

醋酸钠对氧糖剥夺损伤后PC12的影响

张雅瑞¹, 侯庆明^{1,2*}

¹青岛大学基础医学院病理学与病理生理学, 山东 青岛

²青岛大学神经再生与康复研究院, 山东 青岛

收稿日期: 2022年9月21日; 录用日期: 2022年10月14日; 发布日期: 2022年10月26日

摘要

目的: 通过OGD/R处理PC12细胞, 证明NaAc在人类缺血性脑卒中中的作用和意义。方法: OGD模型的建立: 用无氧糖培养液处理PC12细胞作为脑缺血再灌注损伤的体外模型; 使用CCK-8比色法检测OGD损伤后NaAc对PC12细胞的保护状况; 使用免疫印迹法Western blot检测OGD损伤后的NaAc对PC12中ATF-6蛋白水平的影响。结果: OGD损伤后, 补充浓度为6 mM的NaAc可增加PC12的存活率($n = 6, F = 70.10, P < 0.05$); OGD损伤后, PC12中ATF-6的表达升高($t = 2.98, P < 0.05$); 向正常的PC12细胞补充NaAc后ATF-6表达降低($t = 3.11, P < 0.05$); 在损伤后的PC12细胞中添加浓度为6 mM的NaAc后, ATF-6的表达水平降低($n = 6, F = 2.09, P < 0.05$)。结论: OGD损伤后, PC12中添加浓度为6 mM的NaAc是通过抑制ATF-6的表达来发挥神经保护作用。

关键词

氧糖剥夺, 醋酸钠, ATF-6, 神经保护

Effect of Sodium Acetate on PC12 Injury after Oxygen-Glucose Deprivation

Yarui Zhang¹, Qingming Hou^{1,2*}

¹Pathology and Pathophysiology of the School of Basic Medicine, Qingdao University, Qingdao Shandong

²The Institute of Neuroregeneration and Neurorehabilitation, Qingdao University, Qingdao Shandong

Received: Sep. 21st, 2022; accepted: Oct. 14th, 2022; published: Oct. 26th, 2022

Abstract

Objective: The purpose of investigating is demonstrated the effect and significance of NaAc in hu-

*通讯作者。

man ischemic stroke by OGD/R treatment of PC12 cells. **Methods:** Establishment of OGD model: treatment of PC12 cells with Anaerobic sugar culture solution culture solution as an *in vitro* model of cerebral ischemia reperfusion injury; The protective status of NaAc on PC12 cells after OGD injury was detected using CCK-8 colorimetry; Effects of NaAc after OGD injury on ATF-6 protein levels in PC12 were detected using Western blotting methods. **Results:** After OGD injury, NaAc 6 mM supplementation increased PC12 survival ($n = 6, F = 70.10, P < 0.05$) and increased ATF-6 expression in PC12 ($t = 2.98, P < 0.05$). Supplementation of NaAc 6 mM to normal PC12 reduced the expression of ATF-6 ($t = 3.11, P < 0.05$). On the contrary, after OGD Supplementation of NaAc 6 mM to PC12 reduced the expression of ATF-6 ($n = 6, F = 20.09, P < 0.05$). **Conclusion:** After OGD injury, intra-PC12 NaAc 6 mM supplementation exerts neuroprotective effects by inhibiting the expression of ATF-6 signaling pathway.

Keywords

Oxygen-Glucose Deprivation, Sodium Acetate, ATF-6, Neuroprotection

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

脑卒中(stroke)俗称中风, 包括缺血性脑卒中和出血性脑卒中, 是全球死亡和永久性障碍的主要原因[1]。在缺血条件下, 由于氧的中断和糖原的消耗非常显著而引起神经功能的永久性缺陷, 甚至脑细胞死亡[2]。广泛的细胞死亡和炎症反应是脑卒中病理学的两个突出方面[3]。细胞代谢紊乱可引起内质网应激等一系列分子的变化[4] [5]。研究发现, 脑卒中后小鼠脑组织中有显著促进炎症和内质网(Endoplasmic Reticulum, ER)应激的相关分子[6] [7]。激活转录因子-6 即(ATF-6)是内质网状应激的一种相关蛋白质, 也是内质网状膜贯通蛋白质[8] [9]。研究表明, 药物可通过 ATF-6 抑制炎症和内质网状应激, 显著减轻中风后脑损伤。醋酸钠又叫乙酸钠(NaAc)作为一种短链脂肪酸发挥着重要的作用。醋酸盐的化学式为 C_2H_3O 的一个小分子, 在整个生物系统中普遍存在, 参与了包含多种代谢途径的许多生化反应, 已成为细胞代谢的关键替代燃料。醋酸盐生产的三个主要代谢途径, 包括: 1) 乙酰辅酶 A 途径; 2) 甘氨酸合成酶依赖途径; 3) 还原柠檬酸循环。由于乙酰辅酶 A 在原核生物和真核生物中都有表达, 因此乙酰辅酶 A 途径被认为是生产醋酸盐的最原始的途径。正常情况下, 人血清中的乙酸盐水平仅为 0.2 mM 左右, 而在缺氧或葡萄糖缺乏状态下, 乙酸盐可能成为乙酰辅酶 A 重要来源。补充乙酸盐可能被证明是一种新的、有效的胶质瘤治疗途径。更有文献报道含有乙酸酯的短链脂肪酸显示出降低炎症的作用[10]。但 NaAc 的药物价值对脑卒中实验模型机制的研究较少。因此, 本研究旨在探讨醋酸钠作为一种新的药物, 能否通过氧糖剥夺(OGD)在 PC12 损伤后 ATF-6 的表达发挥神经保护作用。

2. 材料与方法

2.1. 实验材料

NaAc 购自上海艾比化学试剂有限公司; PC12 细胞购自中国科学院上海生命科学研究所以; 细胞培养试剂 DMEM-H-Glucose、青霉素 - 链霉素(100×)全部从 Gibico 公司购买; 胎牛血清是从四季青公司购买的; CCK-8 购自北京 Bioss 生物技术有限公司; 多功能酶标器购自美国 Molecular Devices 公司; ATF-6

是 Affinity 抗体公司购买的; β -actin 从武汉三鹰生物技术公司购买; 二抗在北京索莱宝科技有限公司购买; PMSF、蛋白磷酸酶抑制剂(All-in-one, 100 \times)从索莱宝(北京)科技有限公司购买; RIPA 分解液购自上海碧云天生物技术有限公司。

2.2. PC12 细胞培养

将含有 PC12 细胞的冻存管从液氮罐取出后立即转移到 37 $^{\circ}$ C 水浴锅中至完全融化, 吸取冻存管中的 PC12 细胞悬液并转移到含有 5 mL 完全培养基(DMEM 培养基 + 体积分数 0.10 胎牛血清 + 体积分数 0.01 青链霉素混合液)的离心管中。然后用吸管吹打混匀后以 1000 r/min 离心 5 min, 弃掉上清液。再次与 5 mL 完全培养基混匀, 接种到培养瓶中, 在 37 $^{\circ}$ C、含体积分数 0.05 CO₂ 的培养箱中培养。每 2~3 d 传代 1 次, 传到第 3 代且细胞融合度达到 90% 时进行下一步实验。

2.3. OGD/再灌注损伤模型制备

PC12 细胞培养 3d 后, 以磷酸盐缓冲液 PBS 轻轻冲洗 2 次, Control 组加入有糖细胞外液, OGD 组加入无糖细胞外液。然后将 OGD 组细胞置于 37 $^{\circ}$ C 厌氧箱中低氧处理 1 h (气体参数设置为体积分数 0.01 O₂ + 体积分数 0.94N₂ + 体积分数 0.05 CO₂) 将 Control 组 PC12 细胞置于正常培养箱中, 氧处理结束后, 将各组培养液换为等体积无血清培养液。

2.4. 分组及处理

为了研究 NaAc 对 OGD 损伤后 PC12 细胞存活率的影响, 实验将培养的 PC12 分成 Control 组(正常的培养液)、OGD 组(无糖无氧的培养液处理)、OGD+NaAc 组(无糖无氧的培养液中加入浓度为 6 mM 的 NaAc); 为了研究缺血再灌注损伤后 PC12 细胞中 ATF-6 蛋白量的变化, 将实验分为 Control 组(DMSO 处理组)、OGD/R 6 h 组(氧糖剥夺复氧 6 h); 为研究 NaAc 对 ATF-6 在正常 PC12 细胞中表达的影响, 将实验分成 Control 组(正常的培养液处理), NaAc 组(6 mM 浓度的 NaAc); 为了研究 PC12 细胞中 NaAc 的增加对 OGD 损伤后 ATF-6 表达量的影响, 将实验分为 Control 组(正常的培养液处理)、OGD 组(无糖无氧的培养液处理); OGD + NaAc 组(无糖无氧的培养液加入 6 mM 浓度的 NaAc)。各组蛋白含量的检测均在 OGD 复氧后 6 h 进行。

2.5. 免疫印迹法检测(Western Blotting)

各组蛋白于复氧后 6 小时提取, 用 RIPA 裂解液在冰上裂解细胞, 用 BCA 法测定相应蛋白浓度, 配置浓缩胶和分离胶, 每孔 10 μ g 蛋白计算上样量, 电泳后转膜至 PVDF 膜上, 用 5% (wt/vol) 牛血清白蛋白或 5% (wt/vol) 脱脂干奶在 TBST(含 0.1% TBS Tween20) 中封闭膜。在室温下孵育 60 分钟, 在 4 $^{\circ}$ C 下与 ATF-6 的一抗(比例为 1:1000)孵育过夜, 用 TBST 溶液清洗 PVDF 膜 3 次, 每次 10 分钟, 然后在室温下与 HRP 偶联的二抗孵育 60 分钟。用 TBST 溶液清洗 PVDF 膜 3 次, 每次 10 分钟, 用化学发光试剂检测抗原-抗体复合物。用 Image J 软件对蛋白条带进行半定量分析, 实验重复 3 次取平均值。

2.6. CCK-8 比色法

弃掉 96 孔板中的培养基, 然后用 PBS 清洗一次细胞, 每孔加入浓度为 10% 的 CCK-8 溶液(避免产生气泡), 在培养箱中避光孵育 4 h; 使用酶标仪检测各孔在波长 450 nm 处的吸光度(A)值并进一步计算细胞存活率, OGD 组细胞存活率(%) = OGD 组/对照组 \times 100%; OGD + NaAc 组细胞存活率(%) = OGD + NaAc 组/OGD 组 \times 100%。

2.7. 统计学处理

使用 Graph Pad Prism8.0 软件对所得数据结果进行统计学分析。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示, 多组比较采用单因素方差分析[11], 两独立样本均数的比较采用 t 检验, 组间两项比较采用 LSD- t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3. 结果

3.1. NaAc 对 OGD 损伤后 PC12 细胞存活的影响

OGD 损伤及加入 NaAc 后, 培养 PC12 细胞的存活变化见表 1。各组 PC12 细胞中 ATF-6 的存活率有显著差异, ($n = 6, F = 70.10, P < 0.05$)与 Control 组相比, OGD 组 PC12 细胞的存活率明显降低, 差异具有统计学意义($t_{\text{isd}} = 10.89, p < 0.05$); OGD + NaAc 组的 PC12 细胞的存活率与 Control 组相比明显降低, 差异具有统计学意义($t_{\text{isd}} = 6.40, p < 0.05$); 与 OGD 组相比, OGD + NaAc 组 PC12 细胞的存活率明显升高, 差异具有统计学意义, ($t_{\text{isd}} = 6.04, p < 0.05$)。

Table 1. The effect of NaAc on the survival of PC12 cells after OGD injury ($n = 6, \bar{x}\%, \bar{x} \pm s$)

表 1. NaAc 对 OGD 损伤后 PC12 细胞存活的影响($n = 6, \bar{x}\%, \bar{x} \pm s$)

组别	存活率
Control 组	99.99 \pm 5.76,
OGD 组	57.98 \pm 7.50*
OGD + NaAc 组	80.20 \pm 4.92**

注: $n = 6, \bar{x}\%, \bar{x} \pm s$; *代表与 Control 组比较, **代表与 OGD 组比较, $P < 0.05$ 。

3.2. OGD 损伤后 PC12 细胞中 ATF-6 水平变化

Western blot 检测结果表明, ATF-6 在 PC12 细胞中内表达, 并且在 OGD 损伤后的 PC12 细胞中 ATF-6 的表达增加。OGD/R 6 h 组与 Control 组相比, ATF-6 蛋白表达明显上升($t = 2.98, P < 0.05$)。这些数据表明 ATF-6 介导了 OGD 后细胞的损伤。见图 1。

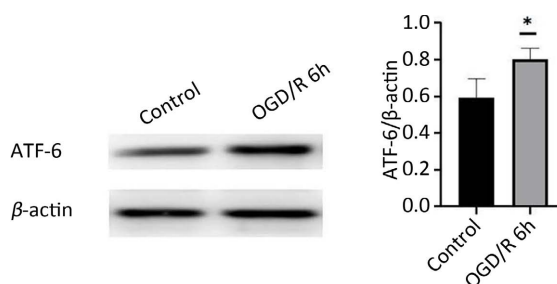


Figure 1. Western blot detection of changes in ATF-6 protein levels within PC12 cells after OGD/R 6 h

图 1. OGD/R 6 h 后 PC12 细胞内 ATF-6 蛋白水平变化的 Western blot 检测

3.3. 补充 NaAc 对正常 PC12 细胞中 ATF-6 表达的影响

在正常 PC12 细胞中加入 NaAc 6 mM, Western blot 检测结果表明, 在培养相同时间的 PC12 细胞中,

NaAc 组 ATF-6 蛋白表达水平较 Control 组明显下降($t = 3.11, P < 0.05$)。见图 2。这些数据说明了 NaAc 可以使正常 PC12 细胞中的 ATF-6 表达量降低。

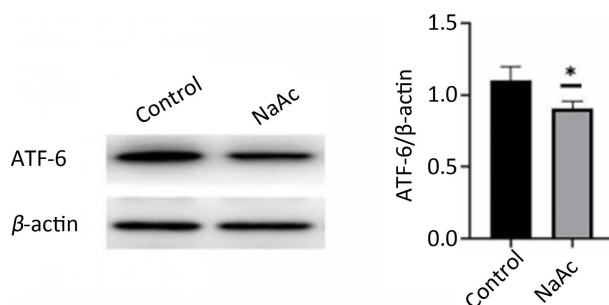


Figure 2. Western blot detection of the effect of NaAc on ATF-6 protein levels in normal PC12 cells

图 2. NaAc 对正常 PC12 细胞中 ATF-6 蛋白水平影响的 Western blot 检测

3.4. OGD 损伤后补充 NaAc 对 PC12 细胞中 ATF-6 的表达的影响

在 PC12 细胞 OGD 2 h 后新培养基中加入 NaAc 6 mM, 于再灌注 6 小时后 Western blot 检测结果显示, 各组 PC12 细胞中 ATF-6 的表达量有显著差异($n = 6, F = 20.09, P < 0.05$); 在 OGD 6 h 后, OGD 组的 ATF-6 蛋白表达水平升高($t_{isd} = 6.33, P < 0.05$); OGD + NaAc 组的 ATF-6 蛋白表达水平与 OGD 组相比明显降低($t_{isd} = 2.94, P < 0.05$); 与 Control 组相比, OGD + NaAc 组的 ATF-6 表达明显上升, 差异具有统计学意义($t_{isd} = 3.39, P < 0.05$)。见图 3, 说明了 OGD 损伤后 ATF-6 表达量升高, 补充 NaAc 使 PC12 细胞内 ATF-6 表达量降低。

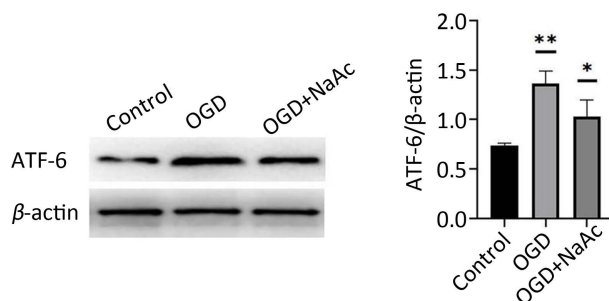


Figure 3. Western blot detection of the effect of adding NaAc on changes in ATF-6 protein levels within PC12 cells after OGD/R 6h

图 3. OGD/R 6h 后加入 NaAc 对 PC12 细胞内 ATF-6 蛋白水平变化影响的 Western blot 检测

4. 讨论

脑卒中是一种全球发病率高、致残率高、死亡率高的疾病, 也是造成全球永久性致残和死亡的主要原因, 但目前治疗水平仍面临巨大挑战[12] [13]。缺血性脑卒中占其 85% 左右[14], 形成以神经元坏死为主的核心区及缺血半暗带[15] [16]。半暗带内出现神经元代谢紊乱, 同时伴有凋亡发生。细胞代谢紊乱可引起一系列分子变化, 包括内质网应激障碍[4] [5]。同时缺血区因突发糖氧供应而中断代谢紊乱, 未折叠或错误折叠的蛋白质蓄积在内质网中, 诱发内质网应激[17]和细胞稳态失衡, 从而进一步引起组织和器官损伤[18]。缺血性中风占绝大多数, 发病时给很多家庭和社会造成了沉重的负担[19]。因此, 寻找脑缺血

再灌注损伤后可能的内质网应激相关靶点, 对寻找减轻脑损伤的药物具有重要意义。

越来越多的证据表明内质网应激在细胞存活过程中起着重要作用[20] [21] [22]。内质网应激信号路径包括 ATF-6、IRE1- α 和 PERK 等路径。研究表明, 脊髓损伤后大鼠神经元出现内质网应激, ATF-6 表达升高, miR-211-5p 直接靶向作用于 ATF-6, 缓解神经元凋亡和炎症[23]。也有证据表明阿尔茨海默病患者神经元样细胞内质网应激相关蛋白 ATF-6 表达升高, 草酸可通过下调 ATF-6 表达发挥细胞保护作用[24]。提示 ATF-6 及其下游通路对细胞命运有很大影响。醋酸钠(NaAc)由不能消化的食品残渣和肠道内源性上皮源性粘液的厌氧发酵产生, NaAc 作为短链脂肪酸, 含有醋酸酯的短链脂肪酸显示出降低炎症的作用[12] 在缺氧或葡萄糖缺乏状态下, 醋酸盐可能成为乙酰辅酶 A 的重要来源, 补充醋酸盐是一种新的、有效的胶质瘤治疗途径[25]。显而易见, 乙酸盐的补充增强了小鼠的抗应激能力[26]。并且, NaAc 通过上调 p53 通路来抑制肿瘤细胞的生存[27], 确认了 OGD 损伤后的 NaAc 对 PC12 细胞的影响。因此, 补充 NaAc 可能成为缺血性脑卒中治疗的新靶点。

本研究采用 PC12 细胞培养后 OGD 体外模型, 证明了 NaAc 对缺血再灌注损伤的作用机制。缺血再灌注损伤后, PC12 细胞中 ATF-6 蛋白水平表达升高, 补充 NaAc 抑制 ATF-6 表达, 促进细胞存活。有文献报道, NaAc 可以自由通过血脑屏障和细胞膜, 增加蛋白质的乙酰化[25]。补充 NaAc 还可能通过促进 p53 的表达发挥神经保护作用[25] [28]。NaAc 还具有抑制炎症、促进细胞自主代谢调节等多种作用[29]。因此, NaAc 可能通过抑制 ATF-6 的表达来抑制炎症和内质网应激, 对脑缺血再灌注损伤起保护作用。

然而, 本研究也存在一些局限性, 首先, 需要进一步研究与内质网应激相关分子 ATF-6 相关的下游效应因子或信号通路, 如 ATF-6/CHOP, ATF-6/AKT 信号通路来验证 OGD/R 诱导的神经损伤。其次, 将进一步开展神经元培养和建立体内模型等方法, 采用多指标分析进一步证实 NaAc 对脑卒中的神经保护作用。综上所述, NaAc 作为一种很有前途的治疗药物, 在治疗脑卒中发挥着重要意义, 后续将在动物模型中继续探讨。

基金项目

国家自然科学基金资助项目(8217051911)。

参考文献

- [1] Saunders, D.H., Sanderson, M., Hayes, S., *et al.* (2020) Physical Fitness Training for Patients with Stroke. *Stroke*, **51**, e299-e300. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.120.030826>
- [2] Ma, Y., Nie, H., Chen, H., *et al.* (2015) NAD⁺/NADH Metabolism and NAD⁺-Dependent Enzymes in Cell Death and Ischemic Brain Injury: Current Advances and Therapeutic Implications. *Current Medicinal Chemistry*, **22**, 1239-1247. <https://doi.org/10.2174/0929867322666150209154420>
- [3] Lu, Y.Y., Li, Z.Z., Jiang, D.S., *et al.* (2013) TRAF1 Is a Critical Regulator of Cerebral Ischaemia-Reperfusion Injury and Neuronal Death. *Nature Communications*, **4**, Article No. 2852. <https://doi.org/10.1038/ncomms3852>
- [4] Pires Monteiro, S., Voogd, E., Muzzi, L., *et al.* (2021) Neuroprotective Effect of Hypoxic Preconditioning and Neuronal Activation in a *in Vitro* Human Model of the Ischemic Penumbra. *Journal of Neural Engineering*, **18**, Article ID: 036016. <https://doi.org/10.1088/1741-2552/abe68a>
- [5] Prentice, H., Gharibani, P.M., Ma, Z., *et al.* (2017) Neuroprotective Functions through Inhibition of ER Stress by Taurine or Taurine Combination Treatments in a Rat Stroke Model. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **975**, 193-205. https://doi.org/10.1007/978-94-024-1079-2_17
- [6] Ridder, D.A. and Schwanner, M. (2009) NF-kappaB Signaling in Cerebral Ischemia. *Neuroscience*, **158**, 995-1006. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.07.007>
- [7] Harari, O.A. and Liao, J.K. (2010) NF-kB and Innate Immunity in Ischemic Stroke. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1207**, 32-40. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05735.x>
- [8] Burkewitz, K., Dutta, S., Kelley, C.A., *et al.* (2020) Atf-6 Regulates Lifespan through ER-Mitochondrial Calcium Homeostasis. *Cell Reports*, **32**, Article ID: 108125. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108125>

- [9] Ogata, S., Kameda, K., Kono, T., *et al.* (2019) Expressions of ATF6, XBP1, and GRP78 in Normal Tissue, Atypical Adenomatous Hyperplasia, and Adenocarcinoma of the Lung. *Human Pathology*, **83**, 22-28. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2018.08.009>
- [10] Pandey, S.K., Yadav, S., Temre, M.K., *et al.* (2018) Tracking Acetate through a Journey of Living World: Evolution as Alternative Cellular Fuel with Potential for Application in Cancer Therapeutics. *Life Sciences*, **215**, 86-95. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.11.004>
- [11] Blagosklonny, M.V., An, W.G., Romanova, L.Y., *et al.* (1998) p53 Inhibits Hypoxia-Inducible Factor-Stimulated Transcription. *The Journal of Biological Chemistry*, **273**, 11995-11998. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.20.11995>
- [12] Markus, H.S., Brainin, M. and Fisher, M. (2020) Tracking the Global Burden of Stroke and Dementia: World Stroke Day 2020. *International Journal of Stroke*, **15**, 817-818. <https://doi.org/10.1177/1747493020959186>
- [13] Vosler, P.S. and Chen, J. (2009) Potential Molecular Targets for Translational Stroke Research. *Stroke*, **40**, S119-S120. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.108.533109>
- [14] Feigin, V.L., Forouzanfar, M.H., Krishnamurthi, R., *et al.* (2014) Global and Regional Burden of Stroke during 1990-2010: Findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet (London, England)*, **383**, 245-254. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61953-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61953-4)
- [15] Yang, S.H. and Liu, R. (2021) Four Decades of Ischemic Penumbra and Its Implication for Ischemic Stroke. *Translational Stroke Research*, **12**, 937-945. <https://doi.org/10.1007/s12975-021-00916-2>
- [16] Uzdensky, A.B. (2020) Regulation of Apoptosis in the Ischemic Penumbra in the First Day Post-Stroke. *Neural Regeneration Research*, **15**, 253-254. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.265546>
- [17] Gupta, S., Biswas, J., Gupta, P., *et al.* (2019) Salubrinal Attenuates Nitric Oxide Mediated PERK:IRE1 α : ATF-6 Signaling and DNA Damage in Neuronal Cells. *Neurochemistry International*, **131**, Article ID: 104581. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2019.104581>
- [18] Wu, F., Qiu, J., Fan, Y., *et al.* (2018) Apelin-13 Attenuates ER Stress-Mediated Neuronal Apoptosis by Activating Ga(i)/Ga(q)-CK2 Signaling in Ischemic Stroke. *Experimental Neurology*, **302**, 136-144. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2018.01.006>
- [19] Jin, W.Y., Lin, S.L., Hou, R.L., *et al.* (2016) Associations between Maternal Lipid Profile and Pregnancy Complications and Perinatal Outcomes: A Population-Based Study from China. *BMC Pregnancy and Childbirth*, **16**, Article No. 60. <https://doi.org/10.1186/s12884-016-0852-9>
- [20] Fu, J., Peng, L., Wang, W., *et al.* (2019) Sodium Valproate Reduces Neuronal Apoptosis in Acute Pentylentetrazole-Induced Seizures via Inhibiting ER Stress. *Neurochemical Research*, **44**, 2517-2526. <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02870-w>
- [21] Almanza, A., Carlesso, A., Chintia, C., *et al.* (2019) Endoplasmic Reticulum Stress Signalling—From Basic Mechanisms to Clinical Applications. *The FEBS Journal*, **286**, 241-278. <https://doi.org/10.1111/febs.14608>
- [22] Kong, F.J., Ma, L.L., Guo, J.J., *et al.* (2018) Endoplasmic Reticulum Stress/Autophagy Pathway Is Involved in Diabetes-Induced Neuronal Apoptosis and Cognitive Decline in Mice. *Clinical Science (London, England: 1979)*, **132**, 111-125. <https://doi.org/10.1042/CS20171432>
- [23] Zhang, H.-C., Piao, M., Guo, M., *et al.* (2020) MicroRNA-211-5p Attenuates Spinal Cord Injury via Targeting of Activating Transcription Factor 6. *Tissue and Cell*, **68**, Article ID: 101459. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2020.101459>
- [24] Li, X., Zhang, X., Xing, R., *et al.* (2021) Syringic Acid Demonstrates Promising Protective Effect against Tau Fibrillization and Cytotoxicity through Regulation of Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Pathway as a Prelude to Alzheimer's Disease. *International Journal of Biological Macromolecules*, **192**, 491-497. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.173>
- [25] Reisenauer, C.J., Bhatt, D.P., Mitteness, D.J., *et al.* (2011) Acetate Supplementation Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Neuroinflammation. *Journal of Neurochemistry*, **117**, 264-274. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07198.x>
- [26] Huang, W., Hu, W., Cai, L., *et al.* (2021) Acetate Supplementation Produces Antidepressant-Like Effect via Enhanced Histone Acetylation. *Journal of Affective Disorders*, **281**, 51-60. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2020.11.121>
- [27] Pandey, S.K., Yadav, S., Goel, Y., *et al.* (2019) Cytotoxic Action of Acetate on Tumor Cells of Thymic Origin: Role of MCT-1, pH Homeostasis and Altered Cell Survival Regulation. *Biochimie*, **157**, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.10.022>
- [28] Suzuki, H., Tomida, A. and Tsuruo, T. (2001) Dephosphorylated Hypoxia-Inducible Factor 1 α as a Mediator of p53-Dependent Apoptosis during Hypoxia. *Oncogene*, **20**, 5779-5788. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1204742>
- [29] Bose, S., Ramesh, V. and Locasale, J.W. (2019) Acetate Metabolism in Physiology, Cancer, and Beyond. *Trends in Cell Biology*, **29**, 695-703. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2019.05.005>