

Государственное
бюджетное учреждение
здравоохранения «Санкт-
Петербургский клинический
научно-практический
центр специализированных
видов медицинской помощи
(онкологический)

имени Н.П. Напалкова»
(Санкт-Петербург, Россия)

ПОТЕНЦИРОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ ДОКСОРУБИЦИНА ПУТЕМ КОРРЕКЦИИ ВНЕКЛЕТОЧНОГО АЦИДОЗА ГИДРОКАРБОНАТОМ НАТРИЯ *IN VITRO* И *IN VIVO* НА МОДЕЛИ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ МЫШИ СТ26

А.А. Богданов, Ан.А. Богданов, В.С. Бурдаков, Н.А. Верлов,
В.М. Моисеенко

POTENTIATION OF THE ANTITUMOR EFFECT OF DOXORUBICIN BY CORRECTING EXTRACELLULAR ACIDOSIS WITH SODIUM BICARBONATE *IN VITRO* AND *IN VIVO* IN THE CT26 MURINE COLON ADENOCARCINOMA MODEL

А.А. Богданов

Кандидат физико-математических наук,
заместитель директора по научной работе,
197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, Ленинградская ул., д. 68А.
ORCID: 0000-0002-7887-4635.

Ан.А. Богданов

Старший научный сотрудник.
ORCID: 0000-0002-0824-6633.

В.С. Бурдаков

Научный сотрудник.

Н.А. Верлов

Ведущий научный сотрудник.

В.М. Моисеенко

Член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор,
директор Государственного бюджетного учреждения здравоохранения
«Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр
специализированных видов медицинской помощи (онкологический)
имени Н.П. Напалкова».
ORCID: 0000-0003-4807-7915.

A.A. Bogdanov

PhD, Deputy Director for Science,
197758, Russia, St. Petersburg, Pesochny, Leningradskaya ul., 68a.
ORCID: 0000-0002-7887-4635.

An.A. Bogdanov

Senior Researcher:
ORCID: 0000-0002-0824-6633.

V.S. Burdakov

Researcher:

N.A. Verlov

Leading Researcher:

V.M. Moiseyenko

Corresponding Member of Russian Academy of Sciences, DSc, MD, Professor, Director,
St. Petersburg Clinical Research and Practical Center of Specialized Types for Medical Care
(Oncological) named after N.P. Napalkov.
ORCID: 0000-0003-4807-7915.

Цель исследования. Оценить влияние коррекции внеклеточного ацидоза гидрокарбонатом натрия (NaHCO_3) на противоопухолевую эффективность доксорубина *in vitro* и *in vivo* на модели аденокарциномы толстой кишки мыши СТ26.

Материалы и методы. Цитотоксическое действие доксорубина (0,001–50 мкМ, 24 ч) в отношении клеток СТ26 оценивали МТТ-тестом в среде RPMI-1640

* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-15-00297, <https://rscf.ru/project/24-15-00297/>.

со стандартной (0,024 М; pH 7,32) и повышенной (0,035 М; pH 7,51) концентрацией NaHCO_3 ; ИК50 определяли с помощью четырехпараметрической логистической модели. *In vivo* мышей BALB/c с подкожно перевитой опухолью CT26 рандомизировали на 4 группы (n=5): контроль; доксорубин 8 мг/кг внутривенно однократно; 4% раствор NaHCO_3 0,4 мл внутривенно 5 суток; комбинация указанных режимов. Оценивали динамику объема опухоли и выживаемость животных.

Результаты. Ощелачивание среды усиливало цитотоксичность доксорубина в диапазоне 0,05–1 мкМ и снижало его ИК50 с $0,22 \pm 0,05$ до $0,11 \pm 0,02$ мкМ (в 2 раза; $p < 0,01$), что согласуется с увеличением доли липофильной неионизированной фракции препарата с 11,6% до 17,0% (уравнение Хендерсона – Хассельбаха) и механизмом «захвата ионов». Монотерапия доксорубином и NaHCO_3 *in vivo* тормозила рост опухоли на 37% ($p < 0,001$) и 34% ($p < 0,01$) соответственно, тогда как комбинация обеспечивала торможение на 76% ($p < 0,001$), достоверно превосходя обе монотерапии. Медиана выживаемости составила 38 дней в контроле, 49 дней при ощелачивании ($p < 0,01$) и 45 дней при комбинированной терапии ($p < 0,05$).

Заключение. Коррекция внеклеточного ацидоза гидрокарбонатом натрия потенцирует действие доксорубина за счет механизма «захвата ионов» и обладает самостоятельной противоопухолевой активностью, что обосновывает буферную терапию как доступную стратегию сопровождения химиотерапии, требующую оптимизации дозового режима цитостатика.

Ключевые слова: микроокружение опухоли, ацидоз, гидрокарбонат натрия, доксорубин, захват ионов, CT26, буферная терапия, лекарственная резистентность.

Objective. To evaluate the effect of extracellular acidosis correction with sodium bicarbonate (NaHCO_3) on the antitumor efficacy of doxorubicin *in vitro* and *in vivo* in the CT26 murine colon adenocarcinoma model.

Materials and methods. Doxorubicin cytotoxicity (0.001–50 μM , 24 h) against CT26 cells was assessed by the MTT assay in RPMI-1640 medium with standard (0.024 M; pH 7.32) or elevated (0.035 M; pH 7.51) NaHCO_3 concentrations; IC50 values were determined using a four-parameter logistic model. *In vivo*, BALB/c mice bearing subcutaneous CT26 allografts were randomized into four groups (n = 5): control; doxorubicin 8 mg/kg i.p., single dose; 4% NaHCO_3 0.4 mL i.p. for 5 days; and their combination. Tumor growth dynamics and overall survival were evaluated.

Results. Medium alkalization enhanced doxorubicin cytotoxicity in the 0.05–1 μM range and decreased its IC50 from $0,22 \pm 0,05$ to $0,11 \pm 0,02$ μM (2-fold; $p < 0,01$), consistent with an increase in the lipophilic non-ionized drug fraction from 11.6% to 17.0% (Henderson – Hasselbalch equation) and the ion-trapping mechanism. *In vivo*, doxorubicin and NaHCO_3 monotherapies inhibited tumor growth by 37% ($p < 0,001$) and 34% ($p < 0,01$), respectively, whereas the combination achieved 76% inhibition ($p < 0,001$), significantly surpassing both monotherapies. Median survival was 38 days in controls, 49 days with alkalization ($p < 0,01$), and 45 days with combination therapy ($p < 0,05$).

Conclusion. Correction of extracellular acidosis with sodium bicarbonate potentiates doxorubicin activity via the ion-trapping mechanism and exerts independent antitumor effects, supporting buffer therapy as an accessible adjunct to chemotherapy that requires optimization of the cytostatic dosing regimen.

Key words: tumor microenvironment; acidosis; sodium bicarbonate; doxorubicin; ion trapping; CT26; buffer therapy; drug resistance.

Введение

Солитные опухоли перестраивают физико-химические свойства своего микроокружения, что отражается в появлении внеклеточного ацидоза [1, 2]. Перепрограммирование энергетического метаболизма опухолевых клеток в сторону аэробного гликолиза сопровождается массивным выбросом протонов и лактата во внеклеточное пространство. При этом внутриклеточный pH сохраняется на относительно нейтральном уровне, что формирует обратный градиент pH (pH 7,1–7,2 против внеклеточного pH 6,5–6,9) [3, 4]. Внеклеточный ацидоз и обратный градиент pH сегодня рассматривают не как побочный продукт метаболизма опухоли, а как активный драйвер злокачественной прогрессии [1, 4].

Кислотность опухоли благоприятна для инвазии и метастазирования, т.к. приводит к активации катепсина В и матриксных металлопротеиназ [5]. Такие условия могут способствовать селекции клонов с агрессивным и устойчивым к апоптозу фенотипом

[6]. Также закисленное микроокружение опухоли является иммуносупрессивным, подавляя пролиферацию и цитотоксичность эффекторных Т-лимфоцитов и натуральных киллеров, а также вызывает поляризацию макрофагов по M2-типу [7]. Отдельно следует отметить, что ацидоз опухоли является одним из ключевых негенетических механизмов лекарственной резистентности как за счет ограниченной пенетрации препаратов в опухолевую ткань, так и за счет эффекта «захвата ионов» (ion trapping) в случае препаратов – слабых оснований [8, 9].

Логичной терапевтической стратегией в этих условиях может быть буферная терапия, например, пероральное или парентеральное введение гидрокарбоната натрия (NaHCO_3) [10–16]. Такой подход приводит к повышению pH опухоли и, например, достоверно снижает частоту спонтанных метастазов [17], а также восстанавливает противоопухолевый иммунный ответ, потенцируя иммунотерапию ингибито-

рами контрольных точек [8, 18]. Современные обзоры подчеркивают, что коррекция pH микроокружения представляет собой самостоятельное и трансляционно достижимое направление противоопухолевой терапии [1, 2, 4, 19, 20].

Второй аспект применения буферной терапии, не менее важный, связан с фармакокинетикой химиопрепаратов-электролитов. Согласно теории «захвата ионов», слабые основания в кислой среде преимущественно находятся в протонированной, заряженной форме и плохо проникают через липидный бислой мембраны клеток. Повышение pH не увеличивает долю неионизированной липофильной фракции молекул препаратов – слабых оснований, которая, диффундируя в клетку, повторно протонируется и накапливается в цитозоле, ядре и лизосомах, что многократно усиливает цитотоксичность [9, 21–24]. Широко используемый в современной онкологической практике препарат доксорубин – классическое слабое основание ($pK_a \approx 8,2$), и первые экспериментальные доказательства усиления его действия при изменении pH опухоли были получены еще в конце 1990-х годов [21]. Современные работы продолжают развивать эту концепцию, в том числе в контексте таргетирования pH-регулирующих систем опухоли и разработки pH-чувствительных систем доставки [25, 26].

Вместе с тем количественные и качественные характеристики феномена усиления противоопухолевого действия доксорубина в условиях ощелачивания буферными агентами до сих пор недостаточно исследованы. Важным является как определение величины сдвига кривой «доза–ответ» (ИК50) при ощелачивании, так и соотношение самостоятельного противоопухолевого действия $NaHCO_3$ и его способности потенцировать эффект химиопрепарата в единой экспериментальной модели. В настоящей работе мы выполнили комплексную оценку влияния ощелачивания на эффективность доксорубина в экспериментах *in vitro* и *in vivo* на модели аденокарциномы толстой кишки мыши СТ26.

Материалы и методы

Исследования *in vitro*

В эксперименте использовали клеточную линию аденокарциномы толстой кишки мыши СТ26 (собственная коллекция, первоначальный источник – Ресурсный центр ОМРБ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ). Клетки СТ26 культивировали в среде RPMI-1640 (БиолоТ, Россия), содержащей pH-чувствительный краситель феноловый красный (phenol red), в атмосфере 5% CO_2 при 37 °C. Культуральная среда также содержала 10% фетальной бычьей сыворотки (Gibco, Великобритания) и 50 мкг/мл гентамицина (ПанЭко, Россия).

Для оценки цитотоксического эффекта доксорубина (Верофарм, Россия) клетки СТ26 рассеивали в лунки 24-луночного планшета в концентрации

5×10^4 клеток/лунка и культивировали в среде RPMI-1640 со стандартной концентрацией $NaHCO_3$ 0,024 М (контроль, $pH=7,32 \pm 0,01$) в течение суток. После этого осуществляли замену среды на свежую стандартную или с повышенной концентрацией $NaHCO_3$ 0,035 М (ощелачивание, $pH=7,51 \pm 0,01$; концентрация $NaHCO_3$ нетоксична для клеток СТ26 [27]), содержащих концентрации доксорубина в диапазоне 0,001–50 мкМ и инкубировали клетки в течение 24 часов. Выживаемость клеток оценивали для трех независимых биологических повторов стандартным колориметрическим МТТ-тестом. Кривые «доза–ответ» аппроксимировали четырехпараметрической логистической моделью (нижнее и верхнее плато, ИК50); межгрупповые различия оценивали t-критерием Стьюдента для независимых выборок.

Исследования *in vivo*

Эксперименты по противоопухолевому эффекту доксорубина в условиях ощелачивания проводили на мышах линии Balb/c в возрасте 6–8 недель и массой 16–22 г на базе Ресурсного центра ОМРБ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ. В нулевой день эксперимента каждому животному подкожно в правое бедро вводили 5×10^5 жизнеспособных клеток СТ26 в объеме 100 мкл фосфатно-солевого буфера. На седьмой день животные были рандомизированы на 4 группы ($n=5$):

1. Контроль – животные не получали терапии;
2. Химиотерапия (ХТ) – животные получили однократную внутрибрюшинную инъекцию доксорубина в дозе 8 мг/кг;
3. Ощелачивание – животные получили однократную внутрибрюшинную инъекцию 0,4 мл 4% раствора $NaHCO_3$ ежедневно в течение 5 дней;
4. Ощелачивание + ХТ – животные получили однократную внутрибрюшинную инъекцию 0,4 мл 4% раствора $NaHCO_3$ ежедневно в течение 5 дней, через 2 часа после первой инъекции животные получили однократную внутрибрюшинную инъекцию доксорубина в дозе 8 мг/кг.

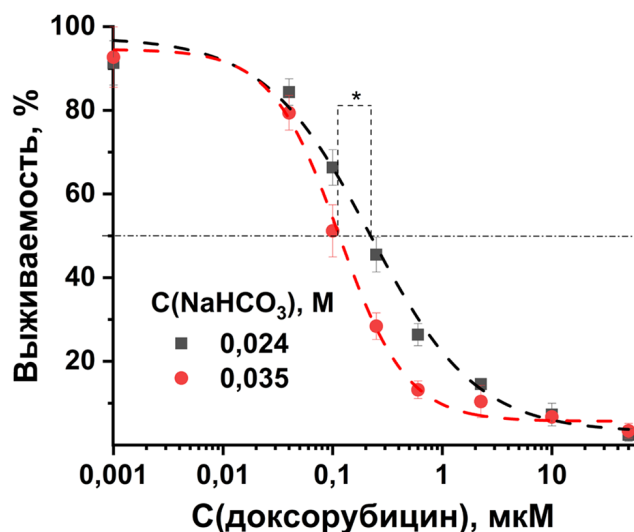
Объем опухоли рассчитывали по формуле $V = (a \times b^2)/2$. При анализе различий роста опухоли между группами использовали однофакторный ANOVA с попарным t-тестом Уэлча; при анализе выживаемости использовали метод Каплана – Мейера с лог-ранг критерием; значимыми считали отличия при $p < 0,05$.

Результаты

Цитотоксический эффект доксорубина *in vitro*

В результате экспериментов *in vitro* было показано, что ощелачивание культуральной среды $NaHCO_3$ статистически значимо усиливало цитотоксический эффект доксорубина в диапазоне концентраций 0,05–1 мкМ (рисунок 1). Анализ зависимостей доза – эффект показал, что ИК50 доксорубина в стан-

дартной среде составила $0,22 \pm 0,05$ мкМ, тогда как в ощелаченной среде – $0,11 \pm 0,02$ мкМ. Таким образом, ощелачивание среды достоверно повысило эффективность доксорубина в 2 раза ($p < 0,01$).



Model	Logistic	
Equation	$y = A2 + (A1 - A2) / (1 + (x/x0)^p)$	
Plot	0,024 M NaHCO3	0,035 M NaHCO3
A1	$97,43107 \pm 6,65534$	$94,57149 \pm 6,29134$
A2	$3,02959 \pm 2,06587$	$5,68627 \pm 0,92594$
x0	$0,21963 \pm 0,0533$	$0,11415 \pm 0,01954$
p	$0,89966 \pm 0,11797$	$1,40349 \pm 0,18104$
Reduced Chi-Sqr	1,70742	0,86926
R-Square (COD)	0,99273	0,993
Adj. R-Square	0,98729	0,98775

Рис. 1. Выживаемость клеток аденокарциномы толстой кишки мыши CT26 через 24 часа инкубации с разными концентрациями доксорубина в условиях стандартной ($C(\text{NaHCO}_3) = 0,024$ М, $\text{pH} 7,3-7,4$; ИК50 (доксорубин) = $0,22 \pm 0,05$ мкМ) или подщелоченной ($C(\text{NaHCO}_3) = 0,035$ М, $\text{pH} 7,45-7,5$; ИК50 (доксорубин) = $0,11 \pm 0,02$) среды RPMI-1640. * $p < 0,01$.

Противоопухолевая эффективность доксорубина *in vivo*

В процессе терапии не было выявлено значимых различий в изменении массы животных между группами. Все терапевтические вмешательства оказали статистически значимое влияние на рост опухоли (ANOVA, $p < 0,001$).

На 29-й день эксперимента средний объем опухоли в группе Контроль составил 6952 ± 601 мм³. При этом к данному сроку монотерапия доксорубином (группа ХТ) привела к снижению объема опухоли на 37% (4376 ± 528 мм³; $p < 0,001$), а монотерапия раствором NaHCO_3 (группа Ощелачивание) - на 34% (4583 ± 1108 мм³; $p < 0,01$). Комбинированная терапия (группа Ощелачивание + ХТ) дала явный синергетический эффект и обеспечила максимальный эффект торможения роста опухоли, средний объем которой

составил 1675 ± 631 мм³, что на 76% меньше контроля ($p < 0,001$) и статистически значимо ниже показателей монотерапии доксорубином ($p < 0,05$) и раствором NaHCO_3 ($p < 0,01$) (рисунок 2).

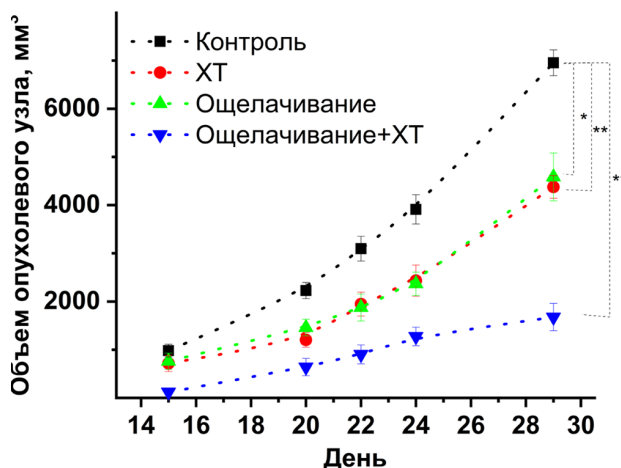


Рис. 2. Динамика роста опухолевого узла у мышей линии Balb/c с первичными клетками аденокарциномы толстой кишки мыши CT26 без терапии (Контроль) и на фоне терапии доксорубином в дозе 8 мг/кг (ХТ), 4% раствором NaHCO_3 (Ощелачивание), комбинацией 4% раствора NaHCO_3 и доксорубина в дозе 8 мг/кг (Ощелачивание + ХТ). Данные представлены как среднее значение $\pm$ стандартная ошибка среднего. По сравнению с Контролем * $p < 0,01$, ** $p < 0,001$. Пояснения в тексте.

Анализ выживаемости животных показал, что медиана выживаемости в группе Контроль составила 38 дней. Введение доксорубина (группа ХТ) увеличило медиану до 45 дней, однако это различие не достигло уровня статистической значимости ($p = 0,39$).

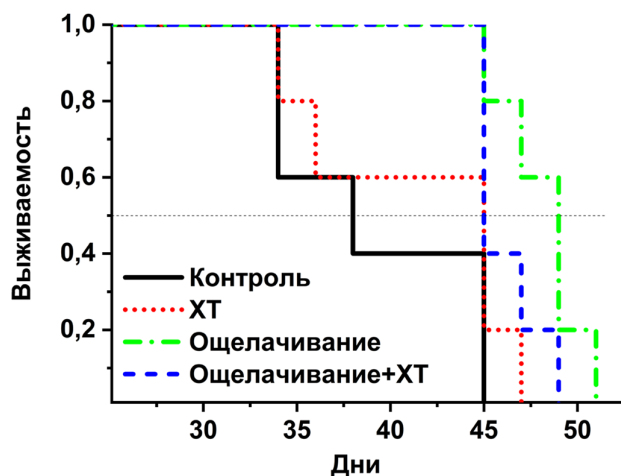


Рис. 3. Графики выживаемости мышей линии Balb/c с первичными клетками аденокарциномы толстой кишки мыши CT26 без терапии (Контроль, медиана выживаемости 38 дней) и на фоне терапии доксорубином в дозе 8 мг/кг (ХТ, медиана выживаемости 45 дней, $p = 0,39$), 4% раствором NaHCO_3 (Ощелачивание, медиана выживаемости 49 дней, $p < 0,01$ vs Контроль), комбинацией 4% раствора NaHCO_3 и доксорубина в дозе 8 мг/кг (Ощелачивание + ХТ, медиана выживаемости 45 дней, $p < 0,05$ vs Контроль). Пояснения в тексте.

Монотерапия раствором NaHCO_3 (группа Ощелачивание) обеспечила наибольшее увеличение выживаемости: медиана составила 49 дней ($p < 0,01$ vs Контроль). Комбинированная терапия (группа Ощелачивание + ХТ) также достоверно увеличила выживаемость до 45 дней ($p < 0,05$ vs Контроль) (рисунок 3).

Обсуждение

Полученные в настоящей работе результаты как *in vitro*, так и *in vivo* дают целостное экспериментальное подтверждение гипотезы о том, что искусственная коррекция внеклеточного рН является высокоэффективной стратегией преодоления негенетической лекарственной резистентности опухолей к химиопрепаратам – слабым основаниям.

Двухкратное снижение показателя ИК50 доксорубина при увеличении концентрации гидрокарбоната натрия (с $0,22 \pm 0,05$ мкМ до $0,11 \pm 0,02$ мкМ; $p < 0,01$), обнаруженное нами в экспериментах *in vitro*, указывает на резкое потенцирование цитотоксического действия доксорубина даже при относительно небольшом сдвиге рН среды (с 7,32 до 7,51). Теоретический расчет по уравнению Хендерсона – Хассельбаха показывает, что данное изменение кислотности среды увеличивает долю липофильной неионизированной фракции препарата с 11,6% до 17,0%. Это обеспечивает относительный прирост проникающей внутрь клеток формы в 1,46 раза и снижает долю протонированной формы с 88,4% до 83,0%, что должно приводить к увеличению равновесного внутриклеточного накопления доксорубина примерно в 1,5 раза. Однако зарегистрированный нами реальный сдвиг ИК50 (~ в 2 раза) существенно превышает этот прямой равновесный прогноз. Данный факт строго соответствует современным представлениям о «захвате ионов» как о сложном мультипликативном каскаде [1, 9, 28]. В рамках этой модели начальное усиление мембранного притока нейтральной липофильной формы каскадно потенцируется последующим внутриклеточным протонированием молекул в цитозоле, их лизосомальной секвестрацией и высокоаффинным связыванием с ДНК и топоизомеразой II, что необратимо смещает динамическое равновесие в сторону накопления препарата внутри клетки.

Перенос терапевтической схемы на животную перевивную модель аденокарциномы толстой кишки мыши СТ26 *in vivo* позволил верифицировать обнаруженные физико-химические закономерности. Клетки линии СТ26 обладают классическим феноменом Варбурга и высокой гликолитической активностью [29, 30], что в условиях живого организма ведет к выраженному закислению интерстициального пространства и формированию защитного «кислотного барьера». Применение монотерапии доксорубином (8 мг/кг) показало умеренную противоопухолевую активность – торможение роста опухоли на 37% к

29-му дню ($p < 0,001$), что согласуется с литературными данными [31, 32]. Наиболее значимым результатом исследования *in vivo* стало выявление сильного противоопухолевого синергизма в группе комбинированной терапии. К 29-му дню эксперимента торможение роста опухоли в этой группе достигло 76% (средний объем 1675 ± 631 мм³, $p < 0,001$). При этом оно не просто превосходило контроль, но и было статистически значимо эффективнее монотерапии доксорубином ($p < 0,05$). Вероятно, системное введение 4% раствора NaHCO_3 эффективно повышало буферную емкость крови и межклеточной жидкости опухоли, нейтрализуя обратный градиент рН. Это снимало феномен «ионной ловушки» непосредственно в опухолевой ткани, максимально увеличивая биодоступность вводимой дозы доксорубина для опухолевых клеток и усиливая их повреждение.

Примечательно, что изолированное применение NaHCO_3 также показало самостоятельный противоопухолевый эффект, сдерживая рост узла на 34% ($p < 0,01$). При этом анализ отдаленных результатов и выживаемости животных обнаружил важную биологическую инверсию. Несмотря на то, что группа комбинированной терапии показала наилучший контроль над опухолью, наибольшее и высокодостоверное увеличение медианы выживаемости продемонстрировала группа изолированного ощелачивания – 49 дней ($p < 0,01$) по сравнению с 38 днями в контроле. Комбинированная группа также достоверно продлевала жизнь мышам до 45 дней ($p < 0,05$), однако ее медиана сравнивалась с группой чистой химиотерапии (45 дней, $p = 0,39$). Такое нелинейное соотношение объема опухоли и выживаемости при добавлении доксорубина, по-видимому, обусловлено фактором системной токсичности препарата [32]. Свободный доксорубин при внутрибрюшинном введении в высокой дозе (8 мг/кг) оказывает выраженное миелосупрессивное и кардиотоксическое действие [33]. Повышение системного рН с помощью NaHCO_3 увеличивало долю проникающей формы доксорубина не только в опухолевой ткани, но и в здоровых органах с нейтральным рН, что могло усугублять кумулятивную нецелевую токсичность химиопрепарата и лимитировать чистый выигрыш в выживаемости. В свою очередь, ощелачивание NaHCO_3 , обеспечив медиану в 49 дней, подтвердило трансляционную значимость буферной терапии как самостоятельного инструмента [1, 10, 11, 27, 30].

Таким образом, представленная единая экспериментальная модель СТ26 наглядно иллюстрирует, что буферная модуляция эффективно переводит теоретические принципы физической химии (кинетику нейтральных фракций слабых оснований) в прямое терапевтическое преимущество *in vivo*. Однако для успешного клинического внедрения комбинированных протоколов химиотерапии и ощелачивающей терапии требуется тонкое регулирование дозового

режима химиопрепарата с целью минимизации его системных побочных эффектов на фоне повышенной биодоступности.

Заключение

Комплексное исследование, выполненное на экспериментальной модели аденокарциномы толстой кишки мыши СТ26, позволило количественно и качественно охарактеризовать трансляционный потенциал буферной терапии как инструмента преодоления рН-зависимой лекарственной устойчивости. Проведенный анализ позволяет сформулировать следующие выводы, имеющие важное научно-практическое значение:

1. **Физико-химическое обоснование эффекта.** Незначительное смещение рН межклеточной среды в щелочную сторону (с 7,32 до 7,51) значительно изменяет степень ионизации доксорубина, увеличивая фракцию его нейтральных, липофильных молекул в 1,46 раза. Этого сдвига достаточно, чтобы снять феномен «ионной ловушки» и обеспечить двукратное повышение цитотоксической эффективности химиопрепарата *in vitro* (снижение ИК50 с 0,22 до 0,11 мкМ).

2. **Преодоление резистентности *in vivo*.** Локальный внеклеточный ацидоз, создаваемый опухолевыми клетками линии СТ26, активно использующими гликолиз, служит физическим барьером для химиотерапии доксорубином. Системное введение гидрокарбоната натрия эффективно нейтрализует этот градиент, повышая биодоступность доксорубина непосредственно в ткани опухоли. Это обеспечивает мощный синергический эффект: комбинированная схема лечения подавляет рост солидного узла на 76%

к 29-му дню эксперимента ($p < 0,001$), что в 2 раза эффективнее стандартной монокимиотерапии.

3. **Самостоятельный терапевтический потенциал ощелачивания.** Монотерапия раствором гидрокарбоната натрия продемонстрировала выраженную способность сдерживать опухолевую прогрессию (торможение роста опухоли на 34%) и обеспечила наибольшую медиану выживаемости животных – 49 дней ($p < 0,01$) по сравнению с 38 днями в контроле. Данный факт подтверждает, что коррекция системного и локального ацидоза является самостоятельным терапевтическим инструментом.

4. **Ограничения метода и клинические перспективы.** Сочетание химиопрепарата с буферным агентом приводит к увеличению терапевтического ответа у животных, снижая резистентность к лечению. Однако лимитирующим фактором комбинированного протокола остается системная нецелевая токсичность доксорубина, биодоступность которого при защелачивании организма закономерно возрастает не только в опухоли, но и в здоровых тканях-мишенях.

Таким образом, модуляция рН опухолевого микроокружения с помощью доступных буферных агентов (в частности, гидрокарбоната натрия) представляет собой перспективное, экономически доступное и трансляционно реализуемое направление сопроводительной терапии в онкологии. Тем не менее для безопасного переноса комбинированных схем в клиническую практику требуется прецизионная оптимизация дозового режима: повышение тканевой биодоступности цитостатика в условиях нормализации рН должно сопровождаться деэскалацией его дозы для предотвращения манифестации системных побочных эффектов.

Список литературы

1. Bogdanov A., Bogdanov A., Chubenko V., Volkov N., Moiseenko F., Moiseyenko V. Tumor acidity: From hallmark of cancer to target of treatment // Front Oncol. – 2022. – Vol. 12. – P. 979154.
2. Corbet C., Feron O. Tumour acidosis: from the passenger to the driver's seat // Nature Reviews Cancer. – 2017. – Vol. 17, № 10. – P. 577–593.
3. Gatenby R.A., Gillies R.J. Why do cancers have high aerobic glycolysis? // Nat Rev Cancer. – 2004. – Vol. 4, № 11. – P. 891–9.
4. Boedtker E., Pedersen S.F. The Acidic Tumor Microenvironment as a Driver of Cancer // Annu Rev Physiol. – 2020. – Vol. 82. – C. 103–126.
5. Estrella V., Chen T., Lloyd M., Wojtkowiak J., Cornnell H.H., Ibrahim-Hashim A., Bailey K., Balagurunathan Y., Rothberg J.M., Sloane B.F., Johnson J., Gatenby R.A., Gillies R.J. Acidity generated by the tumor microenvironment drives local invasion // Cancer Res. – 2013. – Vol. 73, № 5. – P. 1524–35.
6. Damaghi M., West J., Robertson-Tessi M., Xu L., Ferrall-Fairbanks M.C., Stewart P.A., Persi E., Fridley B.L., Altrock P.M., Gatenby R.A., Sims P.A., Anderson A.R.A., Gillies R.J. The harsh microenvironment in early breast cancer selects for a Warburg phenotype // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2021. – Vol. 118, № 3.
7. Bader J.E., Voss K., Rathmell J.C. Targeting Metabolism to Improve the Tumor Microenvironment for Cancer Immunotherapy // Mol Cell. – 2020. – Vol. 78, № 6. – P. 1019–1033.
8. Pilon-Thomas S., Kodumudi K.N., El-Kenawi A.E., Russell S., Weber A.M., Luddy K., Damaghi M., Wojtkowiak J.W., Mulé J.J., Ibrahim-Hashim A., Gillies R.J. Neutralization of Tumor Acidity Improves Antitumor Responses to Immunotherapy // Cancer Res. – 2016. – Vol. 76, № 6. – P. 1381–90.
9. Wojtkowiak J.W., Verduzco D., Schramm K.J., Gillies R.J. Drug resistance and cellular adaptation to tumor acidic pH microenvironment // Mol Pharm. – 2011. – Vol. 8, № 6. – P. 2032–8.

10. Bogdanov A.A., Verlov N.A., Bogdanov A.A., Burdakov V.S., Semiletov V.V., Egorenkov V.V., Volkov N.M., Moiseyenko V.M. Tumor alkalization therapy: misconception or good therapeutics perspective? - the case of malignant ascites // *Front Oncol.* – 2024. – Vol. 14. – C. 1342802.
11. Богданов А.А., Егоренков В.В., Волков Н.М., Моисеенко Ф.В., Молчанов М.С., Верлов Н.А., Гулина Л.С., Моисеенко В.М. Противоопухолевая эффективность перфузии изолированной нижней конечности раствором с повышенным рН на крысиной модели перевивной опухоли лимфосаркомы Плисса // *Альманах клинической медицины.* – 2021. – Т. 49, № 8. – С. 541–549.
12. Hamaguchi R., Ito T., Narui R., Morikawa H., Uemoto S., Wada H. Effects of Alkalization Therapy on Chemotherapy Outcomes in Advanced Pancreatic Cancer: A Retrospective Case-Control Study // *In Vivo.* – 2020. – Vol. 34, № 5. – С. 2623–2629.
13. Hamaguchi R., Narui R., Morikawa H., Wada H. Improved Chemotherapy Outcomes of Patients With Small-cell Lung Cancer Treated With Combined Alkalization Therapy and Intravenous Vitamin C // *Cancer diagnosis & prognosis.* – 2021. – Vol. 1, № 3. – P. 157–163.
14. Hamaguchi R., Narui R., Wada H. Effects of an Alkalization Therapy on Nivolumab in Esophago-gastric Junction Adenocarcinoma: A Case Report // *Clinics of Oncology.* – 2019. – Vol. 2, № 1. – P. 1–4.
15. Hamaguchi R., Okamoto T., Sato M., Hasegawa M., Wada H. Effects of an Alkaline Diet on EGFR-TKI Therapy in EGFR Mutation-positive NSCLC // *Anticancer Res.* – 2017. – Vol. 37, № 9. – P. 5141–5145.
16. Hamaguchi R.E.O., Narui R., Wada H. Effects of Alkalization Therapy on Chemotherapy Outcomes in Metastatic or Recurrent Pancreatic Cancer // *Anticancer Research.* – 2020. – Vol. 40, № 2. – P. 873.
17. Robey I.F., Baggett B.K., Kirkpatrick N.D., Roe D.J., Dosescu J., Sloane B.F., Hashim A.I., Morse D.L., Ragbunand N., Gatenby R.A., Gillies R.J. Bicarbonate increases tumor pH and inhibits spontaneous metastases // *Cancer Res.* – 2009. – Vol. 69, № 6. – P. 2260–8.
18. Rahman A., Janic B., Rahman T., Singh H., Ali H., Rattan R., Kazi M., Ali M.M. Immunotherapy Enhancement by Targeting Extracellular Tumor pH in Triple-Negative Breast Cancer Mouse Model // *Cancers.* – 2023. – Vol. 15, № 20. – P. 4931.
19. Tafech A., Stéphanou A. On the Importance of Acidity in Cancer Cells and Therapy // *Biology (Basel).* – 2024. – Vol. 13, № 4.
20. Wang Z., Yuan H., Liu M., Yuan J., Chen D. The symbiotic axis between the acidic tumor microenvironment and cancer stem cells: a driver of malignancy and therapeutic resistance // *Frontiers in Oncology.* – 2026. – Vol. 16.
21. Ragbunand N., He X., van Sluis R., Mahoney B., Baggett B., Taylor C.W., Paine-Murrieta G., Roe D., Bhujwala Z.M., Gillies R.J. Enhancement of chemotherapy by manipulation of tumour pH // *Br J Cancer.* – 1999. – Vol. 80, № 7. – P. 1005–11.
22. Swietach P., Vaughan-Jones R.D., Harris A.L., Hulikova A. The chemistry, physiology and pathology of pH in cancer // *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* – 2014. – Vol. 369, № 1638. – P. 20130099.
23. Mahoney B.P., Ragbunand N., Baggett B., Gillies R.J. Tumor acidity, ion trapping and chemotherapeutics. I. Acid pH affects the distribution of chemotherapeutic agents in vitro // *Biochem Pharmacol.* – 2003. – Vol. 66, № 7. – P. 1207–18.
24. Ragbunand N., Mahoney B.P., Gillies R.J. Tumor acidity, ion trapping and chemotherapeutics: II. pH-dependent partition coefficients predict importance of ion trapping on pharmacokinetics of weakly basic chemotherapeutic agents // *Biochemical Pharmacology.* – 2003. – Vol. 66, № 7. – C. 1219–1229.
25. Ansary A., Osman A., El-Khouly M.E. Doxorubicin-loaded pH-responsive porphyrin-derived carbon dots as a promising biocompatible drug delivery system for effective chemotherapy of breast cancer // *RSC Advances.* – 2025. – Vol. 15, № 9. – P. 6457–6473.
26. Kolabi Azar H., Sabouri L., Bebeshtizadeh N., Maleki R. pH-stimuli-responsive doxorubicin release and stability in chitosan-Eudragit nanocarriers // *Scientific Reports.* – 2025. – Vol. 15, № 1. – P. 45428.
27. Богданов А.А., Богданов А.А., Ляпунова Л.С., Бурдаков В.С., Верлов Н.А., Моисеенко В.М. Противоопухолевый эффект in vivo и влияние ощелачивания с помощью гидрокарбоната натрия на жизнеспособность и метаболизм опухолевых клеток CT26 // *Практическая онкология.* – 2024. – Т. 25, № 4. – С. 327–335.
28. Abumanbal-Masarweh H., Koren L., Zinger A., Yaari Z., Krinsky N., Kaneti G., Daban N., Lupu-Haber Y., Suss-Toby E., Weiss-Messer E., Schlesinger-Laufer M., Shainsky-Roitman J., Schroeder A. Sodium bicarbonate nanoparticles modulate the tumor pH and enhance the cellular uptake of doxorubicin // *J Control Release.* – 2019. – Vol. 296. – P. 1–13.
29. Long W.-b., Pu X., Tang Y., Li M., Liu Y., She Q., Wang Y.-l., Guo Q.-x. Arginine ADP-ribosyltransferase 1 Regulates Glycolysis in Colorectal Cancer via the PI3K/AKT/HIF1 α Pathway // *Current Medical Science.* – 2022. – Vol. 42, № 4. – P. 733–741.
30. Bogdanov A., Bogdanov A., Burdakov V., Mitusova K., Moiseyenko V. Antitumor effects of extracellular alkalization: sodium bicarbonate modulates mitochondrial function, lysosomal dynamics and migration activity of cancer cells // *Siberian journal of oncology* – 2026. – Vol. 25, № 1. – P. 62–73.
31. Zhang T., Wei Y., Liu Z., Wu Z., Wang X., Li K., Liu H., Lu J., Lu Q., Liu M., Wang Y., Chen Z. In Situ Engineered “Cascade-Amplified” Drug-Loaded Vesicles for Enhanced Cancer Stem Cell Therapy // *Journal of Extracellular Vesicles.* – 2026. – Vol. 15, № 5. – P. e70292.
32. Shim N., Kim J., Song S., Yoo H., Kim Y., Oh Y., Hwang N., Goo J., Hong S., Yu J., Cho H., Kim K. Cathepsin B-Cleavable Doxorubicin Prodrug Nanoparticles for Eliciting Cancer-Specific Immunogenic Cell Death and Minimizing Systemic Toxicity // *Advanced Healthcare Materials.* – 2026. – Vol. 15, № 9. – P. e04414.

33. Abdelatty A., Ahmed M.S., Abdel-Kareem M.A., Dmerdash M., Mady R., Saad A.S., Albrakati A., Elmahallawy E.K., Elsawak A., Abdo W. Acute and Delayed Doxorubicin-Induced Myocardiotoxicity Associated with Elevation of Cardiac Biomarkers, Depletion of Cellular Antioxidant Enzymes, and Several Histopathological and Ultrastructural Changes // *Life (Basel)*. – 2021. – Vol. 11, № 9.

References

1. Bogdanov A., Bogdanov A., Chubenko V., Volkov N., Moiseenko F., Moiseyenko V. Tumor acidity: From hallmark of cancer to target of treatment. *Front Oncol*. 2022; 12: 979154.
2. Corbet C., Feron O. Tumour acidosis: from the passenger to the driver's seat. *Nature Reviews Cancer*. 2017; 17(10): 577-93.
3. Gatenby R.A., Gillies R.J. Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nat Rev Cancer*. 2004; 4(11): 891-9.
4. Boedtker E., Pedersen S.F. The Acidic Tumor Microenvironment as a Driver of Cancer. *Annu Rev Physiol*. 2020; 82: 103-26.
5. Estrella V., Chen T., Lloyd M., Wojtkowiak J., Cormell H.H., Ibrahim-Hashim A., et al. Acidity generated by the tumor microenvironment drives local invasion. *Cancer Res*. 2013; 73(5): 1524-35.
6. Damaghi M., West J., Robertson-Tessi M., Xu L., Ferrall-Fairbanks M.C., Stewart P.A., et al. The harsh microenvironment in early breast cancer selects for a Warburg phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021; 118(3).
7. Bader J.E., Voss K., Rathmell J.C. Targeting Metabolism to Improve the Tumor Microenvironment for Cancer Immunotherapy. *Mol Cell*. 2020; 78(6): 1019-33.
8. Pilon-Thomas S., Kodumudi K.N., El-Kenawi A.E., Russell S., Weber A.M., Luddy K., et al. Neutralization of Tumor Acidity Improves Antitumor Responses to Immunotherapy. *Cancer Res*. 2016; 76(6): 1381-90.
9. Wojtkowiak J.W., Verduzco D., Schramm K.J., Gillies R.J. Drug resistance and cellular adaptation to tumor acidic pH microenvironment. *Mol Pharm*. 2011; 8(6): 2032-8.
10. Bogdanov A.A., Verlov N.A., Bogdanov A.A., Burdakov V.S., Semiletov V.V., Egorenkov V.V., et al. Tumor alkalization therapy: misconception or good therapeutics perspective? - the case of malignant ascites. *Front Oncol*. 2024; 14: 1342802.
11. [Bogdanov A.A., Egorenkov V.V., Volkov N.M., Moiseenko F.V., Molchanov M.S., Verlov N.A., Gulina L.S., Moiseenko V.M. Antitumor efficacy of isolated lower-limb perfusion with a high-pH solution in a rat model of transplantable Pliss lymphosarcoma. *Almanac of Clinical Medicine*. 2021; 49(8): 541-9 (In Russ.)].
12. Hamaguchi R., Ito T., Narui R., Morikawa H., Uemoto S., Wada H. Effects of Alkalization Therapy on Chemotherapy Outcomes in Advanced Pancreatic Cancer: A Retrospective Case-Control Study. *In Vivo*. 2020; 34(5): 2623-9.
13. Hamaguchi R., Narui R., Morikawa H., Wada H. Improved Chemotherapy Outcomes of Patients With Small-cell Lung Cancer Treated With Combined Alkalization Therapy and Intravenous Vitamin C. *Cancer Diagn Progn*. 2021; 1(3): 157-63.
14. Hamaguchi R., Narui R., Wada H. Effects of an Alkalization Therapy on Nivolumab in Esophago-gastric Junction Adenocarcinoma: A Case Report. *Clinics of Oncology*. 2019; 2(1): 1-4.
15. Hamaguchi R., Okamoto T., Sato M., Hasegawa M., Wada H. Effects of an Alkaline Diet on EGFR-TKI Therapy in EGFR Mutation-positive NSCLC. *Anticancer Res*. 2017; 37(9): 5141-5.
16. Hamaguchi R.E.O., Narui R., Wada H. Effects of Alkalization Therapy on Chemotherapy Outcomes in Metastatic or Recurrent Pancreatic Cancer. *Anticancer Research*. 2020; 40(2): 873.
17. Robey I.F., Baggett B.K., Kirkpatrick N.D., Roe D.J., Donescu J., Sloane B.F., et al. Bicarbonate increases tumor pH and inhibits spontaneous metastases. *Cancer Res*. 2009; 69(6): 2260-8.
18. Rahman A., Janic B., Rahman T., Singh H., Ali H., Rattan R., et al. Immunotherapy Enhancement by Targeting Extracellular Tumor pH in Triple-Negative Breast Cancer Mouse Model. *Cancers*. 2023; 15(20): 4931.
19. Tafesh A., Stephanou A. On the Importance of Acidity in Cancer Cells and Therapy. *Biology (Basel)*. 2024; 13(4).
20. Wang Z., Yuan H., Liu M., Yuan J., Chen D. The symbiotic axis between the acidic tumor microenvironment and cancer stem cells: a driver of malignancy and therapeutic resistance. *Front Oncol*. 2026; 16.
21. Ragbunand N., He X., van Sluis R., Mahoney B., Baggett B., Taylor C.W., et al. Enhancement of chemotherapy by manipulation of tumour pH. *Br J Cancer*. 1999; 80(7): 1005-11.
22. Swietach P., Vaughan-Jones R.D., Harris A.L., Hulikova A. The chemistry, physiology and pathology of pH in cancer. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2014; 369(1638): 20130099.
23. Mahoney B.P., Ragbunand N., Baggett B., Gillies R.J. Tumor acidity, ion trapping and chemotherapeutics. I. Acid pH affects the distribution of chemotherapeutic agents in vitro. *Biochem Pharmacol*. 2003; 66(7): 1207-18.
24. Ragbunand N., Mahoney B.P., Gillies R.J. Tumor acidity, ion trapping and chemotherapeutics. II. pH-dependent partition coefficients predict importance of ion trapping on pharmacokinetics of weakly basic chemotherapeutic agents. *Biochemical Pharmacology*. 2003; 66(7): 1219-29.
25. Ansary A., Osman A., El-Khouly M.E. Doxorubicin-loaded pH-responsive porphyrin-derived carbon dots as a promising biocompatible drug delivery system for effective chemotherapy of breast cancer. *RSC Advances*. 2025; 15(9): 6457-73.
26. Kolabi Azar H., Sabouri L., Beheshtizadeh N., Maleki R. pH-stimuli-responsive doxorubicin release and stability in chitosan-Eudragit nanocarriers. *Scientific Reports*. 2025; 15(1): 45428.

27. [Bogdanov A.A., Bogdanov A.A., Lyapunova L.S., Burdakov V.S., Verlov N.A., Moiseenko V.M. In vivo antitumor effect and the influence of alkalization with sodium bicarbonate on the viability and metabolism of CT26 tumor cells. Practical Oncology. 2024; 25(4): 327-35 (In Russ.)].
28. Abumanhal-Masarweh H., Koren L., Zinger A., Yaari Z., Krinsky N., Kaneti G., et al. Sodium bicarbonate nanoparticles modulate the tumor pH and enhance the cellular uptake of doxorubicin. J Control Release. 2019; 296: 1-13.
29. Long W.-b., Pu X., Tang Y., Li M., Liu Y., She Q., et al. Arginine ADP-ribosyltransferase 1 Regulates Glycolysis in Colorectal Cancer via the PI3K/AKT/HIF1 α Pathway. Current Medical Science. 2022; 42(4): 733-41.
30. Bogdanov A., Bogdanov A., Burdakov V., Mitusova K., Moiseyenko V. Antitumor effects of extracellular alkalization: sodium bicarbonate modulates mitochondrial function, lysosomal dynamics and migration activity of cancer cells. Siberian journal of oncology 2026; 25(1): 62-73.
31. Zhang T., Wei Y., Liu Z., Wu Z., Wang X., Li K., et al. In Situ Engineered "Cascade-Amplified" Drug-Loaded Vesicles for Enhanced Cancer Stem Cell Therapy. Journal of Extracellular Vesicles. 2026; 15(5): e70292.
32. Shim N., Kim J., Song S., Yoo H., Kim Y., Oh Y., et al. Cathepsin B-Cleavable Doxorubicin Prodrug Nanoparticles for Eliciting Cancer-Specific Immunogenic Cell Death and Minimizing Systemic Toxicity. Advanced Healthcare Materials. 2026; 15(9): e04414.
33. Abdelatty A., Ahmed M.S., Abdel-Kareem M.A., Dmerdash M., Mady R., Saad A.S., et al. Acute and Delayed Doxorubicin-Induced Myocardiotoxicity Associated with Elevation of Cardiac Biomarkers, Depletion of Cellular Antioxidant Enzymes, and Several Histopathological and Ultrastructural Changes. Life (Basel). 2021; 11(9).