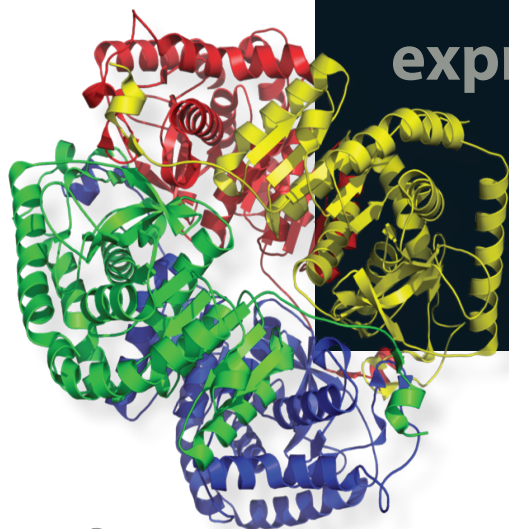


Las funciones metabólicas, endocrinas y reguladoras de la expresión genética del lactato



Genaro Matus-Ortega^{a,*}, Lucero Romero-Aguilar^a, Oscar Iván Luqueño-Bocardo^a, Katia Hernández-Morfin^{b,†}, Guadalupe Guerra-Sánchez^b, Maura Matus-Ortega^c, Federico Martínez-Montes^c, Juan Pablo Pardo-Vázquez^a

Resumen

El lactato se considera un metabolito de desecho que se produce durante la fatiga muscular. En contraste con esta visión simplista, en este trabajo se proporcionan evidencias de las múltiples y complejas funciones de este metabolito. Se muestra que: 1) el lactato es el producto final de la glucólisis, independientemente de la concentración de oxígeno en el medio en el que se encuentren las células; 2) el lactato forma parte de 2 tipos de lanzadera, una que funciona en el espacio intermembranal de la mitocondria, y otra intercelular, que se encarga de alimentar con lactato a ciertos tipos celulares, como las neuronas o el músculo cardíaco; 3) en los esper-

matozoides, el lactato se transporta directamente a la matriz mitocondrial y allí se oxida para producir piruvato y NADH; 4) en el hígado, el lactato participa en la oxidación del etanol a través de la generación de peróxido de hidrógeno; 5) que dependiendo de la estirpe celular, el lactato puede funcionar como agente antiinflamatorio (endocrino) o regulador de la expresión génica.

Palabras clave: Fermentación láctica; hipoxia; fatiga muscular; regulador génico.

The metabolic, endocrine and regulatory functions of lactate gene expression

Abstract

Lactate is considered to be a waste metabolite produced during muscle fatigue. In contrast with this simplistic point of view, in this review we provide evidence of the multiple and complex functions of this metabolite. We show that: 1) lactate is the final product of the glycolysis regardless the oxygen concentration in the cell 2) lactate is part of two types of shuttle, one that functions in the intermembrane space of the mitochondrion, and another intercellular, which is responsible for feeding lactate to certain cell types, such as neurons or heart muscle, 3) in sperm, lactate is transported directly to the mitochondrial matrix and there it is oxidized to produce pyruvate and NADH, 4) in the liver, lactate participates in the oxidation of ethanol through the generation of hydrogen peroxide, 5) Depending on the cell

^a Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México.

^b Departamento de Microbiología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. Ciudad de México, México.

^c Laboratorio de Neurobiología Molecular y Neuroquímica de Adicciones. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente. Ciudad de México, México.

ORCID ID:

[†] <https://orcid.org/0000-0002-8050-0958>

* Autor para correspondencia: Genaro Matus-Ortega o Juan Pablo Pardo.

Correos electrónicos: genaromatus@bq.unam.mx, pardov@bq.unam.mx

Recibido: 28-febrero-2019. Aceptado: 14-mayo-2019.

line, lactate can function as anti-inflammatory agent (endocrine) and/or a regulator of gene expression.

Keywords: Lactic fermentation; hypoxia; muscle fatigue; gene regulator.

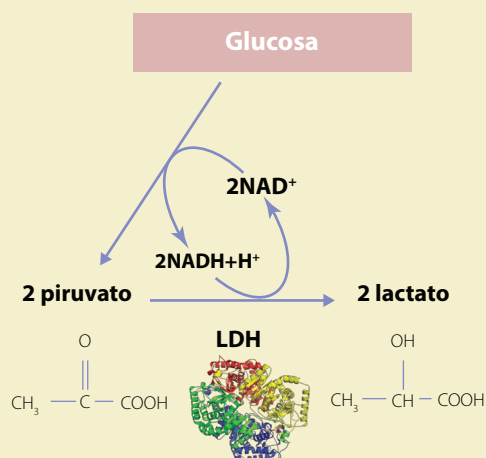
INTRODUCCIÓN

En la segunda mitad del siglo XIX se describió, por primera vez, en levaduras y otros organismos, al L-lactato y al etanol como productos de la fermentación de diversos azúcares. Se observó que las concentraciones de ambos metabolitos eran características de los procesos de fermentación anaerobios, y que ambos disminuían sus concentraciones en presencia de oxígeno. A esta disminución de la fermentación se le denominó efecto Pasteur. Para la primera década del siglo XX, utilizando células del músculo esquelético de ancas de rana, Walter M. Fletcher y Frederik G. Hopkins reportaron que durante la estimulación muscular, cuando se llegaba a la fatiga, el transporte de lactato hacia el plasma aumentaba, y que la concentración de esta molécula en el plasma disminuía cuando las fibras musculares se colocaban en condiciones de alta oxigenación¹. En la década de 1940, Otto Fritz Meyerhof y Gustav Embden demostraron que el lactato derivaba de la degradación

del glucógeno muscular y de la vía glucolítica (**figura 1a**). En este contexto, las funciones de la lactato deshidrogenasa y del lactato quedaron relegadas a ser parte de un mecanismo que permitía la oxidación del NADH citoplasmático en la segunda parte de la vía glucolítica, siendo elemental para el correcto funcionamiento de la glucólisis².

Con estas evidencias se estableció la idea ampliamente difundida de que el lactato era un metabolito de desecho, producto de la reducción del piruvato, y que se presentaba básicamente en condiciones de fatiga muscular o cuando las concentraciones de oxígeno resultaban insuficientes³. En contraste con esta concepción minimalista, en este trabajo se proporcionan evidencias de las múltiples y complejas funciones de este metabolito. Se muestra que el lactato siempre es el producto final de la glucólisis, independientemente de la concentración de oxígeno en la que se encuentren las células, y que participa en 2 tipos de lanzadera; una que se encuentra en el espacio intermembranal de la mitocondria, y otra intercelular que conecta a diferentes tipos celulares y que se encarga de alimentar con lactato a ciertos tipos celulares, como las neuronas y algunas células cancerosas. Asimismo, se describen aspectos del metabolismo del lactato en los espermatozoides y en los hepatocitos.

Figura 1. La lactato deshidrogenasa (LDH) como regeneradora del NAD⁺



a) Esquema de la oxidación del NADH generado durante la glucólisis, por la LDH.

Lactato deshidrogenasa		
Tipo	Composición	Localización
LDH ₁	HHHH	Miocardio, eritrocito, riñón, páncreas
LDH ₂	HHHM	Miocardio, eritrocito, riñón
LDH ₃	HHMM	Páncreas, pulmón, leucocitos
LDH ₄	HMMM	Hígado, músculo esquelético
LDH ₅	MMMM	Hígado, músculo esquelético

b) Se muestran las 5 isoformas de la LDH y su principal localización.

LA REACCIÓN ENZIMÁTICA DE LA LACTATO DESHIDROGENASA Y LA RELACIÓN LACTATO/PIRUVATO EN LAS CÉLULAS

La lactato deshidrogenasa (LDH) es un heterotetrámero que se presenta en 5 isoformas (M4, M3H1, M2H2, M1H3 y H4) y cuya composición es tejido específica (**figura 1b**). La constante de equilibrio (K_{eq}) de la reacción catalizada por la LDH está fuertemente favorecida hacia la formación de lactato ($3.03 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$)⁴.



La LDH es muy activa en la mayoría de los tejidos, por lo que no es sorprendente encontrar que la relación lactato/piruvato sea generalmente mayor a 5, como en los músculos esquelético y cardíaco, en el hígado, riñón, bazo, sistema nervioso central e incluso en el tejido adiposo^{5,6}. En el tejido hepático la relación es de 7:1⁷; en neuronas, de 23:1⁸; en el músculo en reposo, de 13:1⁷, pudiendo alcanzar valores de 160:1⁹ en condiciones de ejercicio intenso. En el caso de tejidos dañados por isquemia, la relación puede ser de 25:1 o hasta de 40:1 como en el cerebro¹⁰⁻¹¹.

LA ACIDOSIS LÁCTICA QUE SE DERIVA DEL EJERCICIO INTENSO

Asociado con la fatiga muscular, un aspecto metabólico importante fue la vinculación del lactato con la acidosis metabólica durante el ejercicio físico intenso. Es cierto que la lactoacidosis ocurre como resultado del ejercicio anaeróbico, y que los valores de acidez en el plasma pueden tomar valores de pH incluso de 7.2. Aunque se ha considerado que esta acidificación se debe a la liberación del ácido láctico (CH_3COOH), realmente se produce como consecuencia del cotransporte electroneutro del anión lactato (CH_3COO^-) con un protón (**figura 2a**). Se debe considerar que el valor del pKa del grupo carboxilo del ácido láctico es de 3.8, el cual es al menos 3 unidades menor que el valor del pH plasmático o intracelular, por lo que la relación lactato/ácido láctico es de 10,000:4, incluso en condiciones de acidosis metabólica extrema debida al ejercicio anaeróbico intenso. Esto quiere decir que para una

concentración de lactato de 1 mM^{12} , la de ácido láctico sería de 0.0004 mM ($0.4 \mu\text{M}$). Como se puede apreciar, es un valor insignificante considerando la concentración de lactato.

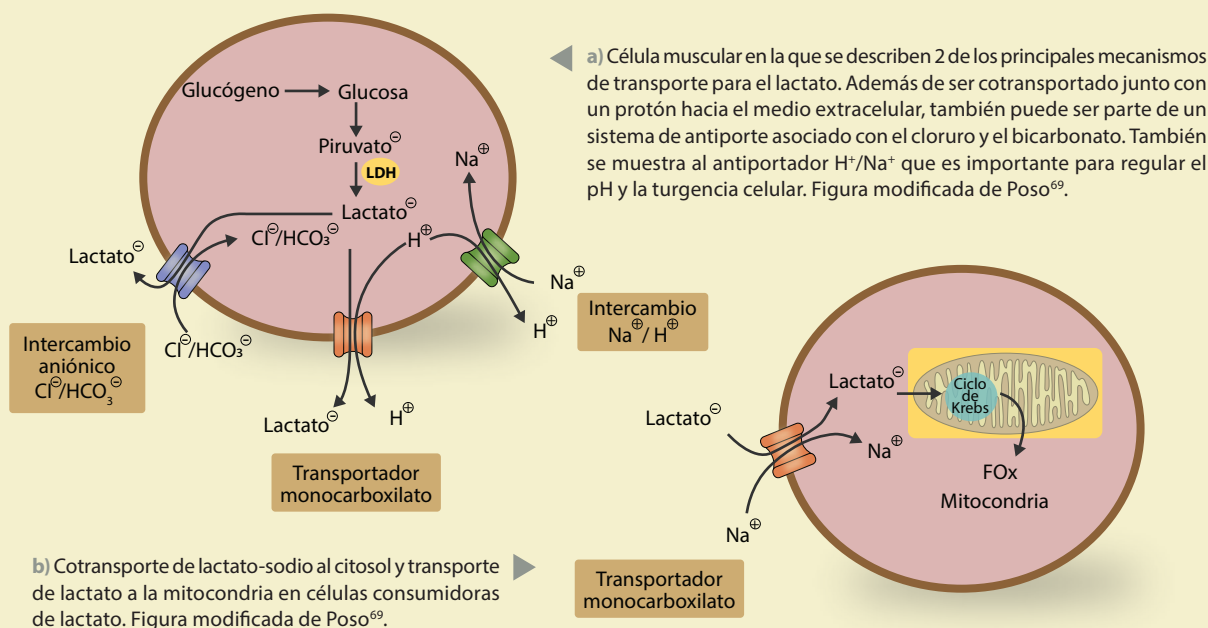
EL LACTATO ES EL PRODUCTO FINAL DE LA GLUCÓLISIS Y SE ENCUENTRA EN EL SISTEMA CIRCULATORIO Y DENTRO DE LAS CÉLULAS

El paradigma que describe al lactato como un compuesto de desecho derivado del metabolismo anaerobio fue prácticamente aceptado en el ámbito científico y clínico, por lo que entró a formar parte de los libros de texto de bioquímica. Sin embargo, durante la segunda mitad del siglo XX, se comprobó que las concentraciones normales de lactato en sangre eran de 0.8 a 2 mM, mientras que en el interior de las células variaba de 1 a 1.8 mM^{13} , inclusive en condiciones donde la presión parcial de oxígeno era mayor de los 5-25 Torricellis¹⁴⁻¹⁶. Es importante hacer notar que la presencia de oxígeno no modifica de manera significativa las concentraciones de lactato, como originalmente se propuso.

Asimismo, a principios de la primera década del siglo XXI, Brooks, Gladden y Shchur sugirieron que el lactato, en lugar del piruvato, es el producto final de la glucólisis, y que este metabolito se produce constantemente en las células, inclusive en condiciones de normoxia (pO_2 20-90 Torr), en donde la cadena de transporte de electrones tiene un funcionamiento normal. Por ejemplo, los astrocitos del cerebro humano pueden liberar cerca de $50 \text{ micromol min}^{-1} \text{ Kg}^{-1}$ de lactato en estas condiciones¹². Esto rompió con el paradigma de que el piruvato se transforma en acetil coenzima A (acetil-CoA) en condiciones aerobias y en lactato en condiciones de anaerobiosis.

EL LACTATO ES NECESARIO PARA LA REPARACIÓN DE TEJIDOS DAÑADOS

Una de las paradojas más llamativas relacionadas con el metabolismo del lactato fue la efectividad de las soluciones salinas glucosadas complementadas con lactato para reparar tejidos dañados por condiciones de hipoxia, por ejemplo, durante la falla cardíaca¹⁷, un evento vascular cerebral¹⁸ el *shock*

Figura 2. El cotransportador de lactato-protón y lactato-sodio en la membrana plasmática

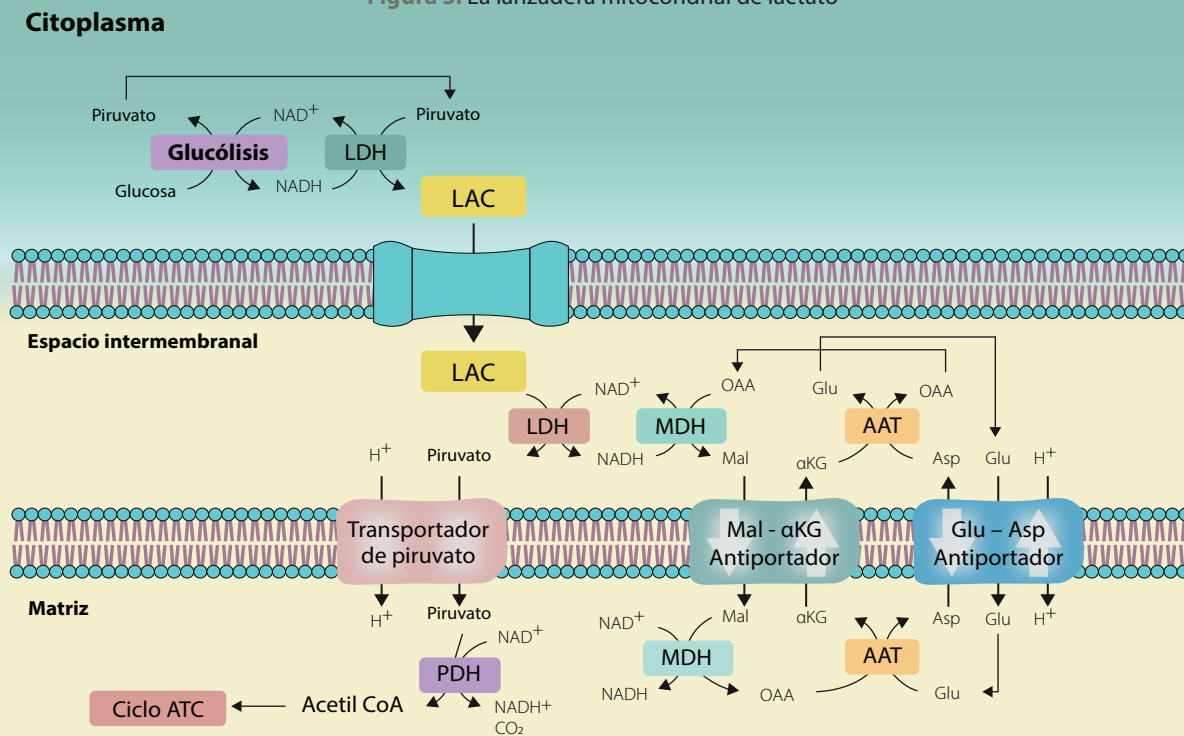
endotóxico¹⁹ o la sepsis inmunosupresiva²⁰. En estos y otros casos, las soluciones salinas glucosadas carentes de lactato resultaban insuficientes para reparar los tejidos dañados²¹, por lo que se sugirieron nuevas funciones para el lactato que iban más allá de la de un metabolito de desecho¹. Es probable que la lanzadera mitocondrial de lactato sea la responsable de este efecto benéfico en la reparación del daño tisular.

LAS LANZADERAS INTRACELULARES E INTERCELULARES DE LACTATO

En 1998 Brooks describió la lanzadera mitocondrial de lactato, acoplada a la de malato-aspartato (MAS) (**figura 3**), como uno de los principales mecanismos para dirigir el poder reductor del NADH citosólico al interior de la mitocondria. De esta manera, el lactato que se produce en el citosol por la actividad glucolítica, entra al espacio intermembranal de la mitocondria, en donde se oxida a piruvato por otra lactato deshidrogenasa. El piruvato, a través de su transportador, ingresa a la matriz mitocondrial, en donde se descarboxila oxidativamente para entrar

al ciclo de Krebs como acetil-CoA, mientras que los electrones del NADH que se produjo en el espacio intermembranal se introducen a la matriz mitocondrial por medio de la lanzadera de aspartato-malato (**figura 3**). La ventaja energética de este sistema es que en vez de eliminar al lactato que se produce en el citosol, este se introduce a la matriz mitocondrial como piruvato y el poder reductor adicional en forma de NADH alimenta a la cadena respiratoria para la síntesis de ATP (**figura 3**). La lanzadera de lactato puede funcionar en ambos sentidos, dependiendo de las concentraciones de los metabolitos a cada lado de la membrana mitocondrial interna.

Las lanzaderas de lactato intercelular también permiten que este metabolito funcione como un intermediario entre las células de diferentes tejidos²². En este caso, el transportador de monocarboxilato (MCT) cataliza el transporte de lactato a través de la membrana plasmática²³. El ciclo de Cori es el ejemplo clásico de lanzadera intercelular (**figura 4b**). En este ciclo, el lactato que se produce en músculo y eritrocitos, entre otros órganos o células, se libera al torrente circulatorio, llega al hígado en

Figura 3. La lanzadera mitocondrial de lactato

La lanzadera de lactato funciona acoplada a la lanzadera de malato-aspartato. Su adecuado funcionamiento permite alimentar a la cadena de transporte con los electrones del NADH del espacio intermembranal. Modificada de Kane².

LDH: lactato deshidrogenasa; MDH: malato deshidrogenasa; PDH: complejo de la piruvato deshidrogenasa; AAT: aspartato aminotransferasa; LAC: lactato; Mal: malato; Asp: aspartato; OAA: oxaloacetato; Glu: glutamato; αKG: alfa ceto glutarato.

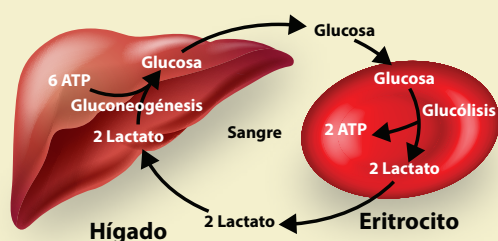
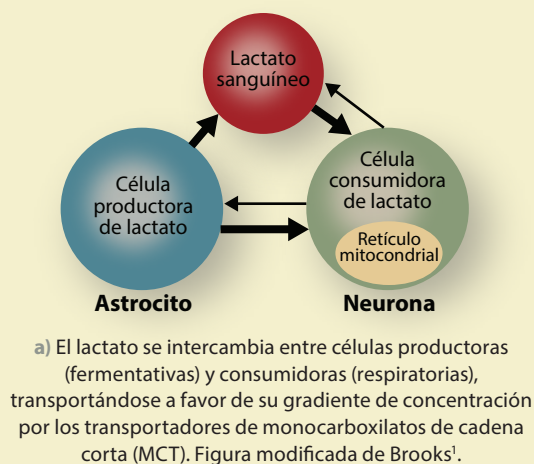
donde se transforma, por medio de la gluconeogénesis, en glucosa que se libera a la sangre para su uso por los tejidos que lo requieren. El ciclo de Cori está involucrado en la regulación de la glucemia (**figura 4b**).

En las otras lanzaderas, es común que las células con una mayor tasa de crecimiento o mayor tasa respiratoria sean consumidoras de lactato, mientras que las células con una menor tasa de crecimiento o de consumo de oxígeno funcionan como centros productores de lactato (**figura 4b**)²⁴. Un ejemplo de este sistema de comunicación célula-célula mediada por el lactato es el que ocurre entre los astrocitos y las neuronas glutamatérgicas²⁵, en donde los astrocitos tienen un metabolismo glucolítico (fermentativo) y las neuronas un metabolismo respiratorio²⁶.

Es decir, los astrocitos liberan lactato al medio extracelular y mantienen el metabolismo respiratorio de las neuronas a través del funcionamiento de la lanzadera mitocondrial de lactato (**figura 4a**)²⁷. En este sentido, el lactato actúa como una molécula endocrina. Es importante resaltar que el sistema nervioso maduro depende totalmente del correcto funcionamiento de la lanzadera de malato-aspartato²⁸⁻³⁰. Otros ejemplos de sistemas tisulares comunicados a través del lactato son el tejido cardíaco y muscular^{31,32}, el hígado y el riñón^{33,34}, las células de Sertoli y los espermatozoides³⁵⁻³⁸.

Un caso que requiere el adecuado funcionamiento de la lanzadera de lactato es el de las mitocondrias de músculo esquelético sometido a ejercicio constante^{39,40} en donde, al igual que en el músculo

Figura 4. La lanzadera célula-célula de lactato



b) El ciclo de Cori involucra al hígado y a la corteza renal como principales órganos gluconeogénicos que reciclan el lactato producido por el músculo esquelético y por los eritrocitos. Figura modificada de Devlin octava edición.

cardíaco, el lactato se prefiere sobre la glucosa y los ácidos grasos para la obtención de energía^{31,41}.

LOS ESPERMATOZOIDES, UN EJEMPLO DE TRANSPORTE DE LACTATO A LA MATRIZ MITOCONDRIAL

Para la capacitación de los espermatozoides y su rápido movimiento se requiere de un eficiente aporte energético, en el que la fructosa y el lactato son fundamentales como donadores de energía. La presencia de una lactato deshidrogenasa espermática (LDH-X o LDH-C4) en la matriz mitocondrial permite la producción del NADH en un mecanismo que no requiere de la lanzadera de malato aspartato⁴². De esta manera, con la reducción del piruvato en el citosol, se regenera el NAD⁺ y se potencia la glucólisis, y si a esto se le añade que el transporte de lactato a la matriz mitocondrial genera NADH (figura 5), el resultado es un incremento en la síntesis de ATP, que permite una mayor tasa de movilidad de los espermatozoides⁴³.

EL LACTATO Y LA OXIDACIÓN DEL ETANOL EN EL HÍGADO

En el hígado existen varios sistemas que se encargan de oxidar al etanol⁴⁴. De estos, el más importante es el de la alcohol deshidrogenasa (ADH), que cataliza la reacción en la que se produce acetaldehído y

Figura 5. El metabolismo del lactato en el espermatozoide

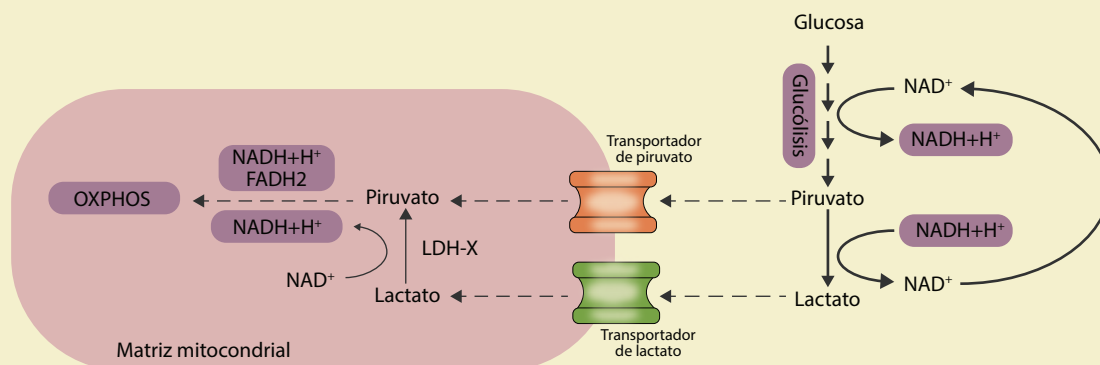
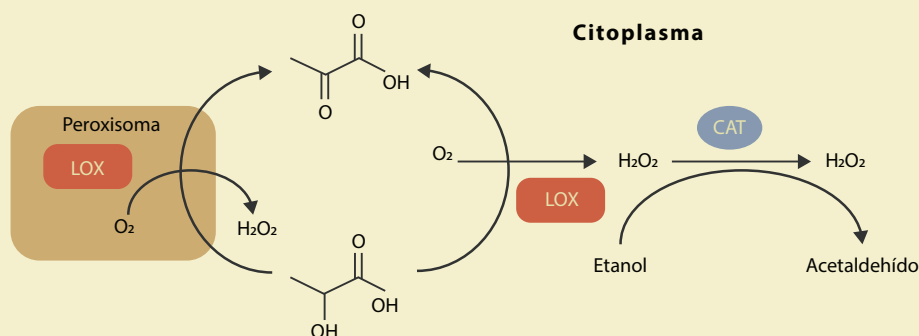
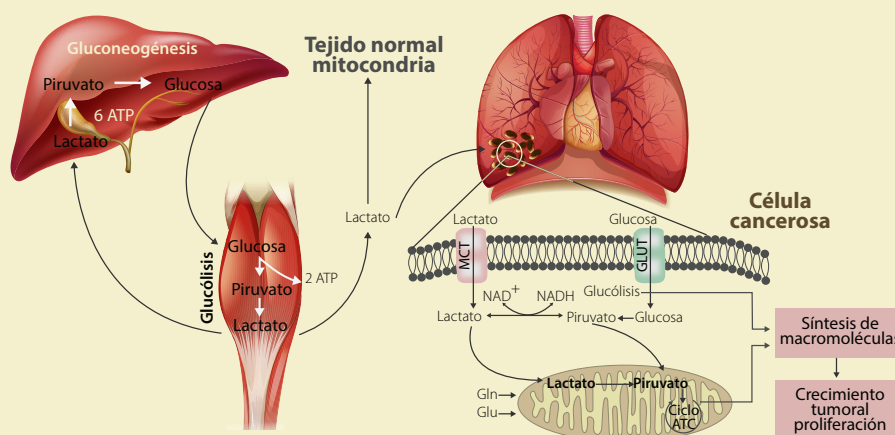


Figura 6. La lactato oxidasa hepática y la oxidación del etanol

El peróxido de hidrógeno producido por la lactato oxidasa lo utiliza la catalasa para oxidar al etanol. La lactato oxidasa se encuentra en el citosol y en los peroxisomas. Figura modificada de Villalobos-García⁴⁵.

Figura 7. El lactato como fuente de energía para las células tumorales

El lactato puede ser tomado por algunas células cancerosas, como las del pulmón, en donde es dirigido hacia las mitocondrias. Los transportadores de glucosa 1 y 3 (GLUT 1 y 3), los transportadores de monocarboxilato 1 y 4 (MCT 1 y 4) y los transportadores de glutamato/glutamina, permiten la energización de estas células. Esquema modificado de Martínez-Reyes³.

NADH. Puesto que la LDH consume NAD⁺, que es uno de los sustratos de la ADH, la estimulación de la oxidación del etanol por lactato sugiere un mecanismo alterno e independiente de la ADH. Utilizando centrifugaciones diferenciales e inhibidores de los diversos sistemas enzimáticos, se encontró que la oxidación del etanol dependía de la acción acoplada de una lactato oxidasa, de localización citosólica y peroxisomal, y de la catalasa⁴⁵. Como resultado de la actividad de la lactato oxidasa se

produce peróxido de hidrógeno, el cual reacciona con el etanol para dar agua y acetaldehído. Esta última reacción está catalizada por la catalasa que trabaja en forma de peroxidasa (**figura 6**).

EL LACTATO COMO UN AGENTE ANTIINFLAMATORIO Y COMO REGULADOR DE LA EXPRESIÓN GÉNICA

El papel antiinflamatorio del lactato administrado por vía intravenosa originalmente se explicó por su

efecto osmótico y su función como amortiguador del pH. Se propuso que al cotransportarse el lactato con sodio y con protones hacia el interior de las células (**figura 2b**), se controlaba el daño provocado por el incremento de la presión osmótica en la cavidad intracraneal, al mismo tiempo que se regulaba el pH del fluido transcelular⁴⁶⁻⁴⁸. Sin embargo, recientemente se ha descrito al lactato como un regulador de la expresión genética, que al unirse al receptor de 7 segmentos transmembranales GPR81^{5,49,50}, y a través de la vía del AMPc y del receptor de unión al AMPc (CREB), inhibe diversas vías inflamatorias⁵¹. Hashimoto (2007) demostró cambios en la expresión de 673 genes al exponer a las células L6 a concentraciones de 10-20 mM de lactato⁵², mientras que Martínez-Outschoorn (2011) observó cambios en 4,131 genes, utilizando células epiteliales MCF7; muchos de estos cambios son similares a los que produce el factor de hipoxia 1 (HIF-1)⁵³⁻⁵⁵.

EL LACTATO COMO UN AGENTE TUMOROGÉNICO

El lactato estimula la glutaminólisis oxidativa y promueve el crecimiento de las células tumorales (**figura 7**), debido a la sobreexpresión del transportador de glutamina (ASCT2) y de la glutaminasa 1 (GLS1)^{1,56}, que se traduce en un aumento en el transporte de la glutamina y el glutamato y su posterior metabolismo. Asimismo, hay un incremento en la actividad de la enzima málica debido a defectos en su regulación⁵⁷. La acidificación del medio circundante es otro de los papeles centrales del lactato durante el desarrollo tumoral, ya que al ser cotransportado junto con protones, las células tumorales lo utilizan para disminuir el pH en casi 2 unidades, con valores entre 7.0 y 5.5^{58,59}. Por otro lado, el transporte de lactato del líquido extracelular al citosol también es importante para el crecimiento de las células tumorales. Aunque se considera que las células cancerosas se especializan en liberar lactato, se ha reportado un alto consumo de lactato en diversos tipos de células tumorales, como las de pulmón que requieren de este metabolito para favorecer su crecimiento y diseminación por los tejidos circundantes³. En ausencia de lactato, las células de tumores de pulmón disminuyen

su crecimiento en casi un 80%^{1,35}. En el cáncer de mama, de cuello, de cabeza, el renal, el adrenal, el pancreático, el colorrectal y el ovárico, así como en diversos tipos de melanomas, hay un alto consumo de lactato⁶⁰.

También se ha asociado este metabolito con la vascularización y migración celular en los gliomas y otros tipos de cáncer⁶¹. Recientemente, este vínculo se explicó parcialmente al observarse que el lactato estimula la liberación de los factores de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y de crecimiento transformante (TGF- β 2), las interleucinas proangiogénicas 1 y 8 (IL-1, IL8), el factor de necrosis NF κ B, y el factor inducible de hipoxia 1 (HIF-1 α), siguiendo en todos los casos una relación dosis-respuesta entre la concentración de lactato y la expresión de los factores antes mencionados⁶²⁻⁶⁵. Cuando se inhibe a la LDH con oxamato, disminuye la vascularización⁶⁴. Otra evidencia que vincula a la actividad de la LDH con la angiogénesis se encontró en diversas líneas celulares tumorales en las que la eliminación del gen de la LDH inhibió la migración celular, la angiogénesis y la vascularización⁶⁶⁻⁶⁸, lo que confirma el papel del lactato y la LDH en las funciones metabólicas de las células cancerígenas.

CONCLUSIONES

El lactato es el producto final de la glucólisis independientemente de la presencia de oxígeno. Una vez que se forma en el citosol, el lactato puede expulsarse a través de un cotransporte con protones al torrente circulatorio, en donde participa en el ciclo de Cori para la síntesis de glucosa o se utiliza como fuente de energía por neuronas, cardiomiocitos o células tumorales, entre otros. El lactato también puede transportarse al espacio intermembranal de la mitocondria, en donde se acopla a la lanzadera de aspartato-malato para introducir los equivalentes reductores a la cadena respiratoria. Existe un acarreador específico para el lactato en las mitocondrias de los espermatozoides, que hace más eficiente la oxidación de este metabolito y la síntesis de ATP. A nivel hepático, la presencia de la lactato oxidasa favorece la oxidación del etanol. Finalmente, el lactato tiene otras funciones entre las que se incluyen la regulación de la expresión génica.

AGRADECIMIENTOS

Los autores GMO y LRA agradecen a la DGAPA por las becas posdoctorales.

FINANCIAMIENTO

Este trabajo fue financiado con los apoyos PAPIIT-UNAM IN222117; CONACyT 254904, 256520 y SIP-IPN (Secretaría de Investigación y Posgrado Instituto Politécnico Nacional) 2018625. ●

REFERENCIAS

- Brooks GA. The Science and Translation of Lactate Shuttle Theory. *Cell metabolism*. 2018 Apr 3;27(4):757-85. doi: 10.1016/j.cmet.2018.03.008.
- Kane DA. Lactate oxidation at the mitochondria: a lactate-malate-aspartate shuttle at work. *Frontiers in neuroscience*. 2014;8:366. doi: 10.3389/fnins.2014.00366.
- Martínez-Reyes I, Chandel NS. Waste Not, Want Not: Lactate Oxidation Fuels the TCA Cycle. *Cell metabolism*. 2017 Dec 5;26(6):803-4. doi: 10.1016/j.cmet.2017.11.005.
- Hakala MT, Glead AJ, Schwert GW. Lactic dehydrogenase. II. Variation of kinetic and equilibrium constants with temperature. *The Journal of biological chemistry*. 1956 Jul;221(1):191-209.
- Lauritzen KH, Morland C, Puchades M, Holm-Hansen S, Hagelin EM, Lauritzen F, et al. Lactate receptor sites link neurotransmission, neurovascular coupling, and brain energy metabolism. *Cerebral cortex*. 2014 Oct;24(10):2784-95. doi: 10.1093/cercor/bht136.
- Control of Glycolysis and Glycogen Metabolism. *Comprehensive Physiology*.
- Liaw KY, Wei TC, Hsu SC, Lin JK. Effect of severe injury and critical illness on high-energy phosphates in human liver and muscle. *The Journal of trauma*. 1985 Jul;25(7):628-33.
- Reinstrup P, Stahl N, Mellergard P, Uski T, Ungerstedt U, Nordstrom CH. Intracerebral microdialysis in clinical practice: baseline values for chemical markers during wakefulness, anesthesia, and neurosurgery. *Neurosurgery*. 2000 Sep;47(3):701-9; discussion 9-10.
- Sahlin K, Harris RC, Nyland B, Hultman E. Lactate content and pH in muscle obtained after dynamic exercise. *Pflügers Archiv: European journal of physiology*. 1976 Dec 28;367(2):143-9.
- Vespa P, Bergsneider M, Hattori N, Wu HM, Huang SC, Martin NA, et al. Metabolic crisis without brain ischemia is common after traumatic brain injury: a combined microdialysis and positron emission tomography study. *Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2005 Jun;25(6):763-74. doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600073.
- Sahuquillo J, Merino MA, Sánchez-Guerrero A, Arikán F, Vidal-Jorge M, Martínez-Valverde T, et al. Lactate and the lactate-to-pyruvate molar ratio cannot be used as independent biomarkers for monitoring brain energetic metabolism: a microdialysis study in patients with traumatic brain injuries. *PloS one*. 2014;9(7):e102540. doi: 10.1371/journal.pone.0102540.
- van Hall G, Stromstad M, Rasmussen P, Jans O, Zaar M, Gam C, et al. Blood lactate is an important energy source for the human brain. *Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2009 Jun;29(6):1121-9. doi: 10.1038/jcbfm.2009.35.
- Brooks GA. Cell-cell and intracellular lactate shuttles. *The Journal of physiology*. 2009 Dec 1;587(Pt 23):5591-600. doi: 10.1113/jphysiol.2009.178350.
- Jobnis FF, Stainsby WN. Oxidation of NADH during contractions of circulated mammalian skeletal muscle. *Respiration physiology*. 1968 May;4(3):292-300.
- Vega C, Poitry-Yamate CL, Jirounek P, Tsacopoulos M, Coles JA. Lactate is released and taken up by isolated rabbit vagus nerve during aerobic metabolism. *Journal of neurochemistry*. 1998 Jul;71(1):330-7.
- Richardson RS, Noyszewski EA, Leigh JS, Wagner PD. Lactate efflux from exercising human skeletal muscle: role of intracellular PO₂. *Journal of applied physiology*. 1998 Aug;85(2):627-34. doi: 10.1152/jappl.1998.85.2.627.
- Nalos M, Leverve X, Huang S, Weisbrodt L, Parkin R, Seppelt I, et al. Half-molar sodium lactate infusion improves cardiac performance in acute heart failure: a pilot randomised controlled clinical trial. *Critical care*. 2014 Mar 25;18(2):R48. doi: 10.1186/cc13793.
- Brooks GA, Martin NA. Cerebral metabolism following traumatic brain injury: new discoveries with implications for treatment. *Frontiers in neuroscience*. 2014;8:408. doi: 10.3389/fnins.2014.00408.
- Duburcq T, Favory R, Mathieu D, Hubert T, Mangalaboyi J, Gmyr V, et al. Hypertonic sodium lactate improves fluid balance and hemodynamics in porcine endotoxic shock. *Critical care*. 2014 Aug 14;18(4):467 doi: 10.1186/s13054-014-0467-3.
- Nolt B, Tu F, Wang X, Ha T, Winter R, Williams DL, et al. Lactate and Immunosuppression in Sepsis. *Shock*. 2018 Feb;49(2):120-5. doi: 10.1097/SHK.0000000000000958.
- Marques NR, Ford BJ, Khan MN, Kinsky M, Deyo DJ, Mileski WJ, et al. Automated closed-loop resuscitation of multiple hemorrhages: a comparison between fuzzy logic and decision table controllers in a sheep model. *Disaster and military medicine*. 2017;3:1. doi: 10.1186/s40696-016-0029-0.
- Brooks GA. Mammalian fuel utilization during sustained exercise. *Comparative biochemistry and physiology Part B, Biochemistry & molecular biology*. 1998 May;120(1):89-107.
- Brown MA, Brooks GA. Trans-stimulation of lactate trans-

- port from rat sarcolemmal membrane vesicles. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1994 Aug 15;313(1):22-8. doi: 10.1006/abbi.1994.1353.
24. Elustondo PA, White AE, Hughes ME, Brebner K, Pavlov E, Kane DA. Physical and functional association of lactate dehydrogenase (LDH) with skeletal muscle mitochondria. *The Journal of biological chemistry*. 2013 Aug 30;288(35):25309-17. doi: 10.1074/jbc.M113.476648.
 25. Pellerin L, Magistretti PJ. Sweet sixteen for ANLS. *Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2012 Jul;32(7):1152-66. doi: 10.1038/jcbfm.2011.149.
 26. Pellerin L, Pellegrini G, Bittar PG, Charnay Y, Bouras C, Martin JL, et al. Evidence supporting the existence of an activity-dependent astrocyte-neuron lactate shuttle. *Developmental neuroscience*. 1998;20(4-5):291-9. doi: 10.1159/000017324.
 27. Neves A, Costalat R, Pellerin L. Determinants of brain cell metabolic phenotypes and energy substrate utilization unraveled with a modeling approach. *PLoS computational biology*. 2012;8(9):e1002686. doi: 10.1371/journal.pcbi.1002686.
 28. Kauppinen RA, Sihra TS, Nicholls DG. Aminooxyacetic acid inhibits the malate-aspartate shuttle in isolated nerve terminals and prevents the mitochondria from utilizing glycolytic substrates. *Biochimica et biophysica acta*. 1987 Sep 14;930(2):173-8.
 29. Contreras L, Satrustegui J. Calcium signaling in brain mitochondria: interplay of malate aspartate NADH shuttle and calcium uniporter/mitochondrial dehydrogenase pathways. *The Journal of biological chemistry*. 2009 Mar 13;284(11):7091-9. doi: 10.1074/jbc.M808066200.
 30. Gellerich FN, Gizatullina Z, Trumbekaitė S, Korzeniewski B, Gaynutdinov T, Seppet E, et al. Cytosolic Ca²⁺ regulates the energization of isolated brain mitochondria by formation of pyruvate through the malate-aspartate shuttle. *The Biochemical journal*. 2012 May 1;443(3):747-55. doi: 10.1042/BJ20110765.
 31. Bergman BC, Tsvetkova T, Lowes B, Wolfel EE. Myocardial glucose and lactate metabolism during rest and atrial pacing in humans. *The Journal of physiology*. 2009 May 1;587(Pt 9):2087-99. doi: 10.1113/jphysiol.2008.168286.
 32. Gertz EW, Wisneski JA, Stanley WC, Neese RA. Myocardial substrate utilization during exercise in humans. Dual carbon-labeled carbohydrate isotope experiments. *The Journal of clinical investigation*. 1988 Dec;82(6):2017-25. doi: 10.1172/JCI113822.
 33. Woerle HJ, Meyer C, Dostou JM, Gosmanov NR, Islam N, Popa E, et al. Pathways for glucose disposal after meal ingestion in humans. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2003 Apr;284(4):E716-25. doi: 10.1152/ajpendo.00365.2002.
 34. Emhoff CA, Messonnier LA, Horning MA, Fattor JA, Carlson TJ, Brooks GA. Direct and indirect lactate oxidation in trained and untrained men. *Journal of applied physiology*. 2013 Sep;115(6):829-38. doi: 10.1152/jappphysiol.00538.2013.
 35. Storey BT, Kayne FJ. Energy metabolism of spermatozoa. VI. Direct intramitochondrial lactate oxidation by rabbit sperm mitochondria. *Biology of reproduction*. 1977 May;16(4):549-56.
 36. Halangk W, Bohnsack R, Frank K, Kunz W. Effect of various substrates on mitochondrial and cellular energy state of intact spermatozoa. *Biomedica biochimica acta*. 1985;44(3):411-20.
 37. Jones AR. Metabolism of lactate by mature boar spermatozoa. *Reproduction, fertility, and development*. 1997;9(2):227-32.
 38. De Bari L, Atlante A, Valenti D, Passarella S. Partial reconstruction of in vitro gluconeogenesis arising from mitochondrial l-lactate uptake/metabolism and oxaloacetate export via novel L-lactate translocators. *The Biochemical journal*. 2004 May 15;380(Pt 1):231-42. doi: 10.1042/BJ20031981.
 39. Holloszy JO, Coyle EF. Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology*. 1984 Apr;56(4):831-8. doi: 10.1152/jappl.1984.56.4.831.
 40. Le Floch R, Chiche J, Marchiq I, Naiken T, Ilc K, Murray CM, et al. CD147 subunit of lactate/H⁺ symporters MCT1 and hypoxia-inducible MCT4 is critical for energetics and growth of glycolytic tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011 Oct 4;108(40):16663-8. doi: 10.1073/pnas.1106123108.
 41. Gertz EW, Wisneski JA, Neese R, Bristow JD, Searle GL, Hanlon JT. Myocardial lactate metabolism: evidence of lactate release during net chemical extraction in man. *Circulation*. 1981 Jun;63(6):1273-9.
 42. Burgos C, Maldonado C, Gerez de Burgos NM, Aoki A, Blanco A. Intracellular localization of the testicular and sperm-specific lactate dehydrogenase isozyme C4 in mice. *Biology of reproduction*. 1995 Jul;53(1):84-92.
 43. Ferramosca A, Zara V. Bioenergetics of mammalian sperm capacitation. *BioMed research international*. 2014;2014:902953. doi: 10.1155/2014/902953.
 44. Riveros-Rosas H, Julian-Sanchez A, Pina E. Enzymology of ethanol and acetaldehyde metabolism in mammals. *Archives of medical research*. 1997 Winter;28(4):453-71.
 45. Villalobos-García D, Hernandez-Munoz R. Lactate-stimulated ethanol oxidation: Revisiting an old hypothesis. *Biochemical pharmacology*. 2019 Apr 11;164:283-8. doi: 10.1016/j.bcp.2019.04.012.
 46. Chan L, Slater J, Hasbargen J, Herndon DN, Veech RL, Wolf S. Neurocardiac toxicity of racemic D,L-lactate fluids. *Integrative physiological and behavioral science: the official journal of the Pavlovian Society*. 1994 Oct-Dec;29(4):383-94.
 47. Boysen SR, Dorval P. Effects of rapid intravenous 100%

- L-isomer lactated Ringer's administration on plasma lactate concentrations in healthy dogs. *Journal of veterinary emergency and critical care*. 2014 Sep-Oct;24(5):571-7. doi: 10.1111/vec.12213.
48. de-Madaria E, Herrera-Marante I, Gonzalez-Camacho V, Bonjoch L, Quesada-Vazquez N, Almenta-Saavedra I, et al. Fluid resuscitation with lactated Ringer's solution vs normal saline in acute pancreatitis: A triple-blind, randomized, controlled trial. *United European gastroenterology journal*. 2018 Feb;6(1):63-72. doi: 10.1177/2050640617707864.
 49. Ahmed K, Tunaru S, Tang C, Muller M, Gille A, Sassmann A, et al. An autocrine lactate loop mediates insulin-dependent inhibition of lipolysis through GPR81. *Cell metabolism*. 2010 Apr 7;11(4):311-9. doi: 10.1016/j.cmet.2010.02.012.
 50. Bergersen LH. Lactate transport and signaling in the brain: potential therapeutic targets and roles in body-brain interaction. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2015 Feb;35(2):176-85. doi: 10.1038/jcbfm.2014.206.
 51. Hoque R, Farooq A, Ghani A, Gorelick F, Mehal WZ. Lactate reduces liver and pancreatic injury in Toll-like receptor- and inflammasome-mediated inflammation via GPR81-mediated suppression of innate immunity. *Gastroenterology*. 2014 Jun;146(7):1763-74. doi: 10.1053/j.gastro.2014.03.014.
 52. Hashimoto T, Hussien R, Oommen S, Gohil K, Brooks GA. Lactate sensitive transcription factor network in L6 cells: activation of MCT1 and mitochondrial biogenesis. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2007 Aug;21(10):2602-12. doi: 10.1096/fj.07-8174com.
 53. Semenza GL. HIF-1: upstream and downstream of cancer metabolism. *Current opinion in genetics & development*. 2010 Feb;20(1):51-6. doi: 10.1016/j.gde.2009.10.009.
 54. Martinez-Outschoorn UE, Prisco M, Ertel A, Tsirigos A, Lin Z, Pavlides S, et al. Ketones and lactate increase cancer cell "stemness," driving recurrence, metastasis and poor clinical outcome in breast cancer: achieving personalized medicine via Metabolo-Genomics. *Cell cycle*. 2011 Apr 15;10(8):1271-86. doi: 10.4161/cc.10.8.15330.
 55. De Saedeleer CJ, Copetti T, Porporato PE, Verrax J, Feron O, Sonveaux P. Lactate activates HIF-1 in oxidative but not in Warburg-phenotype human tumor cells. *PloS one*. 2012;7(10):e46571. doi: 10.1371/journal.pone.0046571.
 56. Wise DR, DeBerardinis RJ, Mancuso A, Sayed N, Zhang XY, Pfeiffer HK, et al. Myc regulates a transcriptional program that stimulates mitochondrial glutaminolysis and leads to glutamine addiction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008 Dec 2;105(48):18782-7. doi: 10.1073/pnas.0810199105.
 57. Jiang P, Du W, Yang X. p53 and regulation of tumor metabolism. *Journal of carcinogenesis*. 2013 Nov 6;12:21 doi: 10.4103/1477-3163.122760.
 58. Webb BA, Chimenti M, Jacobson MP, Barber DL. Dysregulated pH: a perfect storm for cancer progression. *Nature reviews Cancer*. 2011 Aug 11;11(9):671-7. doi: 10.1038/nrc3110.
 59. Justus CR, Dong L, Yang LV. Acidic tumor microenvironment and pH-sensing G protein-coupled receptors. *Frontiers in physiology*. 2013 Dec 5;4:354. doi: 10.3389/fphys.2013.00354.
 60. Granja S, Tavares-Valente D, Queiros O, Baltazar F. Value of pH regulators in the diagnosis, prognosis and treatment of cancer. *Seminars in cancer biology*. 2017 Apr;43:17-34. doi: 10.1016/j.semcancer.2016.12.003.
 61. Hui S, Ghergurovich JM, Morscher RJ, Jang C, Teng X, Lu W, et al. Glucose feeds the TCA cycle via circulating lactate. *Nature*. 2017 Nov 2;551(7678):115-8. doi: 10.1038/nature24057.
 62. Trabold O, Wagner S, Wicke C, Scheuenstuhl H, Hussain MZ, Rosen N, et al. Lactate and oxygen constitute a fundamental regulatory mechanism in wound healing. *Wound repair and regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*. 2003 Nov-Dec;11(6):504-9.
 63. Kumar VB, Viji RI, Kiran MS, Sudhakaran PR. Endothelial cell response to lactate: implication of PAR modification of VEGF. *Journal of cellular physiology*. 2007 May;211(2):477-85. doi: 10.1002/jcp.20955.
 64. Hunt TK, Aslam R, Hussain Z, Beckert S. Lactate, with oxygen, incites angiogenesis. *Advances in experimental medicine and biology*. 2008;614:73-80. doi: 10.1007/978-0-387-74911-2_9.
 65. Baumann F, Leukel P, Doerfelt A, Beier CP, Dettmer K, Oefner PJ, et al. Lactate promotes glioma migration by TGF-beta2-dependent regulation of matrix metalloproteinase-2. *Neuro-oncology*. 2009 Aug;11(4):368-80. doi: 10.1215/15228517-2008-106.
 66. Fantin VR, St-Pierre J, Leder P. Attenuation of LDH-A expression uncovers a link between glycolysis, mitochondrial physiology, and tumor maintenance. *Cancer cell*. 2006 Jun;9(6):425-34. doi: 10.1016/j.ccr.2006.04.023.
 67. Draoui N, Feron O. Lactate shuttles at a glance: from physiological paradigms to anti-cancer treatments. *Disease models & mechanisms*. 2011 Nov;4(6):727-32. doi: 10.1242/dmm.007724.
 68. Doherty JR, Yang C, Scott KE, Cameron MD, Fallahi M, Li W, et al. Blocking lactate export by inhibiting the Myc target MCT1 Disables glycolysis and glutathione synthesis. *Cancer Res*. 2014 Feb 1;74(3):908-20. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2034.
 69. Poso AR. Monocarboxylate transporters and lactate metabolism in equine athletes: a review. *Acta Vet Scand*. 2002; 43(2):63-74. doi: 10.1186/1751-0147-43-63.