

SZYMON BIELA¹, KATARZYNA WINIARSKA²

Zakład Regulacji Metabolizmu, Instytut Biochemii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

Department of Metabolic Regulation, Institute of Biochemistry, Faculty of Biology; University of Warsaw

Miecznikowa 1, 02-096, Warsaw, Poland

1

[HTTPS://ORCID.ORG/0009-0009-7272-4482](https://orcid.org/0009-0009-7272-4482)

2

[HTTPS://ORCID.ORG/0000-0001-8693-6069](https://orcid.org/0000-0001-8693-6069)

e-mail: k.winiarska5@uw.edu.pl

Nowo odkryte funkcje mleczanu

Newly revealed functions of lactate

https://doi.org/10.36921/kos.2023_2963

Abstrakt

Wbrew wcześniejszym przekonaniom, mleczan nie jest tylko produktem ubocznym glikolizy. Związek ten jest wykorzystywany jako substrat energetyczny i jako prekursor do syntezy glukozy „de novo”. Co więcej, okazało się, że mleczan może działać jako cząsteczka sygnałowa; ma własny receptor błonowy, sprzężony z białkiem G, GPR81 (inaczej HCAR-1). Stwierdzono także, że mleczan, w wyniku kowalencyjnego przyłączenia do reszt lizyny (tzw. laktylacja), może zmieniać właściwości wybranych białek, w tym histonów. W obecnej pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat: 1) metabolizmu mleczanu i mechanizmów transportu tego związku przez błony komórkowe (transportery MCT); 2) znaczenia efektu Warburga (nie tylko w komórkach nowotworowych!); 3) wpływu laktylacji na funkcjonowanie histonów i innych białek; 4) roli receptora mleczanowego GPR81/HCAR-1 w przekazywaniu sygnału. Wskazano również dalsze kierunki badań, szczególną uwagę poświęcając próbom opracowania nowatorskich strategii terapeutycznych, opartych m.in. na modulacji aktywności transporterów MCT.

Słowa kluczowe: mleczan, transportery MCT, efekt Warburga, laktylacja, receptor mleczanowy GPR81/HCAR-1, przekazywanie sygnału

Abstract

Contrary to the previous beliefs, lactate appears to be much more than just an end product of glycolysis. It is utilized as an energetic substrate and as a gluconeogenic precursor. Moreover, it has been recognized as a signal molecule acting via its own protein-G coupled receptor (GPR81 alias HCAR-1). It has been also found that lactate, due to its ability to covalent binding to lysine residues (i.e. lactylation), may change the properties of chosen proteins, including histones. In the present work we summarize the current knowledge concerning: 1) lactate metabolism and transport across

cell membranes (MCT transporters); 2) the importance of Warburg effect (not only in cancerous cells!); 3) the effect of lactylation on the functioning of histones and other proteins; 4) the role of GPR81/HCAR-1 in signal transduction. We also indicate the future research directions, focusing on possible novel therapeutic strategies, based on e.g. the modulation of MCT activity.

Keywords: lactate, MCT transporters, Warburg effect, lactylation, lactate receptor GPR81/HCAR-1, signal transduction

WSTĘP

W 1780 r. Carl Wilhelm Scheele odkrył kwas mlekowy, opracowując procedurę otrzymywania tej substancji z kwaśnego mleka. Niespełna trzydzieści lat później, w 1808 r., Jöns Jacob Berzelius stwierdził obecność mleczanu w ludzkich mięśniach i krwi.

Warto od razu zaznaczyć, że biolodzy znacznie częściej używają terminu „mleczan”, gdyż w fizjologicznym pH (7,35–7,45) ponad 99% kwasu mlekowego (pKa ok. 3,9) jest obecne w formie zdysocjowanej (Brown i Ganapathy 2020). Należy też dodać, że w organizmach żywych występuje L-mleczan; istnieją jednak pewne wyjątki od tej reguły (wrócimy jeszcze do tego tematu). Przez długie dekady mleczan uważano wyłącznie za produkt uboczny metabolizmu (wręcz za „marnowanie” atomów węgla) i nie przypisywano mu większego znaczenia biologicznego. Dopiero w latach osiemdziesiątych XX wieku pojawiły się pierwsze doniesienia wskazujące na istotną rolę mleczanu jako swoistego „łącznika” pomiędzy reakcjami anabolicznymi (glukoneogeneza, glikogenogeneza) a katabolicznymi (glikoliza, glikogenoliza) (Brooks 1986). W miarę dalszego rozwoju badań, stwierdzono, że mleczan jest m.in. źródłem energii dla komórek ośrodkowego układu nerwowego (Colucci i współaut. 2023), cząsteczką sygnałową działającą poprzez własny receptor błonowy (Brown i Ganapathy 2020; Hu i współaut. 2020), a nawet czynnikiem regulującym ekspresję genów (Zhang i współaut. 2019). Wzrosło także zainteresowanie mleczanem w kontekście patogenezy i terapii chorób, przede wszystkim chorób nowotworowych. W dalszej części pracy przedstawimy najnowsze poglądy na temat mleczanu i jego – niejednokrotnie zaskakujących – funkcji biologicznych.

METABOLIZM MLECZANU

Większość obecnego w organizmie mleczanu pochodzi z glikolizy, a dokładniej – z redukcji pirogronianu katalizowanej przez dehydrogenazę mleczanową typu A (LDHA). Ponadto, mleczan może powstawać jako pochodna metabolitów szlaku pentozofosforanowego, metabolitów cyklu kwasów trójkarboksylowych, a także z aminokwasów: alaniny,

cysteiny, seryny oraz treoniny (Zhang i współaut. 2017). W komórkach nowotworowych prekursorem mleczanu może być również glutamina (Brown i Ganapathy 2020). Co więcej, zaobserwowano, że wytwarzanie mleczanu zwiększa się znacząco w pewnych warunkach, np. w hipoksji (stan obniżonej dostępności tlenu) (Izzo i Wellen 2019), podczas wysiłku fizycznego oraz w wielu stanach chorobowych (Li i współaut. 2022). Szczególnie intensywnym wytwarzaniem mleczanu charakteryzują się mózg, mięśnie, skóra, jelita i czerwone krwinki. Szacuje się, że w ciągu doby przeciętny dorosły człowiek produkuje ok. 1500 mmoli mleczanu (Sun i współaut. 2017).

W prawidłowo funkcjonującym organizmie mleczan jest sprawnie usuwany z krwiobiegu, stanowiąc źródło energii (na drodze fosforylacji oksydacyjnej) bądź stając się substratem glukoneogenezy, preferencyjnie wykorzystywanym w nerkach (szacuje się, że ponad połowa glukozy powstającej w tych narządach pochodzi właśnie z mleczanu). Ponadto, w wielu stanach patologicznych mleczan może nagromadzać się w organizmie (tzw. kwasica mleczanowa), co stanowi złą prognozę dla pacjentów, wiążąc się też z wysoką śmiertelnością (Sun i współaut. 2017).

TRANSPORTERY MLECZANU

Transportery monokarboksylianów (MCT) katalizują, sprzężony lub niesprzężony z protonami, transport przez błony biologiczne cząsteczek takich jak mleczan, pirogronian, ciała ketonowe oraz krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe. Dzięki temu MCT odgrywają znaczącą rolę w utrzymaniu wewnątrzkomórkowego pH. MCT występują w większości tkanek; szczególnie intensywnie są ekspresjonowane w nerkach i wątrobie. Nieprawidłowy MCT często jest skorelowany z występowaniem różnych chorób, m. in. nowotworów (Felmlee i współaut. 2020). Znanych jest czternaście izoform MCT (oznaczonych numerami 1–14), z czego stosunkowo najlepiej poznane są izoformy MCT1, MCT2, MCT3, MCT4. U ssaków te cztery izoformy jako jedyne transportują mleczan na wymianę z protonem (symport) (Halestrap i Wilson 2012; Singh i współaut. 2023).

MCT1. Wstępuje w większości ludzkich narządów. Jest zlokalizowany głównie w błonie komórkowej, ale jego obecność stwierdzono również w otoczce jądrowej i w wewnętrznej błonie mitochondrialnej (Singh i współaut. 2023). W zależności od narządu, MCT1 służy do pobierania mleczanu i ciał ketonowych jako substratów energetycznych (serce, tkanka nerwowa) bądź mleczanu jako substratu glukoneogenezy (nerki, wątroba) (Halestrap i Wilson 2012).

Mutacja w obrębie genu kodującego MCT1 jest przyczyną m.in. hiperinsulinemii indukowanej wysiłkiem. Fenotypowo mutacja taka przejawia niefizjologiczną obecnością MCT1 w komórkach β trzustki, co umożliwia im pobieranie i utlenianie mleczanu powstającego podczas wysiłku fizycznego. W konsekwencji dochodzi do sekrecji insuliny przez komórki β trzustki i hipoglikemii (Halestrap i Wilson 2012; Felmler i współaut. 2020). Natomiast u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów katalizowany przez MCT1 napływ mleczanu do wnętrza limfocytów T przyczynia się do aktywacji kinazy pirogronianowej typu 2 (PKM2), aktywacji czynnika transkrypcyjnego STAT3 i wzmożonej syntezy prozapalnej interleukiny 17 (IL-17) (Chen i współaut. 2021).

MCT2. Charakteryzuje się największym powinowactwem do mleczanu spośród wszystkich MCT. Podobnie jak MCT1, MCT2 jest zaangażowany w pobieranie mleczanu oraz ciał ketonowych wykorzystywanych następnie jako substrat energetyczny bądź jako substrat do glukoneogenezy (w przypadku mleczanu). Jest zlokalizowany głównie w wątrobie, nerkach, mózgu i jądrach. Szczególną rolę odgrywa w mózgu, gdzie umożliwia pobór mleczanu jako substratu energetycznego (Halestrap i Wilson 2012). Występuje także poza błoną komórkową – w wewnętrznej błonie mitochondrialnej, gdzie wspomaga import pirogronianu, powstającego w cytosolu w wyniku utlenienia mleczanu (Singh i współaut. 2023). W badaniach na szczurach (Yu i współaut. 2021) wykazano, że po udarze następuje obniżenie poziomu ekspresji MCT2 w mózgu, a nadekspresja MCT2 wspomaga powrót funkcji poznawczych. Ponadto aktywacja MCT2 może pobudzać biogenezę mitochondriów za pośrednictwem kinazy białkowej aktywowanej AMP (AMPK), obniżenie aktywności której często koreluje z wystąpieniem udaru. MCT2 może być zatem uważany za potencjalny cel terapeutyczny.

MCT3. Jest zlokalizowany głównie w obrębie nabłonka barwnikowego siatkówki, gdzie stanowi główną izoformę MCT, oraz w obrębie spłotu naczyńkowego (część mózgu wytwarzająca płyn mózgowo-rdzeniowy); odpowiada przede wszystkim za

usuwanie mleczanu z komórki (Gallagher-Colombo i współaut. 2010). Siatkówka oka jest jedną z najbardziej aktywnych metabolicznie struktur w ludzkim organizmie; wytwarza duże ilości mleczanu w procesie glikolizy aerobowej (proces ten omówimy w dalszej części pracy). Mleczan, wytwarzany przez komórki Müllera (komórki glejowe zapewniające prawidłowe funkcjonowanie siatkówki), jest wykorzystywany jako substrat energetyczny dla komórek fotoreceptorowych (Goldman 2014). U myszy z zaburzoną ekspresją genu kodującego MCT3 zaobserwowano problemy z widzeniem (Daniele i współaut. 2008).

MCT4. Charakteryzuje się najmniejszym powinowactwem do mleczanu spośród izoform MCT1–4 (Singh i współaut. 2023). Występuje w wielu rodzajach komórek, szczególnie w tych aktywnych glikolitycznie, np. astrocytach, chondrocytach i białych krwinkach, katalizując usuwanie mleczanu z komórek i w ten sposób podtrzymując niskie pH otaczającego je mikrośrodowiska. Obecność MCT4 jest szczególnie charakterystyczna dla komórek nowotworowych (Singh i współaut. 2023). W komórkach linii MDA-MB-231, tzw. potrójnie ujemnego raka piersi (wyróżniającą go cechą jest brak ekspresji receptora estrogeny, receptora progesteronu oraz receptora EGF2, czyli trzech głównych markerów „klasycznego” raka piersi), aktywacja MCT4 prowadzi do pobudzenia ekspresji i stabilizacji ligandu programowanej śmierci (PD-L1), który chroni komórki nowotworowe przed reakcją ze strony układu odpornościowego (Duan i współaut. 2022).

EFEKT WARBURGA

W prawidłowo funkcjonujących komórkach, w warunkach aerobowych, większość pirogronianu powstającego z glukozy w cytosolowym procesie glikolizy trafia do mitochondriów, gdzie ulega przekształceniu do acetylo-CoA, który jest następnie wykorzystywany w cyklu kwasów trójkarboksylowych (od nazwiska odkrywcy zwanym też cyklem Krebsa), finalnie dostarczając ATP na drodze fosforylacji oksydacyjnej (Unterlass i Curtin 2019; Kozal i współaut. 2021).

W 1931 r. Otto Warburg otrzymał Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny za „odkrycie natury i sposobu działania enzymu oddechowego”. Noblista zauważył, iż hodowane przez niego komórki nowotworowe, potraktowane czynnikami wzrostu, zużywają bardzo dużo glukozy i wykazują zwiększoną produkcję mleczanu, co wskazuje na zintensyfikowanie glikolizy kosztem dalszych procesów oddechowych (czyli cyklu kwasów trójkarboksylowych oraz łańcucha oddechowego), a dzieje

się tak nawet w obecności stężenia tlenu wystarczającego do przeprowadzenia wspomnianych procesów. Szacuje się, że w komórkach nowotworowych nawet 85% dostępnej glukozy jest przekształcane w mleczan, a tylko ok. 5% pirogronianu wytworzonego podczas glikolizy jest ostatecznie metabolizowane w procesie fosforylacji oksydacyjnej. Dzięki temu, w komórkach nowotworowych znaczna ilość ATP powstaje w cytoplazmie w stosunkowo krótkim czasie. Ponadto produkty pośrednie glikolizy mogą zostać przekształcone w nukleotydy, lipidy lub aminokwasy, a spowolnienie fosforylacji oksydacyjnej prowadzi do powstania mniejszej ilości reaktywnych form tlenu, co dodatkowo chroni takie komórki przed stresem oksydacyjnym. Te trzy czynniki wspomagają szybki wzrost komórek nowotworowych (Unterlass i Curtin 2019).

Należy też zaznaczyć, że intensywną glikolizę aerobową, odbywającą się kosztem zahamowania fosforylacji oksydacyjnej, obserwowano zarówno w nowotworach jak i w innych chorobach, a nawet w przypadku niektórych prawidłowo funkcjonujących komórek. Bardziej szczegółowo opiszemy to w kolejnych rozdziałach pracy.

Efekt Warburga w komórkach nowotworowych

Komórki nowotworowe modyfikują swój metabolizm w taki sposób, że do pobudzenia wzrostu i proliferacji dochodzi nawet w obecności tlenu. W ich przypadku, wzmożona glikoliza aerobowa (intensywna produkcja mleczanu z glukozy pomimo dostępności tlenu wystarczającej do przeprowadzenia fosforylacji oksydacyjnej) wynika przede wszystkim z rozregulowania aktywności trzech czynników transkrypcyjnych, tj. nadekspresji HIF-1 i c-Myc oraz represji białka p53. HIF-1 jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za adaptację komórki do warunków hipoksji (Kozal i współaut. 2021). W komórkach nowotworowych c-Myc zмага glikolizę aerobową, reguluje biosyntezę glutaminianu; jest także zaangażowany w rozwój oporności na chemioterapię, aktywację angiogenezy i tworzenie przerzutów (Ala 2022). Efekty te są dodatkowo nasilone podczas represji białka p53, które w warunkach fizjologicznych indukuje apoptozę, zatrzymanie cyklu komórkowego, naprawę DNA, procesy starzenia, a także kontroluje metabolizm energetyczny komórek (Engelard 2022). Jest zatem zrozumiałe, że w komórkach nowotworowych drastycznie zmienia się ekspresja lub/i aktywność białek determinujących sposób wykorzystania glukozy jako substratu energetycznego, w tym: transportera glukozy GLUT1, heksokinazy 2, PKM2, LDHA oraz transporterów mleczanu MCT1 i MCT4 (Kozal i współaut. 2021).

Charakterystyczną cechą komórek nowotworowych jest niedobór mitochondriów, co również wiąże się z niską intensywnością fosforylacji oksydacyjnej. W komórkach nowotworowych często występują też mutacje w genach kodujących enzymy cyklu kwasów trójkarboksylowych (prowadzi to do akumulacji fumaranu i bursztynianu) oraz białka I i III kompleksu łańcucha oddechowego. W ten sposób uszkodzone mitochondria produkują więcej reaktywnych form tlenu, co może dodatkowo działać stabilizująco na podjednostkę regulatorową α (HIF1- α) czynnika transkrypcyjnego HIF-1, odpowiedzialnego m.in. za aktywację transkrypcji genu kodującego kinazę dehydrogenazy pirogronianowej 1 (PDK1). Ufosforylowana przez PDK1 dehydrogenaza pirogronianowa jest nieaktywna – pirogronian nie może być przekształcany do acetylo-CoA, w konsekwencji wzrasta wytwarzanie mleczanu, który ostatecznie jest usuwany poza komórkę (Pascale i współaut. 2020; Vaupel i Multhoff 2021).

Efekt Warburga a choroby nienowotworowe

Fenotyp podobny do opisanego przez Warburga nie ogranicza się tylko do komórek nowotworowych. Intensywna glikoliza w warunkach dostatecznego dostępu tlenu jest obserwowana również w innych stanach chorobowych. Poniżej przedstawimy ich przykłady.

Choroby układu krążenia. Zaobserwowano, że niewydolności serca towarzyszy zmiana w metabolizmie kardiomiocytów, polegająca na zwiększeniu zużycia glukozy i pozyskiwaniu energii w wyniku glikolizy aerobowej. Zdrowe kardiomiocyty, w związku ze swoim dużym zapotrzebowaniem na energię, prowadzą bardzo intensywną fosforylację oksydacyjną, zatem wydaje się, że zaburzenia metabolizmu energetycznego mogą odgrywać istotną rolę w rozwoju niewydolności serca. Hipotezę tę potwierdza obserwacja, że u ludzkich płodów z niewydolnością serca dochodzi do zwiększenia poziomu kinazy pirogronianowej typu 2 (PKM2, markera efektu Warburga). Co więcej, dysfunkcja mitochondriów w kardiomiocytach może być przyczyną ich apoptozy oraz – co w takiej sytuacji oczywiście – ogólnego pogorszenia pracy mięśnia sercowego (Chen i współaut. 2018).

Rozwój miażdżycy jest uwarunkowany przez wiele czynników, takich jak: nagromadzenie złogów lipidowych w naczyniach krwionośnych, lokalne stany zapalne oraz nadmierna proliferacja komórek mięśniówki gładkiej naczyń krwionośnych (VSMC). Co więcej, postęp miażdżycy wydaje się wiązać ze zmianami w metabolizmie energetycznym. Współwystępowanie miażdżycy i wzmożonej aktywności

glikolitycznej w makrofagach wykazano w badaniach na królikach (Yamashita i współaut. 2014). Jest też bardzo prawdopodobne, że efekt Warburga ma duże znaczenie w przypadku wzmożonej proliferacji VSMC (Chen i współaut. 2018).

Choroba Alzheimerera. Ta złożona choroba neurodegeneracyjna przejawia się akumulacją β -amyloidu w obrębie mitochondriów, prowadzącą m.in. do powstawania dużej ilości wolnych rodników i – w konsekwencji – do obumierania komórek nerwowych (Newington i współaut. 2011). Nieco paradoksalnie zatem, w tym przypadku zaburzenie metaboliczne, jakim wydaje się glikoliza aerobowa, może spowalniać postęp choroby. Odpowiedzialne za to są zapewne dwa mechanizmy: ograniczenie wytwarzania reaktywnych form tlenu oraz utrzymanie wysokiego poziomu ATP w komórkach, mimo upośledzonego działania mitochondriów (Chen i współaut. 2018).

Aktywacja układu odpornościowego. Limfocyty T specjalizują się w odpowiedzi komórkowej, która wymaga dużych nakładów energii. W związku z tym, pobudzone limfocyty T pobierają duże ilości glukozy; charakteryzują się także szczególnie wysoką ekspresją transporterów glukozy (głównie GLUT1) i enzymów glikolitycznych. Należy jednak zaznaczyć, że w przypadku limfocytów T to „przełączenie” z fosforylacji oksydacyjnej na glikolizę nie jest tak definitywne, jak w przypadku efektu Warburga występującego w komórkach nowotworowych; obie ścieżki metaboliczne współpracują w celu zaspokojenia potrzeb energetycznych limfocytów. Mało tego, fosforylacja oksydacyjna w aktywowanych limfocytach T przebiega wydajniej niż w komórkach nieaktywnych (Abdel-Haleem i współaut. 2017). Intensywną glikolizę aerobową prowadzą również aktywowane makrofagi, komórki dendrytyczne w stanie zapalnym (indukowanym bakteryjnym lipopolisacharydem (LPS) lub mechanicznym uszkodzeniem tkanki) oraz limfocyty T pomocnicze (Abdel-Haleem i współaut. 2017).

Glikoliza aerobowa w zdrowym organizmie

Angiogeneza. Istotną rolę w angiogenezie (procesie prowadzącym do powstania nowych naczyń krwionośnych) odgrywają komórki śródbłonna naczyniowego (EC). Co wydaje się intrygujące, pomimo bardzo łatwego dostępu tlenu, to glikoliza jest głównym źródłem energii dla komórek śródbłonna (aktywność glikolityczna EC jest porównywalna z tą w komórkach nowotworowych). Szacuje się, że glikoliza dostarcza do 85% ATP potrzebnego zdrowym komórkom śródbłonna. Taka strategia metaboliczna jest uzasadniona z wielu powodów, wśród

których najistotniejszym wydaje się ograniczenie zużycia tlenu transportowanego przez czerwone krwinki przepływające przez naczynia krwionośne (tym samym więcej tlenu może dotrzeć do komórek docelowych). Ponadto, w miarę postępu angiogenezy, może służyć przystosowaniu EC nowych naczyń krwionośnych do funkcjonowania w otoczeniu o niskiej zawartości tlenu. Dodatkowo, dzięki obniżonej aktywności fosforylacji oksydacyjnej, EC produkują mniej reaktywnych form tlenu (De Bock i współaut. 2013).

Komórki szybko dzielące się. Głównymi produktami glikolizy są ATP i pirogronian. Przekształcenie tego ostatniego w mleczan ma na celu regenerację cytosolowej puli NAD⁺. ATP i NAD⁺ są limitującymi substratami w wielu reakcjach anabolicznych potrzebnych do wzrostu i podziału komórki – wytwarzanie mleczanu jest wprost proporcjonalne do intensywności procesów anabolicznych oraz szybkości proliferacji komórek. Glikoliza aerobowa jest więc charakterystyczna dla komórek szybko proliferujących, takich jak indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste (iPSC), które wykazują podwyższoną aktywność enzymów glikolitycznych przy jednoczesnym zahamowaniu aktywności łańcucha oddechowego (Huang i współaut. 2019) i w ten sposób znacząco uniezależniają swój metabolizm od mitochondriów, co stanowi jeden z czynników warunkujących ich pluripotencję (zdolność do różnicowania w inne rodzaje komórek). Z kolei w embrionalnych komórkach macierzystych (ESC) intensywna glikoliza jest możliwa dzięki szczególnie wysokiej ekspresji transporterów glukozy oraz heksokinazy 2. Natomiast, co może wydawać się zaskakujące, w miarę różnicowania ESC coraz bardziej uzależniają się od fosforylacji oksydacyjnej, kosztem rezygnacji z glikolizy jako głównego źródła ATP (Kondoh i współaut. 2007).

LAKTYLACJA BIAŁEK

Modyfikacje potranslacyjne mają znaczący wpływ na właściwości dojrzałych białek, w tym enzymów i histonów. Kowalencyjne dołączenie reszt określonych związków może prowadzić do istotnych zmian struktury i funkcji białek (Gaffney i współaut. 2020).

Tioestry acylowych pochodnych koenzymu A (acyl-CoA) mogą przekazywać grupę acylową – zarówno na drodze enzymatycznej, jak i nieenzymatycznej – białkom, prowadząc do ich potranslacyjnej modyfikacji (Varner i współaut. 2020). Klasycznym przykładem takiego donora grupy acylowej (w tym przypadku: acetylowej) jest acetylo-CoA. Podobnie jak reszta acetylowa, reszta mleczanowa również może być przyłączana do reszt lizyny w białkach,

najprawdopodobniej z udziałem laktylo-CoA jako donora grupy mleczanowej. W warunkach *in vitro* (w komórkach HEPG2, ludzkiej linii komórek nowotworu wątroby) stwierdzono stężenie laktylo-CoA na poziomie 0,011 pmol/milion komórek (dla porównania zmierzone w tych samych warunkach stężenie acetylo-CoA wyniosło 10,644 pmol/mln komórek, a wolnego CoA – 1,734 pmol/mln komórek) (Varner i współaut. 2020).

Laktylacja histonów

Ekspresja genów może być regulowana przez zmiany w strukturze chromatyny i przez szereg modyfikacji epigenetycznych (Chen i współaut. 2021). Struktura chromatyny – bardziej lub mniej zwarta – warunkuje zachodzenie takich procesów jak ekspresja genów oraz replikacja i naprawa DNA. Opisano liczne modyfikacje potranslacyjne histonów, m.in. acetylację, fosforylację i metylację. Kilka lat temu, wykorzystując spektrometrię mas, odkryto kolejną modyfikację – laktylację (rozumianą jako kowalencyjne przyłączenie cząsteczki mleczanu do reszty lizyny wchodzącej w skład białka) i wykazano jej znaczenie w regulacji ekspresji genów (Izzo i Wellen 2019; Zhang i współaut. 2019). Co szczególnie interesujące, zaobserwowano, że poziom laktylacji histonów znacząco wzrasta w warunkach zwiększonego stężenia glukozy, po zahamowaniu aktywności łańcucha oddechowego za pomocą rotenonu (inhibitor I kompleksu łańcucha mitochondrialnego) oraz podczas hipoksji (Zhang i współaut. 2019; Dai i współaut. 2022). Z kolei traktowanie komórek inhibitorami glikolizy prowadzi do spadku poziomu laktylacji histonów; podobny skutek ma również wyciszenie ekspresji genu kodującego dehydrogenazę mleczanową (Chen i współaut. 2021). Dwa ciekawe przykłady znaczenia laktylacji histonów w regulacji ekspresji genów przedstawimy poniżej.

Różnicowanie komórek kostnych. Osteoblasty (komórki kościotwórcze) w warunkach *in vitro* prowadzą intensywną glikolizę aerobową. Niedawno stwierdzono, że poziom białka i mRNA dehydrogenazy mleczanowej A (LDHA) oraz poziom wewnątrzkomórkowego mleczanu wzrastają w miarę różnicowania osteoblastów, zaś doświadczalne zahamowanie ekspresji LDHA prowadzi do spowolnienia procesu różnicowania i spadku wewnątrzkomórkowego stężenia wapnia. Co więcej, wykazano, że w tych warunkach dochodzi do obniżenia poziomu laktylacji histonów w obrębie promotora genu kodującego JunB (czynnik transkrypcyjny biorący udział w formowaniu kości i różnicowaniu osteoblastów), co wiąże się z obniżeniem ekspresji tego

czynnika (efekt ten jest znoszony w obecności egzogenego mleczanu) (Nian i współaut. 2022).

Polaryzacja makrofagów. Aktywowane makrofagi różnicują się, przyjmując jeden z dwóch fenotypów: M1 (makrofagi aktywowane klasycznie, o działaniu prozapalnym) lub M2 (makrofagi aktywowane alternatywnie, wykazujące właściwości przeciwzapalne); proces ten jest określany jako „polaryzacja makrofagów”.

Zaobserwowano, że wobec oznak infekcji bakteryjnej (np. obecność LPS) lub traktowania interferonem γ (białko kluczowe w aktywacji odporności komórkowej) prozapalne makrofagi M1 reagują pobudzeniem glikolizy (także w warunkach aerobowych), prowadzącym do wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia mleczanu i – w konsekwencji – do zwiększenia laktylacji histonów (Zhang i współaut. 2019). Konsekwencją tego jest wzrost ekspresji genów kodujących: arginazę 1 (enzym istotny m.in. dla prawidłowego przebiegu procesu gojenia ran) oraz szereg białek o działaniu proangiogennym (np. czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego czyli VEGF) i przeciwzapalnym. W ten sposób, w końcowym okresie swojego różnicowania, makrofagi M1 zaczynają przyjmować fenotyp podobny do makrofagów M2; sprzyja to ograniczeniu stanu zapalnego, może też mieć istotne znaczenie podczas procesu gojenia ran.

Kluczową rolę laktylacji histonów w regulacji ekspresji genów podczas dojrzewania makrofagów potwierdzono w badaniach z zastosowaniem komórek, w których histony zostały zmodyfikowane w sposób wykluczający ich laktylację (reszty lizyny zastąpiono resztami argininy). Okazało się, że w przypadku takich komórek zmiany wewnątrzkomórkowego stężenia mleczanu nie mają żadnego przełożenia na ekspresję analizowanych genów (Zhang i współaut. 2019).

Przykłady laktylacji białek niehistonowych

Enzymy glikolityczne. Jednym z produktów ubocznych glikolizy jest wysoce reaktywny metyloglioksal (MGO), który natychmiast po wytworzeniu ulega przyłączeniu do glutationu przez enzym glioksyłazę 1 (GLO1), tworząc laktoilglutation. Następnie glioksyłaza 2 (GLO2) odłącza od laktoilglutationu D-mleczan, który może zostać przyłączony na drodze nieenzymatycznej do reszt lizyny w białkach. Obecność laktoilolizyny wykazano w ok. 350 białkach niehistonowych, w tym w białkach związanych z procesem glikolizy. Stwierdzono również, że stopień tych modyfikacji jest zależny od wewnątrzkomórkowego poziomu MGO, a laktylacja enzymów glikolitycznych prowadzi do obniżenia ich aktyw-

ności. W tym przypadku mamy więc do czynienia z mechanizmem ujemnego sprzężenia zwrotnego – produkt MGO pośrednio hamuje proces, w wyniku którego powstaje (Gaffney i współaut. 2020).

MLECZAN JAKO CZĄSTECZKA SYGNAŁOWA – RECEPTOR GPR81/HCAR-1

Receptory typu GPCR (ang. G-protein coupled receptors) są powszechnie występującymi receptorami błonowymi i odgrywają istotną rolę w przekazywaniu sygnału indukowanego przez różnorodne ligandy (m.in. peptydy, nukleotydy i tzw. „małe cząsteczki” czyli np. dopaminę lub adrenalinę). W 2001 r. ukazała się praca, w której zidentyfikowano szereg genów kodujących nieznane wcześniej receptory GPCR, w tym GPR81czyli receptor mleczanowy (Lee i współaut. 2001). Dla porządku warto dodać, że w części piśmiennictwa funkcjonuje on również pod nazwą HCAR-1.

GPR81 ma szacunkową masę 40 kDa i składa się z siedmiu domen transmembranowych (N-koniec występuje na zewnątrz, a C-koniec – wewnątrz komórki); ponadto zawiera po trzy pętle wewnątrz- i zewnątrzkomórkowe (Liu i współaut. 2017). Głównym miejscem występowania tego białka są komórki brunatnej oraz – w nieco mniejszym stopniu – białej tkanki tłuszczowej. GPR81 wykryto również m. in. w mózgu, wątrobie, podocytach (czyli w obrębie kłębuszka nerkowego) i komórkach śródbłonna (Liu i współaut. 2009; Grochowalska i współaut. 2022). Co ciekawe, GPR81 występuje nie tylko w błonie komórkowej, ale również w błonach niektórych organelli wewnątrzkomórkowych (Liu i współaut. 2009).

GPR81 jest aktywowany przez mleczan w fizjologicznych stężeniach (1–20 mM), a częściowej aktywacji ulega już przy stężeniu mleczanu ok. 0,2 mM. Warto zauważyć, że powyższe wartości stężeń są bardzo wysokie w porównaniu do stężeń innych ligandów receptorów GPCR (zazwyczaj nM), a mimo to mleczan stanowi główny ligand dla GPR81. Pozostali agoniści GPR81 wykazują do niego dużo mniejsze powinowactwo niż L-mleczan i nie występują w warunkach fizjologicznych w stężeniach wystarczających do efektywnej aktywacji GPR81 (Liu i współaut. 2009).

GPR81 w prawidłowo funkcjonujących komórkach

Najwcześniej zdefiniowano funkcję receptora mleczanowego w tkance tłuszczowej (Liu i współaut. 2009). Dzięki obecności GPR81 adipocyty mogą

bezpośrednio odbierać sygnał o zwiększonym stężeniu mleczanu w krwiobiegu (Ryc. 1). Związanie mleczanu do GPR81 prowadzi do zmiany konformacji tego receptora. Następnie część cytosolowa GPR81 przylączy białko wiążące GTP (tzw. białko G; w przypadku GPR81 jest to białko o działaniu inhibitorowym), które jest heterotrimerem złożonym z podjednostek αi (inhibitorowa), β oraz γ . Po aktywacji receptora, GDP związane z białkiem G jest wymieniane na GTP, dzięki czemu uruchomiona zostaje kaskada sygnałowa: kompleks GTP-białko G ulega rozpadowi do podjednostki αi (nadal związanej z GTP) oraz do kompleksu podjednostek β i γ . Wolna podjednostka αi jest odpowiedzialna za hamowanie aktywności cykazy adenylanowej, spadek wewnątrzkomórkowej zawartości cAMP oraz obniżenie aktywności kinazy białkowej A (PKA). W konsekwencji, w adipocytach dochodzi do spadku poziomu ufosforylowania lipazy regulowanej hormonalnie (HSL) oraz lipazy triglicerydowej (ATGL), co ostatecznie skutkuje obniżeniem szybkości lipolizy (procesu rozkładu kwasów tłuszczowych, których – w tych warunkach metabolicznych – i tak nie można wykorzystać) (Brown i Ganapathy 2020; Grochowalska i współaut. 2022).

Przekazywanie sygnału z aktywowanego receptora GPR81 może również odbywać się z udziałem kompleksu podjednostek $\beta\gamma$ białka G, prowadząc do aktywacji kinaz ERK1/2, następującej za pośrednictwem kinazy białkowej C (PKC) i receptora insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (IGF-1R) lub za pośrednictwem kinazy 3-fosfoinozytolowej (PI3K) (Ryc. 1). Taki szlak sygnałowy wydaje się być odpowiedzialny m.in. za regulację przyrostu średnicy włókien mięśniowych (Hu i współaut. 2020). Jeszcze inny mechanizm przekazywania sygnału za pośrednictwem kompleksu podjednostek $\beta\gamma$, tym razem bez udziału kinaz ERK1/2, opisano w osteoblastach (Ryc.1). W ich przypadku aktywacja GPR81 może prowadzić do wzrostu aktywności fosfatazy alkalicznej, odpowiedzialnej za przebieg początkowych etapów różnicowania, a dzieje się tak najprawdopodobniej z zaangażowaniem ścieżki sygnałowej PKC-kinaza białkowa B (PKB/Akt)-czynn timeranskrypcyjny CREB (Hu i współaut. 2020).

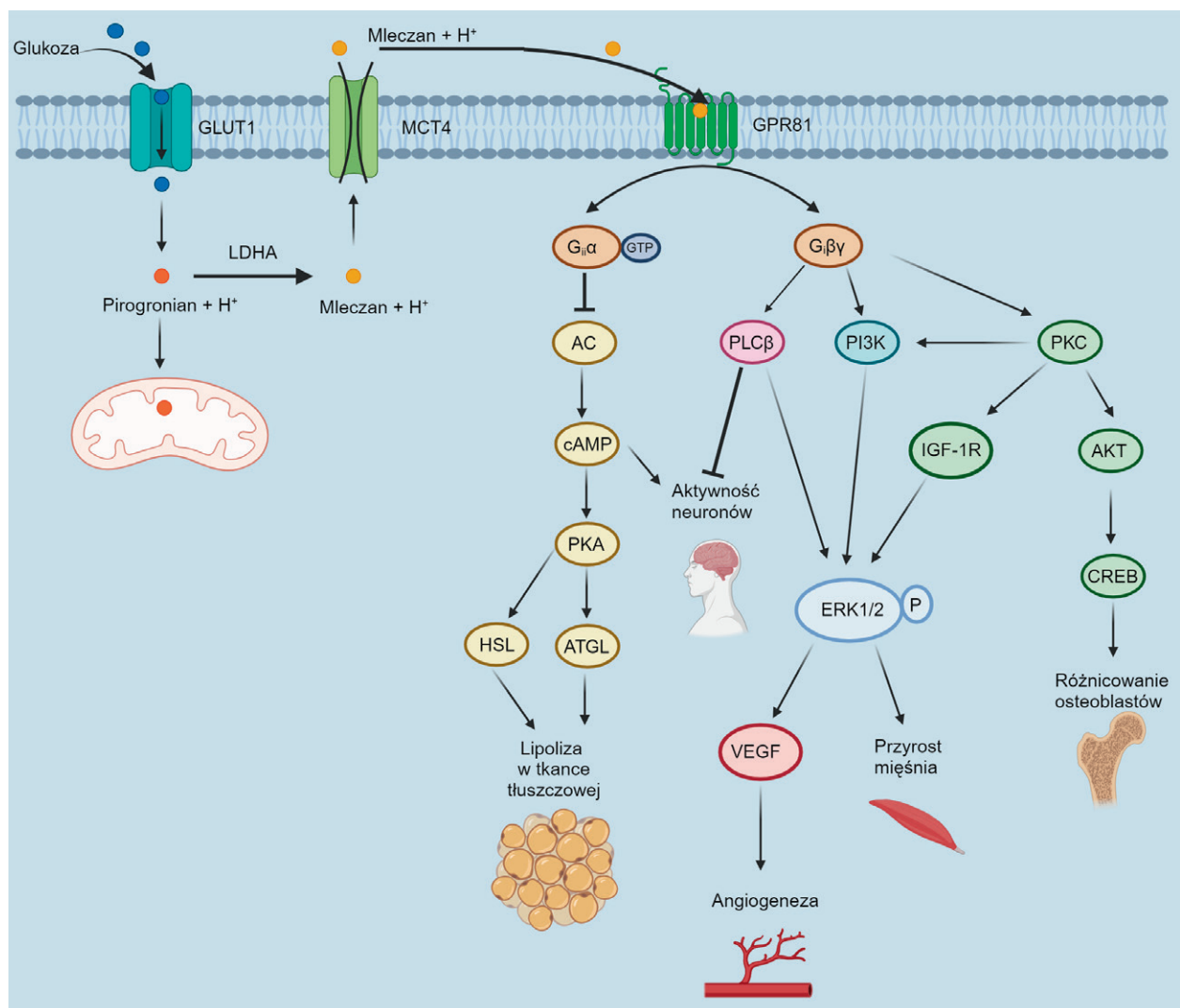
Uwagę badaczy coraz częściej absorbuje rola GPR81 w funkcjonowaniu układu nerwowego (Colucci i współaut. 2023). Wiadomo, że wzrost stężenia mleczanu we krwi aktywuje GPR81 w obrębie komórek śródbłonna naczyń krwionośnych, prowadząc do fosforylacji ERK1/2, a także PI3K/AKT, co przyczynia się do wzrostu ekspresji VEGF i nasilenia angiogenezy (Ryc.1) w obrębie określonych rejonów mózgu (np. w hipokampie, ale nie w korze mózgowej). Równie ciekawy jest fakt, że aktywacja

GPR81 może prowadzić do zmniejszenia pobudliwości neuronów, przy czym postulowane są dwa mechanizmy tego zjawiska: kanoniczny (obniżenie wewnątrzkomórkowej zawartości cAMP i jego następstwa) lub/i angażujący kompleks podjednostek $\beta\gamma$ białka G oraz fosfolipazę C (Hu i współaut. 2020).

GPR81 w patogenezie chorób

Stan zapalny. Wykazano znaczącą rolę GPR81 w odpowiedzi immunologicznej oraz w przebiegu stanu zapalnego. W adipocytach i w niektórych komórkach śródbłonna zaobserwowano obniżony poziom

ekspresji GPR81 w warunkach stanu zapalnego. Z kolei w przypadku komórek układu odpornościowego wzmożona ekspresja GPR81 powiązana jest z ochroną przed stanem zapalnym, zapewniając prawidłowe funkcjonowanie tzw. odporności wrodzonej. W dodatku, zaobserwowano, że u myszy stopień ekspresji GPR81 jest odwrotnie proporcjonalny do poziomu stanu zapalnego w obrębie tkanki tłuszczowej. Zarówno u myszy z cukrzycą typu 2 jak i u myszy otyłych (obie choroby charakteryzują się intensywnym stanem zapalnym) ekspresja GPR81 jest znacznie obniżona. GPR81 może również wpływać na odporność wrodzoną – jego aktywacja pro-

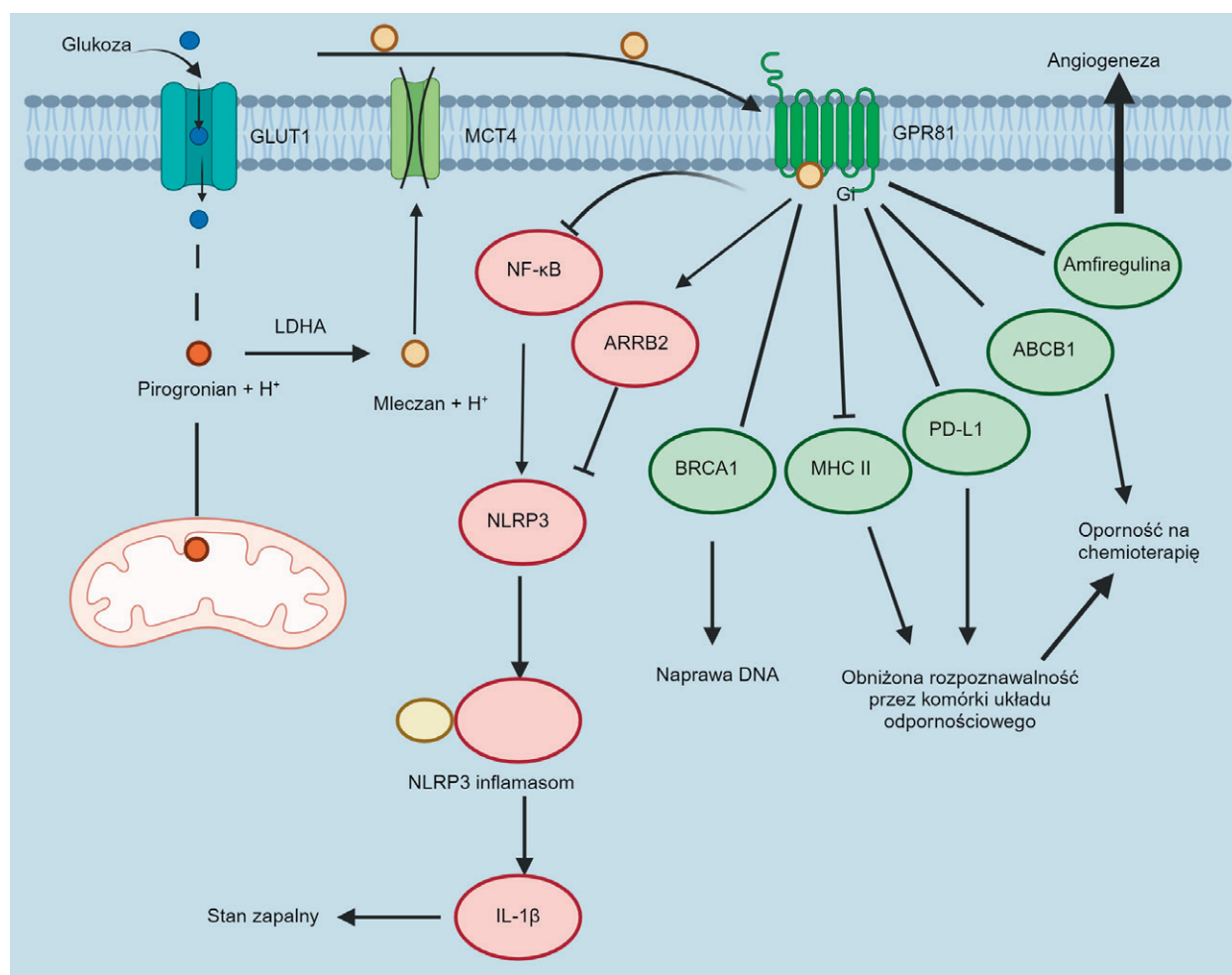


Ryc. 1. Przekazywanie sygnału przez receptor mleczanowy GPR81. AC – cyklaza adenylnawa; AKT – kinaza białkowa B/Akt; ATGL – lipaza triglicerydowa; CREB – czynnik transkrypcyjny CREB (z ang. cAMP response element-binding protein); ERK1/2 – kinazy regulowane zewnątrzkomórkowo; GLUT1 – transporter glukozy 1; HSL – lipaza regulowana hormonalnie; IGF-1R – receptor insulinopodobnego czynnika wzrostu 1; LDHA – dehydrogenaza mleczanowa A; PI3K – kinaza 3-fosfoinozytolowa; PKA – kinaza białkowa A; PKC – kinaza białkowa C; PLC β – fosfolipaza C (izofорма β); VEGF – czynnik wzrostu śródbłonna naczyń krwionośnych. Szczegółowy opis w tekście. Opracowano za pomocą BioRender.com, na podstawie (Hu i współaut. 2020).

wadzi do zahamowania przekazywania sygnałów związanych ze stanem zapalnym przez inflamasom NLRP3 i spadku wydzielania prozapalnych cytokin w makrofagach oraz w monocytach (np. interleukiny 1β ; IL- 1β). Ten sam GPR81 może też hamować fosforylację podjednostki p65 kompleksu NF- κ B, co prowadzi do spadku aktywności tego czynnika transkrypcyjnego i obniżenia ekspresji genów, których produkty są niezbędne do prawidłowego przebiegu reakcji odpornościowej (Brown i Ganapathy 2020) (Ryc.2, część „czerwona”).

Nowotwory. Komórki nowotworowe prowadzą intensywną glikolizę, w wyniku której powstają duże ilości mleczanu, usuwanego poza komórkę. Postuluje się zatem, że GPR81 jako receptor błonowy, odgrywa szczególnie istotną rolę podczas wzrostu

guza nowotworowego. Co więcej, mleczan obecny w mikrośrodowisku guza może działać jako cząsteczka sygnałowa zarówno na drodze autokrynej (aktywuje GPR81 na komórkach nowotworowych, które ten mleczan wytworzyły), jak i parakrynej (w obrębie mikrośrodowiska guza oddziałuje na komórki inne niż nowotworowe). Rzeczywiście, potwierdzono znaczenie GPR81 w patogenezie szeregu nowotworów, m. in. płuc, wątroby, piersi oraz trzustki. Mleczan jest niezbędny do przetrwania i proliferacji komórek nowotworowych; reguluje te procesy właśnie poprzez aktywację GPR81. Badania *in vitro* wskazały na znaczne ograniczenie rozwoju nowotworu po wyciszeniu genu kodującego GPR81, np. spowolnienie angiogenezy, wzrost podatności na chemioterapię, obniżenie poziomu



Ryc. 2. Znaczenie receptora mleczanowego GPR81 w patogenezie chorób. ABCB1 – transporter błonowy ABCB1 (z ang. ABC-class drug transporter B1); ARRB2 – β -arrestyna 2; BRCA1 – białko podatności na raka piersi typu 1; GLUT1 – transporter glukozy 1; IL- 1β – interleukina 1β ; MCT4 – transporter monokarboksylanów 4; MHCII – główny układ zgodności tkankowej klasy II; NF- κ B – jądrowy czynnik transkrypcyjny kappa B; NLRP3 – białko NLRP3 (z ang. NLR family pyrin domain containing 3); PD-L1 – ligand programowanej śmierci komórki. Szczegółowy opis w tekście. Opracowano za pomocą BioRender.com, na podstawie (Brown i Ganapathy 2020; Hu i współaut. 2020).

ekspresji transporterów MCT1 i MCT4 oraz zwiększoną śmiertelność komórek (Brown i Ganapathy 2020; Lundø 2020).

W przypadku raka płuca, GPR81 może promować rozwój nowotworu na drodze pobudzenia ekspresji genu kodującego białko PD-L1 na powierzchni komórek nowotworowych. Ponadto GPR81 zwiększa oporność na doksorubicynę (lek stosowany w chemioterapii), poprzez aktywację ekspresji genu kodującego ABCB1 (białko usuwające doksorubicynę poza komórkę) oraz naprawę DNA, w wyniku wzrostu wewnątrzkomórkowego poziomu białka BRCA1 biorącego udział w tym procesie. Oprócz tego, sugeruje się, iż aktywność GPR81 może sprawiać, że komórki nowotworowe stają się trudniej rozpoznawalne dla układu odpornościowego; dzieje się tak zarówno poprzez supresję MHC II na powierzchni limfocytów T jak i – w przypadku raka płuca – pobudzenie ekspresji PD-L1. Z kolei w komórkach estrogenozależnego raka piersi MCF-7 aktywacja GPR81 pobudza ekspresję amfireduliny (białko proangiogeniczne). Co więcej, *in vitro* wyciszenie GPR81 lub potraktowanie komórek inhibitorem PI3K przyczynia się do zahamowania angiogenezy (Brown i Ganapathy 2020) (Ryc. 2; część „zielona”).

DALSZE KIERUNKI BADAŃ

W obecnej pracy staraliśmy się przedstawić rzeczywiste znaczenie biologiczne mleczanu, przez długi czas uważanego jedynie za produkt uboczny glikolizy. W ciągu ostatnich dwudziestu lat nastąpił olbrzymi przyrost wiedzy na temat mleczanu i procesów z nim związanych, jednak wiele zagadnień wciąż wymaga dalszych badań – tym bardziej, że mogą one stworzyć podstawy dla nowych strategii leczenia różnych chorób. Nic więc dziwnego, że transportery mleczanu oraz enzymy uczestniczące w jego metabolizmie są od jakiegoś czasu przedmiotem zainteresowania zarówno naukowców, jak i firm farmaceutycznych, które prowadzą obecnie badania celowane w te białka. Jedną z intensywnie testowanych strategii walki z nowotworami jest zaburzenie mechanizmów transportu mleczanu przez błony komórkowe, mające na celu – letalne w skutkach – obniżenie pH wewnątrz komórek nowotworowych (Kozal i współaut. 2021). Przykładowo, niedawno opracowano specjalne nanocząsteczki, które mogą jednocześnie dostarczać w obręb guza fluwastatynian sodu (inhibitor MCT4, zaangażowany w usuwanie mleczanu z komórki) oraz metforminę (zwiększa glikolityczne wytwarzanie mleczanu) (Chen i współaut. 2023). Natomiast w przypadku komórek pozbawionych transportera MCT4, obiecujące wydaje się rozwiązanie polegające na

zahamowaniu aktywności transportera MCT1, odpowiedzialnego za pobieranie mleczanu (substratu energetycznego także dla komórek nowotworowych). Istnieją przesłanki, że inhibitory MCT1 (np. AZD3956) będą mogły znaleźć zastosowanie w leczeniu takich nowotworów złośliwych jak chłoniak czy czerniak (McNeillis i współaut. 2020). Kolejne możliwości pojawiają się wraz z rozwojem badań nad działaniem receptora mleczanowego. Są nawet sugestie, że modulacja aktywności GPR81 będzie mogła zostać wykorzystana nie tylko w onkologii, ale także w przypadku leczenia pacjentów neurologicznych (Colucci i współaut. 2023).

Ciekawych rozwiązań mogą również dostarczyć wyniki badań nad laktylacją białek, a przede wszystkim nad laktylacją histonów (Chen i współaut. 2021). Wcześniej wyjaśnienia wymaga jednak wiele kwestii, w tym: mechanizmy kontrolujące stężenie mleczanu w różnych przedziałach komórki (ze szczególnym uwzględnieniem jądra komórkowego), korelacja między stężeniem mleczanu w poszczególnych przedziałach a poziomem laktylacji histonów i wreszcie – dokładny mechanizm, za pomocą którego laktylacja histonów wpływa na poziom ekspresji danego genu w danej tkance. Należy także potwierdzić rolę białka p300 jako enzymu katalizującego laktylację histonów oraz sprawdzić, czy istnieją inne enzymy odpowiedzialne za ten proces.

Na koniec nie sposób jeszcze nie wspomnieć o jednym z najnowszych odkryć czyli o stwierdzeniu wpływu wewnątrzkomórkowego stężenia mleczanu na przebieg cyklu komórkowego (Liu i współaut. 2023), które otwiera drogę do dalszych badań mogących stać się przełomem m.in. w onkologii.

BIBLIOGRAFIA

- Abdel-Haleem A., Lewis N., Jamshidi K., Mineta, Gao X. i współaut., 2017. *The emerging facets of non-cancerous Warburg effect*. Front Endocrinol. 8, 279. DOI: 10.3389/fendo.2017.00279
- Ala M., 2022. *Target c-Myc to treat pancreatic cancer*. Cancer Biol Ther. 23, 34–50. DOI: 10.1080/15384047.2021.2017223
- Brooks G., 1986. *The lactate shuttle during exercise and recovery*. Med Sci Sports Exerc. 18, 360–368. DOI: 10.1249/00005768-198606000-00019
- Brown T., Ganapathy V., 2020. *Lactate/GPR81 signaling and proton motive force in cancer: Role in angiogenesis, immune escape, nutrition, and Warburg phenomenon*. Pharmacol Ther. 206, 107451. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2019.107451
- Chen A., Luo Y., Yang Y., Fu J., Geng X. i współaut., 2021. *Lactylation, a Novel Metabolic Reprogramming Code: Current Status and Prospects*.

- Front Immunol. 12, 688910. DOI: 10.3389/fimmu.2021.688910
- Chen J., Zhu Y., Wu C., Shi J., 2023. *Engineering lactate-modulating nanomedicines for cancer therapy*. Chem Soc Rev. 52, 973–1000. DOI: 10.1039/d2cs00479h
- Chen Z., Liu M., Li L., Chen L., 2018. *Involvement of the Warburg effect in non-tumor diseases processes*. J Cell Physiol. 233, 2839–2849. DOI: 10.1002/jcp.25998
- Colucci A. C. M., Tassinari I. D. Á., da Silveira Loss, E., de Fraga L. S., 2023. *History and function of the lactate receptor GPR81/HCAR1 in the brain: a putative therapeutic target for the treatment of cerebral ischemia*. Neuroscience 526, 144–163. DOI:10.1016/j.neuroscience.2023.06.022
- Dai X., Lv X., Thompson E. W., Ostrikov K. K., 2022. *Histone lactylation: epigenetic mark of glycolytic switch*. Trends Genet. 38, 124–127. DOI: 10.1016/j.tig.2021.09.009
- Daniele L., Sauer B., Gallagher S., Pugh Jr E., Philp N. J., 2008. *Altered visual function in monocarboxylate transporter 3 (Slc16a8) knockout mice*. Am J Physiol Cell Physiol. 295, 451–457. DOI: 10.1152/ajpcell.00124.2008
- De Bock K., Georgiadou M., Schoors S., Kuchnio A., Wong B. i współaut., 2013. *XRole of PFK-FB3-driven glycolysis in vessel sprouting*. Cell 154, 651–653. DOI: 10.1016/j.cell.2013.06.037
- Duan X., Xie Y., Yu J., Hu X., Liu Z. i współaut., 2022. *MCT4/Lactate Promotes PD-L1 Glycosylation in Triple-Negative Breast Cancer Cells*. J Oncol. 2022. DOI: 10.1155/2022/3659714
- Engeland K., 2022. *Cell cycle regulation: p53-p21-RB signaling*. Cell Death Differ. 29, 946–960. DOI: 10.1038/s41418-022-00988-z
- Felmlee M., Jones R., Rodriguez-Cruz V., Follman K., Morris M., 2020. *Monocarboxylate transporters (SLC16): Function, regulation, and role in health and disease*. Pharmacol Rev. 72, 466–485. DOI: 10.1124/pr.119.018762
- Gaffney D., Jennings E., Anderson C., Marentette J., Shi T. i współaut., 2020. *Non-enzymatic Lysine Lactoylation of Glycolytic Enzymes*. Cell Chem Biol. 27, 206–213. DOI: 10.1016/j.chembiol.2019.11.005
- Gallagher-Colombo S., Maminishkis A., Tate S., Grunwald G. B., Philp N. J., 2010. *Modulation of MCT3 expression during wound healing of the retinal pigment epithelium*. Invest Ophthalmol Vis Sci 51, 5343–5350. DOI: 10.1167/iovs.09-5028
- Goldman D., 2014. *Müller glial cell reprogramming and retina regeneration*. Nat Rev Neurosci. 15, 431–442. DOI: 10.1038/nrn3723
- Grochowalska K., Pikul P., Piwkowska A., 2022. *Insights into the regulation of podocyte and glomerular function by lactate and its metabolic sensor G-protein-coupled receptor 81*. J Cell Physiol. 237, 4097–4111. DOI: 10.1002/jcp.30874
- Halestrap A. P., Wilson M. C., 2012. *The monocarboxylate transporter family—role and regulation*. IUBMB Life 64, 1–9. DOI: 10.1002/iub.572
- Hu J., Cai M., Liu Y., Liu B., Xue X. i współaut., 2020. *The roles of GRP81 as a metabolic sensor and inflammatory mediator*. J Cell Physiol. 235, 8938–8950. DOI: 10.1002/jcp.29739
- Huang C. Y., Liu C. L., Ting C. Y., Chiu Y. T., Cheng Y. C. i współaut., 2019. *Human iPSC banking: barriers and opportunities*. J Biomed. Sci. 26, 1–14. DOI: 10.1186/s12929-019-0578-x
- Izzo L. T., Wellen K. E., 2019. *Histone lactylation links metabolism and gene regulation*. Nature 574, 492–493. DOI: 10.1038/d41586-019-03122-1
- Kondoh H., Leonart M., Nakashima Y., Yokode M., Tanaka M. i współaut., 2007. *A High Glycolytic Flux Supports the Proliferative Potential of Murine Embryonic Stem Cells*. Antioxid Redox Signal. 9, 293–299. DOI: 10.1089/ars.2006.1467
- Kozal K., Józwiak P., Krześlak A., 2021. *Contemporary Perspectives on the Warburg Effect inhibition in Cancer Therapy*. Cancer Control 28. DOI:10.1177/10732748211041243
- Lee D., Nguyen T., Lynch K., Cheng R., Vanti W. i współaut., 2001. *Discovery and mapping of ten novel G protein-coupled receptor genes*. Gene 275, 83–91. DOI: 10.1016/S0378-1119(01)00651-5
- Li X., Yang Y., Zhang B., Lin X., Fu X. i współaut., 2022. *Lactate metabolism in human health and disease*. Signal Transduct Target Ther. 7, 305. DOI: 10.1038/s41392-022-01151-3
- Liu C., Wu J., Zhu J., Kuei C., Yu J. i współaut., 2009. *Lactate Inhibits Lipolysis in Fat Cells through Activation of an Orphan G-protein-coupled Receptor, GPR81*. J Biol Chem. 284, 2811–2822. DOI: 10.1074/jbc.M806409200
- Liu W., Wang Y., Bozi L., Fischer P., Jedrychowski M. i współaut., 2023. *Lactate regulates cell cycle by remodeling the anaphase promoting complex*. Nature 616, 790–797. DOI: 10.1038/s41586-023-05939-3
- Lundø K., Trauelsen M., Pedersen S., Schwartz T., 2020. *Why Warburg Works: Lactate Controls Immune Evasion through GPR81*. Cell Metab. 31, 666–668. DOI: 10.1016/j.cmet.2020.03.001
- McNeillis R., Greystoke A., Walton J., Bacon C., Keun H. i współaut., 2020. *A case of malignant hyperlactaemic acidosis appearing upon treatment with the mono-carboxylase transporter 1 in-*

- hibitor AZD3965*. Br J Cancer 122, 1141–1145. DOI: 10.1038/s41416-020-0727-8
- Nian F., Qian Y., Xu F., Yang M., Wang H. i współaut., 2022. *LDHA promotes osteoblast differentiation through histone lactylation*. Biochem Biophys Res Commun. 615, 31–35. DOI: 10.1016/j.bbrc.2022.05.028
- Newington J.T., Pitts A., Chien A., Arseneault R., Schubert D. i współaut., 2011. *Amyloid Beta Resistance in Nerve Cell Lines Is Mediated by the Warburg Effect*. PLoS One 6, e19191. DOI: 10.1371/journal.pone.0019191
- Pascale R., Calvisi D., Simile M., Feo C., Feo F., 2020. *The Warburg effect 97 years after its discovery*. Cancers 12, 1–33. DOI: 10.3390/cancers12102819
- Singh M., Afonso J., Sharma D., Gupta R., Kumar V. i współaut., 2023. *Targeting monocarboxylate transporters (MCTs) in cancer: How close are we to the clinics?* Semin Cancer Biol. 90, 1–14. DOI: 10.1016/j.semcancer.2023.01.007
- Sun S., Li H., Chen J., Qian Q., 2017. *Lactic acid: no longer an inert and end-product of glycolysis*. Physiology 32, 453–463. DOI: 10.1152/physiol.00016.2017
- Unterlass J., Curtin N., 2019. *Warburg and Krebs and related effects in cancer*. Expert Rev Mol Med. 21, 1–17. DOI: 10.1017/erm.2019.4
- Varner E., Trefely S., Bartee D., Von Krusenstiern E., Izzo L. i współaut., 2020. *Quantification of lactoyl-CoA (lactyl-CoA) by liquid chromatography mass spectrometry in mammalian cells and tissues: Lactoyl-CoA by LCMS*. Open Biol. 10, 200187. DOI: 10.1098/rsob.200187
- Vaupel P., Multhoff G., 2021. *Revisiting the Warburg effect: historical dogma versus current understanding*. J Physiol. 599, 1745–1757. DOI: 10.1113/JP278810
- Yamashita A., Zhao Y., Matsuura Y., Yamasaki K., Moriguchi-Goto S. i współaut., 2014. *Increased metabolite levels of glycolysis and pentose phosphate pathway in rabbit atherosclerotic arteries and hypoxic macrophage*. PLoS ONE 9, e86426. DOI: 10.1371/journal.pone.0086426
- Yu X., Zhang R., Wei C., Gao Y., Yu Y., 2021. *MCT2 overexpression promotes recovery of cognitive function by increasing mitochondrial biogenesis in a rat model of stroke*. Anim Cells Syst. 25, 93–101. DOI: 10.1080/19768354.2021.1915379
- Zhang D., Tang Z., Huang H., Zhou G., Cui C. i współaut., 2019. *Metabolic regulation of gene expression by histone lactylation*. Nature 574, 575–580. DOI: 10.1038/s41586-019-1678-1
- Zhang W., Guo C., Jiang K., Ying M., Hu X., 2017. *Quantification of lactate from various metabolic pathways and quantification issues of lactate isotopologues and isotopmers*. Sci Rep. 7, 8489. DOI: 10.1038/s41598-017-08277-3