

УДК 574.4:631.46

ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНОСТИ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ СРЕДЫ И УРОВНЯ КИСЛОРОДА НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК: СИСТЕМАТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЕЙ

Мазгумова А.Р.

аспирант кафедры вирусологии и молекулярной биологии Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

e-mail: grekov.AMV@mail.ru

Аннотация

Рассмотрены экспериментальные подходы к изучению влияния внеклеточного ацидоза и гипоксии на пролиферацию опухолевых клеток. Выполнен структурированный анализ доступных полнотекстовых и библиографических описаний первичных исследований с сопоставлением клеточных моделей, диапазонов pH и содержания кислорода, длительности воздействия и способов оценки клеточного цикла. На материале моделей карциномы предстательной железы, остеосаркомы, глиобластомы и рака молочной железы показано, почему выраженный ацидоз часто сопровождается торможением деления, тогда как влияние умеренной гипоксии зависит от линии и протокола. Предложены критерии включения работ, правила сопоставления исследований и схема количественного синтеза при наличии достаточных данных. Работа является систематизированным критическим обзором выбранных публикаций; полный PRISMA-аудит всех найденных записей и метаанализ не заявляются.

Ключевые слова: *опухолевые клетки, внеклеточный pH, ацидоз, гипоксия, пролиферация, клеточный цикл, культура клеток, микросреда опухоли, систематический обзор.*

THE EFFECT OF THE ACIDITY OF THE EXTRACELLULAR ENVIRONMENT AND OXYGEN LEVEL ON THE PROLIFERATION OF TUMOR CELLS: A SYSTEMATIC REVIEW OF EXPERIMENTAL MODELS

Mazgumova A.R.

Postgraduate student at the Department of Virology and Molecular Biology, Lomonosov Moscow State University

e-mail: mazgumova_AR98@yandex.ru

Abstract

Experimental approaches to studying extracellular acidosis and hypoxia as determinants of tumor-cell proliferation are critically compared. Primary experimental reports are examined with regard to cell identity, extracellular pH, oxygen tension, exposure duration and proliferation endpoints. Published observations in prostate carcinoma, osteosarcoma, glioblastoma and breast cancer models illustrate that sustained acid stress frequently suppresses division, while the effect of moderate hypoxia is model dependent. Eligibility criteria, assessment of confounding and a prospective strategy for effect-size synthesis are proposed. This structured review does not claim a complete PRISMA search audit or a newly performed quantitative meta-analysis.

Keywords: *cancer cells, extracellular pH, acidosis, hypoxia, proliferation, cell cycle, experimental models, tumor microenvironment.*

Введение

Микросреда солидной опухоли отличается неоднородным кровоснабжением, нестабильной оксигенацией и накоплением метаболитов, способных снижать внеклеточный pH. Эти обстоятельства нередко обсуждаются совместно, однако гипоксия и ацидоз не тождественны: ткань может быть кислой и при наличии кислорода, а уменьшение кислородного напряжения не обязательно совпадает с максимальной кислотностью [2, 3].

Разделение этих факторов принципиально для интерпретации результатов клеточных экспериментов.

Пролиферация является лишь одним из проявлений опухолевого фенотипа. Замедление клеточного цикла при сильном стрессе может сочетаться с сохранением жизнеспособности, изменением миграционной активности, лекарственной устойчивости и способностью к восстановлению роста. По этой причине наблюдение о высокой агрессивности опухолей в кислой гипоксической среде нельзя непосредственно переводить в утверждение об ускоренном делении каждой клетки. Смещение этих исходов порождает кажущиеся противоречия между публикациями [3, 4].

Цель статьи – систематизировать экспериментальные модели влияния внеклеточного pH и концентрации кислорода на пролиферацию опухолевых клеток, выявить источники неоднородности результатов и определить критерии их корректного сравнения. Рассматриваются преимущественно клеточные и ко-культуральные исследования, в которых возможно отделить собственно скорость деления от выживания и изменения обмена веществ. Количественное объединение результатов без доступа к сравнимым исходным числам и дисперсиям не проводится.

Методы и методики

Для построения воспроизводимого обзора определены информационные источники PubMed, PubMed Central и каталоги издательств; ключевые термины на английском языке объединяются в группы «extracellular pH» OR «acidosis» OR «acidic microenvironment», «hypoxia» OR «oxygen tension» и «proliferation» OR «cell cycle» OR «growth». Поиск должен дополняться обратным просмотром списков литературы первичных статей. Рабочий временной интервал охватывает исследования, доступные до 21 октября 2026 г. Формула запроса фиксируется отдельно для каждой базы, поскольку механизм индексирования и синтаксис различаются.

Критерии включения: исследование первично-экспериментальное; известны хотя бы тип клеток и один из уровней pH или O_2 ; измерен исход, отражающий деление, фазовый состав или темп прироста клеток; указана группа сравнения. Для оценки взаимодействия двух факторов предпочтительны факторные планы с независимым изменением кислорода и кислотности. Обзоры допускаются только для биологического контекста и библиографического поиска, но не как независимые экспериментальные наблюдения.

Критерии исключения: отсутствие контрольных условий, исследование исключительно миграции, инвазии или ответа на препарат без оценки пролиферации; невозможность установить, был ли pH измерен или лишь задан номинально; дублирование одних и тех же экспериментальных данных. При множественных публикациях одной группы сопоставляются клеточные линии и временные точки, чтобы избежать повторного подсчета экспериментальных единиц.

Настоящая статья предлагает явный протокол отбора и проводит качественный синтез проверяемых ключевых работ. Однако точные численности найденных, исключенных и включенных записей по всем базам не фиксировались в полном независимом журнале скрининга, поэтому документ не следует трактовать как заверченный отчет с PRISMA-диаграммой потока [1]. Для полноценного зарегистрированного систематического обзора необходимы два независимых оценщика, журнал причин исключения и сохраненный поисковый экспорт.

Результаты

Внеклеточная кислотность определяется производством и транспортом протонов, лактата и углекислого газа, диффузией и буферной емкостью среды. Обычная культуральная среда может изменять pH в ходе инкубации из-за метаболизма клеток и газового равновесия. Поэтому указание «pH 6,5» без сведений о буфере, CO_2 , количестве клеток и повторных измерениях недостаточно для воспроизводимости. В работе о моделировании контроля кислотности подчеркнута связь кислородного и глюкозного обмена с переносом H^+ и HCO_3^- [5].

Условия нормоксии в культуре часто задаются атмосферой с приблизительно 20–21 % O₂, хотя это не универсальный физиологический аналог концентрации кислорода в тканях. Уровни 1-8% могут рассматриваться как умеренная гипоксия для части моделей, а 0,1% – как более тяжелое воздействие. При этом фактическое напряжение кислорода возле клеток зависит от толщины среды, плотности культуры, скорости потребления и перемешивания; заданный газовый состав камеры не обязательно отражает локальные значения на поверхности клеток.

Для пролиферации используют подсчет клеток, индекс деления по разведению CFSE/CFDA-SE, включение BrdU/EdU и цитометрию клеточного цикла. Метаболические тесты ССК-8, МТТ и аналогичные оценивают ферментативную активность, которая при гипоксии и ацидозе меняется независимо от числа живых клеток. Поэтому такие тесты следует интерпретировать вместе с прямыми методами подсчета или окраской на клеточный цикл.

Ключевой методологической переменной выступает время: кратковременный ацидоз, продолжительная адаптация к кислой среде и возвращение к нейтральному рН являются разными биологическими сценариями. Отбор устойчивой популяции после недель культивирования нельзя сопоставлять с первичной реакцией через 24 часа без отдельного обозначения адаптационного периода.

В исследовании моделей рака предстательной железы DU145 и PC3 анализировались изменения рН и роста опухолевых клеток при самостоятельном культивировании и совместно с фибробластами; дополнительно проверялись разные кислородные условия. Индекс пролиферации получали с помощью разведения флуоресцентной метки при проточной цитометрии. Авторы сообщали о значении взаимодействия с фибробластами, а также о том, что ответ на кислород зависит от принятой экспериментальной схемы [6]. Данный пример важен тем, что биологическое влияние кислоты невозможно объяснить лишь по номинальному рН исходной среды.

В культуре остеосаркомы U2OS изменение рН в диапазоне около 7,1-6,8 сопровождалось замедлением продвижения по клеточному циклу; при более выраженном закислении сообщалось о признаках апоптоза. Совместное действие гипоксии и повышения давления не устраняло торможение пролиферации на кислой среде [7]. Следовательно, при интерпретации таких опытов следует отдельно учитывать цитостатический эффект, клеточную гибель и изменения способности к инвазии, не подменяя один исход другим.

В опытах на линиях глиобластомы воздействие кислорода на уровне 1-8% в течение 24-96 часов не приводило к существенным изменениям фазового состава и жизнеспособности в исследованных условиях; заметные отклонения возникали при тяжелой гипоксии около 0,1% [8]. Эти данные предостерегают от универсального вывода, что любой уровень пониженного O₂ неизбежно подавляет деление опухолевых клеток. Следует также помнить, что наблюдение на одной группе глиобластом не доказывает аналогичную реакцию других опухолевых типов.

В табл. 1 приведены направления эффектов из опубликованных работ, но не сопоставимые численные размеры эффекта: такие оценки требуют единого определения конечной точки и исходных дисперсий.

Таблица 1 – Анализ моделей

Модель / источник	Воздействие	Наблюдение о пролиферации
DU145, PC3 [6]	рН и O ₂ ; ± фибробласты	Контекстно-зависимый ответ, влияние ко-культуры
U2OS [7]	Понижение рН; гипоксия	Торможение клеточного цикла при ацидозе
Глиобластома [8]	1–8 % и 0,1 % O ₂	При 1-8% изменения малы; при 0,1 % выражение
MDA-MB-231, SUM159 [9]	рН 7,4 и 6,4	Снижение роста при кислотном воздействии
A549 [10]	1 % O ₂	Обратимое замедление и задержка G1

В более позднем исследовании клеток рака молочной железы MDA-MB-231 и SUM159 сравнивали физиологический для культурального контроля pH 7,4 и кислую среду вплоть до pH 6,4. Сообщалось о снижении пролиферации при ацидозе и ее восстановлении при нормализации pH, причем снижение метаболической активности не было эквивалентно немедленной утрате жизнеспособности [9]. Данные свидетельствуют в пользу необходимости разделять показатели численности, энергетического метаболизма и выживания.

Для A549 рака легкого сообщалось о снижении пролиферации и задержке клеточного цикла в G1 при 1% O₂, с обратимостью части изменений после реоксигенации [10]. Сопоставление с моделью глиобластомы подчеркивает неодинаковость реакции при внешне близких уровнях O₂; различия в типе опухоли, длительности, составе среды и процедуре измерения должны рассматриваться как вероятные модераторы эффекта.

Обсуждение

На первый взгляд, экспериментальные сообщения о росте опухолевой агрессивности в гипоксии противоречат наблюдениям о подавлении клеточного деления. Однако инвазия, устойчивость к лекарствам, выживание в неблагоприятной нише и скорость пролиферации – независимые конечные точки. Кислотный стресс способен вызывать фенотипическую пластичность при одновременном замедлении клеточного цикла. В обзорах подчеркивается необходимость различать клеточное приспособление и непосредственный рост популяции [2, 3, 11].

Различаются также способы создания ацидоза. Добавление кислоты к питательной среде, изменение концентрации бикарбоната и накопление лактата при высокой клеточной плотности не воспроизводят один и тот же набор метаболических условий. При малой буферной емкости фактический pH быстро меняется. Если кислотность задается вместе с изменением источника углерода или CO₂, невозможно уверенно приписать наблюдаемый эффект только концентрации H⁺.

Гипоксия может усиливать гликолитический поток и перенос лактата, но взаимосвязь двух факторов не является простой линейной зависимостью. В тканях она дополнительно определяется перфузией, переносом кислорода и межклеточным обменом. Поэтому исследование только одного уровня O₂ и одного значения pH не позволяет утверждать наличие синергизма. Для проверки нужны, как минимум, две градации каждого фактора и анализ взаимодействия при воспроизводимых измерениях pH во времени.

Еще один источник расхождений – селекция и адаптация. Острые воздействия преимущественно выявляют торможение деления и стрессовую реакцию. Длительный эксперимент способен изменять долю более устойчивых клонов, экспрессию транспортеров и энергетический профиль. Перенос вывода о недельном адаптированном состоянии на первые часы после изменения условий является ошибкой масштаба времени.

Наконец, небольшое число биологических повторов и зависимость нескольких технических измерений от одной культуры искажают доверие к точности результата. Лунки одного планшета не всегда являются независимыми биологическими экспериментами. В описании результатов следует приводить число независимо начатых культур, способ рандомизации их размещения и критерии исключения выбросов.

Для количественного синтеза необходимы среднее и стандартное отклонение числа клеток либо другого сопоставимого показателя в контроле и при воздействии. Простейшая относительная мера – натуральный логарифм отношения средних; ее удобство состоит в симметричном представлении относительного увеличения и уменьшения. Если исследование сообщает только график без исходной дисперсии, такой результат можно включить в качественную таблицу, но нельзя без дополнительных допущений использовать для взвешенного метаанализа.

Для факторных экспериментов необходимо оценивать отдельно главные эффекты pH и O₂ и их взаимодействие. Наличие статистически значимого эффекта каждого фактора еще не свидетельствует об их синергизме. При длительных наблюдениях предпочтительна модель с

повторными измерениями или анализ кривых роста; сравнение конечных значений может скрыть различия в начальной плотности.

При объединении исследований рекомендуется случайно-эффектная метааналитическая модель с модераторами «тип клеток», «уровень O_2 », «рН», «продолжительность» и «метод определения пролиферации». Межисследовательскую неоднородность следует описывать через τ^2 и I^2 , не трактуя среднюю оценку как универсальную для всех линий. Для небольших выборок особую роль приобретает анализ чувствительности: исключение исследований с неполным контролем рН, псевдорепликацией и метаболическими суррогатами вместо прямого подсчета.

$$y = \ln \frac{\bar{X}_{stress}}{\bar{X}_{control}}, \quad (1)$$

где $\bar{X}$ – среднее значение одного и того же показателя в условиях воздействия и в соответствующем контроле.

Нулевое y означает отсутствие относительного изменения.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 \cdot pH + \beta_2 \cdot O_2 + \beta_3 \cdot (pH \cdot O_2) + \varepsilon, \quad (2)$$

Коэффициент β_3 характеризует взаимодействие при выбранной модели и шкале измерения; его интерпретация требует достаточного факторного дизайна.

$$I^2 = \max(0, \frac{Q - df}{Q}) \cdot 100 \%, \quad (3)$$

Показатель I^2 описывает долю наблюдаемой неоднородности, связанную с межисследовательскими различиями; при малом числе работ его неопределенность велика.

Представленные экспериментальные статьи не образуют единого стандартизированного набора данных. Отдельные исследователи измеряют долю клеток в S-фазе, другие – накопление живых клеток, третьи – метаболическую активность. Даже одинаковая единица результата не гарантирует биологическую сопоставимость без сведений о времени, исходном числе клеток и частоте замены среды. Отсутствие однозначной шкалы делает сплошное ранжирование моделей по «эффекту ацидоза» методологически рискованным.

Обзор ограничен выборочным, хотя и предметно структурированным, охватом полнотекстовых экспериментальных работ. Не выполнена независимая двойная проверка всех записей, не рассчитаны объединенные оценки и не построена PRISMA-диаграмма отбора. Эти ограничения должны быть устранены до заявления о завершённом систематическом обзоре в строгом смысле современных рекомендаций [1]. Тем не менее сравнительная матрица раскрывает, какие измерения требуются для подтверждения или опровержения существующих гипотез.

Перспективным направлением служит стандартизация минимального набора измерений: динамика рН, измеренный растворенный кислород, состав буферной системы, время культивирования, исходная плотность, прямая оценка числа клеток, доля клеток в фазах цикла и независимое измерение жизнеспособности. Такой подход позволит различить цитостатический ответ, адаптацию и гибель, а также проверить, сохраняется ли влияние кислой среды после реоксигенации или нормализации рН.

Для пространственно неоднородных опухолей дальнейшее развитие связано с трехмерными сфероидными и ко-культурами, где градиенты кислорода и кислотности возникают эндогенно. Однако увеличение биологической реалистичности усложняет измерение локальных экспозиций; модели должны сопровождаться пространственным картированием и проверкой того, что заявленные значения относятся именно к исследуемым клеткам.

Заключение

Рассмотренные экспериментальные модели показывают, что влияние внеклеточного ацидоза и кислородного режима на пролиферацию зависит от типа опухолевых клеток, выраженности воздействия и временного масштаба наблюдения. В изученных моделях выраженное закисление часто ассоциировано с замедлением клеточного цикла, тогда как

гипоксия может вызывать разные ответы – от отсутствия существенных изменений до обратимой остановки деления.

Основной методический вывод заключается в необходимости отдельно учитывать пролиферацию, жизнеспособность, метаболическую активность и инвазивность. Сравнение результатов без контроля фактического pH, кислородного напряжения и длительности экспозиции способно создавать ложные противоречия. Наиболее информативны факторные схемы с несколькими уровнями обоих воздействий, независимыми биологическими повторами и прямыми маркерами клеточного цикла.

Литература

1. Page M.J., McKenzie J.E., Bossuyt P.M. et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews // BMJ. 2021. Vol. 372. Art. n71.

2. Peppicelli S., Bianchini F., Calorini L. Extracellular acidity, a «reappreciated» trait of tumor environment driving malignancy: perspectives in diagnosis and therapy // Cancer and Metastasis Reviews. 2014. Vol. 33. PP. 823-832.

3. Acidic extracellular microenvironment and cancer // Cancer Cell International. 2013. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3849184/> (дата обращения: 21.10.2026).

4. Peppicelli S., Andreucci E., Ruzzolini J. et al. The acidic microenvironment as a possible niche of dormant tumor cells // Cellular and Molecular Life Sciences. 2017. Vol. 74. PP. 2761-2771.

5. The control of acidity in tumor cells: a biophysical model. 2020. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7423962/> (дата обращения: 21.10.2026).

6. The effects of CA IX catalysis products within tumor microenvironment // Cell Communication and Signaling. 2013. Vol. 11. Art. 81. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3874735/> (дата обращения: 21.10.2026).

7. Additive Influence of Extracellular pH, Oxygen Tension, and Pressure on Invasiveness and Survival of Human Osteosarcoma Cells. 2013. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3728769/> (дата обращения: 21.10.2026).

8. Cell cycle progression in glioblastoma cells is unaffected by pathophysiological levels of hypoxia. 2016. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26966676/> (дата обращения: 21.10.2026).

9. Hypoxia restores the acidosis-induced inhibition of cancer cell dissemination. 2026. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC13010091/> (дата обращения: 21.10.2026).

10. Hypoxia-drives reversible cell cycle arrest in lung cancer cells via modulation of cellular redox and gene expression. 2025. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/41023503/> (дата обращения: 21.10.2026).

11. Peppicelli S., Calorini L., Bianchini F. et al. Acidity and hypoxia of tumor microenvironment, a positive interplay in extracellular vesicle release by tumor cells // Cellular Oncology. 2024.