

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: FISIOLOGIA

Anna Clara Machado Colucci

MECANISMOS DE AÇÃO DO LACTATO COMO AGENTE NEUROPROTETOR
NA HIPÓXIA-ISQUEMIA NEONATAL *IN VIVO* E *IN VITRO*

Porto Alegre

2023

Anna Clara Machado Colucci

**MECANISMOS DE AÇÃO DO LACTATO COMO AGENTE NEUROPROTETOR
NA HIPÓXIA-ISQUEMIA NEONATAL *IN VIVO* E *IN VITRO***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Fisiologia.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Stürmer de Fraga

Coorientadora: Profa. Dra. Nadja Schröder

Porto Alegre

2023

CIP - Catalogação na Publicação

Colucci, Anna Clara Machado
Mecanismos de ação do lactato como agente
neuroprotetor na hipóxia-isquemia neonatal in vivo e
in vitro / Anna Clara Machado Colucci. -- 2023.
110 f.
Orientador: Luciano Stürmer de Fraga.

Coorientadora: Nadja Schröder.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da
Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas: Fisiologia, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. hipóxia-isquemia. 2. lactato. 3. neuroproteção.
4. gpr81. 5. neurodesenvolvimento. I. Fraga, Luciano
Stürmer de, orient. II. Schröder, Nadja, coorient.
III. Título.

Anna Clara Machado Colucci

**MECANISMOS DE AÇÃO DO LACTATO COMO AGENTE NEUROPROTETOR
NA HIPÓXIA-ISQUEMIA NEONATAL *IN VIVO* E *IN VITRO***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Fisiologia.

Aprovado em: ___ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Guilherme Baldo – UFRGS

Prof. Dr. Guilhian Leipnitz – UFRGS

Profa. Dra. Daiana Ávila – UNIPAMPA

AGRADECIMENTOS

A realização dessa dissertação jamais teria sido possível se não fosse por todo o suporte e apoio da minha família e amigos, que, por vezes, acreditaram mais em mim do que eu mesma. A todos que de alguma forma contribuíram pra esse trabalho, meu muito obrigada! Ciência de qualidade não se faz sozinho.

Um agradecimento especial aos meus pais, Leonardo e Marluce, por nunca medirem esforços pra me proporcionar as melhores condições de estudo. Devo isso tudo a vocês. Obrigada por sempre terem me ensinado o valor do conhecimento e da educação e de correr atrás dos meus sonhos, não importa quão inalcançáveis ou irrealis parecessem. Por sempre quererem me ajudar, mesmo no que não era possível – até na escrita da dissertação! – e por se preocuparem tanto comigo durante esse processo difícil que é o mestrado, mesmo que às vezes eu reclamasse. À minha irmã e melhor amiga, Carol, por sempre me incentivar, estar do meu lado e ser minha duplinha pra tudo; por muitas vezes me puxar a orelha e me fazer cair na real, mas sempre me acolher e apoiar independentemente de qualquer coisa. Te admiro muito e não tenho palavras pra agradecer tudo que tu sempre fizeste por mim. À minha vó Simoni, que sempre foi uma das maiores incentivadoras de tudo que faço, e em quem me inspiro tanto. A toda a minha família, obrigada! O amor e apoio incondicional de vocês me deram forças pra chegar aonde estou.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Luciano de Fraga que, desde a graduação, sempre foi um exemplo de professor, pesquisador e pessoa. Despertou em mim o amor pela Fisiologia e pela Neurociência e me fez ter a certeza de que este era o caminho a seguir, apesar de todos os percalços a enfrentar. Obrigada por sempre acreditar e investir no meu potencial, mesmo quando eu mesma não acreditei, por me incentivar a sempre buscar mais, por todo o apoio que me impulsionou a sempre querer ir mais longe. Me inspiro – e muito – em ti.

A todo o grupo de pesquisa do NeuroMet. Sem vocês comigo, nada disso teria acontecido. Obrigada por serem mais do que colegas, amigos. À Isadora, por toda a parceria e por todo o incentivo, que não é de hoje: desde a iniciação científica, depois como coorientadora do TCC e, hoje, como colega de pós-graduação; aqui ou na Inglaterra, obrigada por sempre se fazer presente. Sempre me inspirei muito em ti e devo muito do que sei a ti. Ao Ricardo, que também me ensinou muito desde a IC, e com quem sempre sei que posso contar, seja pra debater sobre pesquisa ou pra conversar sobre a vida. Obrigada por todo o companheirismo e apoio. À Jana,

por toda a parceria que vem desde o teu projeto e seguiu, hoje, no meu. Teu apoio foi fundamental pra mim, dentro e fora do laboratório. À aluna de IC, Isabela, que desde que entrou no grupo de pesquisa sempre esteve disposta a ajudar e a me ouvir em todos os momentos de desespero (que não foram poucos). A todos vocês, agradeço de coração pela parceria! Quero vocês comigo pra sempre nessa jornada.

À minha coorientadora, Profa. Nadja Schröder, que me acolheu de braços abertos no grupo de pesquisa, obrigada por fazer questão de sempre me proporcionar todas as condições – técnicas e psicológicas – pra realizar toda e qualquer ideia que eu trouxesse; por todo o apoio, por todas as conversas, e por sempre acreditar em mim. À Profa. Noemia, pela colaboração e troca de ideias nos seminários, e por sempre estar disposta a contribuir com o meu trabalho. À Pati, que me ensinou a fazer PCR do zero, literalmente. Obrigada por toda a paciência e dedicação pra me ajudar e por sempre tornar o processo leve. À Paulinha, minha IC emprestada, que surgiu no final do mestrado e por tantas vezes me salvou. Obrigada por ter abraçado meu projeto junto comigo sem hesitar e por ter me acompanhado durante tantos dias (e até noites) de experimento, e feito deles mais alegres. Sou muito grata por tudo que tu sempre fizeste por mim. À Fernanda, que também abraçou meus experimentos junto comigo e sempre me apoiou nessa loucura. A todo o grupo de pesquisa; todos vocês, de alguma forma, contribuíram nessa jornada. Que nossa parceria siga daqui pra frente.

Ao Prof. Victorio Bambini-Junior, por ter me permitido viver essa experiência inesquecível na Lancaster University, que me proporcionou um crescimento pessoal e profissional inigualável. Obrigada por todos os ensinamentos, todo o apoio e acolhimento na Inglaterra e no teu grupo de pesquisa.

À Profa. Ana Helena Paz que, apesar de não ser minha coorientadora, sempre agiu como se fosse. Por ter possibilitado a execução do projeto no HCPA, com as melhores condições possíveis, e por todas as contribuições que sempre fizeste aos nossos trabalhos.

Ao Prof. Carlos Alexandre Netto, pela colaboração e por todo o auxílio. E a todo o grupo de pesquisa do Lab 35, em especial à pós-doc Luz Elena, por todas as conversas, desde discussões científicas a desabafos, e por toda a paciência e disponibilidade para me auxiliar em tudo que eu pedi; sei que não foi pouco.

À Profa. Paula Rigon, por sempre estar disponível para auxiliar nas histologias. Ao Maikel, pelo suporte desde o emblocamento até os cortes. A colaboração de vocês foi essencial para este trabalho.

Aos meus colegas de mestrado, Monica, Larissa e Rodrigo, que estiveram do meu lado em todas as etapas desses dois anos tão intensos. Que bom que passamos por isso tudo juntos, ter vocês do meu lado tornou tudo mais fácil de enfrentar.

Às gurias do vôlei e da academia, que alegraram esses que, por muitas semanas, foram meus únicos momentos de lazer e de desligar do ritmo frenético de experimentos e de escrita.

A todos os meus amigos da vida, do colégio, da faculdade, do vôlei, que compreenderam minha ausência em tantos momentos, mas sempre estiveram aqui e me apoiaram incondicionalmente. O que sou hoje tem um pedacinho de cada um de vocês. Não vou citar todos, mas vocês sabem que estão no meu coração. Obrigada por tudo, sempre!

Aos funcionários da Unidade de Experimentação Animal do HCPA e à equipe do CREAL, por darem todo o suporte para a realização deste projeto.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de Mestrado, e à CAPES e FAPERGS pelo apoio financeiro.

A todos que participam diariamente da luta que é resistir e fazer pesquisa no Brasil, e que, como eu, acreditam no poder da ciência de mudar o mundo. Vocês me dão forças pra continuar.

RESUMO

A encefalopatia hipóxico-isquêmica neonatal (EHI) é uma das causas mais relevantes de morte de recém-nascidos e de deficiências neuropsicológicas a longo prazo. Na clínica, o único tratamento utilizado é a hipotermia terapêutica (HT), que apresenta várias limitações e é ineficaz em cerca de 50% dos pacientes. Esse cenário exige uma busca por estratégias complementares ou alternativas à HT; o lactato é um candidato promissor, sendo capaz de agir como um substrato energético para o sistema nervoso central (SNC), e como uma molécula sinalizadora que ativa vias potencialmente neuroprotetoras na isquemia cerebral. Este trabalho foi constituído de duas partes: *in vivo*, utilizando um modelo que mimetiza a EHI em ratos neonatos, e *in vitro*, com um modelo de privação de glicose e oxigênio (OGD) em uma linhagem neuronal indiferenciada. Para os experimentos *in vivo*, ratos Wistar na idade de P7 (7 dias pós-natal) foram divididos em quatro grupos experimentais: HI+PBS, HI+LAC, SHAM+PBS e SHAM+LAC. Os filhotes dos grupos HI foram submetidos a uma cirurgia de oclusão da carótida comum direita seguida de exposição a uma atmosfera hipóxica (8% O₂) por 60 min. Os grupos SHAM foram submetidos à cirurgia fictícia e mantidos em normóxia. Os grupos LAC receberam duas injeções de lactato (1g/kg, i.p.), 30 e 120 minutos após o final da hipóxia, e nos grupos PBS foi administrado veículo nos mesmos tempos. Os animais foram eutanasiados em P9 e os encéfalos foram coletados para análises histológicas e moleculares. O procedimento de HI produziu uma lesão ipsilateral consistente, maior em fêmeas do que em machos, e causou perda neuronal no hipocampo, avaliada pelas técnicas de Nissl e Fluoro-Jade C (FJC) ($p < 0,05$, ANOVA de duas vias). O lactato foi capaz de reverter parcialmente todos esses desfechos deletérios. Quando avaliados os mecanismos associados à HI e à neuroproteção por RT-qPCR, foi observada uma modulação diferencial da expressão gênica entre os dois sexos: foi detectado um efeito da lesão na expressão de Nrf2 em machos, nos quais a HI induziu um aumento desse fator regulador da resposta antioxidante. Em fêmeas, foi observado um efeito do tratamento com lactato na expressão do fator antiapoptótico Bcl-2, tanto em condições basais quanto após a HI ($p < 0,05$, GzLM). Isso sugere um claro dimorfismo sexual, em que a neuroproteção em machos parece estar associada com a redução do estresse oxidativo e da morte por necrose, aos quais os machos são mais suscetíveis, enquanto em fêmeas se relaciona com a atenuação da apoptose, a via preferencial de morte celular nesse sexo. A administração de lactato pós-HI elevou os níveis de expressão do receptor GPR81 em machos, indicando uma modulação positiva para favorecer a ativação de vias protetoras. A expressão das isoformas da lactato desidrogenase (LDHA e LDHB) não foi modificada pela HI ou pelo tratamento. Os experimentos *in vitro* consistiram em submeter os neurônios em cultura a uma atmosfera hipóxica por 6 h (1% O₂), enquanto expostas a um meio sem glicose. Os grupos controle permaneceram em normóxia e com meio de cultura normal durante o mesmo tempo. As células foram tratadas com lactato, piruvato e o agonista do receptor GPR81, DHBA. Os três tratamentos se mostraram neuroprotetores frente à OGD. Entretanto, quando inibidos, concomitantemente, o transporte e metabolização do lactato, esses efeitos foram abolidos ($p < 0,05$, ANOVA de uma via). Assim, esses resultados sugerem um mecanismo de ação dual do lactato na proteção contra redução da viabilidade neuronal após a OGD. Nossos resultados demonstram um efeito potencial do lactato como agente neuroprotetor na HI, protegendo contra o dano encefálico agudo.

Palavras-chave: lactato; hipóxia-isquemia neonatal; lactato; GPR81; neuroproteção.

ABSTRACT

Neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) is one of the major causes of newborn death and development of long-term neuropsychological disabilities worldwide. The only clinical treatment available is Therapeutic Hypothermia (HT), which has many limitations and is not efficient for about 50% of the patients. This context calls for a reinforced search for complementary or alternative therapies to HT; lactate is a promising candidate, since it can act both as an energy substrate for the CNS and as a signaling molecule that activates many potentially protective pathways in cerebral ischemia. This study was divided into two main sections: *in vivo* experiments, using an experimental model that mimics HIE in neonatal rats, and *in vitro* experiments, employing an oxygen-glucose deprivation (OGD) model in an undifferentiated neuronal lineage. In the *in vivo* experiments, P7 Wistar rats (7 day-old) were divided into four groups: HI+PBS, HI+LAC, SHAM+PBS and SHAM+LAC. Pups assigned to HI groups were subjected to a surgical occlusion of the right common carotid artery, followed by an exposure to a hypoxic atmosphere (8% O₂) for 60 min. SHAM groups were submitted to a fictitious surgery and maintained in normoxia. LAC groups received two injections of lactate (1g/kg, i.p.), 30 and 120 minutes after hypoxia, while in PBS groups two injections of vehicle were administered in the same timepoints. Animals were euthanized at P9, and brains were collected for histological and molecular analyses. HI procedure produced a consistent ipsilateral lesion, larger in females than in males, and caused neuronal loss in the hippocampus, as assessed by Nissl and Fluoro-Jade C ($p < 0.05$, two-way ANOVA). Lactate was able to partially reverse all these deleterious outcomes. When investigating the molecular mechanisms associated with the lesion and with the neuroprotection exerted by lactate via RT-qPCR, a differential modulation of gene expression was observed between the two sexes: a lesion effect was detected in the expression of Nrf2 in males, in which HI induced an increase in this factor that regulates the cellular antioxidant response. In females, it was observed an effect of the lactate treatment in the expression of the antiapoptotic factor Bcl-2, both in basal circumstances and after HI ($p < 0.05$, GzLM). These results clearly suggest a sexually dimorphic effect, in which neuroprotection in males seems to be associated with the reduction of oxidative stress and of necrotic cell death, while in females it is related to the attenuation of apoptosis, the preferential cell death pathway in this sex. Post-HI lactate administration elevated GPR81 expression levels in males, which suggests a positive modulation to favor the activation of protective pathways. Expression levels of both isoforms of lactate dehydrogenase (LDHA and LDHB) were not modified by neither HI procedure nor lactate administration. *In vitro* experiments consisted in submitting a neuronal cell lineage to a hypoxic atmosphere for 6 h (1% O₂) while exposed to a glucose-free medium. Control groups were maintained in normoxia and exposed to a normal cell culture medium for the same 6 h. Cells were treated with lactate, pyruvate, and the agonist of the GPR81 receptor, DHBA. All three treatments were protective against OGD-induced cell death; when lactate metabolism and transport were inhibited at the same time, however, these protective effects were abolished ($p < 0.05$, one-way ANOVA). Thus, these experiments suggest a dual action of lactate in the protection against reduction of neuronal viability after OGD. Our results demonstrate a potential effect of lactate as a neuroprotective agent in HI, protecting against acute brain damage.

Keywords: lactate; neonatal hypoxia-ischemia; lactate; GPR81; neuroprotection.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fisiopatologia da hipóxia-isquemia.....	20
Figura 2. Lançadeira de lactato entre astrócitos e neurônios.....	28
Figura 3. Desenho experimental (<i>in vivo</i>).....	35
Figura 4. Modelo de HI de Rice-Vannucci.....	37
Figura 5. Delimitação do volume de lesão.....	40
Figura 6. Regiões hipocampais coradas em Nissl.....	41
Figura 7. Regiões hipocampais coradas em FJC.....	43
Figura 8. Curva de <i>melting</i> representativa.....	46
Figura 9. Desenho experimental (<i>in vitro</i>).....	50
Figura 10. Imagens representativas da lesão encefálica.....	53
Figura 11. Volume de lesão encefálica.....	53
Figura 12. Fotomicrografias representativas de hipocampo corado com Nissl.....	55
Figura 13. Contagens de neurônios hipocampais Nissl+.....	56
Figura 14. Fotomicrografias representativas de hipocampo corado com FJC.....	58
Figura 15. Contagens de neurônios hipocampais FJC+.....	59
Figura 16. Imunofluorescência co-localização NeuN/GPR81.....	60
Figura 17. Expressão gênica por RT-qPCR.....	62
Figura 18. Viabilidade celular por MTT (experimento 1).....	63
Figura 19. Viabilidade celular por MTT (experimento 2).....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sequências de <i>primers</i> utilizadas para PCR e parâmetros estabelecidos.....	47
Figura 2. Taxa de mortalidade nos experimentos.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3,5-DHBA: ácido 3,5-dihidroxibenzoico
4-CIN: α -ciano-4-hidroxicinamato
AC: adenilato ciclase
AMPC: monofosfato de adenosina cíclico
ANLS: lançadeira de lactato entre astrócitos e neurônios
ATP: trifosfato de adenosina
ARE: elemento de resposta antioxidante
Bad: *Bcl-2 associated agonist of cell death*
Bak: *Bcl-2 homologous antagonist/killer*
Bax: *Bcl-2 associated X protein*
Bcl-2: proteína linfoma de células B 2
Bcl-X_L: proteína linfoma de células B *extra-large*
Bid: *BH3-interacting domain death agonist*
BHE: barreira hematoencefálica
CAD: DNase ativada por caspase
CC: corpos cetônicos
cDNA: DNA complementar
DAMP: padrões moleculares associados ao dano
DMEM: *Dulbecco's Modified Eagle's Medium*
dNTP: desoxirribonucleotídeos fosfatados
dsDNA: DNA de fita dupla
EAAT: transportador de aminoácido excitatório
EC₅₀: concentração de eficiência de metade do efeito máximo
EEG: eletroencefalograma
EHI: encefalopatia hipóxico-isquêmica neonatal
EN: encefalopatia neonatal
EPM: erro padrão da média
ERK1/2: cinase extracelular 1/2
EROs: espécies reativas de oxigênio
FJ: Fluoro-Jade

FJB: Fluoro-Jade B
FJC: Fluoro-Jade C
GD: giro denteado
GLUT1: transportador de glicose 1
GPR81: receptor acoplado à proteína G 81
GPR81-KO: nocaute para GPR81
H&E: hematoxilina e eosina
HCAR1: receptor de ácido hidrocarboxílico 1
HI: hipóxia-isquemia
HIC: hemorragia intracraniana
HIF-1: *hypoxia-inducible fator-1*
HPRT1: hipoxantina fosforribosil-transferase
HT: hipotermia terapêutica
IL-1 β : interleucina 1 beta
IL-6: interleucina 6
IL-15: interleucina 15
iNOS: óxido nítrico sintase induzível
i.p.: intraperitoneal
Keap: *Kelch-like ECH-associating protein 1*
LAC: lactato
LDHA: lactato desidrogenase A
LDHB: lactato desidrogenase B
MCAO: oclusão da artéria cerebral média
MCT1: transportador de monocarboxilato 1
MCT2: transportador de monocarboxilato 2
MCT4: transportador de monocarboxilato 4
mRNA: RNA mensageiro
MTT: brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5-difeniltetrazólio
Na⁺/K⁺ ATPase: bomba de sódio e potássio
NAD⁺: nicotinamida-adenina dinucleotídeo oxidado
NADH: nicotinamida-adenina dinucleotídeo reduzido
NeuN: proteína nuclear neuronal

NMDA: N-metil D-Aspartato
nNOS: óxido nítrico sintase neuronal
NO: óxido nítrico
Nrf2: fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2
O₂: oxigênio
OGD: privação de glicose e oxigênio
OL: oligodendrócitos
OMS: Organização Mundial de Saúde
OXA: oxamato
P2: 2º dia pós-natal
P7: 7º dia pós-natal
P8: 8º dia pós-natal
P9: 9º dia pós-natal
P15: 15º dia pós-natal
PARP-1: poli-ADP ribose polimerase 1
PBS: tampão fosfato salino
PCR: reação em cadeia da polimerase
PDH: piruvato desidrogenase
PDK1: piruvato desidrogenase cinase 1
PFA: paraformaldeído
Pfkfb: 6-fosfofruto-2-cinase/frutose-2,6-bifosfatase 3
PI: iodeto de propídio
PI3K: fosfatidilinositol-3-cinase
PPP: via das pentoses-fosfato
PPT: poro de transição temporária da membrana plasmática
Puma: *p-53 up-regulated modulator of apoptosis*
PYR: piruvato
RE: retículo endoplasmático
RM: ressonância magnética
ROI: região de interesse óptico
RT-qPCR: PCR quantitativa em tempo real por transcriptase reversa
SFB: soro fetal bovino

SOD: superóxido dismutase

SNC: sistema nervoso central

TCA: ciclo do ácido tricarboxílico

TCE: traumatismo cranioencefálico

TNF- α : fator de necrose tumoral alfa

TTC: cloreto de trifeniltetrazólio

USC: ultrassonografia craniana

UPR: *unfolded protein response*

UTIN: unidade de terapia intensiva neonatal

SUMÁRIO

1. Introdução.....	18
2. Justificativa.....	31
3. Hipótese.....	31
4. Objetivo geral.....	32
4.1. Objetivos específicos.....	32
5. Materiais e Métodos	33
5.1. Experimentos <i>in vivo</i>	33
5.1.1. Animais	33
5.1.2. Aspectos Éticos	34
5.1.3. Grupos experimentais.....	34
5.1.4. Modelo de Hipóxia-Isquemia Neonatal	35
5.1.5. Administração de Lactato.....	37
5.1.6. Eutanásia	38
5.1.7. Histologia	38
5.1.7.1. Coloração de Nissl	39
5.1.7.2. Volume de lesão encefálica.....	39
5.1.7.3. Contagem de neurônios hipocâmpais corados com Nissl	40
5.1.7.4. Fluoro-Jade C	42
5.1.7.5. Contagem de neurônios hipocâmpais FJC+	42
5.1.7.6. Imunofluorescência	43
5.1.8. PCR em tempo real (RT-qPCR).....	44
5.1.8.1. Extração do RNA	44
5.1.8.2. Síntese de cDNA	45
5.1.8.3. RT-qPCR.....	45
5.2. Experimentos <i>in vitro</i>	47
5.2.1. Cultura celular	47
5.2.2. Modelo de privação de glicose e oxigênio (OGD) e tratamentos	48
5.2.3. Ensaio de viabilidade celular (MTT)	49
5.3. Análise estatística.....	50
6. Resultados	52
6.1. Experimentos <i>in vivo</i>	52
6.1.1. Mortalidade	52

6.1.2. Volume de lesão encefálica.....	52
6.1.3. Contagem de neurônios hipocampais corados pela técnica de Nissl	54
6.1.4. Contagem de neurônios hipocampais FJC+	57
6.1.5. Imunofluorescência	59
6.1.6. RT-qPCR.....	61
6.2. Experimentos <i>in vitro</i>	63
6.2.1. Ensaio de viabilidade celular (MTT)	63
6.2.1.1. Experimento 1	63
6.2.1.2. Experimento 2	64
7. Discussão.....	65
8. Conclusões	89
9. Perspectivas.....	90
10. Referências bibliográficas	91

1. Introdução

A encefalopatia neonatal (EN) é um dos principais problemas mundiais de saúde pública, tanto por sua alta ocorrência quanto pela severidade dos desfechos neurológicos subsequentes. Apresenta uma incidência de 2-6 a cada mil nascidos vivos mundialmente (Ferriero, 2004; Russ, Simmons e Glass, 2021); esses índices, porém, variam muito de acordo com a condição socioeconômica de cada local, podendo atingir cerca de 26‰ em países subdesenvolvidos (Airede, 1991; Kurinczuk, White-Koning e Badawi, 2010). De fato, um estudo constatou que, no ano de 2010, cerca de 96% dos recém-nascidos com EN nasceram em países de baixa- ou média-renda (Lee *et al.*, 2013).

A EN é uma síndrome neurológica complexa, que pode ser caracterizada como a manifestação clínica de uma disfunção cerebral neonatal (Kurinczuk, White-Koning e Badawi, 2010). Portanto, é uma condição que abrange um amplo espectro de sintomas e, principalmente, que pode ter diversas etiologias (Quirke *et al.*, 2021), mas se define por seus sinais clínicos característicos, como nível alterado de consciência, convulsões, anormalidade de reflexos e de tônus muscular, inabilidade de iniciar ou manter a respiração (Volpe, 2012).

A hipóxia-isquemia (HI) ou asfíxia perinatal é, indiscutivelmente, a mais prevalente dentre as causas da EN, atingindo 1,5‰ recém-nascidos; nesse caso, a condição passa a ser definida, mais especificamente, como encefalopatia hipóxico-isquêmica (EHI) (Kurinczuk, White-Koning e Badawi, 2010; Volpe, 2012). A EHI sempre esteve associada a desfechos bastante deletérios, estando associada a altos índices de óbitos e de morbidades (Almeida *et al.*, 2017; Aslam, Strickland e Molloy, 2019; Quirke *et al.*, 2021). No passado, a taxa de mortalidade chegava a 50-75%; devido aos avanços no cuidado pré-natal e obstétrico, essas taxas foram reduzidas (Raju *et al.*, 2006), mas continuam sendo consideravelmente altas, de forma que, atualmente, cerca de 15 a 20% dos recém-nascidos acometidos pela EHI morrem ainda durante o período neonatal (Kurinczuk, White-Koning e Badawi, 2010). No Brasil, a HI é responsável por 40% das mortes de neonatos de baixo-risco; esses valores, porém, não apresentam distribuição homogênea, e refletem as diferenças regionais: são observadas taxas até duas vezes maiores nas regiões com piores indicadores sociais (Norte e Nordeste) em relação àquelas com melhores índices (Sul, Sudeste e Centro-Oeste) (Almeida *et al.*, 2017).

Além de causar dano cerebral imediato e disfunção neurológica aguda, podendo levar diretamente à morte, a EHI pode interferir expressivamente no neurodesenvolvimento dos

sobreviventes, causando danos a longo prazo (Bano, Chaudhary e Garga, 2017; Vannucci e Hagberg, 2004). Cerca de 25% destes apresentam déficits neuropsicológicos permanentes (Shankaran *et al.*, 2012), como dificuldades de aprendizado, epilepsia, paralisia cerebral, deficiências visuais, auditivas, motoras e comportamentais (Douglas-Escobar e Weiss, 2015; Yıldız, Ekici e Tatlı, 2017). Assim, a importante melhora nos índices de sobrevivência, em contrapartida, trouxe consigo um aumento na frequência dessas sequelas (Kurinczuk, White-Koning e Badawi, 2010), que comprometem o desenvolvimento adequado e que, conseqüentemente, requerem amplo suporte familiar e cuidados de saúde ao longo de toda a vida, além de acarretarem altos custos socioeconômicos (Donn, Chiswick e Fanaroff, 2014).

A HI neonatal se estabelece após um insulto hipóxico-isquêmico perinatal, que pode ocorrer em resposta a eventos sentinela, como colapso cardiovascular materno, descolamento da placenta, ruptura uterina ou prolapso do cordão umbilical (Badawi *et al.*, 1998; Martinez-Biarge *et al.*, 2013; Nelson *et al.*, 2012). Os eventos hipóxico-isquêmicos ocorrem, geralmente, ainda no período intrauterino (Douglas-Escobar e Weiss, 2013), tornando difícil a verificação de distúrbios de oxigenação e/ou de fluxo sanguíneo após o nascimento nos recém-nascidos que passaram pela EHI (Volpe, 2012), fatores que alguns autores julgam fundamentais para o diagnóstico diferencial da etiologia (Dammann, Ferriero e Gressens, 2011). Assim, devido à falta de critérios universais de diagnóstico específico e à constante divergência e sobreposição nas definições de EN e EHI, os dados epidemiológicos costumam ser bastante variáveis e incertos (Kurinczuk, White-Koning e Badawi, 2010; Volpe, 2012).

Comumente, para confirmar o quadro de EHI, se estabelece uma abordagem integrada: baixo escore Apgar, acidose metabólica e alterações específicas no eletroencefalograma (EEG) devem acompanhar as manifestações clínicas, e padrões de lesão característicos podem ser observados por ressonância magnética (RM) e ultrassonografia craniana (USC) (Douglas-Escobar e Weiss, 2015; Volpe, 2012; Vries, de e Cowan, 2009). De qualquer forma, a HI está envolvida em cerca de 29% dos casos de EN e é o fator principal em cerca de 4% destes (Badawi *et al.*, 1998); ainda, aproximadamente 50 a 80% dos pacientes internados em unidades de terapia intensiva neonatal (UTIN) sofreram EHI (Shah *et al.*, 2004; Volpe, 2017, 2012), o que demonstra a incontestável relevância dessa condição para a neonatologia.

Do ponto de vista fisiológico e bioquímico, um insulto hipóxico-isquêmico perinatal é definido como algum evento que interfira no fluxo sanguíneo cerebral do feto ou recém-nascido (isquemia), resultando em uma baixa disponibilidade de oxigênio (hipóxia) e glicose ao

encéfalo. De maneira imediata, a redução no aporte de O₂ e substrato metabólico ao tecido nervoso ocasiona uma redução drástica na produção de trifosfato de adenosina (ATP), acarretando uma disfunção no metabolismo oxidativo e, conseqüentemente, causando morte neuronal aguda (Narayanamurthy *et al.*, 2021; Wassink *et al.*, 2014). A HI, porém, não é um evento único, mas uma sucessão de etapas, nas quais os processos que levam ao dano cerebral podem perdurar por dias ou até semanas (Davidson *et al.*, 2015; Gunn e Thoresen, 2006). As etapas principais estão ilustradas na Figura 1.

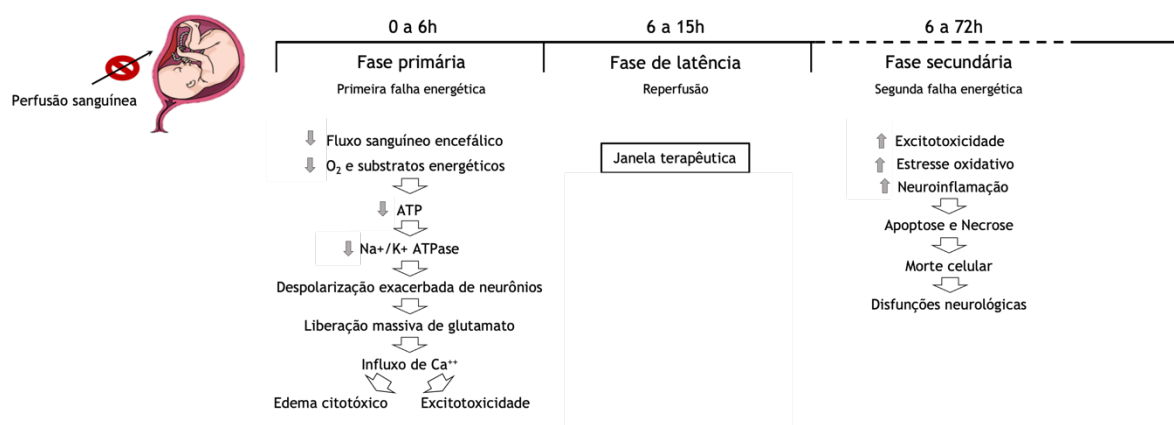


Figura 1: Esquema demonstrativo da fisiopatologia da HI neonatal e dos eventos principais envolvidos em cada uma das etapas de dano encefálico. Inicialmente, ocorre uma “fase primária”, desencadeada pela falha energética aguda causada pela interrupção do fluxo sanguíneo ao encéfalo e pela conseqüente redução do aporte de glicose e oxigênio. Em seguida, com a reperusão, ocorre uma “fase de latência”, correspondente à janela terapêutica, na qual há uma recuperação transitória do fluxo sanguíneo, de forma que o metabolismo é parcialmente restaurado. Por fim, ocorre uma “fase secundária”, na qual ocorre o segundo déficit energético e outros processos patológicos que contribuem com a progressão da lesão. Aparentemente, após o começo da fase secundária, o tratamento deixa de ser uma opção; inicia-se uma etapa irreversível na evolução da morte celular (Figura de autoria própria, adaptada de Roumes *et al.*, 2022).

A falha energética, portanto, é o evento central na fisiopatologia da EHI, sendo responsável por iniciar a formação da lesão encefálica (“fase primária”), mas também por desencadear uma complexa cascata de eventos deletérios que culminam em morte celular a longo prazo (Johnston, 2001; Volpe, 2017). Isso leva ao colapso das bombas iônicas, especialmente da bomba sódio-potássio (Na⁺/K⁺ ATPase), causando desequilíbrio dos gradientes eletroquímicos. Em casos mais severos, o conseqüente acúmulo intracelular de cátions resulta em edema citotóxico e morte por necrose; em casos mais leves – os mais frequentes – ocorre uma despolarização exacerbada e desordenada das membranas (Davidson *et al.*, 2015; Volpe, 2017). Essa despolarização excessiva ocasiona uma disfunção de sinapses

excitatórias, afetando tanto os neurônios, que, então, liberam altas concentrações de glutamato, quanto as células gliais perissinápticas, que reduzem a recaptação e reciclagem desse neurotransmissor (Johnston, 2001). Logo, ocorre um acúmulo de glutamato extracelular e a consequente superestimulação de receptores neuronais, especialmente do tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) que, por sua vez, despolarizam ainda mais os neurônios pós-sinápticos e permitem um influxo massivo de Na^+ e Ca^{++} (Johnston, 2001). O aumento de Ca^{++} intracelular dá início a uma série de eventos que causam danos celulares, devido à ativação de proteases, endonucleases e fosfolipases (Mitani *et al.*, 1993). Esse processo é chamado de excitotoxicidade glutamatérgica, e pode provocar a morte celular por necrose e, sobretudo, ativar o processo de apoptose, dependendo da severidade do insulto e do estado de maturação neuronal (Drury *et al.*, 2014; Johnston, 2001; Volpe, 2017). A resposta a esse processo patológico é ainda mais danosa em eventos hipóxico-isquêmicos neonatais, uma vez que, no encéfalo em desenvolvimento, a densidade de receptores glutamatérgicos é bem maior do que no adulto (McDonald e Johnston, 1990; Tremblay *et al.*, 1988).

Após essa fase primária, o fluxo sanguíneo é reestabelecido, e os neurônios que sobreviveram e se recuperaram após o período de privação de glicose e oxigênio passam, em seguida, por uma “fase de latência”, na qual há uma normalização transitória do metabolismo oxidativo decorrente da reperfusão (Azzopardi *et al.*, 1989; Drury *et al.*, 2014; Fleiss e Gressens, 2012; Gopagondanahalli *et al.*, 2016). Essa fase varia de duração (de 1-6 horas), sendo proporcionalmente mais curta quanto maior a severidade do insulto (Allen e Brandon, 2011; Shalak e Perlman, 2004). Durante essa fase, ainda é possível reverter os prejuízos ao metabolismo encefálico, antes da falha completa da função mitocondrial ocorrer (Drury *et al.*, 2014; Roumes *et al.*, 2022): a fase de latência, portanto, corresponde à janela terapêutica mais efetiva para intervenções clínicas que visem a reduzir os déficits secundários à HI (Gunn e Gluckman, 2007). Assim, em casos severos, a chance de recuperação inicial do metabolismo energético é prejudicada, e esse parece ser um fator determinante para o prognóstico da EHI, estando associado a desfechos extremamente negativos a longo prazo (Azzopardi *et al.*, 1989).

Há, ainda, uma “fase secundária” de lesão, cuja intensidade é proporcional àquela da fase primária (Lorek *et al.*, 1994), e também apresenta alto valor prognóstico em bebês que sofreram EHI, se relacionando fortemente às sequelas observadas 1 a 4 anos mais tarde (Roth *et al.*, 1997). Após a fase de latência, ocorre um segundo déficit energético que, da mesma forma, leva à excitotoxicidade e ao colapso mitocondrial. Nessa etapa pós-reperfusão, porém, os

principais processos que contribuem para a morte celular e para o dano tecidual são o estresse oxidativo e a inflamação (Drury *et al.*, 2014; Johnston, 2001; Rees, Harding e Walker, 2011; Roumes *et al.*, 2022). A disfunção do metabolismo mitocondrial leva ao vazamento de elétrons e, subsequentemente, à formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), exacerbada pelo retorno repentino da disponibilização de O₂ durante a reperfusão (Ferriero, 2001). Como resultado do metabolismo anaeróbico de ATP, também ocorre um acúmulo de purinas, que são o substrato para as reações de produção de EROs (Saugstad, 1996). Em contrapartida, o sistema de defesa antioxidante no sistema nervoso central (SNC) imaturo tem uma capacidade de *scavenging* reduzida, não sendo capaz de se contrapor às EROs produzidas (Fullerton *et al.*, 1998; Odorczyk *et al.*, 2018; Tian *et al.*, 2013; Warner, Sheng e Batinić-Haberle, 2004; Zhao *et al.*, 2015; Zhu *et al.*, 2015). Assim, o desbalanço redox se intensifica e o encéfalo do recém-nascido torna-se particularmente vulnerável ao estresse oxidativo (Warner, Sheng e Batinić-Haberle, 2004).

Contribuindo tanto com a formação quanto com a progressão da lesão hipóxico-isquêmica, ocorre a neuroinflamação. Desde as primeiras horas pós-HI, a morte celular por necrose já causa uma liberação de mediadores pró-inflamatórios, principalmente pelo extravasamento de conteúdo intracelular após a ruptura de membranas (Alvarez-Díaz *et al.*, 2007; Gill and Perez-Polo, 2008). Os vários processos de dano envolvidos na patogênese da lesão encefálica também contribuem para a expressão de citocinas pró- e anti-inflamatórias (Kim e Cho, 2021; Ziemka-Nalecz, Jaworska e Zalewska, 2017) e para a consequente ativação de células envolvidas na resposta inflamatória, que é bastante complexa. Essa resposta envolve células residentes do SNC, como a microglia e os astrócitos, e é acentuada pela infiltração de leucócitos, células imunes periféricas (Jin, Yang e Li, 2010; Patel *et al.*, 2013) que atravessam facilmente a barreira hematoencefálica (BHE), cuja permeabilidade está aumentada em consequência ao dano hipóxico-isquêmico (Burda e Sofroniew, 2014). Várias citocinas pró-inflamatórias já foram associadas à lesão encefálica causada pela HI; especificamente, altos níveis de TNF- α , interleucina (IL)-1 β , IL-6 e IL-15 parecem desempenhar um papel central na neuroinflamação associada à asfixia no encéfalo imaturo (Fathali *et al.*, 2011). Os níveis de IL-1 β , por exemplo, se correlacionam diretamente com a lesão encefálica (Ziemka-Nalecz, Jaworska e Zalewska, 2017).

Todos esses eventos levam, primariamente, à morte neuronal, responsável pela lesão encefálica e que, enfim, se expressa através dos déficits sensório-motores e cognitivos. As

características neuropatológicas desse dano, contudo, são bastante complexas e variam de acordo com a intensidade, a duração e o momento de ocorrência do insulto (Netto *et al.*, 2017; Northington, Chavez-Valdez e Martin, 2011), bem como com a idade gestacional e pós-natal e o sexo do indivíduo afetado (Mirza *et al.*, 2015; Sanches *et al.*, 2015). A lesão decorrente da HI parece, ainda, manifestar-se de maneira região-específica, havendo uma vulnerabilidade seletiva de determinadas áreas cerebrais à isquemia, padrão que também é alterado em função de diversas variáveis (Ferriero, 2004; Johnston, 2001; Schmidt-Kastner, 2015). Em prematuros, a lesão costuma ser bastante pronunciada na substância branca, sendo característica a leucomalácia periventricular (Hill e Fitch, 2012; Vries, de e Cowan, 2009). Em recém-nascidos a termo, parece se concentrar na substância cinzenta, havendo uma maior suscetibilidade dos núcleos da base, do tálamo, do hipocampo e do neocórtex (Schmidt-Kastner, 2015; Vries, de e Cowan, 2009).

De modo geral, a HI é mais prevalente e resulta em uma lesão encefálica mais severa no sexo masculino (Netto *et al.*, 2017). Os padrões de lesão, porém, variam entre os sexos: os machos parecem ser mais suscetíveis a danos no córtex e no hipocampo e à ventriculomegalia (Hill *et al.*, 2012; Mayoral, Omar e Penn, 2009; Zhu *et al.*, 2005), enquanto as fêmeas tendem a apresentar uma maior redução de volume do hemisfério cerebral afetado (Netto *et al.*, 2017; Sanches *et al.*, 2013). Mesmo quando considerados indivíduos com um grau de lesão semelhante, machos ainda apresentam piores desfechos a longo prazo (Costeloe *et al.*, 2000; Kesler *et al.*, 2004; Lauterbach, Raz e Sander, 2001; Marlow *et al.*, 2005; Raz *et al.*, 2010).

Essas diferenças podem estar associadas à existência de dimorfismo sexual nos mecanismos subjacentes ao dano: em fêmeas, por exemplo, a morte celular é principalmente caspase-dependente, enquanto em machos parece não o ser (Ahmed *et al.*, 2008; Askalan *et al.*, 2015a; Hagberg *et al.*, 2014; Joly *et al.*, 2004; Renolleau *et al.*, 2007; Renolleau, Fau e Charriaut-Marlangue, 2008; Zhu *et al.*, 2006). Adicionalmente, os machos são mais vulneráveis ao estresse oxidativo, que culmina em morte por necrose (Zhu *et al.*, 2003, 2006). O fator-chave para essa diferença parece ser o efeito da HI na função mitocondrial, que difere entre os sexos (Weis *et al.*, 2012) e, portanto, resulta na ativação de diferentes vias de morte celular.

Esses fenômenos não são tão simples de serem observados em encéfalos de recém-nascidos humanos, de modo que a maioria dos dados provém de estudos pré-clínicos. Entretanto, estudos clínicos de RM observaram um padrão de lesão semelhante, com vulnerabilidade seletiva dos núcleos da base, especialmente estriado, tálamo e hipocampo

(Belet *et al.*, 2004; Chang *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022; Nalin *et al.*, 1989; Sie *et al.*, 2000; Vries, de e Cowan, 2009) e estudos citopatológicos com amostras de tecido encefálico de neonatos humanos que morreram em decorrência da HI sugerem a ocorrência dos mesmos tipos de morte celular verificados em modelos animais (Northington, Chavez-Valdez e Martin, 2011).

Dada a aparente reprodutibilidade dos achados pré-clínicos, a utilização de modelos animais é uma ferramenta bastante útil para o estudo dos mecanismos associados à lesão, permitindo traçar estratégias mais eficazes de neuroproteção. O modelo de Rice-Vannucci (Rice, Vannucci e Brierley, 1981), já muito bem estabelecido na literatura, reproduz experimentalmente em roedores neonatos a lesão encefálica hipóxico-isquêmica humana (Rice, Vannucci e Brierley, 1981) e os déficits sensoriais, motores e cognitivos associados (Arteni *et al.*, 2010; Pereira *et al.*, 2008). O modelo consiste na oclusão cirúrgica unilateral e permanente de uma das artérias carótidas comuns, seguida pela exposição dos animais a uma atmosfera hipóxica (Rice, Vannucci e Brierley, 1981). Esse modelo induz uma lesão ipsilateral à oclusão carotídea, e as principais estruturas afetadas são, similarmente, o córtex, o estriado, o hipocampo e a substância branca subcortical e periventricular (Sutherland *et al.*, 2004; Vannucci *et al.*, 1999). Na literatura, há uma constante discussão acerca da idade dos ratos neonatos que melhor corresponde ao nível de maturação do SNC de um humano nascido a termo (Semple *et al.*, 2013). O maior consenso, porém, costuma ser a realização do procedimento 7 dias após o nascimento (P7) (Ferriero, 2004; Hamdy *et al.*, 2020; Netto *et al.*, 2017; Rakhade e Jensen, 2009; Sengupta *et al.*, 2013).

Complementarmente aos modelos *in vivo*, existem métodos que simulam, *in vitro*, a interrupção do fluxo sanguíneo e, conseqüentemente, mimetizam os danos causados pela HI. No modelo de privação de glicose e oxigênio (OGD, do inglês *oxygen-glucose deprivation*), células em cultura (ou fatias organotípicas) são incubadas em um meio sem glicose e expostas a uma atmosfera hipóxica (Holloway e Gavins, 2016). Esse modelo permite a utilização de estratégias farmacológicas que, por vezes, não seriam viáveis *in vivo*, ajudando a desvendar mecanismos moleculares subjacentes.

Todos esses modelos pré-clínicos são importantes, pois ajudam a compreender a complexidade e o caráter multifatorial da fisiopatologia da EHI, bem como a evolução temporal dos processos envolvidos na formação e progressão da lesão encefálica. Isso se faz essencial para o delineamento de terapias efetivas e potencialmente complementares ou alternativas à hipotermia terapêutica (HT); este é o único tratamento preconizado pela Organização Mundial

da Saúde (OMS) (Douglas-Escobar e Weiss, 2015; Sabir *et al.*, 2012) para recém-nascidos humanos a termo que passaram pela HI (Douglas-Escobar e Weiss, 2015), mas é limitado.

A HT parece desempenhar a neuroproteção através da diminuição gradativa da taxa metabólica que acompanha o resfriamento: para cada grau de temperatura reduzido, o metabolismo é também diminuído em cerca de 5% (Laptook *et al.*, 1995). Assim, o déficit energético secundário é adiado, e a ativação das vias de morte celular é suprimida por diversos mecanismos (Drury *et al.*, 2014; Gunn *et al.*, 2017). A HT é usada clinicamente desde 2010 e consiste na redução da temperatura corporal do neonato para 33,5-34,5°C (Roehr *et al.*, 2011; Shankaran *et al.*, 2005). A terapia pode ser aplicada através do resfriamento de todo o corpo ou seletivo da cabeça, com eficácia semelhante (Abate *et al.*, 2021; Douglas-Escobar e Weiss, 2015). Contudo, essa eficácia ainda pode ser considerada baixa: a redução nas taxas de mortalidade não ultrapassa 40-50% (Greco *et al.*, 2020; Shah *et al.*, 2004). O procedimento de HT precisa ser iniciado durante a fase latente de dano, ou seja, até 6 horas após o evento hipóxico-isquêmico em humanos (Gunn *et al.*, 2017) e ter duração de ao menos 48 horas para exibir neuroproteção efetiva (Gunn e Thoresen, 2006). Caso não seja realizada dentro desse período, além de não ser benéfica, a HT pode aumentar a lesão encefálica (Sabir *et al.*, 2012).

A janela terapêutica curta é uma limitação importante, uma vez que torna inviável a aplicação do tratamento em bebês que precisem ser transportados de locais afastados dos grandes centros de atendimento especializado. Além disso, a HT apresenta uma baixa eficácia em casos severos (Sabir *et al.*, 2012; Wood *et al.*, 2016) e leves de EHI, não sendo recomendada nessas situações (Saw *et al.*, 2019). A eficiência e segurança da HT não foram satisfatoriamente comprovadas para prematuros (Herrera *et al.*, 2018), que correspondem a uma parcela importante dos neonatos afetados pela EHI (Blencowe *et al.*, 2012). Portanto, atualmente, o uso da HT é restrito a casos moderados a graves em recém-nascidos a termo (Saw *et al.*, 2019), o que deixa vários afetados sem possibilidade de tratamento.

Fica evidente a escassez de terapias eficazes para o tratamento da EHI, especialmente para aqueles casos que não se encaixam nos critérios de aplicação da HT. Por isso, estudos pré-clínicos vêm testando, progressivamente, outras terapias que possam ser utilizadas em combinação com a HT (Castillo *et al.*, 2015; Dixon *et al.*, 2016; Fabres *et al.*, 2018; Rees, Harding e Walker, 2011; Roumes *et al.*, 2021; Tassinari *et al.*, 2020; Wu e Gonzalez, 2015)

Nesse contexto, o lactato surge como um agente neuroprotetor em potencial em situação de hipóxia-isquemia, tendo em vista seu papel como substrato energético alternativo.

O lactato foi considerado, por décadas, um resíduo metabólico deletério, uma molécula sintetizada como consequência negativa de uma baixa perfusão tecidual e reduzida disponibilidade de oxigênio (Siesjö, 1978), que deveria ser rapidamente excretada (Ferguson *et al.*, 2018). Os níveis de lactato plasmático, de fato, aumentam em condições patológicas como a isquemia, de forma que são tradicionalmente vistos na clínica como indicativo de mau-prognóstico (Cohen e Simpson, 1975). Hoje, porém, o entendimento desse processo mudou: acredita-se que esse biomarcador pode, ao invés de ser uma molécula causadora de dano, estar aumentado para atuar como um mecanismo intrínseco de autoproteção do encéfalo. Isso porque o lactato, hoje, já é considerado uma fonte importante de energia para o sistema nervoso. Para os neurônios, é qualificado não somente como um substrato energético alternativo à glicose, mas sim como o preferencial: os neurônios captam lactato e utilizam-no para suprir as demandas da respiração celular, mesmo quando ambos os substratos são disponibilizados (Bouzier-Sore *et al.*, 2003, 2006; Itoh *et al.*, 2003; Wyss *et al.*, 2011).

De qualquer forma, a glicose segue sendo a principal molécula capturada pelo encéfalo em condições basais (Dienel, 2019). Entretanto, diferentemente do que se acreditou por décadas (Bélanger, Allaman e Magistretti, 2011; Madsen *et al.*, 1999), o destino dessa glicose não é, necessariamente, a fosforilação oxidativa; ao menos, não para todos os tipos celulares. Astrócitos e neurônios, as células mais abundantes do encéfalo, apresentam diferenças substanciais nos seus perfis metabólicos (Roumes *et al.*, 2021).

Os neurônios são os responsáveis pela maior parte da demanda energética no SNC, associada à atividade sináptica. Portanto, têm um perfil oxidativo, dependendo da respiração mitocondrial para a produção massiva de ATP (Vergara *et al.*, 2019). Curiosamente, porém, têm a via glicolítica truncada, devido à baixa expressão de enzimas glicolíticas (Cahoy *et al.*, 2008; Lovatt *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2014) e, principalmente, à degradação ativa de uma enzima-chave para esta via, a 6-fosfofruto-2-cinase/frutose-2,6-bifosfatase 3 (Pfkfb) (Herrero-Mendez *et al.*, 2009). Isso pode ser explicado, em parte, pelo fato de que os neurônios não têm um sistema de detoxificação do metilglioxal (um subproduto tóxico da glicólise) bem desenvolvido; assim, os mecanismos que impedem altas taxas de glicólise são importantes para evitar danos aos neurônios (Allaman, Bélanger e Magistretti, 2015). Ademais, dessa forma, a glicose capturada pode ter seu fluxo redirecionado para vias anabólicas, como a via das pentoses

fosfato (PPP, do inglês *pentose-phosphate pathway*), essencial para a manutenção do status antioxidante dos neurônios (Barros, 2013; Herrero-Mendez *et al.*, 2009).

Os astrócitos, em contraste, são células preferencialmente glicolíticas, e têm uma demanda energética bem menor que os neurônios (Vergara *et al.*, 2019). Apesar disso, são os responsáveis pela maior parte da captação e utilização da glicose (Bouzier-Sore *et al.*, 2006; Hyder *et al.*, 2006); essas células captam muito mais glicose do que seria necessário para suprir sua demanda energética (Barros *et al.*, 2009; Jakoby *et al.*, 2014): uma grande porção dessa glicose que entra na via glicolítica é liberada como lactato no espaço extracelular (Bouzier-Sore *et al.*, 2006; Itoh *et al.*, 2003; Lovatt *et al.*, 2007; Pellerin e Magistretti, 1994; Serres *et al.*, 2005)

Para que os neurônios consigam manter suas altas taxas metabólicas apesar da restrição da via glicolítica, estas células precisam ter acesso a substratos metabólicos diferentes da glicose para abastecer o ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) e garantir a produção de ATP. Para garantir isso, ocorre uma cooperação metabólica bastante singular no SNC. Como descrito de maneira elegante na hipótese da lançadeira de lactato (ANLS, do inglês *astrocyte-neuron lactate shuttle*), proposta por Pellerin e Magistretti (Pellerin e Magistretti, 1994), é justamente o lactato produzido pelos astrócitos que é disponibilizado aos neurônios.

A hipótese da ANLS baseia-se na ideia original da lançadeira de lactato, descrita por Brooks (Brooks, 1986) em fibras musculares esqueléticas. Nesse sistema, células glicolíticas, dispoñdo de uma maquinaria propícia para a produção e exportação de lactato em grandes quantidades, liberariam esse lactato para o meio extracelular, para ser capturado por outras células, preferencialmente oxidativas. Essas últimas, então, oxidariam o lactato a piruvato, que seria utilizado no ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) para a produção de ATP. Portanto, esse desvio permitiria evitar as primeiras fases da glicólise, que requerem um investimento de ATP e muitas etapas enzimáticas (Brooks, 1986, 2018).

No SNC, como descrito acima, as células glicolíticas são os astrócitos; estas células expressam altas quantidades da isoforma A da lactato desidrogenase (LDHA), que favorece a conversão de piruvato a lactato, e o transportador de monocarboxilato (MCT) do tipo 4 (MCT4), que tem baixa afinidade e favorece o efluxo de lactato. Os neurônios são as células oxidativas, que expressam principalmente a isoforma B da lactato desidrogenase (LDHB), a qual favorece a reação no sentido oposto, e o MCT do tipo 2 (MCT2), de alta afinidade, responsável pela captação de lactato do meio externo. Assim, esse mecanismo, ilustrado na

Figura 2, permite uma integração metabólica, de forma que os produtos de processos anabólicos, que seriam excretados, sejam direcionados para reações catabólicas em células com demandas energéticas altas (Lauritzen *et al.*, 2014).

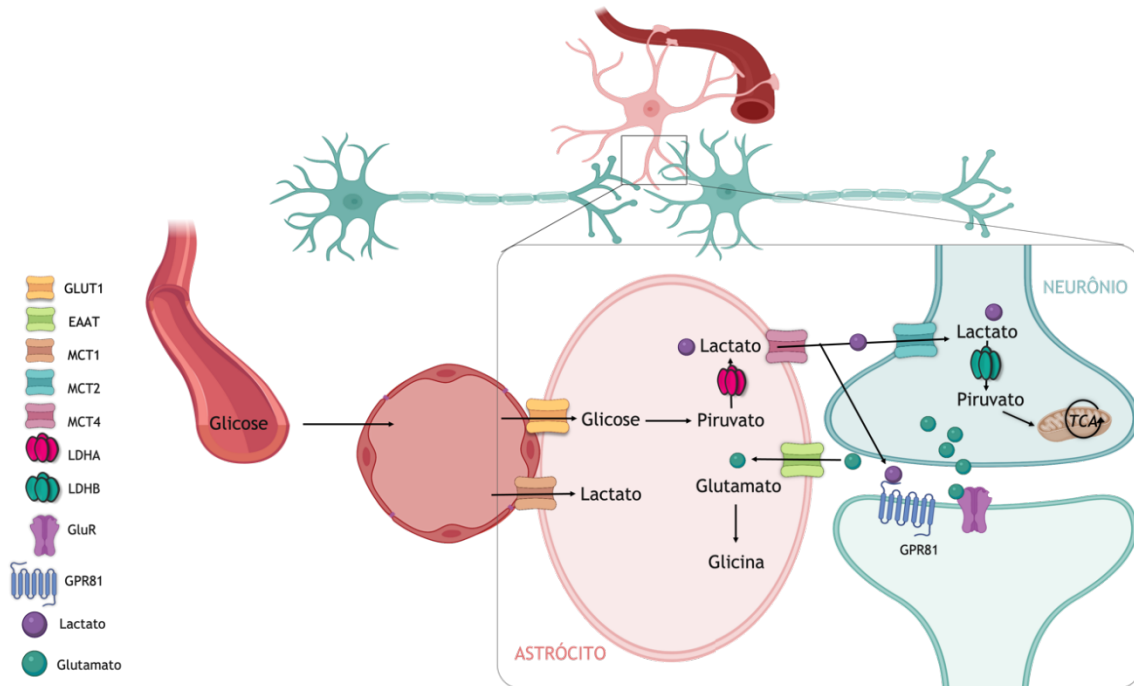


Figura 2: Lançadeira de lactato entre astrócitos e neurônios (ANLS, do inglês *Astrocyte-Neuron Lactate Shuttle*). A ANLS é um mecanismo de cooperação metabólica entre astrócitos e neurônios, baseado no transporte de lactato. Os astrócitos têm um potencial redutor e podem suportar metabolicamente os neurônios, que dependem principalmente de vias oxidativas para a produção de ATP. Os pés dos astrócitos envolvem os vasos sanguíneos do parênquima cerebral; assim, têm um acesso mais direto à corrente sanguínea, de onde captam glicose através dos transportadores GLUT1 e a metabolizam a piruvato pela via glicolítica. A isoforma LDHA, abundante nos astrócitos, favorece a redução do piruvato a lactato. Essa reação consome NADH e libera NAD^+ ; assim, os equivalentes oxidantes são regenerados, mantendo a atividade da via glicolítica. Além de estarem próximos dos vasos sanguíneos, os astrócitos também estão em uma localização privilegiada para a percepção da atividade neuronal, adjacentes às fendas sinápticas. Nesse compartimento, o glutamato liberado pelos neurônios é recaptado pelos astrócitos via transportadores de aminoácidos excitatórios (EAAT), sendo convertido a glutamina; isso evita a excitotoxicidade glutamatérgica no meio extracelular. É justamente a entrada de glutamato na célula que ativa a via glicolítica nos astrócitos. O lactato produzido pelos astrócitos é exportado ao meio extracelular através do MCT4, um transportador de baixa afinidade. Nos neurônios, a isoforma MCT2, de alta afinidade, estimula a captação desse lactato liberado pelos astrócitos. Uma vez no citoplasma dos neurônios, o lactato é reoxidado a piruvato pela LDHB; esse piruvato pode, por fim, ser convertido a acetil-CoA para a produção mitocondrial de ATP. A interação entre o metabolismo energético e a neuroquímica, portanto, é a base do funcionamento da ANLS. É importante ressaltar que o lactato liberado pelos astrócitos pode, em vez de ser capturado pelos MCT2, atuar diretamente no receptor de lactato, o GPR81, presente em alta densidade nas membranas pré- e, principalmente, pós-sinápticas, ativando vias de sinalização celular (Figura de autoria própria, adaptada de Colucci *et al.*, 2023).

O SNC, portanto, é um ambiente de extensa colaboração entre diferentes tipos celulares, com os astrócitos suportando metabolicamente os neurônios através de um fluxo direcional de lactato. Dessa forma, a lançadeira de lactato pode ser um alvo bastante promissor em condições isquêmicas, especialmente neonatais, suprimindo a demanda energética em situações em que a redução do fluxo sanguíneo prejudica a entrega de glicose e oxigênio ao encéfalo (para revisão, ver Colucci et al., 2023).

O papel neuroprotetor do lactato nessas condições já foi demonstrado em roedores, em modelos adultos de oclusão da artéria cerebral média (MCAO) (Berthet *et al.*, 2009, 2012; Buscemi *et al.*, 2020, 2022; Castillo *et al.*, 2015; Horn e Klein, 2013; Rice *et al.*, 2002) e em modelos neonatais de HI (Roumes *et al.*, 2021; Tassinari *et al.*, 2020), reduzindo a lesão encefálica e os déficits comportamentais associados. Em modelos *in vitro* de OGD, o lactato se mostrou capaz de reduzir a morte neuronal (Berthet *et al.*, 2009; Castillo *et al.*, 2015). Também estimula a angiogênese (Zhou *et al.*, 2018), a neurogênese hipocampal (Lev-Vachnisch *et al.*, 2019), protege contra a excitotoxicidade (Jourdain *et al.*, 2016, 2018) e modula o estresse oxidativo (Tauffenberger *et al.*, 2019), propriedades extremamente interessantes quando se considera a fisiopatologia da HI.

O lactato também realiza outras funções no SNC, muitas das quais não podem ser explicadas unicamente por seu papel metabólico. Desempenha um papel modulador bastante importante, observado, pela primeira vez, através de sua propriedade vasodilatadora associada ao aumento da atividade neuronal (Gordon *et al.*, 2008). Progressivamente, seu papel na formação de memórias (Descalzi *et al.*, 2019; Korol *et al.*, 2019; Suzuki *et al.*, 2011), na regulação da plasticidade sináptica (Yang *et al.*, 2014), na modulação da excitabilidade neuronal (Abrantes *et al.*, 2019; Bozzo, Puyal e Chatton, 2013; Briquet *et al.*, 2022; Herrera-López e Galván, 2018), dentre outros processos essenciais à plena funcionalidade do encéfalo, também foram descritos.

Essas funções podem ser atribuídas, portanto à existência de um receptor de lactato, o GPR81 (do inglês *G protein-coupled receptor 81*) – ou HCAR1 (do inglês *hydrocarboxylic acid receptor 1*), descrito há pouco mais de uma década (Cai *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009), que está presente no SNC (Ge *et al.*, 2008, Bozzo *et al.*, 2013, Lauritzen *et al.*, 2014). O GPR81 é um receptor acoplado à proteína G do tipo Gi, ou seja, sua ativação reduz os níveis intracelulares de monofosfato de adenosina cíclico (AMPC) através da inibição da adenilato ciclase (AC) (para

revisão, ver Colucci *et al.*, 2023). Na periferia, o GPR81 desempenha um importante papel na regulação do metabolismo (Ahmed *et al.*, 2010; Cai *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009).

O GPR81 é amplamente distribuído no parênquima cerebral, tendo sua maior expressão em neurônios (Briquet *et al.*, 2022; Lauritzen *et al.*, 2014). Os padrões de expressão, porém, variam em diferentes regiões do encéfalo (Lauritzen *et al.*, 2014), podendo variar também em diferentes idades, modelos experimentais ou, até mesmo, em diferentes estados de saúde e doença, possivelmente sendo regulados pelos próprios níveis de lactato.

A ativação do GPR81 no SNC parece ser responsável por modular esses processos que não são explicados pelo papel metabólico do lactato, como descrito anteriormente. Contudo, inegavelmente, um dos papéis mais importantes que esse receptor desempenha no encéfalo diz respeito à modulação da sobrevivência, morte e proliferação celular. A ativação do GPR81, seja pelo lactato produzido endogenamente ou administrado exogenamente, aumenta a angiogênese (Khilazheva *et al.*, 2017; Morland *et al.*, 2017) e a neurogênese (Lambertus *et al.*, 2021; Zhou *et al.*, 2018). Esses efeitos parecem ser mediados pela ativação de vias de sobrevivência, como a ERK/2 e PI3K/Akt (Hu *et al.*, 2020; Morland *et al.*, 2017) e, possivelmente, pela inibição de vias de morte celular. O GPR81 é essencial para promover a vascularização nos estágios iniciais do neurodesenvolvimento, tendo sua expressão aumentada no SNC nos primeiros dias de vida (Chaudhari *et al.*, 2022; Madaan *et al.*, 2019).

O GPR81 também está associado à redução do estresse oxidativo (Longhitano *et al.*, 2022) e da neuroinflamação (Hoque *et al.*, 2014; Madaan *et al.*, 2017; Ranganathan *et al.*, 2018) na periferia. Esses processos estão envolvidos na fisiopatologia da HI e parecem ser regulados pelo lactato, apesar dos mecanismos, até hoje, não terem sido descritos.

Por fim, a ativação do receptor GPR81 *per se* já se mostrou neuroprotetora em modelos de MCAO (Castillo *et al.*, 2015) e HI neonatal (Chaudhari *et al.*, 2022; Kennedy *et al.*, 2022). Esse receptor apresenta um EC_{50} alto (1,3-5mM) (Cai, T. Q. *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009), mas correspondente às concentrações fisiológicas de lactato (Abi-Saab *et al.*, 2002; Langemann *et al.*, 2001), de forma que pode ser ativado pelo lactato endógeno. Assim, o lactato torna-se um agente neuroprotetor bastante promissor na HI neonatal, provavelmente com um papel dual, metabólico e sinalizador.

10. Referências bibliográficas

- ABATE, B. B. *et al.* Effects of therapeutic hypothermia on death among asphyxiated neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy: A systematic review and meta-analysis of randomized control trials. **PLoS ONE**, v. 16, n. 2 February 2021, 1 fev. 2021.
- ABI-SAAB, W. M. *et al.* Striking differences in glucose and lactate levels between brain extracellular fluid and plasma in conscious human subjects: Effects of hyperglycemia and hypoglycemia. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 22, n. 3, p. 271–279, 2002.
- ABRANTES, H. DE C. *et al.* The lactate receptor HCAR1 modulates neuronal network activity through the activation of G α and G $\beta\gamma$ subunits. **Journal of Neuroscience**, v. 39, n. 23, p. 4422–4433, 2019.
- AHMED, E. I. *et al.* Pubertal hormones modulate the addition of new cells to sexually dimorphic brain regions. **Nat Neurosci**, v. 11, n. 9, p. 995–997, set. 2008.
- AHMED, K. *et al.* An Autocrine Lactate Loop Mediates Insulin-Dependent Inhibition of Lipolysis through GPR81. **Cell Metabolism**, v. 11, n. 4, p. 311–319, 2010.
- AIREDE, A. I. Birth asphyxia and hypoxic-ischaemic encephalopathy: Incidence and severity. **Annals of Tropical Paediatrics**, v. 11, n. 4, p. 331–335, 1991.
- ALKADHI, K. A. Cellular and Molecular Differences Between Area CA1 and the Dentate Gyrus of the Hippocampus. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 9, p. 6566–6580, 15 set. 2019.
- ALLAMAN, I.; BÉLANGER, M.; MAGISTRETTI, P. J. Methylglyoxal, the dark side of glycolysis. **Frontiers in Neuroscience**, v. 9, n. FEB, 2015.
- ALLEN, K. A.; BRANDON, D. H. Hypoxic Ischemic Encephalopathy: Pathophysiology and Experimental Treatments. **Newborn and Infant Nursing Reviews**, v. 11, n. 3, p. 125–133, set. 2011.
- ALMEIDA, M. F. B. DE *et al.* Óbitos neonatais precoces associados à asfixia perinatal em neonatos ≥ 2.500 g no Brasil. **Jornal de Pediatria**, v. 93, n. 6, p. 576–584, 1 nov. 2017.
- ALTEMUS, K. L.; ALMLI, C. R. Neonatal hippocampal damage in rats: Long-term spatial memory deficits and associations with magnitude of hippocampal damage. **Hippocampus**, v. 7, n. 4, p. 403–415, 1997.
- ÁLVAREZ, Z. *et al.* Neurogenesis and vascularization of the damaged brain using a lactate-releasing biomimetic scaffold. **Biomaterials**, v. 35, n. 17, p. 4769–4781, 2014.
- ALVAREZ-DÍAZ, A. *et al.* Hypoxic-ischemic injury in the immature brain - Key vascular and cellular players. **Neonatology**, v. 92, n. 4, p. 227–235, nov. 2007.
- ANDERSON, V. *et al.* Functional plasticity or vulnerability after early brain injury? **Pediatrics**, v. 116, n. 6, p. 1374–1382, dez. 2005.
- ANDERSON, V.; SPENCER-SMITH, M.; WOOD, A. Do children really recover better? Neurobehavioural plasticity after early brain insult. **Brain**, v. 134, n. 8, p. 2197–2221, 2011.
- ARIZMENDI, C. *et al.* Effect of Postnatal Hypoxia on the Energy Homeostasis of the Newborn Rat during the Early Neonatal Period. **Biology of the Neonate**, v. 44, p. 36–41, 1983.
- ARMOSKUS, C. Effects of Prenatal Testosterone Exposure on Sexually Dimorphic Gene Expression in the Neonatal Mouse Cortex and Hippocampus. **Journal of Steroids & Hormonal Science**, v. 05, n. 03, 2013.
- ARTENI, N. S. *et al.* Neonatal cerebral hypoxia-ischemia causes lateralized memory impairments in the adult rat. **Brain Research**, v. 973, n. 2, p. 171–178, 30 maio 2003.

- ARTENI, N. S. *et al.* Lateralized and sex-dependent behavioral and morphological effects of unilateral neonatal cerebral hypoxia-ischemia in the rat. **Behavioural Brain Research**, v. 210, n. 1, p. 92–98, jun. 2010.
- ASKALAN, R. *et al.* Mechanisms of neurodegeneration after severe hypoxic-ischemic injury in the neonatal rat brain. **Brain Research**, v. 1629, p. 94–103, 10 dez. 2015a.
- ASKALAN, R. *et al.* Mechanisms of neurodegeneration after severe hypoxic-ischemic injury in the neonatal rat brain. **Brain Research**, v. 1629, p. 94–103, 10 dez. 2015b.
- ASLAM, S.; STRICKLAND, T.; MOLLOY, E. J. Neonatal encephalopathy: Need for recognition of multiple etiologies for optimal management. **Frontiers in Pediatrics**, v. 7, n. MAR, 2019.
- AZZOPARDI, D. *et al.* Prognosis of Newborn Infants with Hypoxic-Ischemic Brain Injury Assessed by Phosphorus Magnetic Resonance Spectroscopy. **Pediatric Research**, v. 25, n. 5, 1989.
- BACK, S. A. *et al.* Selective Vulnerability of Late Oligodendrocyte Progenitors to Hypoxia-Ischemia. **The Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 2, p. 455–463, 2002.
- BADAWI, N. *et al.* Intrapartum risk factors for newborn encephalopathy: the Western Australian case-control study. **BMJ**, v. 317, n. 7172, p. 1554–1558, 5 dez. 1998.
- BALLOK, D. A.; MILLWARD, J. M.; SAKIC, B. Neurodegeneration in autoimmune MRL-lpr mice as revealed by Fluoro Jade B staining. **Brain Research**, v. 964, p. 200–210, 2003.
- BANERJEE, A.; GHATAK, S.; SIKDAR, S. K. l-Lactate mediates neuroprotection against ischaemia by increasing TREK1 channel expression in rat hippocampal astrocytes in vitro. **Journal of Neurochemistry**, p. 265–281, 1 jul. 2016.
- BANO, S.; CHAUDHARY, V.; GARGA, U. Neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy: A radiological review. **Journal of Pediatric Neurosciences**, v. 12, n. 1, p. 1, 2017.
- BARROS, L. F. *et al.* Preferential transport and metabolism of glucose in Bergmann glia over Purkinje cells: A multiphoton study of cerebellar slices. **GLIA**, v. 57, n. 9, p. 962–970, 2009.
- BARROS, L. F. Metabolic signaling by lactate in the brain. **Trends in Neurosciences**, v. 36, n. 7, p. 396–404, jul. 2013.
- BEERY, A. K.; ZUCKER, I. Sex bias in neuroscience and biomedical research. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 35, n. 3, p. 565–572, jan. 2011.
- BÉLANGER, M.; ALLAMAN, I.; MAGISTRETTI, P. J. Brain energy metabolism: Focus on Astrocyte-neuron metabolic cooperation. **Cell Metabolism**, v. 14, n. 6, p. 724–738, 2011.
- BELET, N. *et al.* Hypoxic-ischemic encephalopathy: Correlation of serial MRI and outcome. **Pediatric Neurology**, v. 31, n. 4, p. 267–274, out. 2004.
- BERTHET, C. *et al.* Neuroprotective role of lactate after cerebral ischemia. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 29, n. 11, p. 1780–1789, 2009.
- BERTHET, C. *et al.* New evidence of neuroprotection by lactate after transient focal cerebral ischaemia: Extended benefit after intracerebroventricular injection and efficacy of intravenous administration. **Cerebrovascular Diseases**, v. 34, n. 5–6, p. 329–335, dez. 2012.
- BIAN, G. L. *et al.* Fluoro-Jade C can specifically stain the degenerative neurons in the substantia nigra of the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated C57BL/6 mice. **Brain Research**, v. 1150, n. 1, p. 55–61, 31 ago. 2007.
- BISETTO, S. *et al.* New Insights into the Lactate Shuttle: Role of MCT4 in the Modulation of the Exercise Capacity. **iScience**, v. 22, p. 507–518, 20 dez. 2019.
- BLENCOWE, H. *et al.* National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: A systematic analysis and implications. **The Lancet**, v. 379, n. 9832, p. 2162–2172, 2012.

- BOCK, J. *et al.* Perinatal programming of emotional brain circuits: An integrative view from systems to molecules. **Frontiers in Neuroscience**, n. 8 FEB, 2014.
- BOITSOVA, E. B. *et al.* The inhibitory effect of LPS on the expression of GPR81 lactate receptor in blood-brain barrier model in vitro. **Journal of Neuroinflammation**, v. 15, n. 1, p. 1–7, 2018.
- BONAVITA, V. Molecular Evolution of Lactate Dehydrogenase in the Developing Nervous Tissue. **Progress in Brain Research**, p. 254–271, 1964.
- BOUZIER-SORE, A. K. *et al.* Feeding active neurons: (re)emergence of a nursing role for astrocytes. **Journal of Physiology**, p. 273–282, 2002.
- BOUZIER-SORE, A. K. *et al.* Lactate involvement in neuron - Glia metabolic interaction: ¹³C-NMR spectroscopy contribution. **Biochimie**, v. 85, n. 9, p. 841–848, 2003.
- BOUZIER-SORE, A. K. *et al.* Competition between glucose and lactate as oxidative energy substrates in both neurons and astrocytes: A comparative NMR study. **European Journal of Neuroscience**, v. 24, n. 6, p. 1687–1694, 2006.
- BOZZO, L.; PUYAL, J.; CHATTON, J. Y. Lactate Modulates the Activity of Primary Cortical Neurons through a Receptor-Mediated Pathway. **PLoS ONE**, v. 8, n. 8, p. 1–9, 2013.
- BREKKE, E.; MORKEN, T. S.; SONNEWALD, U. Glucose metabolism and astrocyte-neuron interactions in the neonatal brain. **Neurochemistry International**, v. 82, p. 33–41, 2015.
- BRIQUET, M. *et al.* Activation of lactate receptor HCAR1 down-modulates neuronal activity in rodent and human brain tissue. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 42, n. 9, p. 1650–1665, 2022.
- BRÖER, S. *et al.* Characterization of the high-affinity monocarboxylate transporter MCT2 in *Xenopus laevis* oocytes. **Biochem. J**, v. 341, p. 529–535, 1999.
- BROOKS, G. A. The lactate shuttle during exercise and recovery. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 18, n. 3, p. 360–368, 1986.
- BROOKS, G. A. The Science and Translation of Lactate Shuttle Theory. **Cell Metabolism**, v. 27, n. 4, p. 757–785, 3 abr. 2018.
- BROWN, T. P.; GANAPATHY, V. Lactate/GPR81 signaling and proton motive force in cancer: Role in angiogenesis, immune escape, nutrition, and Warburg phenomenon. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 206, p. 107451, 2020.
- BRUCKLACHER, R. M.; VANNUCCI, R. C.; VANNUCCI, S. J. Hypoxic preconditioning increases brain glycogen and delays energy depletion from hypoxia-ischemia in the immature rat. **Developmental Neuroscience**, v. 24, n. 5, p. 411–417, 2002.
- BURDA, J. E.; SOFRONIEW, M. V. Reactive gliosis and the multicellular response to CNS damage and disease. **Neuron**, v. 81, n. 2, p. 229–248, 22 jan. 2014.
- BUSCEMI, L. *et al.* Extended preclinical investigation of lactate for neuroprotection after ischemic stroke. **Clinical and Translational Neuroscience**, v. 4, n. 1, p. 2514183X2090457, 2020.
- BUSCEMI, L. *et al.* Hydroxycarboxylic Acid Receptor 1 and Neuroprotection in a Mouse Model of Cerebral Ischemia-Reperfusion. **Frontiers in Physiology**, v. 12, n. May, 2021.
- BUSCEMI, L. *et al.* Lactate Neuroprotection against Transient Ischemic Brain Injury in Mice Appears Independent of HCAR1 Activation. **Metabolites**, v. 12, n. 5, 2022.
- CAHOY, J. D. *et al.* A transcriptome database for astrocytes, neurons, and oligodendrocytes: A new resource for understanding brain development and function. **Journal of Neuroscience**, v. 28, n. 1, p. 264–278, 2 jan. 2008.
- CAI, J. *et al.* Hydrogen therapy reduces apoptosis in neonatal hypoxia-ischemia rat model. **Neuroscience Letters**, v. 441, n. 2, p. 167–172, 22 ago. 2008.

- CAI, J. *et al.* Neuroprotective effects of hydrogen saline in neonatal hypoxia-ischemia rat model. **Brain Research**, v. 1256, p. 129–137, 23 fev. 2009.
- CAI, T. Q. *et al.* Role of GPR81 in lactate-mediated reduction of adipose lipolysis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 377, n. 3, p. 987–991, 2008.
- CAMMERMEYER, J. The Importance of Avoiding “Dark” Neurons in Experimental Neuropathology. **Acta Neuropathologica**, v. 1, p. 245–270, 1961.
- CARNEIRO, L.; PELLERIN, L. Monocarboxylate transporters: New players in body weight regulation. **Obesity Reviews**, v. 16, n. S1, p. 55–66, 1 fev. 2015.
- CARRARD, A. *et al.* Peripheral administration of lactate produces antidepressant-like effects. **Molecular Psychiatry**, v. 23, n. 2, p. 392–399, 1 fev. 2018.
- CASTILLO, X. *et al.* A probable dual mode of action for both L-and D-lactate neuroprotection in cerebral ischemia. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 35, n. 10, p. 1561–1569, 2015.
- CASTRÉN, E. *et al.* bcl-2 messenger RNA is localized in neurons of the developing and adult rat brain. **Neuroscience**, v. 61, n. 1, p. 165–177, 1994.
- CHA, S. H.; LANE, M. D. Central lactate metabolism suppresses food intake via the hypothalamic AMP kinase/malonyl-CoA signaling pathway. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 386, n. 1, p. 212–216, 14 ago. 2009.
- CHANG, P. D. *et al.* Predictive values of location and volumetric MRI injury patterns for neurodevelopmental outcomes in hypoxic-ischemic encephalopathy neonates. **Brain Sciences**, v. 10, n. 12, p. 1–9, 1 dez. 2020.
- CHAUDHARI, P. *et al.* Neuronal GPR81 regulates developmental brain angiogenesis and promotes brain recovery after a hypoxic ischemic insult. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 42, n. 7, p. 1294–1308, 2022.
- CHEN, H. C. *et al.* An interconnected hierarchical model of cell death regulation by the BCL-2 family. **Nature Cell Biology**, v. 17, n. 10, p. 1270–1281, 3 out. 2015.
- CHEN, W. *et al.* Nrf2 protects against cerebral ischemia-reperfusion injury by suppressing programmed necrosis and inflammatory signaling pathways. **Annals of Translational Medicine**, v. 10, n. 6, p. 285–285, mar. 2022.
- CHENG, S.; CHEN, C.; WANG, L. Gelsemine Exerts Neuroprotective Effects on Neonatal Mice with Hypoxic-Ischemic Brain Injury by Suppressing Inflammation and Oxidative Stress via Nrf2/HO-1 Pathway. **Neurochemical Research**, v. 48, n. 5, p. 1305–1319, 1 maio 2023.
- CHU, X. *et al.* Hydrogen-rich saline promotes microglia M2 polarization and complement-mediated synapse loss to restore behavioral deficits following hypoxia-ischemic in neonatal mice via AMPK activation. **Journal of Neuroinflammation**, v. 16, n. 1, 18 maio 2019.
- CLARKSON, A.; SUTHERLAND, B. A.; APPLETON, I. The biology and pathology of hypoxia-ischemia: An update. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 53, p. 213–225, 2005.
- COHEN, R. D.; SIMPSON, R. Lactate Metabolism. **Anesthesiology**, v. 43, n. 6, p. 661–673, 1975.
- COLUCCI, A. C. M. *et al.* History and function of the lactate receptor GPR81/HCAR1 in the brain: a putative therapeutic target for the treatment of cerebral ischemia. **Neuroscience**, v. 526, p. 144–163, 2023.
- COSTELOE, K. *et al.* The EPICure Study: Outcomes to Discharge From Hospital for Infants Born at the Threshold of Viability. **Pediatrics**, v. 106, n. 4, p. 659–671, 1 out. 2000.

- CREMER, J. E. Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism Substrate Utilization and Brain Development. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 2, p. 394–407, 1982.
- CRÉMILLIEUX, Y. *et al.* Online 1H-MRS measurements of time-varying lactate production in an animal model of glioma during administration of an anti-tumoral drug. **NMR in Biomedicine**, v. 31, n. 2, 1 fev. 2018.
- DAMMANN, O.; FERRIERO, D.; GRESSENS, P. Neonatal encephalopathy or hypoxic-ischemic encephalopathy? Appropriate terminology matters. **Pediatric Research**, v. 70, n. 1, p. 1–2, 2011.
- DAVIDSON, J. O. *et al.* Therapeutic hypothermia for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy - Where to from here? **Frontiers in Neurology**, v. 6, 2015.
- DEMAREST, T. G. *et al.* Sex-dependent mitochondrial respiratory impairment and oxidative stress in a rat model of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. **Journal of Neurochemistry**, v. 137, n. 5, p. 714–729, 1 jun. 2016.
- DENG, Q. *et al.* Exogenous lactate administration: A potential novel therapeutic approach for neonatal hypoxia-ischemia. **Experimental Neurology**, v. 367, 1 set. 2023.
- DESCALZI, G. *et al.* Lactate from astrocytes fuels learning-induced mRNA translation in excitatory and inhibitory neurons. **Communications Biology**, v. 2, n. 1, 2019.
- DESHMUKH, P. *et al.* The Keap1–Nrf2 pathway: promising therapeutic target to counteract ROS-mediated damage in cancers and neurodegenerative diseases. **Biophysical Reviews**, v. 9, n. 1, p. 41–56, 1 fev. 2017.
- DIENEL, G. A. Brain glucose metabolism: Integration of energetics with function. **Physiological Reviews**, v. 99, n. 1, p. 949–1045, 2019.
- DIETRICH, W. D. *et al.* Effects of Normothermic Versus Mild Hyperthermic Forebrain Ischemia in Rats. **Stroke**, v. 9, p. 1318–1325, 1990.
- DINGLEY, J. *et al.* Xenon provides short-term neuroprotection in neonatal rats when administered after hypoxia-ischemia. **Stroke**, v. 37, n. 2, p. 501–506, fev. 2006.
- DIXON, B. J. *et al.* Neuroprotective strategies after neonatal hypoxic ischemic encephalopathy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 9, p. 22368–22401, 15 set. 2015.
- DIXON, B. J. *et al.* Intranasal Administration of Interferon Beta Attenuates Neuronal Apoptosis via the JAK1/STAT3/BCL-2 Pathway in a Rat Model of Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. **ASN Neuro**, v. 8, n. 5, 1 set. 2016.
- DOBBING, J.; SANDS, J. Comparative aspects of the brain growth spurt*. **Early Human Development**, v. 311, p. 79–112, 1979.
- DOMBROWSKI, G. J.; SWIATEK, K. R.; CHAO, K. L. Lactate, 3-hydroxybutyrate, and glucose as substrates for the early postnatal rat brain. **Neurochemical Research**, v. 14, n. 7, p. 667–675, 1989.
- DONG, S. *et al.* Gender difference in the effect of progesterone on neonatal hypoxic/ischemic brain injury in mouse. **Experimental Neurology**, v. 306, p. 190–198, 1 ago. 2018.
- DONN, S. M.; CHISWICK, M. L.; FANAROFF, J. M. Medico-legal implications of hypoxic-ischemic birth injury. **Seminars in Fetal and Neonatal Medicine**, v. 19, n. 5, p. 317–321, 2014.
- DOUGLAS-ESCOBAR, M.; WEISS, M. D. Biomarkers of brain injury in the premature infant. **Frontiers in Neurology**, v. 3 JAN, n. January, p. 1–7, 2013.
- DOUGLAS-ESCOBAR, M.; WEISS, M. D. Hypoxic-Ischemic Encephalopathy A Review for the Clinician. **JAMA Pediatrics**, v. 169, n. 4, p. 397–403, 1 abr. 2015.
- DRURY, P. P. *et al.* Mechanisms of Hypothermic Neuroprotection. **Clinics in Perinatology**, v. 41, n. 1, p. 161–175, mar. 2014.

- DUBURCQ, T. *et al.* Hypertonic sodium lactate improves fluid balance and hemodynamics in porcine endotoxic shock. **Critical Care**, v. 18, n. 4, 14 ago. 2014.
- DUHAUT, D. E. *et al.* The Antiedematous Effect of Exogenous Lactate Therapy in Traumatic Brain Injury: A Physiological and Mechanistic Approach. **Neurocritical Care**, 2021.
- DUMONT, U. *et al.* Neuroprotective Effect of Maternal Resveratrol Supplementation in a Rat Model of Neonatal Hypoxia-Ischemia. **Frontiers in Neuroscience**, v. 14, 15 jan. 2021.
- DURÁN-CARABALI, L. E. *et al.* Longer hypoxia–ischemia periods to neonatal rats causes motor impairments and muscular changes. **Neuroscience**, v. 340, p. 291–298, 6 jan. 2017.
- DURÁN-CARABALI, L. E. *et al.* Tissue Injury and Astrocytic Reaction, But Not Cognitive Deficits, Are Dependent on Hypoxia Duration in Very Immature Rats Undergoing Neonatal Hypoxia–Ischemia. **Neurochemical Research**, v. 44, n. 11, p. 2631–2642, 1 nov. 2019.
- ERLICHMAN, J. S. *et al.* Inhibition of monocarboxylate transporter 2 in the retrotrapezoid nucleus in rats: A test of the astrocyte–neuron lactate–shuttle hypothesis. **Journal of Neuroscience**, v. 28, n. 19, p. 4888–4896, 7 maio 2008.
- FABRES, R. B. *et al.* Effects of progesterone on the neonatal brain following hypoxia–ischemia. **Metabolic Brain Disease**, v. 33, n. 3, p. 813–821, 2018.
- FABRES, R. B. *et al.* Long-Lasting Actions of Progesterone Protect the Neonatal Brain Following Hypoxia-Ischemia. **Cellular and Molecular Neurobiology**, n. 0123456789, 2020.
- FAN, H. *et al.* Effects of NMDA-Receptor Antagonist on the Expressions of Bcl-2 and Bax in the Subventricular Zone of Neonatal Rats with Hypoxia–Ischemia Brain Damage. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 73, n. 2, p. 323–330, 3 nov. 2015.
- FARLIE, P. G. *et al.* **bcl-2 transgene expression can protect neurons against developmental and induced cell death** *Cell Biology*. [s.l: s.n.].
- FATHALI, N. *et al.* The evolving landscape of neuroinflammation after neonatal hypoxia–ischemia. **Acta Neurochirurgica, Supplementum**, v. 111, p. 93–100, 2011.
- FERGUSON, B. S. *et al.* Lactate metabolism: historical context, prior misinterpretations, and current understanding. **European Journal of Applied Physiology**, v. 118, n. 4, p. 691–728, 1 abr. 2018.
- FERNANDEZ, E.; MEDINA, J. M. Lactate utilization by the neonatal rat brain in vitro Competition with glucose and 3-hydroxybutyrate. **Biochem. J**, v. 234, p. 489–492, 1986.
- FERRER, I. *et al.* Increased expression of bcl-2 immunoreactivity in the developing cerebral cortex of the rat. **Neuroscience Letters**, v. 179, p. 13–16, 1994.
- FERRIERO, D. M. Oxidant Mechanisms in Neonatal Hypoxia-Ischemia. **Developmental Neuroscience**, v. 23, p. 198–202, 2001.
- FERRIERO, D. M. Neonatal Brain Injury. **The New England Journal of Medicine**, v. 19, n. 4, p. 1985–1995, 2004.
- FLEISS, B.; GRESSENS, P. Tertiary mechanisms of brain damage: A new hope for treatment of cerebral palsy? **The Lancet Neurology**, v. 11, n. 6, p. 556–566, jun. 2012.
- FLÓREZ-VARGAS, O. *et al.* Bias in the reporting of sex and age in biomedical research on mouse models. **eLife Sciences**, v. 5, 2016.
- FU, C. *et al.* Neuroprotective effect of apigenin against hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats via activation of the PI3K/Akt/Nrf2 signaling pathway. **Food and Function**, v. 12, n. 5, p. 2270–2281, 7 mar. 2021.
- FULLERTON, H. J. *et al.* Copper/Zinc Superoxide Dismutase Transgenic Brain Accumulates Hydrogen Peroxide after Perinatal Hypoxia Ischemia. **Annals of Neurology**, v. 44, p. 357–364, 1998.

- FURUKAWA, S. *et al.* Acetylcholine receptor agonist reduces brain damage induced by hypoxia-ischemia in newborn rats. **Reproductive Sciences**, v. 18, n. 2, p. 172–179, fev. 2011.
- GALLAGHER, C. N. *et al.* The human brain utilizes lactate via the tricarboxylic acid cycle: A ¹³C-labelled microdialysis and high-resolution nuclear magnetic resonance study. **Brain**, v. 132, n. 10, p. 2839–2849, 2009.
- GAO, Y. *et al.* Resveratrol mitigates the oxidative stress mediated by hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats via nrf2/ho-1 pathway. **Pharmaceutical Biology**, v. 56, n. 1, p. 440–449, 1 jan. 2018.
- GARCIA, J. H.; KAMIJYO, Y. Cerebral Infarction: Evolution of Histopathological changes after Occlusion of a Middle Cerebral Artery in Primates. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, v. 33, n. 3, p. 408–421, 1974.
- GARCÍA-CASTILLO, V. *et al.* Targeting metabolic remodeling in triple negative breast cancer in a murine model. **Journal of Cancer**, v. 8, n. 2, p. 178–189, 2017.
- GEMERT, L. A. VAN *et al.* **Lactate infusion as therapeutical intervention: a scoping review** **European Journal of Pediatrics** Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, , 1 jun. 2022.
- GENNARO, M.; MATTIELLO, A.; PIZZORUSSO, T. Rodent models of developmental ischemic stroke for translational research: Strengths and weaknesses. **Neural Plasticity**, v. 2019, 2019.
- GHIBELLI, L.; DIEDERICH, M. Multistep and multitask Bax activation. **Mitochondrion**, v. 10, n. 6, p. 604–613, nov. 2010.
- GIBSON, C. L.; COOMBER, B.; RATHBONE, J. Is progesterone a candidate neuroprotective factor for treatment following ischemic stroke? **Neuroscientist**, v. 15, n. 4, p. 324–332, ago. 2009.
- GILL, M. B.; PEREZ-POLO, J. R. Hypoxia ischemia-mediated cell death in neonatal rat brain. **Neurochemical Research**, v. 33, n. 12, p. 2379–2389, dez. 2008.
- GOPAGONDANAHALLI, K. R. *et al.* Preterm hypoxic-ischemic encephalopathy. **Frontiers in Pediatrics**, v. 4, 1 out. 2016.
- GORDON, G. R. J. *et al.* Brain metabolism dictates the polarity of astrocyte control over arterioles. **Nature**, v. 456, n. 7223, p. 745–750, 2008.
- GOU, Z. *et al.* Melatonin improves hypoxic-ischemic brain damage through the Akt/Nrf2/Gpx4 signaling pathway. **Brain Research Bulletin**, v. 163, p. 40–48, 1 out. 2020.
- GRECO, P. *et al.* Pathophysiology of hypoxic–ischemic encephalopathy: a review of the past and a view on the future. **Acta Neurologica Belgica**, v. 120, n. 2, p. 277–288, 1 abr. 2020.
- GUNN, A. J. *et al.* Therapeutic hypothermia translates from ancient history in to practice. **Pediatric Research**, v. 81, n. 1–2, p. 202–209, 1 jan. 2017.
- GUNN, A. J.; GLUCKMAN, P. D. Head Cooling for Neonatal Encephalopathy: The State of the Art. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v. 50, n. 3, p. 636–651, 2007.
- GUNN, A. J.; THORESEN, M. Hypothermic Neuroprotection. **NeuroRx**, v. 3, p. 154–169, 2006.
- GUO, C. Y. *et al.* The temporal and spatial changes of actin cytoskeleton in the hippocampal CA1 neurons following transient global ischemia. **Brain Research**, v. 1720, 1 out. 2019.
- GUO, H. *et al.* Danhong Injection Attenuates Ischemia/Reperfusion-Induced Brain Damage Which is Associating with Nrf2 Levels In Vivo and In Vitro. **Neurochemical Research**, v. 39, n. 9, p. 1817–1824, 1 set. 2014.

- HADZIC, A. *et al.* The lactate receptor HCA1 is present in the choroid plexus, the tela choroidea, and the neuroepithelial lining of the dorsal part of the third ventricle. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 18, p. 1–14, 2020.
- HAGBERG, H. *et al.* Mitochondria: Hub of injury responses in the developing brain. **The Lancet Neurology**, v. 13, n. 2, p. 217–232, fev. 2014.
- HAMDY, N. *et al.* Animal models for neonatal brain injury induced by hypoxic ischemic conditions in rodents. **Experimental Neurology**, v. 334, 1 dez. 2020.
- HAN, F.; LILLARD, S. J. In-situ sampling and separation of RNA from individual mammalian cells. **Analytical Chemistry**, v. 72, n. 17, p. 4073–4079, 1 set. 2000.
- HAWKINS, R. A.; WILLIAMSON, D. H.; KREBS, H. A. Ketone-Body Utilization by Adult and Suckling Rat Brain in vivo. **Biochemical Journal**, v. 122, p. 13–18, 1971.
- HERRERA, T. I. *et al.* Outcomes of preterm infants treated with hypothermia for hypoxic-ischemic encephalopathy. **Early Human Development**, v. 125, p. 1–7, 1 out. 2018.
- HERRERA-LÓPEZ, G.; GALVÁN, E. J. Modulation of hippocampal excitability via the hydroxycarboxylic acid receptor 1. **Hippocampus**, v. 28, n. 8, p. 557–567, 2018.
- HERRERO-MENDEZ, A. *et al.* The bioenergetic and antioxidant status of neurons is controlled by continuous degradation of a key glycolytic enzyme by APC/C-Cdh1. **Nature Cell Biology**, v. 11, n. 6, p. 747–752, 2009.
- HILL, C. A. *et al.* Inhibition of X-linked inhibitor of apoptosis with embelin differentially affects male versus female behavioral outcome following neonatal hypoxia-ischemia in rats. **Developmental Neuroscience**, v. 33, n. 6, p. 494–504, mar. 2012.
- HILL, C. A.; FITCH, R. H. Sex differences in mechanisms and outcome of neonatal hypoxia-ischemia in rodent models: Implications for sex-specific neuroprotection in clinical neonatal practice. **Neurology Research International**, v. 2012, p. 1–9, 2012.
- Hippocampal Microcircuits**. [s.l.] Springer New York, 2010.
- HOLLOWAY, P. M.; GAVINS, F. N. E. Modeling Ischemic Stroke in Vitro: Status Quo and Future Perspectives. **Stroke**, v. 47, n. 2, p. 561–569, 1 fev. 2016.
- HOQUE, R. *et al.* Lactate reduces liver and pancreatic injury in toll-like receptor- and inflammasome-mediated inflammation via gpr81-mediated suppression of innate immunity. **Gastroenterology**, v. 146, n. 7, p. 1763–1774, 2014.
- HORN, T.; KLEIN, J. Neuroprotective effects of lactate in brain ischemia: Dependence on anesthetic drugs. **Neurochemistry International**, v. 62, n. 3, p. 251–257, 2013.
- HU, J. *et al.* The roles of GRP81 as a metabolic sensor and inflammatory mediator. **Journal of Cellular Physiology**, v. 235, n. 12, p. 8938–8950, 2020.
- HU, T. R. *et al.* Rapid Communication Involvement of Caspase-3 in Cell Death After Hypoxia-Ischemia Declines During Brain Maturation. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 20, p. 1294–1300, 2000.
- HUANG, C. *et al.* Lactate promotes resistance to glucose starvation via upregulation of Bcl-2 mediated by mTOR activation. **Oncology Reports**, v. 33, n. 2, p. 875–884, 1 dez. 2015.
- HUANG, J. *et al.* Ghrelin attenuates oxidative stress and neuronal apoptosis via GHSR-1 α /AMPK/Sirt1/PGC-1 α /UCP2 pathway in a rat model of neonatal HIE. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 141, p. 322–337, 1 set. 2019.
- HULSHOF, H. J. *et al.* Maternal separation decreases adult hippocampal cell proliferation and impairs cognitive performance but has little effect on stress sensitivity and anxiety in adult Wistar rats. **Behavioural Brain Research**, v. 216, n. 2, p. 552–560, 20 jan. 2011.
- HYACINTHE, J. N. *et al.* Evaluating the potential of hyperpolarised [1-¹³C] L-lactate as a neuroprotectant metabolic biosensor for stroke. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–11, 2020.

- HYDER, F. *et al.* Neuronal-glia glucose oxidation and glutamatergic-GABAergic function. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 26, n. 7, p. 865–877, 2006.
- IKENARI, T. *et al.* Evaluation of Fluoro-Jade C Staining: Specificity and Application to Damaged Immature Neuronal Cells in the Normal and Injured Mouse Brain. **Neuroscience**, v. 425, p. 146–156, 15 jan. 2020.
- IKENARI, T. *et al.* Improvement in Double Staining With Fluoro-Jade C and Fluorescent Immunostaining: FJC Staining Is Not Specific to Degenerating Mature Neurons. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 69, n. 9, p. 597–610, 1 set. 2021.
- ISHIMARU, M. J. *et al.* Distinguishing Excitotoxic From Apoptotic Neurodegeneration in the Developing Rat Brain. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 408, p. 461–476, 1999.
- ITOH, Y. *et al.* Dichloroacetate effects on glucose and lactate oxidation by neurons and astroglia in vitro and on glucose utilization by brain in vivo. **PNAS**, v. 100, n. 8, p. 4879–4884, 2003.
- JAKOBY, P. *et al.* Higher transport and metabolism of glucose in astrocytes compared with neurons: A multiphoton study of hippocampal and cerebellar tissue slices. **Cerebral Cortex**, v. 24, n. 1, p. 222–231, jan. 2014.
- JAWORSKA, J. *et al.* The potential neuroprotective role of a histone deacetylase inhibitor, sodium butyrate, after neonatal hypoxia-ischemia. **Journal of Neuroinflammation**, v. 14, n. 1, 10 fev. 2017.
- JIA, Q. *et al.* Effects of GPR81 silencing combined with cisplatin stimulation on biological function in hypopharyngeal squamous cell carcinoma. **Molecular Medicine Reports**, v. 22, n. 3, p. 1727–1736, 1 set. 2020.
- JIMÉNEZ, J. A.; ZYLKA, M. J. Controlling litter effects to enhance rigor and reproducibility with rodent models of neurodevelopmental disorders. **Journal of Neurodevelopmental Disorders**, v. 13, n. 2, p. 1–9, 1 dez. 2021.
- JIN, R.; YANG, G.; LI, G. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: role of inflammatory cells. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 87, n. 5, p. 779–789, 2010.
- JOHNSTON, M. V. Excitotoxicity in neonatal hypoxia. **Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews**, v. 7, n. 4, p. 229–234, 2001.
- JOHNSTON, M. V. Plasticity and injury in the developing brain. **Brain and Development**, v. 31, n. 1, p. 1–10, jan. 2009.
- JOLY, L. M. *et al.* Caspase Inhibition after Neonatal Ischemia in the Rat Brain. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 24, n. 1, p. 124–131, 2004.
- JOURDAIN, P. *et al.* L-Lactate protects neurons against excitotoxicity: Implication of an ATP-mediated signaling cascade. **Scientific Reports**, v. 6, n. January, p. 1–13, 2016.
- JOURDAIN, P. *et al.* Dual action of L-Lactate on the activity of NR2B-containing NMDA receptors: from potentiation to neuroprotection. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–16, 2018.
- KALE, J.; OSTERLUND, E. J.; ANDREWS, D. W. BCL-2 family proteins: Changing partners in the dance towards death. **Cell Death and Differentiation**, v. 25, n. 1, p. 65–80, 2018.
- KARP, N. A.; REAVEY, N. Sex bias in preclinical research and an exploration of how to change the status quo. **British Journal of Pharmacology**, v. 176, n. 21, p. 4107–4118, 2019.
- KASDORF, E.; PERLMAN, J. M. Hyperthermia, inflammation, and perinatal brain injury. **Pediatric Neurology**, v. 49, n. 1, p. 8–14, jul. 2013.
- KEE, N. J.; PRESTON, E.; WOJTOWICZ, J. M. Enhanced neurogenesis after transient global ischemia in the dentate gyrus of the rat. **Experimental Brain Research**, v. 136, n. 3, p. 313–320, 2001.
- KENNEDY, L. *et al.* Lactate receptor HCAR1 regulates neurogenesis and microglia activation after neonatal hypoxia-ischemia. **eLife**, v. 11, p. 1–21, 2022.

- KESLER, S. R. *et al.* Volumetric analysis of regional cerebral development in preterm children. **Pediatric Neurology**, v. 31, n. 5, p. 318–325, nov. 2004.
- KHAN, A. A. *et al.* The Biochemical and Clinical Perspectives of Lactate Dehydrogenase: An Enzyme of Active Metabolism. **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets**, v. 20, n. 6, p. 855–868, 17 jul. 2020.
- KHILAZHEVA, E. D. *et al.* Activation of GPR81 lactate receptors stimulates mitochondrial biogenesis in cerebral microvessel endothelial cells. **Annals of Clinical and Experimental Neurology**, v. 1, n. 11, p. 34–39, 2017.
- KIERANS, S. J.; TAYLOR, C. T. Regulation of glycolysis by the hypoxia-inducible factor (HIF): implications for cellular physiology. **Journal of Physiology**, v. 599, n. 1, p. 23–37, 1 jan. 2021.
- KIM, E.; CHO, S. CNS and peripheral immunity in cerebral ischemia: partition and interaction. **Experimental Neurology**, v. 335, 1 jan. 2021.
- KIM, J. W. *et al.* HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: A metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. **Cell Metabolism**, v. 3, n. 3, p. 177–185, mar. 2006.
- KIM, R. *et al.* **Role of the unfolded protein response in cell death**Apoptosis, jan. 2006.
- KINNALLY, K. W.; ANTONSSON, B. A tale of two mitochondrial channels, MAC and PTP, in apoptosis. **Apoptosis**, v. 12, n. 5, p. 857–868, maio 2007.
- KOROL, D. L. *et al.* Involvement of Lactate Transport in Two Object Recognition Tasks That Require Either the Hippocampus or Striatum. **Behavioral Neuroscience**, v. 133, n. 2, p. 176–187, 2019.
- KRAJEWSKA, M. *et al.* Dynamics of expression of apoptosis-regulatory proteins Bid, Bcl-2, Bcl-X, Bax and Bak during development of murine nervous system. **Cell Death and Differentiation**, v. 9, n. 2, p. 145–157, 1 nov. 2002.
- KRAUT, J. A.; MADIAS, N. E. Lactic Acidosis. **New England Journal of Medicine**, v. 371, n. 24, p. 2309–2319, 11 dez. 2014.
- KREUTZBERG, G. W. 100 years of Nissl Staining. **Trends in Neuroscience**, v. 7, n. 7, p. 236–237, 1984.
- KRINKE, G. J. *et al.* **Detecting necrotic neurons with Fluoro-Jade stain**Exp Toxic Pathol. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <[http://www.urbanfischer.de/journals/exptoxpath0940-2993/01/53/05-365\\$15.00/0365](http://www.urbanfischer.de/journals/exptoxpath0940-2993/01/53/05-365$15.00/0365)>.
- KUMRAL, A. *et al.* Erythropoietin downregulates bax and DP5 proapoptotic gene expression in neonatal hypoxic-ischemic brain injury. **Biology of the Neonate**, v. 89, n. 3, p. 205–210, abr. 2006.
- KURINCZUK, J. J.; WHITE-KONING, M.; BADAWI, N. **Epidemiology of neonatal encephalopathy and hypoxic-ischaemic encephalopathy**Early Human Development, jun. 2010.
- LAM, M. *et al.* Evidence that BCL-2 represses apoptosis by regulating endoplasmic reticulum-associated Ca²⁺ fluxes (programmed cell death/glucocorticosteroid/mouse lymphoma cell/calcium. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 91, p. 6569–6573, 1994.
- LAMBERTUS, M. *et al.* L-lactate induces neurogenesis in the mouse ventricular-subventricular zone via the lactate receptor HCA1. **Acta Physiologica**, v. 231, n. 3, p. 0–2, 2021.
- LANA, D.; UGOLINI, F.; GIOVANNINI, M. G. An Overview on the Differential Interplay Among Neurons–Astrocytes–Microglia in CA1 and CA3 Hippocampus in Hypoxia/Ischemia. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 14, 11 nov. 2020.

- LANDUCCI, E. *et al.* Neuroprotective effects of topiramate and memantine in combination with hypothermia in hypoxic-ischemic brain injury in vitro and in vivo. **Neuroscience Letters**, v. 668, p. 103–107, 6 mar. 2018.
- LANGEMANN, H. *et al.* Extracellular levels of glucose and lactate measured by quantitative microdialysis in the human brain. **Neurological Research**, v. 23, n. 5, p. 531–536, 2001.
- LAPTOOK, A. R. *et al.* Quantitative Relationship between Brain Temperature and Energy Utilization Rate Measured in Vivo Using ³¹P AND ¹H Magnetic Resonance Spectroscopy. **International Pediatric Research Foundation, Inc.**, v. 38, n. 6, 1995.
- LAROCHE, S. *et al.* Neurovisual Development. **Cells**, v. 10, n. 1640, 2021.
- LAUGHTON, J. D. *et al.* Differential messenger RNA distribution of lactate dehydrogenase LDH-1 and LDH-5 isoforms in the rat brain. **Neuroscience**, v. 96, n. 3, p. 619–625, 2000.
- LAURITZEN, K. H. *et al.* Lactate receptor sites link neurotransmission, neurovascular coupling, and brain energy metabolism. **Cerebral Cortex**, v. 24, n. 10, p. 2784–2795, 2014.
- LAUTERBACH, M. D.; RAZ, S.; SANDER, C. J. Neonatal hypoxic risk in preterm birth infants: The influence of sex and severity of respiratory distress on cognitive recovery. **Neuropsychology**, v. 15, n. 3, p. 411–420, 2001.
- LEE, A. C. C. *et al.* Intrapartum-related neonatal encephalopathy incidence and impairment at regional and global levels for 2010 with trends from 1990. **Pediatric Research**, v. 74, n. SUPPL. 1, p. 50–72, dez. 2013.
- LEE, E.; SON, H. Adult hippocampal neurogenesis and related neurotrophic factors. **BMB reports**, v. 42, n. 5, p. 239–244, 2009.
- LEE, Y. J. *et al.* G-protein-coupled receptor 81 promotes a malignant phenotype in breast cancer through angiogenic factor secretion. **Oncotarget**, v. 7, n. 43, p. 70898–70911, 2016.
- LEINO, R. L.; GERHART, D. Z.; DREWES, L. R. Monocarboxylate transporter MCT1 abundance in brains of suckling and adult rats: a quantitative electron microscopic immunogold study. **Developmental Brain Research**, v. 113, p. 47–54, 1999.
- LEV-VACHNISH, Y. *et al.* L-lactate promotes adult hippocampal neurogenesis. **Frontiers in Neuroscience**, v. 13, p. 1–13, 2019.
- LI, L. *et al.* A Cannabinoid Receptor 2 Agonist Prevents Thrombin-Induced Blood–Brain Barrier Damage via the Inhibition of Microglial Activation and Matrix Metalloproteinase Expression in Rats. **Translational Stroke Research**, v. 6, n. 6, p. 467–477, 1 dez. 2015.
- LI, Y. *et al.* Mild hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE): timing and pattern of MRI brain injury. **Pediatric Research**, v. 92, n. 6, p. 1731–1736, 1 dez. 2022.
- LIN, G. *et al.* Involvement of the Nrf2-Keap1 signaling pathway in protection against thallium-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in primary hippocampal neurons. **Toxicology Letters**, v. 319, p. 66–73, 1 fev. 2020.
- LIU, C. *et al.* Lactate inhibits lipolysis in fat cells through activation of an orphan G-protein-coupled receptor, GPR81. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 5, p. 2811–2822, 2009.
- LIU, C. L.; SIESJÖ, B. K.; HU, B. R. Pathogenesis of hippocampal neuronal death after hypoxia-ischemia changes during brain development. **Neuroscience**, v. 127, n. 1, p. 113–123, 2004.
- LOMBARDO, M. V. *et al.* Fetal testosterone influences sexually dimorphic gray matter in the human brain. **Journal of Neuroscience**, v. 32, n. 2, p. 674–680, 11 jan. 2012.
- LONGHITANO, L. *et al.* The Crosstalk between GPR81/IGFBP6 Promotes Breast Cancer Progression by Modulating Lactate Metabolism and Oxidative Stress. **Antioxidants**, v. 11, n. 2, 1 fev. 2022.

- LOREK, A. *et al.* Delayed (“Secondary”) Cerebral Energy Failure after Acute Hypoxia-Ischemia in the Newborn Piglet: Continuous 48-Hour Studies by Phosphorus Magnetic Resonance Spectroscopy. **Pediatric Research**, v. 36, n. 6, p. 699–706, 1994.
- LOVATT, D. *et al.* The transcriptome and metabolic gene signature of protoplasmic astrocytes in the adult murine cortex. **Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 45, p. 12255–12266, 7 nov. 2007.
- LYU, H. *et al.* A new Hypoxic Ischemic Encephalopathy model in neonatal rats. **Heliyon**, v. 7, n. 12, 1 dez. 2021.
- MA, K. *et al.* Lactate enhances Arc/arg3.1 expression through hydroxycarboxylic acid receptor 1- β -arrestin2 pathway in astrocytes. **Neuropharmacology**, v. 171, n. March, p. 108084, 2020.
- MADAAN, A. *et al.* Lactate produced during labor modulates uterine inflammation via GPR81 (HCA1). **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 216, n. 1, p. 60.e1-60.e17, 2017.
- MADAAN A. *et al.* Müller Cell-Localized G-Protein-Coupled Receptor 81 (Hydroxycarboxylic Acid Receptor 1) Regulates Inner Retinal Vasculature via Norrin/Wnt Pathways. **American Journal of Pathology**, v. 189, n. 9, p. 1878–1896, 2019.
- MADSEN, P. L. *et al.* Cerebral Oxygen/Glucose Ratio is Low During Sensory Stimulation and Rises Above Normal During Recovery: Excess Glucose Consumption During Stimulation Is Not Accounted for by Lactate Efflux From or Accumulation in Brain Tissue. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 19, p. 393–400, 1999.
- MAGISTRETTI, P. J.; ALLAMAN, I. Lactate in the brain: From metabolic end-product to signalling molecule. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 19, n. 4, p. 235–249, 2018.
- MAKER, H. S. *et al.* Changes in LDH isoenzymes of brain developing in situ and in vitro. **Brain Research**, v. 44, p. 189–196, 1972.
- MARLOW, N. *et al.* Neuropsychological and educational problems at school age associated with neonatal encephalopathy. **Archives of Disease in Childhood: Fetal and Neonatal Edition**, v. 90, n. 5, set. 2005.
- MARTINEZ-BIARGE, M. *et al.* Antepartum and intrapartum factors preceding neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. **Pediatrics**, v. 132, n. 4, out. 2013.
- MARTINO, J.-C. *et al.* Overexpression of BCL-2 in Transgenic Mice Protects Neurons from Naturally Occurring Cell Death and Experimental Ischemia. **Neuron**, v. 13, p. 1017–1030, 1994.
- MARTIN-REQUERO, A.; AYUSO, M. S.; PARRILLAS, R. Rate-limiting Steps for Hepatic Gluconeogenesis. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 261, n. 30, p. 13973–13978, 1986.
- MAYORAL, S. R.; OMAR, G.; PENN, A. A. Sex differences in a hypoxia model of preterm brain damage. **Pediatric Research**, v. 66, n. 3, p. 248–253, set. 2009.
- MCCULLOUGH, L. D. *et al.* NIH initiative to balance sex of animals in preclinical studies: Generative questions to guide policy, implementation, and metrics. **Biology of Sex Differences**, v. 5, n. 1, 1 out. 2014.
- MCDONALD, J. W.; JOHNSTON, M. V. Physiological and pathophysiological roles of excitatory amino acids during central nervous system development. **Brain Research Reviews**, v. 15, p. 41–70, 1990.
- MCKENNA, M. C.; HOPKINS, I. B.; CAREY, A. Cyano-4-Hydroxycinnamate Decreases Both Glucose and Lactate Metabolism in Neurons and Astrocytes: Implications for Lactate as an Energy Substrate for Neurons. **Journal of Neuroscience Research**, v. 66, p. 747–754, 2001.

- MEDINA, J. M. The Role of Lactate as an Energy Substrate for the Brain during the Early Neonatal Period. **Biology of the Neonate**, v. 48, p. 237–244, 1985.
- MELENA, J. *et al.* The monocarboxylate transport inhibitor, α -cyano-4-hydroxycinnamate, has no effect on retinal ischemia. **Brain Research**, v. 989, n. 1, p. 128–134, 2003.
- MERRY, D. E. *et al.* bcl-2 protein expression is widespread in the developing nervous system and retained in the adult PNS. **Development**, v. 120, p. 301–311, 1994.
- MICHAELIDIS, T. M.; SENDTNER, M.; COOPER, J. D. Inactivation of bcl-2 Results in Progressive Degeneration of Motoneurons, Sympathetic and Sensory Neurons during Early Postnatal Development. **Neuron**, v. 17, p. 75–89, 1996.
- MILLER, A. L.; KINEY, C. A.; STATON, D. M. Effects of Lactate on Glucose Metabolism of Developing Rat Brain. **Developmental Brain Research**, v. 14, p. 33–40, 1984.
- MIN, J. W. *et al.* Vitexin reduces hypoxia-ischemia neonatal brain injury by the inhibition of HIF-1 α in a rat pup model. **Neuropharmacology**, v. 99, p. 38–50, 1 ago. 2015.
- MIRZA, M. A. *et al.* Sexually dimorphic outcomes and inflammatory responses in hypoxic-ischemic encephalopathy. **Journal of Neuroinflammation**, v. 12, n. 1, 12 dez. 2015.
- MITANI, A. *et al.* Origin of intracellular Ca²⁺ elevation induced by in vitro ischemia-like condition in hippocampal slices. **Brain Research**, v. 601, p. 103–110, 1993.
- MOREIRA, T. J. T. P. *et al.* Enhanced cerebral expression of MCT1 and MCT2 in a rat ischemia model occurs in activated microglial cells. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 29, n. 7, p. 1273–1283, 2009.
- MORLAND, C. *et al.* Exercise induces cerebral VEGF and angiogenesis via the lactate receptor HCAR1. **Nature Communications**, v. 8, n. 7491, p. 1–9, 2017.
- MÜLLER, M. M. *et al.* 17 β -estradiol protects 7-day old rats from acute brain injury and reduces the number of apoptotic cells. **Reproductive Sciences**, v. 20, n. 3, p. 253–261, mar. 2013.
- NALIN, A. *et al.* State of the art of magnetic resonance (MR) in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. **Child's Nervous System**, v. 5, p. 350–355, 1989.
- NARAYANAMURTHY, R. *et al.* Drug delivery platforms for neonatal brain injury. **Journal of Controlled Release**, v. 330, p. 765–787, 10 fev. 2021.
- NELSON, K. B. *et al.* Antecedents of neonatal encephalopathy in the Vermont Oxford Network Encephalopathy Registry. **Pediatrics**, v. 130, n. 5, p. 878–886, 2012.
- NETTO, C. A. *et al.* Sex-dependent consequences of neonatal brain hypoxia-ischemia in the rat. **Journal of Neuroscience Research**, v. 95, n. 1–2, p. 409–421, 2017.
- NEWMAN, L. A.; KOROL, D. L.; GOLD, P. E. Lactate produced by glycogenolysis in astrocytes regulates memory processing. **PLoS ONE**, v. 6, n. 12, 13 dez. 2011.
- NI, J. *et al.* Cathepsin H deficiency decreases hypoxia-ischemia-induced hippocampal atrophy in neonatal mice through attenuated TLR3/IFN- β signaling. **Journal of Neuroinflammation**, v. 18, n. 1, 1 dez. 2021.
- NORTHINGTON, F. J.; CHAVEZ-VALDEZ, R.; MARTIN, L. J. Neuronal cell death in neonatal hypoxia-ischemia. **Annals of Neurology**, v. 69, n. 5, p. 743–758, maio 2011.
- NUNES, R. R. **EFEITO DA HIPOTERMIA TERAPÊUTICA SOBRE PARÂMETROS DO DESENVOLVIMENTO E COMPORTAMENTAIS E A IMUNIDADE PERIFÉRICA EM RATOS SUBMETIDOS AO MODELO DE HIPÓXIA-ISQUEMIA ENCEFÁLICA NEONATAL.** 2021
- NUÑEZ, J. *et al.* 17 β -Estradiol protects the neonatal brain from hypoxia-ischemia. **Experimental Neurology**, v. 208, n. 2, p. 269–276, dez. 2007.
- ODORCYK, F. K. *et al.* Experimental neonatal hypoxia ischemia causes long lasting changes of oxidative stress parameters in the hippocampus and the spleen. **Journal of Perinatal Medicine**, v. 46, n. 4, p. 433–439, 2018.

- ODORCYK, F. K. *et al.* Differential glucose and beta-hydroxybutyrate metabolism confers an intrinsic neuroprotection to the immature brain in a rat model of neonatal hypoxia ischemia. **Experimental Neurology**, v. 330, 1 ago. 2020.
- ODORCYK, F. K. *et al.* Differential Age-Dependent Mitochondrial Dysfunction, Oxidative Stress, and Apoptosis Induced by Neonatal Hypoxia-Ischemia in the Immature Rat Brain. **Molecular Neurobiology**, v. 58, p. 2297–2308, 2021.
- OKOSHI, Y.; ITOH, M.; TAKASHIMA, S. Characteristic neuropathology and plasticity in periventricular leukomalacia. **Pediatric Neurology**, v. 25, p. 221–226, 2001.
- OLDENDORF, H. Carrier-mediated barrier organic transport acids of monocarboxylic. **American Journal Of Physiology**, n. 6, p. 12–15, 1973.
- OZAYDIN, B. *et al.* Novel Injury Scoring Tool for Assessing Brain Injury following Neonatal Hypoxia-Ischemia in Mice. **Developmental Neuroscience**, v. 44, n. 4–5, p. 394–411, 1 set. 2022.
- PAN, R. *et al.* Sodium pyruvate reduces hypoxic-ischemic injury to neonatal rat brain. **Pediatric Research**, v. 72, n. 5, p. 479–489, nov. 2012.
- PAN, S. *et al.* Resveratrol post-treatment protects against neonatal brain injury after hypoxia-ischemia. **Oncotarget**, v. 7, n. 48, p. 79247–79261, 2016.
- PARK, W. S. *et al.* Hypothermia augments neuroprotective activity of mesenchymal stem cells for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, 27 mar. 2015.
- PATEL, A. R. *et al.* Microglia and ischemic stroke: A double-edged sword. **International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology**, v. 5, n. 2, p. 73–90, 2013.
- PAULIAH, S. S. *et al.* Therapeutic Hypothermia for Neonatal Encephalopathy in Low- and Middle-Income Countries: A Systematic Review and Meta-Analysis. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, 19 mar. 2013.
- PELLERIN, L. *et al.* Expression of monocarboxylate transporter mRNAs in mouse brain: Support for a distinct role of lactate as an energy substrate for the neonatal vs. adult brain. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 7, p. 3990–3995, 1998.
- PELLERIN, L.; MAGISTRETTI, P. J. Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: A mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 91, n. 22, p. 10625–10629, 1994.
- PELLERIN, L.; MAGISTRETTI, P. J. Sweet sixteen for ANLS. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 32, n. 7, p. 1152–1166, jul. 2012.
- PEREIRA, L. O. *et al.* Early enriched housing results in partial recovery of memory deficits in female, but not in male, rats after neonatal hypoxia-ischemia. **Brain Research**, v. 1218, p. 257–266, 7 jul. 2008.
- PHILLIS, J. W.; O'REGAN, M. H. Evidence for swelling-induced adenosine and adenine nucleotide release in rat cerebral cortex exposed to monocarboxylate-containing or hypotonic artificial cerebrospinal fluids. **Neurochemistry International**, v. 40, p. 629–635, 2002.
- PUKA-SUNDEVALL, M. *et al.* Brain injury after hypoxia-ischemia in newborn rats: relationship to extracellular levels of excitatory amino acids and cysteine. **Brain Research**, v. 750, p. 325–328, 1997.
- QUIRKE, F. A. *et al.* COHESION: core outcomes in neonatal encephalopathy (protocol). **Trials**, v. 22, n. 1, 1 dez. 2021.

- RAJU, T. N. K. *et al.* Optimizing Care and Outcome for Late-Preterm (Near-Term) Infants: A Summary of the Workshop Sponsored by the National Institute of Child Health and Human Development. **Pediatrics**, v. 118, n. 3, p. 1207–1214, 1 set. 2006.
- RAKHADE, S. N.; JENSEN, F. E. Epileptogenesis in the immature brain: Emerging mechanisms. **Nature Reviews Neurology**, v. 5, n. 7, p. 380–391, jul. 2009.
- RANGANATHAN, P. *et al.* GPR81, a Cell-Surface Receptor for Lactate, Regulates Intestinal Homeostasis and Protects Mice from Experimental Colitis. **The Journal of Immunology**, p. ji1700604, 2018.
- RAZ, S. *et al.* Extreme prematurity and neuropsychological outcome in the preschool years. **Journal of the International Neuropsychological Society**, v. 16, n. 1, p. 169–179, 2010.
- REES, S.; HARDING, R.; WALKER, D. The biological basis of injury and neuroprotection in the fetal and neonatal brain. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 29, n. 6, p. 551–563, 2011.
- RENOLLEAU, S. *et al.* Specific caspase inhibitor Q-VD-OPh prevents neonatal stroke in P7 rat: A role for gender. **Journal of Neurochemistry**, v. 100, n. 4, p. 1062–1071, fev. 2007.
- RENOLLEAU, S.; FAU, S.; CHARRIAUT-MARLANGUE, C. Gender-related differences in apoptotic pathways after neonatal cerebral ischemia. **Neuroscientist**, v. 14, n. 1, p. 46–52, fev. 2008.
- RICE, A. C. *et al.* Lactate administration attenuates cognitive deficits following traumatic brain injury. **Brain Research**, v. 928, n. 1–2, p. 156–159, 2002.
- RICE, J. E.; VANNUCCI, R. C.; BRIERLEY, J. B. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat. **Annals of Neurology**, v. 9, n. 2, p. 131–141, 1981.
- RINHOLM, J. E. *et al.* Regulation of oligodendrocyte development and myelination by glucose and lactate. **Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 2, p. 538–548, 12 jan. 2011.
- ROEHR, C. C. *et al.* The 2010 guidelines on neonatal resuscitation (AHA, ERC, ILCOR): Similarities and differences what progress has been made since 2005? **Klinische Padiatrie**, v. 223, n. 5, p. 299–307, 2011.
- ROLAND, C. L. *et al.* Cell surface lactate receptor GPR81 is crucial for cancer cell survival. **Cancer Research**, v. 74, n. 18, p. 5301–5310, 2015.
- ROS, J. *et al.* Lactate reduces glutamate-induced neurotoxicity in rat cortex. **Journal of Neuroscience Research**, v. 66, n. 5, p. 790–794, 2001.
- ROSAFIO, K.; PELLERIN, L. Oxygen tension controls the expression of the monocarboxylate transporter MCT4 in cultured mouse cortical astrocytes via a hypoxia-inducible factor-1 α -mediated transcriptional regulation. **GLIA**, v. 62, n. 3, p. 477–490, mar. 2014.
- ROTH, S. C. *et al.* Relation of deranged neonatal cerebral oxidative metabolism with neurodevelopmental outcome and head circumference at 4 years. **Developmental Medicine and Child Neurology**, v. 39, n. 11, p. 718–725, 1997.
- ROUMES, H. *et al.* Neuroprotective role of lactate in rat neonatal hypoxia-ischemia. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 41, n. 2, p. 342–358, 1 fev. 2021.
- ROUMES, H. *et al.* Resveratrol and Some of Its Derivatives as Promising Prophylactic Treatments for Neonatal Hypoxia-Ischemia. **Nutrients**, v. 14, n. 8, p. 3793, 1 set. 2022.
- ROZANCE, P. J.; WOLFSDORF, J. I. **Hypoglycemia in the Newborn Pediatric Clinics of North America** W.B. Saunders, 1 abr. 2019.
- RUSS, J. B.; SIMMONS, R.; GLASS, H. C. Neonatal Encephalopathy: Beyond Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. **NeoReviews**, v. 22, n. 3, p. e148–e162, 1 mar. 2021.
- SABIR, H. *et al.* Immediate hypothermia is not neuroprotective after severe hypoxia-ischemia and is deleterious when delayed by 12 hours in neonatal rats. **Stroke**, v. 43, n. 12, p. 3364–3370, dez. 2012.

- SANCHES, E. F. *et al.* Early hypoxia-ischemia causes hemisphere and sex-dependent cognitive impairment and histological damage. **Neuroscience**, v. 237, p. 208–215, 1 maio 2013.
- SANCHES, E. F. *et al.* Sexual dimorphism and brain lateralization impact behavioral and histological outcomes following hypoxia-ischemia in P3 and P7 rats. **Neuroscience**, v. 290, p. 581–593, 2 abr. 2015.
- SANTAGOSTINO, S. F.; SPINAZZI, M.; RADAELLI, E. Restricted Sensitivity of FJ-C Staining to Assess Neuronal Degeneration and Death in Preclinical Mouse Studies. **Veterinary Pathology**, v. 58, n. 4, p. 643–649, 1 jul. 2021.
- SAUGSTAD, O. D. Mechanisms of tissue injury by oxygen radicals: implications for neonatal disease. **Acta Paediatrica**, v. 85, n. 4, 1996.
- SAW, C. L. *et al.* Current Practice of Therapeutic Hypothermia for Mild Hypoxic Ischemic Encephalopathy. **Journal of Child Neurology**, v. 34, n. 7, p. 402–409, 1 jun. 2019.
- SCHMIDT, I. *et al.* Diurnal Cycle of Core Temperature in Huddling, Week-Old Rat Pups. **Physiology & Behavior**, v. 37, p. 105–109, 1986.
- SCHMIDT-KASTNER, R. Genomic approach to selective vulnerability of the hippocampus in brain ischemia-hypoxia. **Neuroscience**, v. 309, p. 259–279, 19 nov. 2015.
- SCHMIDT-KASTNER, R.; FREUND, T. F. Selective vulnerability of the hippocampus in brain ischemia. **Neuroscience**, v. 40, n. 3, 1991.
- SCHMUED, L. C. *et al.* Fluoro-Jade C results in ultra high resolution and contrast labeling of degenerating neurons. **Brain Research**, v. 1035, n. 1, p. 24–31, 21 fev. 2005.
- SCHMUED, L. C.; ALBERTSON, C.; SLIKKER, W. Fluoro-Jade: a novel fluorochrome for the sensitive and reliable histochemical localization of neuronal degeneration. **Brain Research**, v. 751, p. 37–46, 1997.
- SCHMUED, L. C.; HOPKINS, K. J. Fluoro-Jade: Novel fluorochromes for detecting toxicant-induced neuronal degeneration. **Toxicologic Pathology**, v. 28, n. 1, p. 91–99, 2000.
- SCHULTES, B. *et al.* Lactate infusion during euglycemia but not hypoglycemia reduces subsequent food intake in healthy men. **Appetite**, v. 58, n. 3, p. 818–821, jun. 2012.
- SCHURR, A. *et al.* An increase in lactate output by brain tissue serves to meet the energy needs of glutamate-activated neurons. **Journal of Neuroscience**, v. 19, n. 1, p. 34–39, 1999.
- SCHURR, A. *et al.* Blockade of lactate transport exacerbates delayed neuronal damage in a rat model of cerebral ischemia. **Brain Research**, v. 895, p. 268–272, 2001.
- SCHURR, A.; PAYNE, R. S. Lactate, not pyruvate, is neuronal aerobic glycolysis end product: An in vitro electrophysiological study. **Neuroscience**, v. 147, n. 3, p. 613–619, 13 jul. 2007.
- SEGOVIA, K. N. *et al.* Arrested oligodendrocyte lineage maturation in chronic perinatal white matter injury. **Annals of Neurology**, v. 63, n. 4, p. 520–530, abr. 2008.
- SEMENZA, G. L. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. **Cell**, v. 148, n. 3, p. 399–408, 3 fev. 2012.
- SEMPLE, B. D. *et al.* Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. **Progress in Neurobiology**, v. 106–107, p. 1–16, jul. 2013.
- SENGUPTA, S. *et al.* Adverse neonatal outcomes associated with early-term birth. **JAMA Pediatrics**, v. 167, n. 11, p. 1053–1059, 2013.
- SERRES, S. *et al.* Ex vivo NMR study of lactate metabolism in rat brain under various depressed states. **Journal of Neuroscience Research**, v. 79, n. 1–2, p. 19–25, 15 jan. 2005.
- SHAH, P. *et al.* Multiorgan dysfunction in infants with post-asphyxial hypoxic-ischaemic encephalopathy. **Archives of Disease in Childhood: Fetal and Neonatal Edition**, v. 89, n. 2, 2004.

- SHALAK, L.; PERLMAN, J. M. Hypoxic-ischemic brain injury in the term infant-current concepts. **Early Human Development**, v. 80, n. 2, p. 125–141, 2004.
- SHANKARAN, S. *et al.* Whole-Body Hypothermia for Neonates with Hypoxic–Ischemic Encephalopathy. **New England Journal of Medicine**, v. 353, n. 15, p. 1574–1584, 2005.
- SHANKARAN, S. *et al.* Eunice Kennedy Shriver NICHD Neonatal Research Network: Childhood outcomes after hypothermia for neonatal encephalopathy. **N Engl J Med**, v. 366, p. 2085–2092, 2012.
- SHELDON, R. A.; SEDIK, C.; FERRIERO, D. M. Strain-related brain injury in neonatal mice subjected to hypoxia-ischemia. **Brain Research**, v. 810, p. 114–122, 1998.
- SHELINE, C. T.; CHOI, D. W. Neuronal Death in Cultured Murine Cortical Cells Is Induced by Inhibition of GAPDH and Triosephosphate Isomerase. **Neurobiology of Disease**, v. 5, p. 47–54, 1998.
- SHI, R. *et al.* Excessive Autophagy Contributes to Neuron Death in Cerebral Ischemia. **CNS Neuroscience and Therapeutics**, v. 18, n. 3, p. 250–260, mar. 2012.
- SHI, X. *et al.* Sestrin2 induced by hypoxia inducible factor1 alpha protects the blood-brain barrier via inhibiting VEGF after severe hypoxic-ischemic injury in neonatal rats. **Neurobiology of Disease**, v. 95, p. 111–121, 1 nov. 2016.
- SHIMAZAKI, K.; ISHIDA, A.; KAWAI, N. Increase in bcl-2 oncoprotein and the tolerance to ischemia-induced neuronal death in the gerbil hippocampus. **Neuroscience Research**, v. 20, p. 95–99, 1994.
- SIE, L. T. *et al.* MR of Perinatal Hypoxic-Ischemic Brain Damage After Prenatal, Perinatal or Postnatal Asphyxia. **Neuropediatrics**, v. 31, p. 128–136, 2000.
- SIESJÖ, B. K. Brain Energy Metabolism. **Annals of Neurology**, v. 3, n. 5, p. 470–470, 1978.
- SIESJO, B. K. Cell Damage in the Brain: A Speculative Synthesis. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 1, n. 2, p. 155–185, 1981.
- SIMPSON, I. A.; CARRUTHERS, A.; VANNUCCI, S. J. Supply and demand in cerebral energy metabolism: The role of nutrient transporters. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 27, n. 11, p. 1766–1791, 2007.
- SPIES, F. F. ASSOCIAÇÃO ENTRE HIPOTERMIA TERAPÊUTICA E MEMANTINA COMO ESTRATÉGIA NEUROPROTETORA PARA O TRATAMENTO DA HIPÓXIA-ISQUEMIA ENCEFÁLICA NEONATAL. [s.l.: s.n.].
- SUN, G. *et al.* Nrf2 loss of function exacerbates endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in TBI mice. **Neuroscience Letters**, v. 770, 23 jan. 2022.
- SUN, H. S. *et al.* Neuronal KATP channels mediate hypoxic preconditioning and reduce subsequent neonatal hypoxic-ischemic brain injury. **Experimental Neurology**, v. 263, p. 161–171, 2015.
- SUN, Z. *et al.* Activation of GPR81 by lactate inhibits oscillatory shear stress-induced endothelial inflammation by activating the expression of KLF2. **IUBMB Life**, v. 71, n. 12, p. 2010–2019, 1 dez. 2019.
- SUTHERLAND, B. A. *et al.* Neuroprotective effects of (-)-epigallocatechin gallate after hypoxia-ischemia-induced brain damage: novel mechanisms of action. **FASEB Journal**, v. 22, n. 1, p. 1–22, 2004.
- SUZUKI, A. *et al.* Astrocyte-neuron lactate transport is required for long-term memory formation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 810–823, 2011.
- TAJADINI, M.; PANJEHPOUR, M.; JAVANMARD, S. Comparison of SYBR Green and TaqMan methods in quantitative real-time polymerase chain reaction analysis of four adenosine receptor subtypes. **Advanced Biomedical Research**, v. 3, n. 1, p. 85, 2014.

- TANG, F. *et al.* Lactate-mediated glia-neuronal signalling in the mammalian brain. **Nature Communications**, v. 5, 11 fev. 2014.
- TANIGUCHI, H.; ANDREASSON, K. The hypoxic ischemic encephalopathy model of perinatal ischemia. **Journal of Visualized Experiments**, n. 21, 2008.
- TASSINARI, I. D. Á. *et al.* Lactate Administration Reduces Brain Injury and Ameliorates Behavioral Outcomes Following Neonatal Hypoxia–Ischemia. **Neuroscience**, v. 448, p. 191–205, 2020.
- TAUFFENBERGER, A. *et al.* Lactate and pyruvate promote oxidative stress resistance through hormetic ROS signaling. **Cell Death and Disease**, v. 10, n. 9, 1 set. 2019.
- THORESEN, M. Combining two good treatments makes it worse. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 71, p. 7–8, 1 jul. 2018.
- TIAN, S. F. *et al.* Mechanisms of neuroprotection from hypoxia-ischemia (HI) brain injury by up-regulation of cytoglobin (CYGB) in a neonatal rat model. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 22, p. 15988–16003, 31 maio 2013.
- TKÁČ, I. *et al.* Developmental and regional changes in the neurochemical profile of the rat brain determined by in vivo 1H NMR spectroscopy. **Magnetic Resonance in Medicine**, v. 50, n. 1, p. 24–32, 1 jul. 2003.
- TOWFIGHI, J. *et al.* Influence of age on the cerebral lesions in an immature rat model of cerebral hypoxia-ischemia: a light microscopic study. **Developmental Brain Research**, v. 100, p. 1997–149, 1997.
- TREMBLAY, EVELYNE *et al.* Transient increased density of NMDA binding sites in the developing rat hippocampus. **Brain Research**, v. 461, p. 393–396, 1988.
- TSUJI, M. *et al.* Sex differences in the benefits of rehabilitative training during adolescence following neonatal hypoxia-ischemia in rats. **Experimental Neurology**, v. 226, n. 2, p. 285–292, dez. 2010.
- ULLAH, M. S.; DAVIES, A. J.; HALESTRAP, A. P. The plasma membrane lactate transporter MCT4, but not MCT1, is up-regulated by hypoxia through a HIF-1 α -dependent mechanism. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 14, p. 9030–9037, 7 abr. 2006.
- URBAŃSKA, K.; ORZECZOWSKI, A. Unappreciated role of LDHA and LDHB to control apoptosis and autophagy in tumor cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 9, 1 maio 2019.
- VANNUCCI, R. C. *et al.* Measuring the Accentuation of the Brain Damage That Arises from Perinatal Cerebral Hypoxia-Ischemia. **Biology of the Neonate**, v. 72, p. 187–191, 1997.
- VANNUCCI, R. C. *et al.* Rat model of perinatal hypoxic-ischemic brain damage. **Journal of Neuroscience Research**, v. 55, n. 2, p. 158–163, 1999.
- VANNUCCI, R. C.; YAGER, J. Y. Glucose, Lactic Acid, and Perinatal Hypoxic-ischemic Brain Damage. **Pediatric Neurology**, v. 8, p. 3–12, 1992.
- VANNUCCI, S. J. Developmental Expression of GLUT 1 and GLUT3 Glucose Transporters in Rat Brain. **Journal of Neurochemistry**, v. 62, n. 1, p. 240–246, 1994.
- VANNUCCI, S. J.; HAGBERG, H. Hypoxia-ischemia in the immature brain. **Journal of Experimental Biology**, v. 207, n. 18, p. 3149–3154, 2004.
- VANNUCCI, S. J.; SIMPSON, I. A. Developmental switch in brain nutrient transporter expression in the rat. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 285, p. 1127–1134, 2003.
- VERGARA, R. C. *et al.* The Energy Homeostasis Principle: Neuronal Energy Regulation Drives Local Network Dynamics Generating Behavior. **Frontiers in Computational Neuroscience**, v. 13, 23 jul. 2019.
- VOHRA, R. *et al.* Dual properties of lactate in müller cells: The effect of GPR81 activation. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 60, n. 4, p. 999–1008, 2019.

- VOHRA, R.; KOLKO, M. Neuroprotection of the inner retina: Muller cells and lactate. **Neural Regeneration Research**, v. 13, n. 10, p. 1741–1742, 2018.
- VOLPE, J. **Volpe's Neurology of the Newborn 6th Edition**. [s.l.: s.n.]. v. 6
- VOLPE, J. J. Neonatal encephalopathy: An inadequate term for hypoxic-ischemic encephalopathy. **Annals of Neurology**, v. 72, n. 2, p. 156–166, ago. 2012.
- VRIES, L. S. DE; COWAN, F. M. Evolving Understanding of Hypoxic-Ischemic Encephalopathy in the Term Infant. **Seminars in Pediatric Neurology**, v. 16, n. 4, p. 216–225, dez. 2009.
- WADDELL, J. *et al.* Sex differences in cell genesis, hippocampal volume and behavioral outcomes in a rat model of neonatal HI. **Experimental Neurology**, v. 275, p. 285–295, 1 jan. 2016.
- WALLENIUS, K. *et al.* Involvement of the metabolic sensor GPR81 in cardiovascular control. **JCI Insight**, v. 2, n. 19, 2017.
- WANG, C. P. *et al.* Isoquercetin Ameliorates Cerebral Impairment in Focal Ischemia Through Anti-Oxidative, Anti-Inflammatory, and Anti-Apoptotic Effects in Primary Culture of Rat Hippocampal Neurons and Hippocampal CA1 Region of Rats. **Molecular Neurobiology**, v. 54, n. 3, p. 2126–2142, 1 abr. 2017.
- WARNER, D. S.; SHENG, H.; BATINIĆ-HABERLE, I. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. **Journal of Experimental Biology**, v. 207, n. 18, p. 3221–3231, ago. 2004.
- WASSINK, G. *et al.* The mechanisms and treatment of asphyxial encephalopathy. **Frontiers in Neuroscience**, v. 8, 2014.
- WEIS, S. N. *et al.* Early biochemical effects after unilateral hypoxia-ischemia in the immature rat brain. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 29, n. 2, p. 115–120, abr. 2011.
- WEIS, S. N. *et al.* Neonatal hypoxia-ischemia induces sex-related changes in rat brain mitochondria. **Mitochondrion**, v. 12, n. 2, p. 271–279, mar. 2012.
- WINIKOFF, S. E. *et al.* Cytolytic Assays. *Em*: **Measuring Immunity**. v. 29, p. 343–349, 2005
- WOOD, T. *et al.* Treatment temperature and insult severity influence the neuroprotective effects of therapeutic hypothermia. **Scientific Reports**, v. 6, 21 mar. 2016.
- WOOD, T. *et al.* Rectal temperature in the first five hours after hypoxia-ischemia critically affects neuropathological outcomes in neonatal rats. **Pediatric Research**, v. 83, n. 2, p. 536–544, 1 fev. 2018.
- WOOD, T. R. *et al.* Variability and sex-dependence of hypothermic neuroprotection in a rat model of neonatal hypoxic–ischaemic brain injury: a single laboratory meta-analysis. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–13, 2020.
- WU, Y. W.; GONZALEZ, F. F. Erythropoietin: A novel therapy for hypoxic-ischaemic encephalopathy? **Developmental Medicine and Child Neurology**, v. 57, n. S3, p. 34–39, 1 abr. 2015.
- WYSS, M. T. *et al.* In Vivo evidence for lactate as a neuronal energy source. **Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 20, p. 7477–7485, 2011.
- YANG, J. *et al.* Lactate promotes plasticity gene expression by potentiating NMDA signaling in neurons. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 33, p. 12228–12233, 2014.
- YANG, S. N.; LAI, M. C. Perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2011, 2011.
- YANG, Y. *et al.* Different effects of LDH-A inhibition by oxamate in non-small cell lung cancer cells. **Oncotarget**, v. 5, n. 23, p. 11886–11896, 2014.

- YILDIZ, E. P.; EKICI, B.; TATLI, B. Neonatal hypoxic ischemic encephalopathy: an update on disease pathogenesis and treatment. **Expert Review of Neurotherapeutics**, v. 17, n. 5, p. 449–459, 4 maio 2017.
- ZANG, J. *et al.* Short-term effects of therapeutic hypothermia following hypoxia–ischemia in neonatal male and female rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 83, n. 2, p. 165–177, 1 abr. 2023.
- ZHANG, Y. *et al.* An RNA-sequencing transcriptome and splicing database of glia, neurons, and vascular cells of the cerebral cortex. **Journal of Neuroscience**, v. 34, n. 36, p. 11929–11947, 3 set. 2014.
- ZHAO, P. *et al.* Oxymatrine attenuated hypoxic-ischemic brain damage in neonatal rats via improving antioxidant enzyme activities and inhibiting cell death. **Neurochemistry International**, v. 89, p. 17–27, 1 out. 2015.
- ZHENG, Y. *et al.* Chlorogenic acid exerts neuroprotective effect against hypoxia-ischemia brain injury in neonatal rats by activating Sirt1 to regulate the Nrf2-NF- κ B signaling pathway. **Cell Communication and Signaling**, v. 20, n. 1, 1 dez. 2022.
- ZHENG, Y.; WANG, X. M. Expression changes in lactate and glucose metabolism and associated transporters in basal ganglia following hypoxic-ischemic reperfusion injury in piglets. **American Journal of Neuroradiology**, v. 39, n. 3, p. 569–576, 1 mar. 2018.
- ZHOU, JING *et al.* Lactate potentiates angiogenesis and neurogenesis in experimental intracerebral hemorrhage. **Experimental and Molecular Medicine**, v. 50, n. 7, 2018.
- ZHOU, K. Q. *et al.* Combination treatments with therapeutic hypothermia for hypoxic-ischemic neuroprotection. **Developmental Medicine and Child Neurology**, v. 62, n. 10, p. 1131–1137, 1 out. 2020.
- ZHU, C. *et al.* Involvement of apoptosis-inducing factor in neuronal death after hypoxia-ischemia in the neonatal rat brain. **Journal of Neurochemistry**, v. 86, n. 2, p. 306–317, jul. 2003.
- ZHU, C. *et al.* The influence of age on apoptotic and other mechanisms of cell death after cerebral hypoxia-ischemia. **Cell Death and Differentiation**, v. 12, n. 2, p. 162–176, 2005.
- ZHU, C. *et al.* Different apoptotic mechanisms are activated in male and female brains after neonatal hypoxia-ischaemia. **Journal of Neurochemistry**, v. 96, n. 4, p. 1016–1027, 2006.
- ZHU, M. *et al.* Hyperbaric oxygen suppresses hypoxic-ischemic brain damage in newborn rats. **Journal of Child Neurology**, v. 30, n. 1, p. 75–82, 1 jan. 2015.
- ZHU, X. Y. *et al.* Neuroprotective actions of taurine on hypoxic-ischemic brain damage in neonatal rats. **Brain Research Bulletin**, v. 124, p. 295–305, 1 jun. 2016.
- ZIEMKA-NALECZ, M. *et al.* Sodium Butyrate, a Histone Deacetylase Inhibitor, Exhibits Neuroprotective/Neurogenic Effects in a Rat Model of Neonatal Hypoxia-Ischemia. **Molecular Neurobiology**, v. 54, n. 7, p. 5300–5318, 1 set. 2017.
- ZIEMKA-NALECZ, M.; JAWORSKA, J.; ZALEWSKA, T. Insights into the neuroinflammatory responses after neonatal hypoxia-ischemia. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, v. 76, n. 8, p. 644–654, 1 ago. 2017.
- ZILLE, M. *et al.* Visualizing cell death in experimental focal cerebral ischemia: Promises, problems, and perspectives. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 32, n. 2, p. 213–231, fev. 2012.