

Desvendando os Segredos do Câncer.pH

Tratamento do câncer acidificando o pH intracelular e alcalinizando o pH intersticial. As duas faces de Judas.

02/02/09

ABMC : Novembro de 2008 revisto em janeiro de 2009

José de Felipe Junior

"Se a Medicina Convencional não surtiu os efeitos desejados temos o direito e o dever como médicos de utilizar os recursos da Medicina Complementar"

Declaração de Helsinki

"Na arte de curar, deixar de aprender é omitir socorro e retardar tratamentos esperando maiores evidências científicas é ser cientista e não médico"

JFJ

"Em primeiro lugar sempre a Medicina Convencional, "

JFJ

"Se a Medicina Convencional não proporcionou os efeitos desejados temos o direito e o dever como médicos de utilizar os recursos da Medicina Complementar"

JFJ

"Nunca devemos trocar uma Medicina pela Outra, porém temos o dever de complementá-la com as Estratégias mais modernas da literatura médica de bom nível disponível"

JFJ

"Na verdade a MEDICINA é uma só"

Vários Autores

"É do médico a responsabilidade do paciente"

Convenção de Helsinque

"As enfermidades são muito antigas e nada a respeito delas mudou. Somos nós que mudamos ao aprender a reconhecer nelas o que antes não percebíamos"

Charcot

"A verdadeira causa das doenças e a MEDICINA ainda não fizeram as pazes. É porque a MEDICINA ainda é muito jovem. E o que dizer dos tratamentos"

JFJ

Os íons H^+ ou mais precisamente H_3O^+ são de importância fundamental na fisiologia e bioquímica da célula. Os íons H^+ possuem a propriedade de construir pontes de hidrogênio entre as moléculas de água produzindo o que chamamos de água estruturada ou água tipo B : baixa densidade, inativa osmoticamente e viscosa. É a água predominante no citoplasma das células quiescentes , que não estão em regime de proliferação (Wiggins-1972).

Pelo fato de funcionar como agente que estrutura a água os íons H^+ são chamados de kosmotropos e comparado com outros agentes que constroem as pontes de hidrogênio o H^+ é considerado um kosmotropo forte.

Nas células neoplásicas predomina a água de alta densidade, ativa osmoticamente e fluída, com escassas pontes de hidrogênio e que chamamos de água desestruturada ou água tipo A. Os íons hidroxila OH^- são agentes que destroem as pontes de hidrogênio e são chamados de íons caotropos sendo considerados agentes desestruturadores ou caotropos fortes.

O citoplasma de todas as células contém dois tipos de água : tipo A e tipo B. Nas células normais predomina a água tipo B e nas células neoplásicas a água tipo A. No citoplasma das células normais o pH é ácido, água estruturada e nas células neoplásicas o pH é alcalino, água desestruturada (Felippe-2008).

O presente trabalho é uma revisão dos fatores químicos que interferem na concentração de H^+ no citoplasma das células neoplásicas, assim como as vias e mecanismos que foram descobertos recentemente. Este conhecimento nos permitirá entender melhor a estratégia que podemos utilizar em clínica nos pacientes com a doença que chamam de câncer.

O pH do sangue normal está entre 7.38 e 7.42. No extracelular de células em estado quiescente, isto é sem proliferação o pH também está entre 7.38 e 7.42 , entretanto nas células em proliferação o extracelular é muito ácido, em geral com pH de 6.9 a 7.0, encontrando-se até valores de 6.0. O pH intracelular de células normais gira em torno de 7.2 e das células em proliferação o pH é francamente alcalino.

A maior fonte de ácidos é a respiração celular, onde a glicólise anaeróbia gera ácido láctico e a fosforilação oxidativa gera CO_2 que no meio aquoso forma ácido carbônico. Na célula normal o ácido láctico segue a via da fosforilação oxidativa mitocondrial com a formação de CO_2 que acidifica levemente o citoplasma. A leve acidificação estrutura a água intracelular e as pontes de hidrogênio construídas permitem a perfeita função das enzimas e das macromoléculas ; mantém a estrutura terciária e quaternária das proteínas e mantém em posição as hélices do RNA e do DNA. Entretanto, quando acontece um excesso de acidificação a função celular é impedida. Neste momento com a finalidade de sobreviver as células aumentam a expressão das bombas de extrusão de H^+ , a principal delas o antiporter NHE1.

Quando as células vão iniciar o processo de proliferação celular seja de uma forma fisiológica para repor células, seja na proliferação celular neoplásica, caracteristicamente o pH citoplasmático torna-se alcalino.

O primeiro trabalho da literatura que implicou o pH citoplasmático na mitose foi escrito por Johnson e Epel em 1976: "O pH intracelular

do embrião do ouriço do mar aumenta 0.3 unidades de pH entre 1 e 4 minutos após a fertilização. O aumento do pH é requerido para o desenvolvimento inicial. O aumento resulta da troca de Na⁺ extracelular por H⁺ intracelular". O aumento de 0.3 u de pH intracelular significa 30 nanomoles a mais de íons alcalinos OH⁻ no citoplasma.

Geralmente o pH extracelular dos tumores é cerca de 0.5 unidades de pH mais ácido que o tecido não neoplásico correspondente; o que significa um aumento de 50 nanomoles de H⁺ no interstício tumoral (Yamagata-1996). O início da proliferação celular por indução da mitose quase sempre é precedido pela alcalinização do citoplasma usualmente desencadeada pela estimulação dos canais de Na⁺ / H⁺ (Tannock -1989). Vários autores verificaram que o pH na zona alcalina ou melhor a alcalose metabólica intracelular é elemento chave na indução e na manutenção do processo neoplásico (Harguindey-1995 , Perona-1988 , Reshkin-2000).

Na literatura surgiram muitos trabalhos mostrando que o aumento do pH intracelular desempenha efeito direto na transformação celular e no desenvolvimento tumoral (Lagarde-1986 , Rotin-1989 , Zettenberg-1981 , Garcia-Canero-1990). Vários estudos têm mostrado categoricamente que a alcalinização citoplasmática com alcalose metabólica intracelular e pH alcalino é fator essencial na transformação tumoral, desenvolvimento tumoral, crescimento celular, sobrevivência neoplásica e produção de metástases (DiGiammarino-2000 , Cameron-1984 , Orive-2003 , Reshkin-2000 , Moolenaar-1983 , Rich-2000).

Hoje sabemos que as células neoplásicas em proliferação tipicamente apresentam no intracelular alcalose metabólica com pH alcalino e no meio intersticial que a circunda, acidose metabólica com pH ácido. O pH alcalino intracelular promove as condições ideais de proliferação mitótica e o pH ácido intersticial por inibir as matrix metaloproteinases do interstício (MMPs) promove condições ideais de invasividade tumoral e de migração das células neoplásicas (metástases) ao lado de diminuir a inibição por contato. A acidose intersticial interfere no sistema imunológico impedindo a ação das células "Natural Killer" e dos linfócitos T citotóxicos e ativando os macrófagos os quais promovem a angiogênese tumoral (Crowther-2001 , Vermeeulen-2004 , Felipe -2008). A acidose intersticial inibe a quimiotaxia, a capacidade bactericida e a atividade respiratória dos neutrófilos ao lado de diminuir a citotoxicidade e proliferação dos linfócitos T (Lardner-2001).

Quando o pH intracelular se desloca para a zona alcalina invariavelmente acontecem os seguintes eventos:

1. ativação da fosfofrutokinase e outras enzimas que promovem o aumento da glicólise anaeróbia, que é o motor da proliferação mitótica, pois fornece ATP para o núcleo
2. ativação da G6PD enzima inicial do ciclo das pentoses que aumenta a síntese de DNA e RNA.
3. inibição da fosforilação oxidativa e do ciclo de Krebs
4. ativação das fases S e G2/M do ciclo celular
5. diminuição da apoptose
6. facilitação da transformação maligna
7. aumento da proliferação celular neoplásica
8. aumento da expressão de oncogenes
9. aumento da atividade de fatores de crescimento
10. aumento da invasividade tumoral
11. aumento da migração celular: metástases
12. aumento da angiogênese
13. aumento da resistência à quimioterapia
14. aumento da resistência á radioterapia

Quando o pH intersticial se desloca para a zona ácida invariavelmente acontecem os seguintes eventos:

1. ativação das matrix-metaloproteinases (MMPs)
 1. aumento da invasividade
 2. aumento da migração celular – metástases
2. diminui a inibição por contato
3. ativação dos macrófagos com aumento da angiogênese
4. inibição das células "Natural Killer"
5. inibição dos linfócitos T citotóxicos

Se um fator externo provocar alcalinização citoplasmática em um grupo de células este aumento de íons OH⁻ no citoplasma aumenta a água tipo A desestruturada a qual diminui o grau de ordem-informação do sistema termodinâmico aberto que é a célula provocando um estado de aumento de entropia que em seu ponto máximo suportável atinge o "estado de quase morte". Neste instante as células para se manterem vivas ativam todos fatores de sobrevivência disponíveis desde tempos remotos, época que éramos seres unicelulares, e para não morrerem elas começam a proliferar. São células doentes lutando contra a morte, lutando contra o estado máximo de entropia.

No cerne da alcalinização citoplasmática das células neoplásicas está a bomba Na⁺ / H⁺ uma estrutura de membrana que troca H⁺ intracelular por Na⁺ extracelular, alcalinizando o citoplasma e acidificando o interstício : bomba NHE1.

Nos mamíferos as NHE (existem 9 isoformas) se localizam na membrana celular e na membrana interna da mitocôndria. Além de interferir na concentração de H⁺ no intracelular elas regulam o volume celular e a reabsorção de NaCl nos rins, intestinos e outros epitélios.

Nas células normais com pH intracelular normal o NHE1 não é funcional, entretanto quando as células começam a produzir íons H⁺ e mudam para pH ácido, o NHE1 é ativado. Nas células transformadas e nas células neoplásicas o NHE1 é hiperativo e a alcalinidade resultante está relacionada diretamente com a velocidade de proliferação celular descontrolada (Reshkin-2000 , Moolenaar-1983 , Rich-2000).

A atividade do NHE1 também está relacionada com a invasão e a motilidade das células tumorais, devido à acidez intersticial (Reshkin-2000 , Klein-2000 , Denker-2002 , Putney-2003 , Lagana-2000 , Bourguignon-2004).

pH intracelular (pHi) e pH extracelular (pHe) dos tumores sólidos

Warburg em 1924 já havia mostrado "in vitro" que a glicólise tumoral depende fortemente dos níveis do pH. Atualmente sabemos que as células neoplásicas apresentam o pH intracelular desviado para o alcalino, o pH extracelular desviado para o ácido e despolarização da membrana celular, isto é, diminuição do potencial trans-membrana ou baixo Em (Cone-1971 , Lang-1988, Marino-1994, Hagmat-1972, Bingelli-1980 , Sun-2003).

Nas situações que o paciente já recebeu vários tipos de quimioterápicos e está resistente a múltiplas drogas ("MDR") invariavelmente encontram-se as alterações acima descritas (Keizer-1989 , Roepe-2001 , Hoffman-1996 , Perek-2002 , Weinsburg-1999).

Uma das razões da resistência dos tumores à quimioterapia é a falência destas drogas em provocar acidificação da célula neoplásica (Torigoe-2002 , Belhoussine-1999). De fato, drogas usadas na quimioterapia como a adriamicina, cisplatina, paclitaxel e camptotecin são incapazes de provocar apoptose quando o citoplasma não está acidificado (Keizer-1989 , Reshkin-2003 , Murakami-2001, Goossens-2000 , Mayer-1986).

Demonstrou-se que o pH no citoplasma é alcalino tanto nas células leucêmicas como nos tumores sólidos do endoderma, mesoderma e endoderma. Em nenhuma outra moléstia humana encontra-se este tipo de anomalia.

Este gradiente de pH da célula cancerosa – alcalino dentro e ácido fora – parece ser uma característica fundamental de todas as células neoplásicas. Alguns autores acreditam que se encontrarmos métodos que acidifiquem o intracelular e alcalinizem o extracelular possivelmente estaremos resolvendo o problema que chamamos câncer.

Este é um modo muito simplório de pensar, visto que como já demonstramos em estudos anteriores (Felippe- 2003, 2004 , 2005 , 2006, 2007, 2008) as células neoplásicas não podem ser consideradas como inimigas. Elas são células doentes tentando sobreviver e necessitam de tratamento e não de aniquilação. Entretanto, vamos continuar com esta revisão do câncer à luz do equilíbrio ácido – básico que se relaciona intimamente com a estruturação / desestruturação da água intracelular.

Nas células neoplásicas em fase de proliferação predomina e o ciclo de Embden-Meyerof que gera quantidades crescentes de ácido láctico e o ciclo das pentoses que sintetiza DNA e RNA. Para continuar proliferando a célula cancerosa além de ativar o antiporter Na⁺/H⁺ (saída de H⁺ e entrada de Na⁺) também ativa o simporter lactato / H⁺ (saída de lactato e saída de H⁺ do citoplasma). Essas duas bombas provocam a alcalinização do citoplasma e conseqüentemente ativam a fosfofrutokinase e a glicose-6-fosfato-dehidrogenase a primeira ativa o ciclo de Embden-Meyerof e a segunda o ciclo das pentoses (Wahl-2002, Parkins- 1997, Yamagata-1998).

As células neoplásicas são capazes de colocar em ação outros sistemas de transporte adquiridos pelas células normais durante a Evolução e que agora são utilizados para sobreviver ao "estado de quase morte". As células normais também utilizaram esses mesmos mecanismos para sobreviver desde os tempos remotos da unicelularidade.

Existem vários sistemas de transporte que provocam a alcalinização citoplasmática por extrusão do H⁺, ao lado do NHE1:

- a- anidrases carbônicas
- b- vacuolar H⁺-ATPases
- c- simporter H⁺/Cl⁻
- d- simporter lactato/H⁺
- e- bomba Na⁺/K⁺ ATPase (estimula a NHE1)
- f- antiporter Na⁺/H⁺ ou NHE1

Sabemos que a proliferação mitótica se faz em meio alcalino e que o intenso metabolismo anaeróbico das células malignas com aumento exagerado da produção de ácido láctico acidifica o meio intracelular e impede a proliferação celular. Como mecanismo de sobrevida as células malignas aumentam a expressão das anidrases carbônicas de membrana CAIX e CAXII, as quais transportam para o meio extracelular o excesso de íons H⁺ acidificando o interstício e alcalinizando o intracelular propiciando de um lado a invasividade tumoral e de outro alcançando o pH citoplasmático ideal para proliferação mitótica. A acetazolamida um forte inibidor das anidrases carbônicas IX e XII e possui efeitos anti tumorais (Felippe-2007).

Para Ivanov as anidrases CAIX e CAXII se encontram somente nas células normais altamente especializadas. Entretanto, nas células transformadas acontece aumento da expressão destas enzimas como mecanismo de sobrevivência (Ivanov-2001). Para Zavadova a expressão da anidrase carbônica CAIX se restringe à mucosa do trato alimentar, porém, ela está presente em alta porcentagem de cânceres humanos, tecidos que normalmente não é encontrada (Zavadova-2005). Nestes tecidos ela é induzida pela acidose intracelular e a hipoxia.

O principal responsável pela alcalinização citoplasmática continua sendo a bomba antiporter Na⁺/H⁺, entretanto precisamos lembrar que no melanoma esta bomba não é o principal fator responsável pelo desequilíbrio do pH.

É interessante assinalar que vários agentes carcinogênicos são capazes de ativar a bomba NHE1, provocando alcalose intracelular, acidose intersticial e despolarização da membrana celular:

- 1- forbol ester
- 2- diacil-glicerol
- 3- p-glicoproteína
- 4- tirosina-kinase
- 5- proteína kinase C
- 6- TGF-alfa
- 7- IGF-II
- 8- vários fatores de crescimento: EGF, PDGF, etc...
- 9- oncogenes
- 10- vanadato
- 11- flúor
- 12- cloreto de alumínio (AlCl₃)
- 13- várias drogas e agentes químicos considerados carcinogênicos

Os seguintes fatores são capazes de ativar o antiporter NHE1 provocando neoangiogênese:

- 1. IL-1 aumenta também a atividade da H⁺-ATPase
- 2. IL-8
- 3. EGF
- 4. PDGF
- 5. G-CSF
- 6. GM-CSF
- 7. TNF-alfa
- 8. HGF/SF
- 9. TGF-alfa
- 10. IGF-I
- 11. Angiotensina II
- 12. Insulina
- 13. PGE2 induz alcalose intracelular independente do NHE1

Tanto o EGF como o PDGF, fatores de crescimento no câncer, ativam a fosforilação da proteína tirosino-kinase (PTK), alcalinizam o intracelular e promovem aumento passageiro do cálcio por liberação das reservas do intracelular o que ativa a glicose-6-fosfato-dehidrogenase (G6PD) do ciclo das pentoses desencadeando a síntese de DNA, RNA e o aumento da proliferação celular.

Por outro caminho a PTK promove a hidrólise do fosfatidil-inositol-bifosfato produzindo diacil-glicerol e inositol-trifosfato (IP3). O diacil-glicerol estimula a proteína-kinase C que estimula o antiporter NHE1, alcaliniza o citoplasma e no final aumenta a síntese de DNA . O IP3 mobiliza cálcio das reservas do intracelular que ativa a G6PD (Moolenaar-1985 e1986).

Sparks mostrou pela primeira vez na literatura que nas células transformadas a ativação da Na⁺/K⁺ ATPase induz um ciclo vicioso de ativação da NHE1 (Sparks-1983).

Algumas drogas ativam o NHE1 , alcalinizam o citoplasma, porém não induzem a proliferação celular. O motivo é que tais efeitos são de pouca intensidade e principalmente de curta duração.

- 1. catecolaminas
- 2. bradicinina
- 3. cafeína
- 4. teína
- 5. fatores quimiotáticos

6. ceruleína
7. ferricianide
8. ácido retinóico

Em resumo podemos escrever que as evidências experimentais mostram que :

1. todos fatores de crescimento potencialmente induzem a ativação do NHE1,
2. na ausência de fatores de crescimento a proliferação celular pode ser induzida pela alcalinização citoplasmática,
3. a resposta proliferativa é dependente de sódio extracelular,
4. inibidores específicos da NHE1 bloqueiam a resposta proliferativa induzida pelos fatores de crescimento, e
5. células que não possuem NHE1 apresentam divisão celular de baixa velocidade

O outro lado da face de Judas : o lado bom

Várias drogas funcionam inibindo o NHE1. Elas acidificam o intracelular e provocam diversos efeitos anticarcinogênicos tais como, diminuição da proliferação celular, indução da apoptose, inibição da angiogênese e diminuição da invasividade tumoral e das metástases:

1. Squalamina: diminui a proliferação celular e a angiogênese (Moore-1993)
2. Sulindac: induz apoptose e diminui a angiogênese tumoral
3. Genisteína: inibe a tirosina-quinase, a proteína tirosino-quinase, a proliferação das células endoteliais, a migração celular, a transcetolase e a G6PD do ciclo das pentoses e inibe a ativação da plasminogênio-urokinase (Felippe-2006)
4. Captopril: diminui a angiogênese (Vogt-1997, Volpert-1996, Adachi-1999)
5. Amiloride: diminui a atividade da plasminogênio-urokinase
6. Edelfosine: diminui a angiogênese
7. Somatostatina: aumenta Bax e p53 e provoca apoptose (Thangaraju-1999)
8. Progesterona, mas não a 20 alfa Hidroxiprogesterona (Chien-2007)
9. Cimetidine
10. Clonidine
11. Harmaline

A somatostatina inibe o NHE1 e a bomba H⁺-ATPase provocando acidificação intracelular e induzindo a p53 e o Bax que são fatores apoptóticos. A somatostatina também inibe a G6PD e a transcetolase e assim dificulta a produção de DNA e RNA no ciclo das pentoses.

A progesterona natural, mas não a 20 alfa hidroxiprogesterona provoca inibição não genômica da bomba NHE1, acidifica o citoplasma e suprime a resposta celular a mitógenos. A progesterona natural é um imunomodulador que suprime a ativação das células T durante a gestação. Este é o primeiro trabalho da literatura mostrando que a progesterona inibe o antiporter NHE1 (Chien-2007).

Outras drogas acidificam o intracelular por mecanismo diferente da inibição da NHE1 e portanto provocam o mesmo tipo de efeitos anticarcinogênicos :

1. Warfarin: diminui a síntese de prostaglandinas, acidifica o citoplasma e diminui a angiogênese tumoral.
2. Suramin: inibe a H⁺-ATPase e diminui a angiogênese e a proliferação tumoral
3. Staurosporina: induz acidificação intracelular por mecanismo desconhecido e diminui a angiogênese.
4. Lovastatina: induz acidificação intracelular e provoca apoptose (Pérez-Sala-1995).
5. Digitálicos
6. Acetazolamida : inibidor da anidrase carbônica

A lovastatina diminui a isoprenilação das proteínas, acidifica o citoplasma, aumenta a degradação do DNA e provoca finalmente a apoptose celular. O pH citoplasmático chega a decrescer 0.9 unidades (aumento de 90 nanomoles de H⁺) e o efeito é dose dependente, isto é, quanto maior a dose de lovastatina maior a indução de apoptose.

A apoptose promovida pela lovastatina é inibida pela suplementação com mevalonato, pela ativação da proteína-quinase C e pela inibição da síntese proteica fatores estes que promovem a alcalinização do meio intracelular (Pérez-Sala-1995).

Já vimos que a acidificação do intracelular por ex., inibindo o antiporter NHE1, abole uma série de fatores de crescimento, aumenta a apoptose e induz a parada do ciclo celular mitótico (Rotin-1987, Vairo-1992, Doppler-1985, Boscoboinik-1989, Sanchez-Perez-1995).

Do lado oposto a alcalinização do intracelular por ex., por drogas que ativam o antiporter NHE1 facilita a ação dos fatores de crescimento, diminui a apoptose e acelera o ciclo celular e assim induzem o insucesso do tratamento do câncer, sendo portanto formalmente contra-indicadas nos pacientes com câncer (DiGiammarino-2000, Gillies-1990, Terradez-1993):

1. imidazol
2. cloroquina
3. glutatona
4. mevalonato
5. fatores que ativam a proteína-quinase C

Muitas substâncias capazes de induzir apoptose nas células neoplásicas são capazes também de provocar acidificação intracelular (Park-1999, Wolf-1997, Overbeeke-1999, Angoli-1996, Furlong-1997, Matsuyama-2000, Rebollo-1995, Li-1995, Luo-1994, Hamilton-1993, Zanke-1998, Shrode-1997, Gottlieb-1995, Roepe-1993, Garcia Canero-1999, Tannock-1989, Murakami-2001, Goossens-2000, Barry-1993, Altan-1998).

Lembrar que acidificação intracelular significa aumento da água tipo B, estruturada, fisiológica com caráter entrópico negativo e que provoca alto grau de ordem-informação no sistema termodinâmico celular.

Acidose intracelular por inibição da extrusão do ácido láctico pelos bioflavonoides

Os bioflavonoides são potentes inibidores da extrusão de ácido láctico nas células do tumor de Ehrlich. Os mais potentes são aqueles que possuem de 4 a 5 grupos hidroxila como a quercetina que é capaz de inibir até 50% do fluxo de lactato na dose de 0,1 microgramos. Nota-se também diminuição parcial da produção de lactato. Este efeito é secundário à acidificação das enzimas glicolíticas, principalmente da fosfofrutokinase que necessita de um pH alcalino ideal para o seu integral funcionamento (Belt-1979).

Alguns bioflavonoides inibem a glicólise anaeróbia interferindo no ADP e no fosfato inorgânico que são requeridos na glicólise. Os bioflavonoides e principalmente a quercetina inibem também a bomba Na⁺/K⁺ - ATPase.

A quercetina inibe a proliferação de vários tipos de células tumorais em cultura em doses muito pequenas, da ordem de 5 a 20 microgramos por ml de meio de cultura (Soulina-1975).

O problema em clínica é que a quercetina é pobremente absorvida pelo trato gastrointestinal, o que levou o cientista brasileiro e grande professor Helion Povoas sugerir o seu uso por via sub-lingual.

Acidose Metabólica no Câncer

Conhecemos muitos relatos na literatura de regressão espontânea do câncer relacionadas com a acidificação do organismo tanto em

animais como em seres humanos.

O primeiro trabalho da literatura mostrando os efeitos curativos da acidose no câncer talvez tenha sido escrito por Ana Goldfeder onde relatou "o tratamento acidótico das neoplasias" (Goldfeder-1933).

Em 1931 Meyer associou a indução de acidose metabólica local ou sistêmica com as regressões do câncer provocadas pelas toxinas do soro de Coley e outros processos que provocavam febre (Mayer-1931, Reding-1928 e 1929 - in Harguindey-2005).

Anghieri usando o cloreto de amônio, Selawry o ácido láctico, Harguindey o ácido clorídrico e Verne e Mori o ácido acético, repetidamente observaram regressões completas de vários tipos de tumores implantados em animais. Entretanto, os estudos em animais são de curto prazo e os autores não mostram as estatísticas de sobrevivência. A acidose metabólica prolongada e acentuada aumenta o índice de caquexia e provoca arritmias ventriculares inclusive parada cardíaca.

Existem muitos relatos de regressões tumorais em pacientes submetidos a uretero-sigmoidostomia, procedimento que provoca acidose metabólica importante e constante (Mahoney-1960 , Harguindey-1975). Gatenby em 2002 considerou a azotemia com moderada acidose metabólica a responsável pelo aumento de sobrevida e redução das metástases nos pacientes com câncer que se submetem a nefrectomias.

A moderada acidose metabólica proporciona estruturação da água citoplasmática e provoca a regressão do tumor com aumento da sobrevida, porque atingimos o cerne da fisiopatogenia do câncer, que é o estado de quase morte provocado pelo grave aumento da entropia celular (Felipe-2008).

Entretanto, se a acidose for intensa e de longa duração ela facilita a invasividade tumoral e as metástases por ativar as metaloproteinases da matrix extracelular (MMPs) assim como impede a ação do sistema de defesa do hospedeiro inibindo os linfócitos T citotóxicos e as células "Natural Killer".

Cruelmente a acidose intersticial peri-tumoral ativa os macrófagos os quais aumentam a produção de fatores que promovem a neo-angiogênese tumoral (Crowther-2001 , Vermeulen-2004). Quando o pH se reduz no interstício acontece inibição da quimiotaxia, da capacidade bactericida e da atividade respiratória dos polimorfonuclear leucócitos ao lado da diminuição da citotoxicidade e da proliferação dos linfócitos T (Lardner-2001).

Alcalose Metabólica no Câncer

Quando um típico fibroblasto humano diplóide cresce em tampão bicarbonato com pH variando de 6.9 a 8.0 o crescimento é limitado por um mecanismo chamado inibição por contato. Este fato independe do tipo de tampão, sendo crucial o nível do pH do meio que circunda a célula. Quando o meio é ácido ocorre diminuição da inibição por contato e a proliferação celular é maior. Tudo indica que a inibição do crescimento por contato é fortemente dependente do pH (Ceccarini-1971).

Existem algumas diferenças importantes assim como muitas semelhanças entre as células normais e as células neoplásicas. As células neoplásicas crescem muito bem em pH ácido e portanto são menos susceptíveis à inibição por contato, entretanto quando bicarbonato é colocado no meio as células cancerosas sofrem um declínio no crescimento (Ceccarini-1971).

O pH ácido intersticial diminui a inibição por contato e facilita a proliferação celular. Pelo contrário, o pH alcalino aumenta a inibição por contato e dificulta o crescimento celular diminuindo a proliferação celular.

O médico italiano Tullio Simoncini relata a evolução benéfica de vários tipos de câncer em pacientes submetidos a alcalose metabólica de média intensidade e longa duração. O autor utilizou solução de bicarbonato de sódio a 5% por via intravenosa, via oral, intraperitoneal e intratecal que além de alcalinizante é hiperosmolar.

Em seu site : <http://www.curenaturalcancro.com> , o oncologista italiano com o emprego do bicarbonato de sódio hipertônico mostra como evoluiu vários tipos de câncer , nos mais variados locais : colo- retal, próstata , mama, carcinoma terminal de cervix de útero , carcinomatose peritoneal de adenocarcinoma de endométrio, linfoma não Hodgkin, metástase cerebral de melanoma difuso, melanoma de olho , sarcoma de Ewing, câncer de pulmão, câncer de bexiga, metástases hepáticas de colangiocarcinoma, carcinoma hepático, carcinoma hepático com metástase pulmonar, etc..

Casos clínicos do Dr Tullio Simoncini:

Caso 1: Paciente com diagnóstico de neoplasia pulmonar iniciou tratamento com bicarbonato, antes de se submeter a cirurgia para remoção de parte do pulmão. O bicarbonato foi administrado oralmente, por aerosol e intravenoso. Após a primeira aplicação já notou-se evidente redução dos nódulos e após 8 meses eles não eram mais visíveis. O tratamento também reduziu o tamanho do fígado e os resultados foram confirmados por tomografia computadorizada e Raio-X.

Caso 2: Criança com 9 anos de idade foi hospitalizada e diagnosticado Sarcoma de Ewing do humero direito. Apesar de vários ciclos de quimioterapia foi necessário remover o humero. Três massas tumorais continuaram a crescer apesar dos esforços para parar a progressão. Iniciou-se o tratamento com bicarbonato de sódio por cateter em artéria subclávia direita (500 ml a 5%) para administrar a solução diretamente nas massas tumorais. Das 3 massas vistas na tomografia de 7 de maio de 2001. cujas dimensões eram de 6,5 cm, 4,4 cm e 2,4 cm somente 1 delas persistiu com 1,5 cm, com aparência de cicatriz residual, como mostrado na tomografia de 10 de setembro de 2001.

Caso 3: Paciente com 62 anos submeteu-se a cirurgia de adenocarcinoma endometrial em dezembro de 1998, seguida de ciclos sucessivos de radioterapia e terapêutica anti-hormonal. Após o espessamento do peritônio e o crescimento de vários linfonodos devido a carcinomatose a paciente piorou do estado geral, apresentou edema generalizado, meteorismo abdominal, evacuações irregulares e instabilidade da pressão arterial. O tratamento com bicarbonato de sódio a 5% administrado alternadamente por cateter endoperitoneal e via intravenosa provocou rápida melhora nas condições de saúde. Uma tomografia final confirmou a regressão da carcinomatose peritoneal e a estabilização do tamanho dos linfonodos quando comparados com o ano anterior.

Caso 4: Paciente com 40 anos de idade foi submetida a mastectomia radical esquerda por carcinoma de mama há 7 meses. Depois de 3 meses de quimioterapia a paciente apresentou metástases pulmonar e hepática difusas; metástases ósseas particularmente na quinta e sexta vértebras lombares , com invasão e compressão do canal medular, o que causava dor extrema e não responsiva a qualquer tratamento. Todas as drogas supressoras da dor , incluindo a morfina, foram totalmente ineficazes e a paciente estava totalmente prostrada e incapaz de dormir. Iniciou-se o bicarbonato de sódio em injeções lombares. Ao administrar 50 ml de bicarbonato de sódio 5% lentamente via punção lombar a paciente diz ao Dr Simoncini que somente conseguiu dormir 2 horas na última semana. Após esta primeira aplicação a paciente conseguiu dormir a noite inteira. Após mais duas injeções lombares no mês seguinte a dor desapareceu completamente. As imagens de Ressonância Magnética antes e após o tratamento foram de acordo com o radiologista chefe , surpreendentes.

Considerações Finais

Autores sérios e sem conflito de interesse, isto é, aqueles que não recebem proventos da Indústria Farmacêutica afirmam que as drogas quimioterápicas geralmente estão desenhadas no velho conceito de "combater o DNA" . Assim sendo nos últimos 60 anos persiste o velho modo de tratar o câncer atacando o falso vilão DNA e deste modo invariavelmente os tratamentos do câncer continuam a fracassar (Gajate-2002 , Bhujwala-2001 in Harguindey-2005).

Outros autores do mesmo grau de seriedade e de pensamento independente afirmam que os quimioterápicos são geralmente os responsáveis por exacerbar o fenótipo maligno por induzir a parada da apoptose e desta maneira facilitar a progressão do câncer (Torigoe-2002 , Rockwell-2001).

Os fatos acima são observados frequentemente no consultório dos profissionais que praticam medicina interna. Os pacientes chegam sem apetite, com extremo cansaço, muita dor e a indicação dos especialistas em câncer nestes casos são os cuidados paliativos e o diagnóstico deles é brilhante: paciente "Resistente a Múltiplas Drogas", como se a responsabilidade por esse fato fosse do paciente. É o famoso paciente "MDR".

Quando o organismo se contamina com metais tóxicos, aditivos alimentares, agrotóxicos, parabeno dos cosméticos, flúor do creme dental ou da água mineral do Supermercado, sofrem infecções virais, etc., a fisiologia celular de um grupo de células é prejudicada.

Estes elementos estranhos ao organismo provocam inflamação crônica sub-clínica que lentamente diminui os osmolitos kosmotropos do intracelular e vagarosamente transformam a água B estruturada em água A desestruturada a qual gradativamente diminui o grau de

ordem-informação do sistema termodinâmico deste grupo de células. Ao atingir o ponto máximo suportável de entropia as células entram em um "estado de quase morte". Neste ponto de baixa concentração de osmolitos citoplasmáticos, domínio de água A e alta entropia as células se transformam e lutam para se manterem vivas e o único modo de sobreviver é através da proliferação. Elas imediatamente colocam em ação mecanismos milenares de sobrevivência, justamente aqueles que nos mantiveram vivos no Planeta durante a Evolução. Desta forma ocorre ativação de fatores e vias de sinalização, ativação do NHE1 com alcalinização citoplasmática e ativação da glicólise anaeróbia, etc, os quais promovem a proliferação celular neoplásica, a diminuição da apoptose, a formação de novos vasos e o impedimento da diferenciação celular (Felippe fevereiro e maio de 2008).

Outros fatores que podem desencadear inflamação crônica sub-clínica e consequentemente transformação neoplásica são os campos eletromagnéticos provocados por cabos de alta tensão, torres de celular, transformadores, etc. Menos conhecidos dos médicos porém muito estudados são as zonas geopatogênicas dos veios subterrâneos e da rede de Hartman. O oncologista Hans Niepper, Ex-Presidente da Sociedade Alemã de Oncologia mostrou que 70% dos pacientes com câncer dormem ou trabalham em zonas geopatogênicas (Felippe-2003-2004-2005-2006-2007-2008).

A quimioterapia e a radioterapia são fatores extras de aumento da entropia e diminuição do grau de ordem-informação das células neoplásicas e aquelas que não morrem saem mais fortalecidas, com os seus mecanismos de sobrevivência ainda mais aguçados. Este nicho de células sobreviventes é a razão das incontáveis falhas terapêuticas deste tipo arcaico de estratégia.

Devemos nos lembrar que a regressão do tumor não significa a cura do paciente. A doença não é simplesmente o tumor visível , a doença é do organismo todo, que deve ser tratado com todo respeito bioquímico, fisiológico, toxicológico, eletromagnético, psicológico e espiritual.

Temos que retirar do organismo metais tóxicos, aditivos alimentares e agrotóxicos; afastar o paciente de campos eletromagnéticos e de zonas geopatogênicas; ensinar uma alimentação da agricultura orgânica e ecológica com 70% dos alimentos crus para elevar o grau de ordem das células; cuidar do sono; orientar para orar; rezar e praticar meditação ao lado de colocar em bom funcionamento o sistema imunológico, digestivo e endócrino.

Conclusão

Nos aproximamos cada dia mais de um novo tempo em que, conhecendo o funcionamento das células normais na sua intimidade, podemos encarar o organismo de uma forma mais inteligente. E, se conhecemos a fisiologia de uma célula normal consequentemente sabemos, ou estamos muito perto de saber o que é uma célula dita cancerosa, dita maligna.

Quando éramos seres unicelulares lá nos tempos remotos da nossa existência conseguimos nos manter vivos graças aos mecanismos de sobrevivência adquiridos durante a nossa Evolução no Planeta. As células neoplásicas nada mais são do que "carne da nossa própria carne" que, possuindo mecanismos idênticos aos que garantiram a nossa sobrevivência durante o processo de evolução, estão tão aptas quanto as células normais a sobreviver nas condições mais adversas possíveis.

Quando um grupo de células do nosso corpo começa a sofrer, algumas morrem; entretanto, a maioria coloca em ação os mecanismos de sobrevivência adquiridos desde os tempos remotos. Não são células cancerosas ou malignas são células doentes lutando bravamente para se manterem vivas e o único modo que restou foi proliferar desesperadamente, desordenadamente.

Vamos cuidar das células neoplásicas fornecendo a elas o que necessitam para voltarem a conviver no ambiente social de um corpo saudável , da forma desejada. Os elementos mais simples de conforto para as células é lhes proporcionar de início um pH ideal e uma osmolalidade ideal.

"Não vamos desistir desta luta"

"No mundo não há fracassados e sim desistentes"
Confúcio

Referências bibliográficas

1. Adachi E., Tannock I.F., The effect of vasodilating drugs on pH of tumors, *Oncol. Res.* 11 179-185; 1999.
2. Altan N., Chen Y., Schindler M., Simon S.M., Defective acidification in human breast tumor cells and implications for chemotherapy, *J. Exp. Med.* 187 1593-1598; 1998.
3. Anghieri L.J., Tumor growth inhibition by ammonium chloride induced acidosis, *Int. J. Pharmacol. Biopharm.* 12 320-326; 1975.
4. Angoli D., Delia D., Wanke E., Early cytoplasmatic acidification in retinamide-mediated apoptosis of human promyelocytic cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 229 681-685; 1996.
5. Barry M., Reynolds J.E., Eastman A., Etoposide-induced apoptosis in human HL-60 cells is associated with intracellular acidification, *Cancer Res.* 53 2349-2357; 1993.
6. Becker Y. Anticancer role of dendritic cells (DC) in human and experimental cancers-a review. *Anticancer Res* 12: 511-520; 1992.
7. Belhoussine R., Morjani H., Sharonov S., Ploton D., Manfait M., Characterization of intracellular pH gradients in multidrug-resistant tumor cells by means of scanning microspectrofluorimetry and dual-emission-ratio probes, *Int. J. Cancer* 81 81-89; 1999.
8. Belt JA; Thomas JA; Buchsbaum RN; Racker E. Inhibition of lactate transport and glycolysis in Ehrlich ascites tumor cells by bioflavonoids. *Biochemistry*; 18(16): 3506-11, 7 Aug 1979.
9. Bhujwalla Z.M., Artemov D., Aboogye E., Ackerstaff E., Gillies R.J., Natarajan K., Solaiyappan M., The physiological environment in cancer vascularization, invasion and metastasis, in: R.J. Gillies (Ed), *The Tumor Microenvironment: Causes and Consequences of Hypoxia and Acidity*, Novartis Found. Symp., vol. 240, John Wiley and Sons, Chichester, NY, pp. 23-38; 2001.
10. Bingelli R., Cameron I.L., Cellular potentials of normal and cancerous fibroblasts and hepatocytes, *Cancer Res.* 40, 1830-1835; 1980
11. Boscoboinik D., Gupta R.S., Epan R.M., Altered intracellular pH and Na⁺/H⁺ antiport activity in multidrug resistance cell lines, *Cancer Chem. Pharmacol.* 24 s86; 1989.
12. Bourguignon L.Y., Singleton P.A., Diedrich F., Stern R., Gilad E., CD44 interaction with Na⁺ -H⁺ exchanger (NHE1) creates acidic microenvironments leading to hyaluronidase-2 and cathepsin B activation and breast tumor cell invasion, *J. Biol. Chem.* 279; 26991-27007; 2004.
13. Cameron I.L., Intervention of sodium flux as a target for cancer chemotherapy, *New Approaches to Cancer Chemotherapy*, Academic Press, New York, pp. 355-374; 1984.
14. Cañero R.G., Na⁺/H⁺ antiport, in: F.L. Crane, D.J. Morré, H. Löw (Eds.), *Oxidoreduction at the Plasma Membrane: Relation to Growth and Transport*, CRC Press, Boca Raton, pp. 237-246; 1990.
15. Cañero R.G., Trilla C., J. Diego J.P., Gil J.J.D., Cobo J.M., Na⁺: H⁺ exchange inhibition induces intracellular acidosis and differentially impairs cell growth and viability of human and rat hepatocarcinoma cells, *Toxicol. Lett.* 106 215-228; 1999.
16. Ceccarini C; Eagle H. Induction and reversal of contact inhibition of growth by pH modification. *Nature New Biology* vol 233 october 27 1971.
17. Chien EJ, Liao CF, Chang CP, Pu HF, Lu LM; Shie MC; Hsieh DJ; Hsu MT. The non-genomic effects on Na⁺/H⁺ -exchange 1 by progesterone and 20 alphahydroxyprogesterone in human T cells. *J. Cell Physiol*, 211(2): 544-50; May 2007.
18. Cone Jr C.D., Unified theory on the basic mechanism of normal control and oncogenesis, *J. Theor. Biol.* 30, 151-181; 1971.
19. Crowther M, Brown NJ, Bishop ET, Lewis CE. Microenvironmental influence on macrophage regulation and angiogenesis in

- wounds nad malignant tumors. *J Leukoc Biol* 70: 478-490; 2001.
20. Crowther M.; Brow N.J.; Bishop, ET; Lewis, CE. Microenvironmental influence on macrophage regulation of angiogenesis in wounds and malignant tumors. *Biol. 70: 478-490; 2001.*
 21. Dadabayev AR, Sandel MH, Menon AG, Morreau H, Melief CJ, Offringa R, Van Der Burg SH, Rhijn CJ, Ensink NG, Tollenaar RA, Van De Velde CJ, Kuppen PJ. Dendritic cells in colorectal cancer correlate with other tumor-infiltrating immune cells. *Cancer Immunol Immunother* 53: 978-986; 2004.
 22. Denker P, Barber D.L., Ion transport proteins anchor and regulate the cytoskeleton, *Curr. Opin. Cell Biol.* 14 214-220; 2002.
 23. DiGiammarino J., Lee A.D.S., Cadwell C., Zhang W., Bothner B.; Ribeiro R.C, Zambetti G., Kriwacki R.W., A novel mechanism of tumorigenesis involving pH-dependent destabilization of a mutant p53 tetramer, *Nat. Struct. Biol.*(1) 12-16; 2000.
 24. Doppler W., Maly K., Hofmann J., Grunicke H., Inhibition of tumor cell growth by interference with growth factor induced cell proliferation, in: T. Galeotti, A. Cittadini, G. Neri, S. Papa, L.A. Smets (Eds.), *Cell Membranes and Cancer*, Elsevier, Amsterdam, pp. 344-346; 1985.
 25. Felipe JJ. Radicais Livres como Mecanismo Intermediário de Moléstia. In Felipe Jr. Pronto Socorro: Fisiopatologia – Diagnóstico – Tratamento. Ed.Guanabara –Koogan. 1168-1173,1990.
 26. Felipe JJ. Estratégia Biomolecular: uma das Bases da Medicina do Futuro. *Revista Brasileira de Medicina Complementar.* 7(1): 8-9,2001.
 27. Felipe JJ . Em Busca do Mecanismo de Ação Único para o Tratamento das Doenças: Energia Livre - ATP. Um ensaio teórico com evidências experimentais. *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar*, www.medicinacomplementar.com.br . Biblioteca de Câncer. Janeiro. Tema do mês de maio de 2003.
 28. Felipe JJ. Estratégia Terapêutica de Indução da Apoptose, da Inibição da Proliferação Celular e da Inibição da Angiogênese com a Oxidação Tumoral Provocada por Nutrientes Pró Oxidantes. *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar.* www.medicinacomplementar.com.br. Tema do mês de fevereiro de 2003.
 29. Felipe JJ. Fluidez da Membrana: possivelmente o ponto mais fraco das células malignas. *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar.* www.medicinacomplementar.com.br. Tema do mês de maio de 2004.
 30. Felipe JJ. Fluidez da Membrana: possivelmente o ponto mais fraco das células malignas. *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar.* www.medicinacomplementar.com.br. Tema do mês de maio de 2004.
 31. Felipe JJ. Medicina Biomolecular. *Revista Brasileira de Medicina Biomolecular e Radicais Livres.* 1(1): 6-7,1994. Felipe JJ. Desacetilação como mecanismo de controle epigenético do Câncer: Inibição da Proliferação Celular Maligna, Aumento da Diferenciação Celular e Aumento da Apoptose. *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar.* www.medicinacomplementar.com.br. Tema do mês de julho de 2004.
 32. Felipe JJ. Metabolismo da Célula Tumoral - Câncer como um Problema da Bioenergética Mitocondrial: Impedimento da Fosforilação Oxidativa - Fisiopatologia e Perspectivas de Tratamento. *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar.* Tema do mês de agosto de 2004.
 33. Felipe JJ. Tratamento do Câncer com Medidas e Drogas que Acordam Genes Silenciados pela Metilação das ilhas CpG do DNA. *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar.* www.medicinacomplementar.com.br. Tema do mês de abril de 2004.
 34. Felipe JJ. Tratamento do Câncer com medidas e drogas que inibem o fator nuclear NF-kappaB. *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar.* www.medicinacomplementar.com.br. Tema do mês de fevereiro de 2004.
 35. Felipe, J.J. Câncer: população rebelde de células esperando por compaixão e reabilitação. *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar .* www.medicinacomplementar.com.br . Biblioteca de Câncer. Tema da semana de 16/05/05.
 36. Felipe JJ. Tratamento do Câncer com medidas e drogas que inibem o fator nuclear NF-kappaB. *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar.* www.medicinacomplementar.com.br. Tema do mês de fevereiro de 2004.
 37. Felipe JJ . Câncer e Inibidores do STAT-3 : Curcumina , Partenolide e Resveratrol *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar*, www.medicinacomplementar.com.br . Biblioteca de Câncer. Tema do mês de outubro de 2007.
 38. Felipe JJ . Dicloroacetato e Câncer: Aumenta a Apoptose e Diminui a Proliferação Celular Maligna . *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar*, www.medicinacomplementar.com.br . Biblioteca de Câncer. Tema do mês de maio de 2007.
 39. Felipe JJ . Câncer e Inibidores da SAP/MAPK (JNK/MAPK , ERK/MAPK , p38/MAPK): Resveratrol , Tangeritina e Ligustilide, *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar*, www.medicinacomplementar.com.br . Biblioteca de Câncer. Tema do mês de abril de 2008
 40. Felipe JJ. Água: vida-saúde-doença-envelhecimento-câncer: *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar.* www.medicinacomplementar.com.br. Tema do mês de fevereiro de 2008.
 41. Felipe JJ. Desvendando os segredos do câncer: *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar.* www.medicinacomplementar.com.br. Tema do mês de maio de 2008.
 42. Felipe Jr. Câncer e Tiosulfato de sódio : diminuição da proliferação celular do carcinoma epidermoide humano com um forte estruturador de clusters da água intracelular. *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina* *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar.* www.medicinacomplementar.com.br , 22/03/2008.
 43. Felipe Jr. Epigalocatequina-galato, ácido ascórbico, prolina, magnésio, cálcio, selênio, cobre e manganês são fortes estruturadores da água intracelular e provocam a inibição da proliferação, da invasividade e das metástases do câncer de pulmão, próstata, mama, pâncreas, bexiga, cérebro, testículo, mesotelioma, melanoma e fibrosarcoma. *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina* *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar.* www.medicinacomplementar.com.br , junho de 2008 .
 44. Felipe, JJ. Inflamação Crônica Subclínica - Peste Bubônica do Século XXI - Mecanismo Intermediário da Maioria das Moléstias que Afligem a Humanidade. *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar .* www.medicinacomplementar.com.br . Biblioteca de Câncer. Tema da semana de junho de 2008.
 45. Furlong I.J., Ascaso R., Rivas A.L., Collins M.K.L., Intracellular acidification induces apoptosis by stimulating ICE-like protease activity, *J. Cell Sci.* 110 653-661; 1997.
 46. Gajate C., Mollinedo F., Biological activities, mechanisms of action and biomedical prospect of the antitumor ether phospholipid ET-18-OCH3 (Edelfosine), a proapoptotic agent in tumor cells, *Curr. Drug Metab.* 3 491-525; 2002.
 47. Gatenby R.A., Gawlinski E.T., Tangen C.M., Flanigan R.C., Crawford E.D., The possible role of postoperative azotemia in enhanced survival of patients with metastatic renal cancer after cytoreductive nephrectomy, *Cancer Res.* 62 5218-5222; 2002.
 48. Gerweck LE, Seetharaman K. Cellular pH gradient in tumor versus normal tissue: potential exploitation for the treatment of cancer. *Cancer Res* 56: 1194-1198; 1996.
 49. Gillies R.J., Zaguiian R.M., Martinez G.M., Serrano R., Perona R., Tumorigenic 3T3 cells maintain an alkaline intracellular pH under physiological conditions, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87 7414-7418; 1990.
 50. Goldfeder A, Theoretical basis for the acidotic treatment of neoplasia, *Am. J. Surg.* 19 307-312; 1933.
 51. Goossens J.F., Henichart J.P., Dassonneville L., Facompre M., Bailly C., Relation between intracellular acidification and camptothecin-induced apoptosis in leukemia cells, *Eur. J. Pharm. Sci.* 10 125-131; 2000.
 52. Gottlieb R.A., Giesing H.A., Zhu J.Y., Engler R.L., Babior B.M., Cell acidification in apoptosis: granulocyte colony-stimulating factor delays programmed cell death in neutrophils by up-regulating the vacuolar H⁺ -ATPase, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92 5965-5968; 1995.
 53. Hagmar B., Cell surface charge and metastasis formation, *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 80, 357-366; 1972.

54. Hamilton G., Conentini E.P., Teleky B., Koperna T., Zacheri J., Riegler M., Feil W., Schiessel R., Wenzl E., The multidrug-resistance modifiers verapamil, cyclosporine A and tamoxifen induce an intracellular acidification in colon carcinoma cell lines in vitro, *Anti-cancer Res.* 13(6A) 2059-2063; 1993.
55. Harguindey S., Kolbeck R.C., Bransome E.D. Jr., Ureterosigmoidostomy and cancer: new observations, *Ann. Int. Med.* 83 833; 1975.
56. Harguindey S., Pedraz J.L., Cañero R.G., Diego J. P., Cragoe E.J. Jr., Hydrogen ion-dependent oncogenesis and parallel new avenues to cancer prevention and treatment using a H⁺-mediated unifying approach: pH-related and pH-unrelated mechanisms, *Crit. Rev. Oncog.* 6 (1) 1-33; 1995.
57. Hoffman M.M., Wei L.Y., Roepe P.D., Are altered pH and membrane potential in hu MDR 1 transfectants sufficient to cause MDR protein-mediated multidrug resistance? *J. Cell. Physiol.* 108(4) 295-313; 1996.
58. Ivanov S; Liao SY; Ivanova A; Danilkovitch-Miagkova A; Tarasova N; Weirich G; Merrill MJ; Proescholdt MA; Oldfield EH; Lee J; Zavada J; Waheed A; Sly W; Lerman MI; Stanbridge EJ. Expression of hypoxia-inducible cell-surface transmembrane carbonic anhydrases in human cancer. *Am J Pathol*; 158(3): 905-19, Mar 2001.
59. Johnson JD; Epel D; Intracellular pH and activation of sea urchin eggs after fertilization. *Nature* 262(5570):661-4; 19 aug 1976.
60. Keizer H.G., Joenje H., Increased cytosolic pH in multidrug-resistant human lung tumor cells: effect of verapamil, *J. Natl. Cancer Inst.* 81, 706-709; 1989.
61. Klein M., Seeger P., Schuricht B., Alper S.L., Schwa A., Polarization of Na⁺/H⁺ and Cl⁻/HCO₃⁻ exchangers in migrating renal epithelial cells, *J. Gen. Physiol.* 115, 599-607; 2000.
62. Kozin SV, Shkarin P, Gerweck LE. The cell transmembrane pH gradient in tumors enhances cytotoxicity of specific weak acid chemotherapeutics. *Cancer Res* 61: 4740-4743; 2001.
63. Lagana, A; Vadnais J.; Le P.U., Nguyen T.N., Laprade R., Nabi I.R., Noel J., Regulation of the formation of tumor cell pseudopodia by the Na⁺(+)/H⁺(+) exchanger NHE1, *J. Cell Sci.* 113, 3649-3662; 2000.
64. Lagarde A.E., Pouysségur J.M., The Na⁺/H⁺ antiporter in cancer, *Câncer Biochem. Biophys.* 9 1-14; 1986.
65. Lang F, Oberleithner H., Kolb H.A., Paulmichl M., Völk H., Wang W., Interaction of intracellular pH and cell membrane potential, in: D. Häussinger (Ed.), *pH Homeostasis: Mechanisms and Control*, Academic Press, London, pp. 27-42; 1988.
66. Lardner A. The effect of extracellular pH on immune function. *J Leukoc Biol*; 69: 522-530; 2001.
67. Lardner, A. The effects of extracellular pH on immune function. Department of Biological sciences, Dublin Institute of Technology, Dublin, Ireland. 2001.
68. Li J., Eastman A., Apoptosis in an interleukin-2-dependent cytotoxic T lymphocyte cell line is associated with intracellular acidification, role of the Na⁺/H⁺ antiporter, *J. Biol. Chem.* 270 3203-3211; 1995.
69. Luo J., Tannock I.F., Inhibition of the regulation of intracellular pH: potential of 5-(N,N-hexamethylene) amiloride in tumor-selective therapy, *Br. J. Cancer* 70 617-624; 1994.
70. Mahoney E.M, Complete regression of vesical carcinoma following urinary diversion, *Am. J. Surg.* 100 133-136; 1960.
71. Marino A.A., Iliev I.G., Schwalke M.A., Gonzalez E., Marler K.C., Flanagan C.A., Association between membrane potential and breast cancer, *Tumor Biol.* 15, 82-89; 1994.
72. Matsuyama S., Llopias J., Deveraux Q.L., Tsien R.Y., Reed J.C., Changes in intramitochondrial and cytosolic pH: early events that modulate caspase activation during apoptosis, *Nat. Cell Biol.* 2 318-325; 2000.
73. Mayer L.D., Bally M.B., Cullis P.R., Uptake of adriamycin into large unilamellar vesicles in response to a pH gradient, *Biochem. Biophys. Acta* 857 123-126; 1986.
74. Mayer W., *Cancer-Its Origin, Its Development and Its Self-Perpetuation - The Therapy of Operable and Inoperable Cancer in the Light of a Systemic Conception of Malignancy*, Paul B. Hoeber Inc, New York, 1931.
75. Moolenaar WH, Defize LH, de Laat SW. Calcium in the action of growth factors. *Ciba Found Symp.* 122: 212-31; 1986.
76. Moolenaar WH. Effects of growth factors on intracellular pH regulation. *Biochem Soc Symp* 50: 205-20; 1985.
77. Moolenaar W.H., Tsien R.Y., Van der Saag P.T, Laat S.W.de, Na⁺/H⁺ exchange and cytoplasmic pH in the action of growth factors in human fibroblasts, *Nature* 304 645-648; 1983.
78. Moore K.S., Wehrli S., Roder H., Rogers M., Forrest J.N. Jr., McCrimmon D., Zasloff M., Squalamine: an aminosterol antibiotic from the shark, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90 1354-158; 1993.
79. Mori K., Inhibition of experimental production of liver cancer by addition of acetic acid to the diet, *Gann* 44 429-434; 1953.
80. Murakami T, Shibuya I, Ise T, Chen Z.S., Akiyama S., Nakagawa M., Izumi H., T. Nakamura T, Matsuo K., Yamada Y, Khono K., Elevated expression of vacuolar proton pump genes and cellular pH in cisplatin resistance, *Int. J. Cancer* 93 (6) 869-874; 2001.
81. Orive G., Reshkin S.J., Harguindey S., Pedraz J.L., Hydrogen ion dynamics and the Na⁺/H⁺ antiporter in cancer angiogenesis and antiangiogenesis, *Br. J. Cancer* 89 1395-1399; 2003.
82. Overbeeke R., Yildirim M., Reutenlingsperper C.P.M., Haanen C., Vermes I. Sequential occurrence of mitochondrial and plasma membrane alterations, fluctuations in cellular Ca²⁺ and pH during initial and later phases of cell death, *Apoptosis* 4 455-460; 1999.
83. Park H.J., Lyons J.C., Ohtsubo T., Song C.W., Acidic environment causes apoptosis by increasing caspase activity, *Br. J. Cancer* 80(2) 1892-1897; 1999.
84. Parkins C.S, Stratford M.R., Dennis M.F, Stubbs M., Chaplin D.J., The relationship between extracellular lactate and tumour pH in a murine tumour model of ischaemia-reperfusion, *Br. J. Cancer* 75 319-323; 1997.
85. Perek N., Denoyer D., Dubois F., Koumanov F., Malignant glioma displays altered plasma membrane potential and pH regulation - Interaction with Tc-99m-MIBI and Tc-99m-tetrofosmin uptakes, *Gen. Physiol. Biophys.* 21, 381-404; 2002.
86. Perez I.S, Garcia L.G, Perona R., Role of intracellular pH on jun kinase activation induced by UV light, VI Congress of ASEICA, Barcelona, vol.98, p. 251; 1995.
87. Perona R., Serrano R., Increased pH and tumorigenicity of fibroblasts expressing a yeast proton pump, *Nature* 334 438-440; 1988.
88. Pouysségur J., The growth factor activatable Na⁺/H⁺ exchange system: a genetic approach, in: A. Bradshaw. S. Prentis (Eds.), *Oncogenes and Growth Factors*, Elsevier, Amsterdam, pp. 292-297; 1987.
89. Putney L.K., Barber D.L., Na/H exchange-dependent increase in intracellular pH times G2/M entry and transition, *J. Biol. Chem.* 278 (45) 44645-44649; 2003.
90. Raghunand N, Gillies RJ. pH and drug resistance in tumors. *Drug Resist Updat* 3: 39-47; 2000.
91. Rebollo A., Gómez J., Aragon A.M. de; Lastres P.; Silva A.; Pérez-Sala, D. Apoptosis induced by IL-2 withdrawal is associated with an intracellular acidification, *Exp. Cell Res.* 218 581-585; 1995.
92. Reding E., L'équilibre acide-base et l'équilibre ionique dans le cancer et le precancer, *Cancer (Brux)* 2 97-152; 1928.
93. Reding E., Slosse A., Des caracteres generaux de l'etat cancreux et precancereux, *Bull. Assoc. Fr. Cancer* 18 122-151; 1929.
94. Reshkin S.J., Bellizzi A., Caldeira S., Albarani V., Malanchi I., Poignee M., Fabbroni M.A., Casavola V., Tommasino M.. 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.* 14 2185-2197; 2000.
95. Reshkin S.J., Bellizzi A., Cardone R.A., Tommasino M., Casavola V., Paradiso A., Paclitaxel induces apoptosis via protein kinase A- and p38 mitogen-activated protein-dependent inhibition of the Na⁺/H⁺ exchanger (nHE) Isoform I in human breast cancer cells, *Clin. Cancer Res.* 9 2366-2373; 2003.
96. Rich I.R., White O.A.W., Musk P., Apoptosis of leukemic cells accompanies reduction in intracellular pH after targeted inhibition of the Na⁺/H⁺ exchanger, *Blood* 95 1427-1434; 2000.
97. Rockwell S., Yuan J., Peretz S., Glazer P.M., Genomic instability in cancer, in: R. Gillies (Ed.), *The tumor Microenvironment*:

- Causes and Consequences of Hypoxia and Acidity, Novartis Found. Symp., vol 240, John Wiley and Sons, Chichester, NY, pp. 133-142; 2001.
98. Roepe P.D., pH and multidrug resistance, in: R.J. Gillies (Ed.), *The Tumor Microenvironment: Causes and Consequences of Hypoxia and Acidity*, Novartis Found. Symp., vol 240, John Wiley and Sons, Chichester, NY, pp. 232-247; 2001.
 99. Roepe P.D., Wei L.Y., Cruz J., Carlson D., Lower electrical membrane and altered pH homeostasis in multidrug-resistance (MDR) cells: further characterization of a series of MDR cell lines expressing different levels of P-glycoprotein, *Biochemistry* 32 11042-11056; 1993.
 100. Rotin D., Norwood D.S.; Grinstein S., Tannock I., Requirement of the Na⁺/H⁺ exchanger for tumor growth, *Cancer Res.* 49 205-211; 1989.
 101. Rotin D., Wan P., Grinstein S., Tannock I., Cytotoxicity of compounds that interfere with the regulation of intracellular pH: a potential new class of anticancer drugs, *Cancer Res.* 47 1497-1504; 1987.
 102. Sala DP; Escobar DC; Mollinedo F. Intracellular alkalization suppresses lovastatin-induced apoptosis in HL-60 cells through the inactivation of a pH-dependent endonuclease. *Br J Cancer* Feb; 79(5-6): 793-801; 1999.
 103. Selawry O.S., Swchartz M.R., Growth inhibition of sarcoma 180 by lactic acid, *Proc. Am. Soc. Cancer Res.* 4 61; 1963.
 104. Severin T, Muller B, Giese G, Uhl B, Wolf B, Hauschildt S, Kreutz W. pH-dependent LAK cell cytotoxicity. *Tumours Biol* 15: 304-310; 1994.
 105. Shrode L.D., Tapper H., Grinstein S., Role of intracellular pH in proliferation, transformation, and apoptosis, *J. Bioenerg. Biomembr.* 29 (4) 393-399; 1997.
 106. Soulinna E-M., Buchsbaum R.N., Racker E., the effect of flavonoids on aerobic glycolysis and growth of tumor cells, *Cancer Res.* 35 1865-1872; 1975.
 107. Sparks R.L., Pool T.B., Smith N.K.R., Cameron I.L., Effects of amiloride on tumor growth and intracellular element content of tumor cells in vivo, *Cancer Res.* 43 73-77; 1983.
 108. Sun D., Gong Y., Kojima H., Wang G., Ravinsky E., Zhang M., Minuk G.Y., Increasing cell membrane potential and GABAergic activity inhibits malignant hepatocyte growth, *Am. J. Physiol.: Gastrointest. Liver Physiol.* 285, G12-G19; 2003.
 109. Tannock I.F., Newell K., Rotin D., Therapeutic potential of compounds that inhibit membrane-bound regulation of intracellular pH, *Cancer Chem. Pharmacol.* 46 (Suppl.2) s85; 1989.
 110. Tannock IF, Rotin D. Acidic pH in tumors and its potential for therapeutic exploitation. *Cancer Res* 49: 4373-4384; 1989.
 111. Tannock IF; Rotin D. Acid pH in tumors and its potential for therapeutic exploitation. *Cancer Res*; 49(16): 4373-84, Aug 15 1989.
 112. Terradez P, Asensi M., **M.C. Lasso de la Vega**, Puertes I.R., Viña J., Estrela J.M., Depletion of tumor glutathione in vivo by buthionine sulphoximine: modulation by the rate of cellular proliferation and inhibition of cancer growth, *Biochem. J.* 293 477-483; 1993.
 113. Thangaraju, M; Sharma, K; Liu, D; Shen, S.H; Srikant, C.B. Interdependent regulation of intracellular acidification and SHP-1 in apoptosis. *Cancer Research* 59, 1649-1654, April 1, 1999.
 114. Torigoe T, Izumi H., Ise T, Murakami T., Uramoto H., Ishiguchi H., Yoshida Y., Tanabe M., Nomoto M., Kohno K., Vacuolar H⁺-ATPase: functional mechanisms and potential as a target for cancer chemotherapy, *anti-cancer Drugs* 13 237-243; 2002.
 115. Vairo G., Cockss B.G, Cragoe E.J. Jr., Hamilton J.A., Selective suppression of growth factor-induced cell cycle gene expression by Na⁺/H⁺ antiport inhibitors, *J.Biol. Chem.* 27 19043-19046; 1992.
 116. Vermeulen, ME; Gamberale, R; Trevani, AS; Martínez, D. Ceballos, A; Sabatte, J; Giordano, M; Geffner, JR. The impact of extracellular acidosis on dendritic cell function. *Critical Reviews in Immunology*, 24(5): 363-383; 2004.
 117. Verne J., Roth P.C., The role of different factors which can present experimental cancer, *Arch. Anat. Pathol.* 11 137-140; 1963.
 118. Vogt B., Frey F.J., Inhibition of angiogenesis in Kaposi's sarcoma by captopril, *Lancet* 349 1148; 1997.
 119. Volpert O.V., Ward W.F., Lingen M.W., Captopril inhibits angiogenesis and slows the growth of experimental tumors in rats, *J. Clin. Invest.* 98 671-679; 1996.
 120. Wahl M.L., Owen J.A., Burd R., Herlands R.A., Nogami S.S., Rodeck U., Berd D., Leeper D.B., Owen C.S., Regulation of intracellular pH in human melanoma: potential therapeutic implications, *Mol. Cancer Ther.* 1 617-628; 2002.
 121. Warbug, O , Posener, K and Negelein, E. Ubner den /stoffwechsel der Carcinomzella. *Biochem. Z* 152:309-344,1924
 122. Weinsburg J.H., Roepe P.D., Dzekunov S., Schenberg D.A., Intracellular pH and multidrug resistance regulate complement-mediated cytotoxicity of nucleated human cells, *J. Biol. Chem.* 274, 10888-19877; 1999.
 123. Wiggins, PM. Intracellular pH and the structure of cell water. *J. theor. Biol.* 37, 363-371; 1972.
 124. Wolf Ch M., Reynolds J.E., Morana S.J., Eastman A., The temporal relationship between protein phosphatase. ICE/CED-3 proteases, intracellular acidification, and DNA fragmentation in apoptosis, *Exp. Cell Res.* 230 22-27; 1997.
 125. Wong P., Kleeman H.W., Tannock I.F., Cytostatic potential of novel agents that inhibit the regulation of intracellular pH, *Br. J. Cancer* 87 238-245; 2002.
 126. Yamagata M., Hasuda K., Stamato T., Tannock I.F., The contribution of lactic acid to acidification of tumours: studies of variant cells lacking lactate dehydrogenase, *Br. J. cancer* 77 1726-1731; 1998.
 127. Yamagata M; Tannock IF. The chronic administration of drugs that inhibit the regulation of intracellular pH: in vitro and anti-tumours effects. *Br J Cancer*; 73(11): 1328-34, Jun 1996.
 128. Zanke B.W, Lee C., Arab S., Tannock I.F., Death of tumor cells after intracellular acidification is dependent on stress-activated protein kinases (SAPK/JNK) pathway activation and cannot be inhibited by Bcl-2 expression or interleukin 1 β -converting enzyme inhibition, *Cancer Res.* 58 2801-2808; 1998.
 129. Zavadova Z; Zavada J. Carbonic anhydrase IX (CA IX) mediates tumor cell interactions with microenvironment. *Oncol Rep*; 13(5): 977-82, May 2005.
 130. Zettenberg A., Engstrom W., Mitogenic effect of alkalinity on quiescent, serum starved cells, *Proc. Natl. Cancer Inst.* 78 4334-4438; 1981.