11.
19. Farooque A., Afrin F., Adhikari J.S. et al. Protection of normal cells and tissues during radio- and chemosensitization of tumors by 2-deoxy-D-glucose. *J Cancer Res Ther* 2009; Suppl 1:S32–5.
20. Cheng Y., Diao D., Zhang H. et al. High glucose-induced resistance to 5-fluorouracil in pancreatic cancer cells alleviated by 2-deoxy-D-glucose. *Biomed Rep* 2014;2(2):188–92.
21. Zhang Q., Gan H., Cheng Z. et al. 2-Deoxy-D-glucose combined with Taxol inhibits VEGF expression and induces apoptosis in orthotopically transplanted breast cancer in C3H mice. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2014;34(2):193–6.
22. Yamaguchi R., Perkins G. Finding a Panacea among combination cancer therapies. *Cancer Res* 2012;72(1):18–23.
23. Fanciulli M., Bruno T., Giovannelli A. et al. Energy metabolism of human LoVo colon carcinoma cells: correlation to drug resistance and influence of lonidamine. *Clin Cancer Res* 2000;6(4):1590–7.
24. Kalia V.K., Prabhakara S., Narayanan V. Modulation of cellular radiation responses by 2-deoxy-D-glucose and other glycolytic inhibitors: implications for cancer therapy. *J Cancer Res Ther* 2009;5Suppl 1:S57–60.
25. Floridi A., Bruno T., Miccadei S. et al. Enhancement of doxorubicin content by the antitumor drug lonidamine in resistant Ehrlich ascites tumor cells through modulation of energy metabolism. *Biochem Pharmacol* 1998;56(7):841–9.
26. Duan Y., Zhao X., Ren W. et al. Antitumor activity of dichloroacetate on C6 glioma cell: *in vitro* and *in vivo* evaluation. *Onco Targets Ther* 2013;6:189–98.
27. Kumar A., Kant S., Singh S.M. Antitumor and chemosensitizing action of dichloroacetate implicates modulation of tumor microenvironment: a role of reorganized glucose metabolism, cell survival regulation and macrophage differentiation. *Toxicol Appl Pharmacol* 2013;273(1):196–208.
28. Sun R.C., Fadia M., Dahlstrom J.E. et al. Reversal of the glycolytic phenotype by dichloroacetate inhibits metastatic breast cancer cell growth *in vitro* and *in vivo*. *Breast Cancer Res Treat* 2010;120(1):253–60.
29. Madhok B.M., Yeluri S., Perry S.L. et al. Dichloroacetate induces apoptosis and cell-cycle arrest in colorectal cancer cells. *Br J Cancer* 2010;102(12):1746–52.
30. Ishiguro T., Ishiguro M., Ishiguro R. Cotreatment with dichloroacetate and omeprazole exhibits a synergistic antiproliferative effect on malignant tumors. *Oncol Lett* 2012;3(3):726–8.
31. Xie J., Wang B.S., Yu D.H. et al. Dichloroacetate shifts the metabolism from glycolysis to glucose oxidation and exhibits synergistic growth inhibition with cisplatin in HeLa cells. *Int J Oncol* 2011;38(2):409–17.
32. Hur H., Xuan Y., Kim Y.B. et al. Expression of pyruvate dehydrogenase kinase-1 in gastric cancer as a potential therapeutic target. *Int J Oncol* 2013;42(1):44–54.
33. Ayyanathan K., Kesaraju S., Dawson-Scully K. et al. Combination of sulindac and dichloroacetate kills cancer cells via oxidative damage. *PLoS One* 2012;7(7):e39949.
34. Estrella V., Chen T., Lloyd M. et al. Acidity generated by the tumor microenvironment drives local invasion. *Cancer Res* 2013;73(5):1524–35.
35. Robey I.F., Baggett B.K., Kirkpatrick N.D. et al. Bicarbonate increases tumor pH and inhibits spontaneous metastases. *Cancer Res* 2009;69(6):2260–8.
36. Ribeiro M.D., Silva A.S., Bailey K.M. et al. Buffer Therapy for Cancer. *J Nutr Food Sci* 2012;2:6–21.
37. Chiche J., Brahimi-Horn M.C., Pouyssegur J. Tumour hypoxia induces a metabolic shift causing acidosis: a common feature in cancer. *J Cell Mol Med* 2010;14(4):771–94.
38. De Milito A., Canese R., Marino M.L. et al. pH-dependent antitumor activity of proton pump inhibitors against human melanoma is mediated by inhibition of tumor acidity. *Int J Cancer* 2010;127(1):207–19.