

白脂素保护H9c2细胞免受缺氧/复氧后的损伤并促进线粒体自噬

王相坤¹, 李宾公^{2*}

¹青岛大学青岛医学院, 山东 青岛

²康复大学附属青岛医院心内科, 山东 青岛

收稿日期: 2025年5月27日; 录用日期: 2025年6月19日; 发布日期: 2025年6月30日

摘要

目的: 急性心肌梗死是全球死亡的主要原因之一。经皮冠状动脉介入治疗是恢复受影响心肌血流的主要治疗方法, 但再灌注可能导致心肌损伤, 影响急性心肌梗死患者预后。白脂素是一种新发现的脂肪因子, 其在心肌保护方面的作用尚需进一步研究。方法: 对H9c2细胞进行缺氧/复氧(H/R)处理, 并用不同浓度的白脂素预处理。通过测量细胞内活性氧(ROS)、CCK-8和乳酸脱氢酶(LDH)水平评估细胞损伤程度。之后通过测定线粒体自噬的相关蛋白的表达及线粒体膜电位的改变, 并加入线粒体自噬抑制剂组进行对比, 明确白脂素对心肌的保护作用及对心肌线粒体自噬的影响。结果: 白脂素降低了ROS水平, 提高了细胞活性, 升高了H/R后细胞内PINK1蛋白的表达, 稳定了细胞内线粒体的功能及活性。在加入线粒体自噬抑制剂后, 抑制了白脂素对H/R后细胞的保护作用, PINK1蛋白表达下降, 线粒体功能及活性明显下降。结论: 本研究证实了白脂素在H/R损伤心肌细胞后的保护作用, 并可能是通过在心肌细胞H/R期间促进线粒体自噬以起到保护作用。

关键词

白脂素, 缺氧复氧损伤, 线粒体自噬, 心肌细胞保护

Asprosin Protects H9c2 Cells from Hypoxia/Reoxygenation Induced Injury by Promoting Mitophagy

Xiangkun Wang¹, Bingong Li^{2*}

¹Qingdao Medical College of Qingdao University, Qingdao Shandong

²Department of Cardiology, Qingdao Hospital Affiliated to Rehabilitation University, Qingdao Shandong

*通讯作者。

文章引用: 王相坤, 李宾公. 白脂素保护H9c2细胞免受缺氧/复氧后的损伤并促进线粒体自噬[J]. 临床医学进展, 2025, 15(6): 1822-1830. DOI: 10.12677/acm.2025.1561920

Received: May 27th, 2025; accepted: Jun. 19th, 2025; published: Jun. 30th, 2025

Abstract

Objective: Acute myocardial infarction (AMI) is a leading cause of death globally. Percutaneous coronary intervention is the primary treatment to restore blood flow to affected myocardium, but reperfusion may cause myocardial injury, impacting the prognosis of AMI patients. Asprosin, a newly identified adipokine, requires further study for its cardioprotective effects. **Methods:** H9c2 cells were exposed to hypoxia/reoxygenation (H/R) and pretreated with varying asprosin concentrations. Cell damage was assessed by measuring intracellular reactive oxygen species (ROS), CCK-8 results, and lactate dehydrogenase (LDH) levels. Mitophagy-related protein expression and mitochondrial membrane potential changes were examined, and a mitophagy inhibitor was used for comparison to clarify asprosin's cardioprotective role and its impact on myocardial mitophagy. **Results:** Asprosin reduced ROS levels, enhanced cell viability, upregulated PINK1 protein expression after H/R, and stabilized mitochondrial function and activity. The mitophagy inhibitor attenuated asprosin's protective effects, decreasing PINK1 expression and significantly impairing mitochondrial function and activity. **Conclusion:** This study confirms asprosin's protective effects on H/R-damaged myocardial cells, likely through promoting mitophagy during H/R in cardiomyocytes.

Keywords

Asprosin, Hypoxia/Reoxygenation Injury, Cardiomyocyte Protection

Copyright © 2025 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. 目的

急性心肌梗死(AMI)是全球主要死亡原因之一,经皮冠状动脉介入治疗是恢复受累心肌血流的主要方法。然而,再灌注可导致心肌损伤,这是影响AMI患者预后的重要因素[1]。缺血/再灌注(I/R)会引发一系列不良事件,包括ROS过度产生、铁死亡、钙超载、炎症、凋亡和线粒体功能障碍,导致细胞代谢和能量供应中断。这最终会导致心肌细胞死亡和心肌损伤[2][3]。目前,影响再灌注损伤的因素尚未完全明确,明确这些因素有助于发现更多保护再灌注后心脏功能的策略。

白脂素(Asprosin)是一种新发现的脂肪因子,由Romere等人在2016年对新生儿早老症综合征的研究中鉴定出来。它由位于15号染色体q21.1上的纤维蛋白-1(FBN1)基因的最后两个外显子(65和66)编码,并且来源于纤维蛋白前体的C末端,该前体由FBN1基因编码[4][5]。白脂素可以增强间充质干细胞(MSCs)对缺血性心脏病的治疗效果[6]。研究表明,白脂素有助于改善糖尿病小鼠的心脏微血管内皮损伤,降低心肌细胞中ROS的含量,对心脏具有保护作用,并且可以显著改善左心室功能[7]-[9]。并且可能降低扩张型心肌病(DCM)患者的不良临床结果的风险[9]。然而,目前尚不清楚白脂素是否参与心肌细胞的线粒体自噬。

线粒体自噬是通过线粒体自噬介导的溶酶体降解选择性去除受损或不必要的线粒体的过程。近年来,越来越多的证据表明,调节自噬在减轻心肌缺血再灌注损伤方面起着重要作用[10][11]。尽管传统上认为线粒体自噬是一种保护机制,但人们也认识到,虽然适度的线粒体自噬可以维持线粒体健康并维持能量

生产,但在没有线粒体生物合成的情况下过度的线粒体自噬可能对细胞有害[12]。因此,自噬的具体作用仍然是一个激烈争论的话题。然而,目前尚不清楚白脂素是否可以通过影响线粒体自噬来保护 I/R 后的心肌细胞。

目前的多条证据表明白脂素在心肌保护中发挥积极作用,但其在心肌缺血再灌注损伤中的功能仍有待探索。本研究旨在阐明白脂素在心肌缺血再灌注损伤中的疗效,并探讨白脂素和线粒体在心肌细胞中的相互作用,为理解白脂素在心肌中的作用提供病理生理学基础,并为心肌缺血再灌注损伤提供新的治疗靶点。

2. 方法与材料

2.1. H9c2 细胞培养

H9c2 细胞购自中国科学院细胞库(上海,中国)。培养时使用 H9c2 细胞专用培养基,在 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。当细胞密度达 80%~90%时需传代。先弃去旧培养基,加入 1~2 mL 胰蛋白酶消化液,在室温消化 1~2 分钟至细胞脱离瓶壁。轻敲培养瓶,使细胞完全脱落,再加入含血清的培养基终止消化。之后,以 1000 rpm 离心 5 分钟,弃去上清,用新鲜完全培养基重悬细胞,按 1:3 的比例分装到含有适量培养基的新培养瓶中继续培养。

2.2. 细胞缺氧/复氧模型

H9c2 细胞在标准条件下于 37℃用含 10% FBS 的 DMEM 培养 24 小时。用 PBS 洗涤两次后,将细胞置于有厌氧产气袋的厌氧密封培养盒中 6 小时诱导 H/R。随后,将培养基更换为含 10% FBS 的高葡萄糖 DMEM,并在 37℃、95% O₂ 和 5% CO₂ 的复氧条件下孵育 12 小时。白脂素预先给予三种浓度(50、100 或 150 nM),持续 12 小时。

2.3. 细胞内 ROS 水平测定

将细胞按要求接种到 6 孔板中,并依据分组实施相应处理。用 DMEM 按 1000:1 的比例对 DCFH-DA 进行稀释。移除孔内培养液后,加入 1 mL 已稀释好的 DCFH-DA 溶液,确保覆盖所有细胞。置于 37℃、5% CO₂ 的培养箱中孵育 20 分钟。随后,用 DMEM 清洗细胞 3 次,直至彻底去除多余 DCFH-DA。清洗完毕后,将共聚焦小皿放置在激光共聚焦显微镜下进行观察,拍摄时要迅速且高效,采用 488 nm 的激发波长来检测各组细胞的荧光强度。运用 ImageJ 软件对细胞荧光进行定量分析,获取平均荧光强度值后,再利用 GraphPad 软件进行作图。

2.4. 细胞活性测定

通过 CCK-8 检测试剂盒(Sigma-Aldrich; Merck KGaA)和 LDH 检测试剂盒(Promega Corp.)来评估细胞活性。将 H9c2 细胞以每孔 5×10^5 个细胞的密度接种于 96 孔板中。向每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液,孵育 4 小时后测量 450 nm 处的光密度(OD)。对于 LDH 检测,向收集的培养基中加入 LDH 试剂,在室温下避光孵育 30 分钟。使用分光光度计在 490 nm 处定量 OD 值。通过比较实验组与对照组在 CCK-8 检测中的 OD 值计算细胞存活率。通过比较实验组与对照组在 LDH 检测中的 OD 值确定相对细胞死亡率。

2.5. 线粒体膜电位评估

参照线粒体膜电位试剂说明书开展实验,首先配制 JC-1 染色工作液,按 200:1 的比例用染色缓冲液对 JC-1 (200 $\times$)进行稀释,借助移液器反复吹打使其充分混匀,制备完成后待用。随后,将 CCCP (10 mM)

按 1:1000 的比例添加到各组细胞培养液里, 使其稀释至 $10\ \mu\text{M}$, 对细胞进行 20 分钟的处理。处理结束后, 移除各组细胞培养液, 用 PBS 缓冲液对细胞进行一次清洗, 之后加入适量不含抗生素的培养液, 再加入等体积的 JC-1 工作液, 充分混合均匀, 在 37°C 培养箱内孵育 20 分钟。孵育完成后, 吸取掉各组细胞培养皿中的残余液体, 用 JC-1 染色缓冲液对细胞洗涤 2 次, 最后加入适量不含抗生素的细胞培养液, 在荧光显微镜下对细胞进行观察并拍照记录相关情况。

2.6. 蛋白质的提取

对 H9c2 心肌细胞进行各种处理后, 将其匀浆于预冷的 RIPA 裂解缓冲液中。收集上清液并加入蛋白缓冲液。将等量的总蛋白(每孔 $10\ \mu\text{g}$)通过 SDS-PAGE 分离并转移到 PVDF 膜上。膜用 5% 脱脂奶粉封闭 1 小时, 然后在 4°C 下与一抗(PINK1, 1:1000; β -actin, 1:1000)孵育过夜。接着在室温下与辣根过氧化物酶标记的二抗(1:10000, Proteintech)孵育 1 小时, 最后使用生物图像分析系统(Bio-Rad, 美国)分析膜。以 β -actin 水平作为加载对照, 确定目标蛋白的相对表达水平。

2.7. 统计分析

数据以均值 $\pm$ 标准误(SEM)表示。样本数量(生物学重复)在图例中单独说明。所有数据分析均在盲法条件下进行。使用 GraphPad Prism 软件(版本 7.01)进行统计分析。两组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用单因素或双因素方差分析(ANOVA), 正态分布数据采用 Bonferroni 或 Dunnett 多重比较检验, 非正态分布数据采用 Mann-Whitney 检验。 p 值 < 0.05 被认为具有统计学意义。

3. 结果

3.1. 白脂素对 H/R 诱导的 H9c2 细胞损伤的保护作用

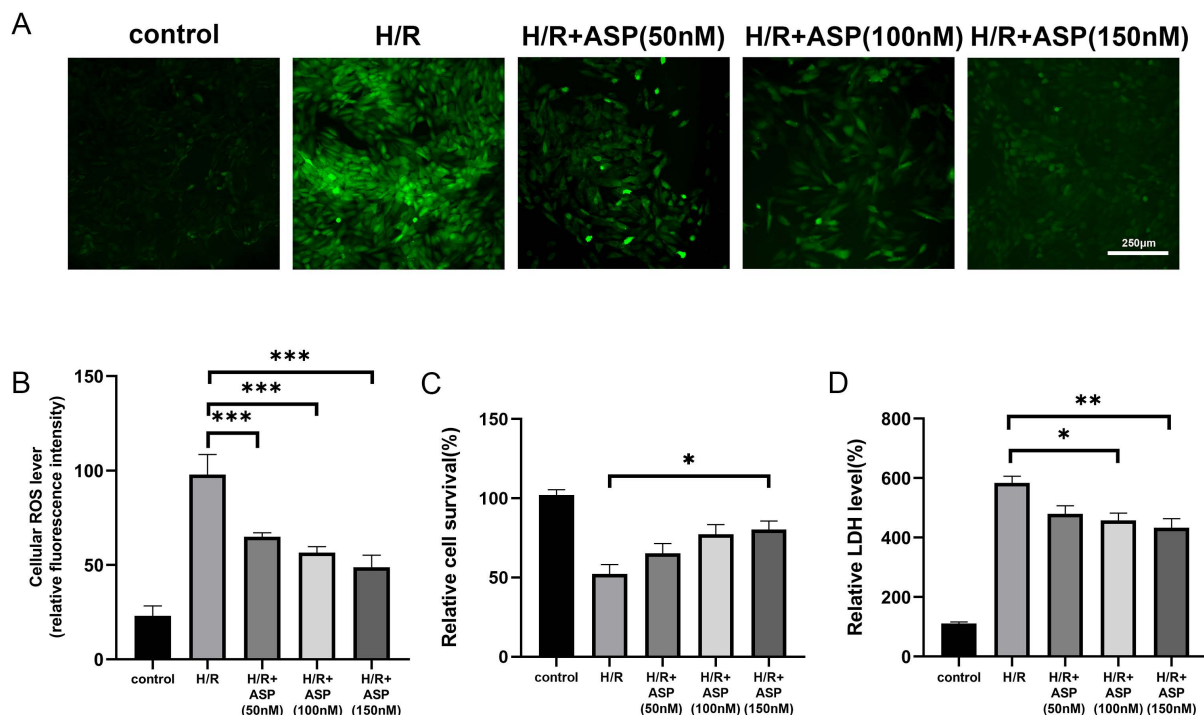


Figure 1. Protective effects of ASP on H/R-injured H9c2 cells

图 1. 白脂素对 H/R 损伤的 H9c2 细胞的保护作用

在 H/R 后, 用白脂素(50、100 和 150 nM)对 H9c2 细胞进行预处理, 白脂素以剂量依赖的方式部分抑制了 H/R 诱导的 H9c2 细胞中 ROS 的升高(图 1A、图 1B)。此外, 我们采用 LDH 和 CCK-8 实验来确定细胞活性。我们观察到白脂素以剂量依赖的方式对 H/R 诱导的 H9c2 细胞活性下降发挥了保护作用(图 1C、图 1D)。

(A, B)用白脂素(50, 100, 150 nM)浓度梯度预处理 H/R 损伤的 H9c2 细胞后, 用相应的定量检测试剂盒测定细胞内 ROS 浓度(放大 200 倍, 比例尺 250 μ m)。(C) 用白脂素(50, 100, 150 nM)浓度梯度预处理损伤的 H9c2 细胞后, 用 CCK-8 试剂盒评估细胞活性。细胞活性通过将实验组的 OD 值除以对照组的 OD 值来计算。(D) 用白脂素(50, 100, 150 nM)浓度梯度预处理损伤的 H9c2 细胞后, 测定 LDH 介导的细胞死亡。数据(n = 3)以均值 $\pm$ 标准差表示, 显著性用 $P < 0.05$ 表示; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

3.2. 白脂素促进 H/R 损伤后 H9c2 细胞的线粒体自噬

既往研究表明白脂素可以促进细胞的线粒体自噬, 但其在心肌细胞中的作用研究尚不充分。我们观察到白脂素(50、100 和 150 nM)以剂量依赖的方式增强了 H/R 损伤后 H9c2 细胞中 PINK1 蛋白的表达(图 2A、图 2B)。随后, 我们通过 JC-1 染色确定了线粒体膜电位的变化。结果表明, 随着白脂素预处理浓度的增加, H/R 损伤后 H9c2 细胞中增加的绿色荧光随着白脂素浓度的增加而减少(图 2B、图 2C)。

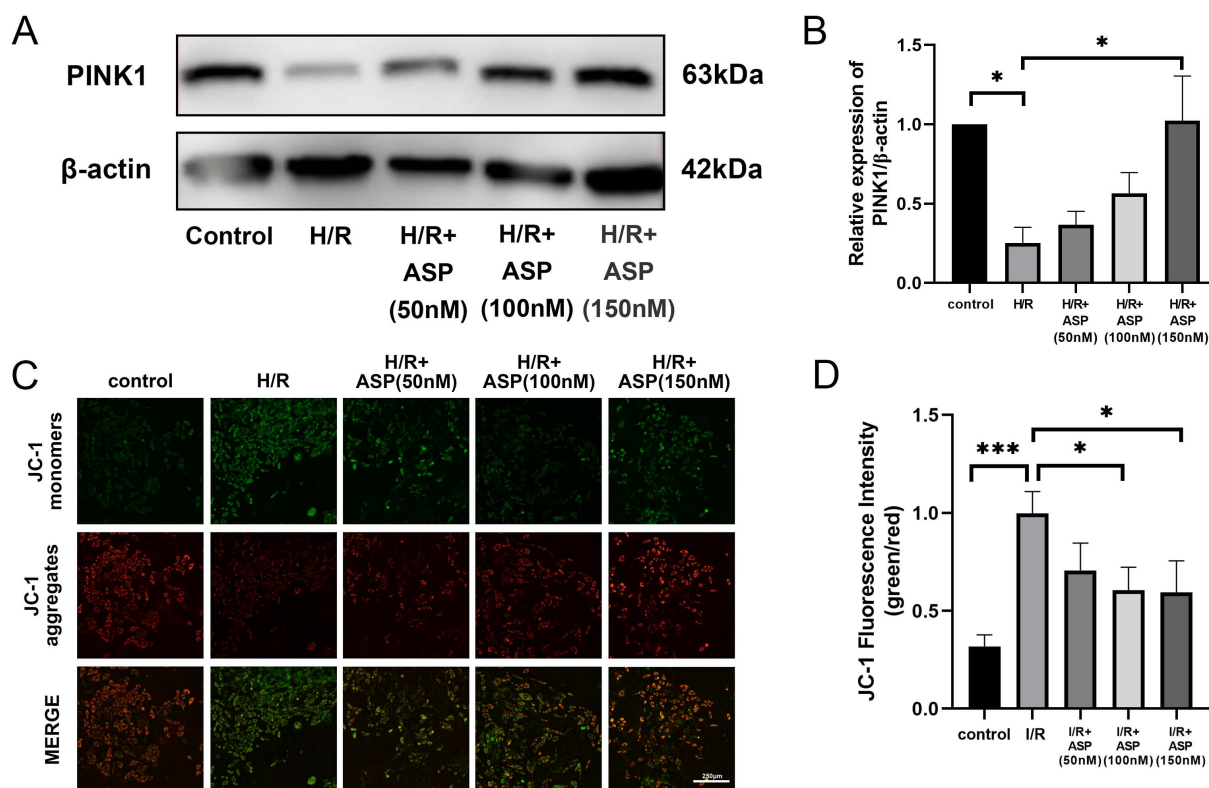


Figure 2. ASP is involved in H/R-induced mitophagy in H9c2 cells
图 2. 白脂素参与 H/R 诱导的 H9c2 细胞线粒体自噬。

(A, B) 通过 Western blotting 测定 PINK1 的表达水平; (C) H9c2 细胞线粒体 JC-1 染色的荧光(放大 200 倍, 比例尺 250 μ m); (D) JC-1 染色绿色/红色荧光比值。数据(n = 3)以均值 $\pm$ 标准差表示, 显著性用 $P < 0.05$ 表示; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

3.3. 抑制线粒体自噬会抵消白脂素对 H/R 诱导的 H9c2 细胞活性下降的保护作用

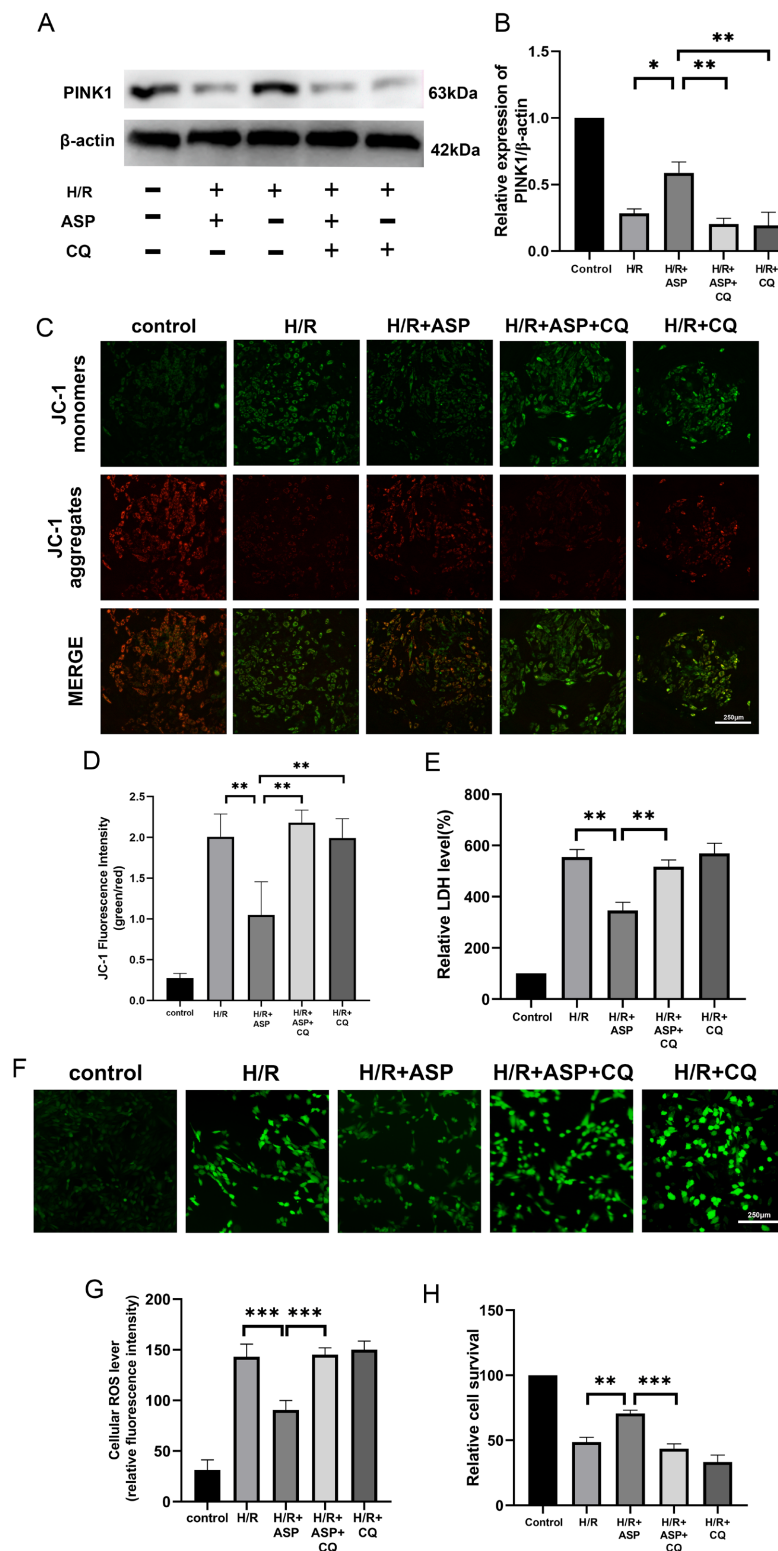


Figure 3. Asprosin participates in the alteration of cell viability induced by H/R in H9c2 cells by affecting mitophagy
图 3. 白脂素通过影响线粒体自噬参与 H/R 诱导的 H9c2 细胞活性的改变

我们用 100 nM 的白脂素预处理 H9c2 细胞, 并同时用线粒体自噬抑制剂氯喹(10 μ M)处理以抑制线粒体自噬。为了确认线粒体自噬的抑制, 我们重新评估了 PINK1 蛋白水平和线粒体膜电位。我们观察到氯喹抑制了白脂素先前促进的 PINK1 蛋白水平的增加(图 3A、图 3B), 并增强了绿色荧光(图 3C、图 3D), 这表明线粒体膜电位下降。此外, 氯喹抵消了白脂素对细胞活性的保护作用(图 3E、图 3H), 并增加了白脂素在 H/R 损伤后抑制的 ROS 的产生(图 3F、图 3G)。这些发现表明, 白脂素通过促进线粒体自噬来保护 H9c2 细胞免受 H/R 损伤引起的细胞活性下降。

(A, B) 通过 Western blotting 测定 PINK1 的表达水平; (C) H9c2 细胞线粒体 JC-1 染色的荧光(放大 200 倍, 比例尺 250 μ m); (D) JC-1 染色绿色/红色荧光比值; (E) LDH 介导的细胞死亡实验; (F, G) 细胞内 ROS 浓度(放大 200 倍, 比例尺 250 μ m); (H) CCK-8 细胞活性实验; 数据($n = 3$)以均值 $\pm$ 标准差表示, 显著性用 $P < 0.05$ 表示; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

4. 讨论

在本研究中, 我们将白脂素和线粒体自噬抑制剂氯喹应用于 H9c2 细胞的 H/R 模型, 并观察了线粒体自噬和细胞活性指标的变化。我们提供了多条证据, 证明白脂素在 H/R 诱导的心肌细胞损伤中发挥了保护作用。此外, 我们发现将氯喹添加到白脂素中可以减弱这种抑制效果。从机制上讲, 白脂素影响 PINK1 蛋白, 并在 H/R 后促进 H9c2 细胞中线粒体自噬的激活, 最终通过保护细胞线粒体功能, 缓解细胞氧化应激保护心肌细胞。总之, 我们认为白脂素可以保护 H/R 诱导的心肌细胞损伤, 在严重心血管疾病(如心肌缺血再灌注损伤)中具有实际应用的潜力。

白脂素是一种新近发现的激素, 有许多与心脏相关的机制值得进一步探索。近年来, 越来越多的证据表明白脂素在心脏中具有保护作用。临床研究表明, 白脂素改善了扩张型心肌病患者的长期预后, 并降低了心力衰竭事件的风险, 这些效果归因于心肌细胞中线粒体功能的增强[9]。肌肉组织的研究也表明, 白脂素可以增加 PGC-1 α 水平[13], PGC-1 α 是线粒体生物发生和线粒体质量控制机制(包括分裂、融合和线粒体自噬)的调节因子[14]。白脂素还可以通过激活细胞外信号调节激酶 1/2 通路和上调抗氧化蛋白超氧化物歧化酶 2, 保护间充质干细胞免受过氧化氢诱导的凋亡和 ROS 损伤[6]。在本研究中, 我们观察到用不同浓度的白脂素预处理 H9c2 细胞后, H/R 损伤后的细胞活性显著提高, 这进一步证明了白脂素对 H/R 诱导的心肌细胞损伤具有保护作用。

线粒体自噬是选择性自噬的关键途径[15], 在细胞清除受损线粒体中发挥着重要作用。PINK1 蛋白在调节线粒体自噬中起着关键作用。在正常条件下, PINK1 被 PARL 切割并降解。在应激条件下, PINK1 转移到线粒体外膜, 招募 Parkin, 并将受损线粒体靶向溶酶体降解[16]。其他研究也表明, 白脂素可以诱导脂肪细胞中的线粒体自噬[17]。缺氧损伤会导致细胞线粒体呼吸功能受损; 然而, 白脂素治疗可使线粒体功能显著恢复[9]。细胞内 ROS 的主要来源之一是线粒体。线粒体自噬通过在溶酶体中特异性隔离和吞噬线粒体, 清除老化和受损的线粒体, 从而限制线粒体 ROS 的产生[18]。本研究表明, 白脂素通过 PINK1 抑制线粒体膜电位的下降, 并促进细胞中线粒体自噬, 从而逆转 I/R 损伤引起的损伤。白脂素对线粒体的保护作用还逆转了再灌注过程中 ROS 爆发引起的氧化应激损伤, 中断了死亡信号的传递, 从而维持了心肌细胞的能量供应。

在正常条件下, 线粒体自噬通过清除受损线粒体来维持线粒体稳态, 从而减少 ROS 的产生并防止脂质过氧化。然而, 当线粒体功能受损时, 如在 H/R 损伤期间, ROS 的产生增加, 导致脂质过氧化和铁死亡。例如, Lin 等人发现, 通过 BNIP3 介导和 PINK1-PARK2 介导的线粒体自噬, 可以通过 ROS/HO-1/GPx4 轴保护肾小管上皮细胞[19]。同样, Chen 等人表明, 在糖尿病心肌病条件下, 促进 Parkin 依赖的线粒体自噬可以保护心肌细胞[20]。Wang 等人证明了线粒体自噬可以促进谷胱甘肽的产生, 谷胱甘肽是一种重要

的抗氧化剂, 可以中和 ROS 并防止脂质过氧化[21]。在我们的研究中, 我们使用氯喹抑制细胞中的线粒体自噬, 发现白脂素的保护作用被抑制。这些发现表明, 白脂素通过促进 PINK1 相关的线粒体自噬, 恢复了细胞内正常的线粒体功能, 降低了 H/R 损伤引起的细胞内 ROS 水平, 最终恢复了细胞活性。

5. 结论

我们已经验证了白脂素对 H/R 损伤后心肌细胞的保护作用。这一效应的潜在机制可能涉及白脂素促进 H/R 损伤后心肌细胞中 PINK1 相关的线粒体自噬, 进而抑制细胞氧化应激, 保护细胞线粒体, 并最终保护心肌细胞。需要进一步的证据来阐明白脂素与铁死亡之间关系的具体机制。

致 谢

本研究获得山东省自然科学基金(ZR2023MH268)资助。

伦理审查

本研究获得青岛市市立医院伦理委员会批准(审批号: 2025-KTLL-050)。

参考文献

- [1] Basir, M.B., Lemor, A., Gorgis, S., Taylor, A.M., Tehrani, B., Truesdell, A.G., *et al.* (2021) Vasopressors Independently Associated with Mortality in Acute Myocardial Infarction and Cardiogenic Shock. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, **99**, 650-657. <https://doi.org/10.1002/ccd.29895>
- [2] Yellon, D.M. and Hausenloy, D.J. (2007) Myocardial Reperfusion Injury. *New England Journal of Medicine*, **357**, 1121-1135. <https://doi.org/10.1056/nejmra071667>
- [3] Kobayashi, M., Suhara, T., Baba, Y., Kawasaki, N.K., Higa, J.K. and Matsui, T. (2018) Pathological Roles of Iron in Cardiovascular Disease. *Current Drug Targets*, **19**, 1068-1076. <https://doi.org/10.2174/1389450119666180605112235>
- [4] Romere, C., Duerschmid, C., Bournat, J., Constable, P., Jain, M., Xia, F., *et al.* (2016) Asprosin, a Fasting-Induced Glucogenic Protein Hormone. *Cell*, **165**, 566-579. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.02.063>
- [5] Zhang, Z., Zhu, L., Wang, Z., Hua, N., Hu, S. and Chen, Y. (2023) Can the New Adipokine Asprosin Be a Metabolic Troublemaker for Cardiovascular Diseases? A State-of-the-Art Review. *Progress in Lipid Research*, **91**, Article ID: 101240. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2023.101240>
- [6] Zhang, Z., Tan, Y., Zhu, L., Zhang, B., Feng, P., Gao, E., *et al.* (2019) Asprosin Improves the Survival of Mesenchymal Stromal Cells in Myocardial Infarction by Inhibiting Apoptosis via the Activated ERK1/2-SOD2 Pathway. *Life Sciences*, **231**, Article ID: 116554. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116554>
- [7] Donma, M.M. and Donma, O. (2018) Asprosin: Possible Target in Connection with Ghrelin and Cytokine Network Expression in the Post-Burn Treatment. *Medical Hypotheses*, **118**, 163-168. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2018.07.008>
- [8] Feng, J., Yang, Y., Yang, Y. and Pei, H. (2018) Gw29-e0080 the Protective Role of Asprosin against Diabetes in Cardiomyocytes. *Journal of the American College of Cardiology*, **72**, C2. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.08.012>
- [9] Wen, M., Wang, C., Yeh, J., Chen, C., Tsai, M., Ho, M., *et al.* (2020) The Role of Asprosin in Patients with Dilated Cardiomyopathy. *BMC Cardiovascular Disorders*, **20**, Article No. 402. <https://doi.org/10.1186/s12872-020-01680-1>
- [10] Zhang, H., Yang, N., He, H., Chai, J., Cheng, X., Zhao, H., *et al.* (2021) The Zinc Transporter ZIP7 (slc39a7) Controls Myocardial Reperfusion Injury by Regulating Mitophagy. *Basic Research in Cardiology*, **116**, Article No. 54. <https://doi.org/10.1007/s00395-021-00894-4>
- [11] Chen, W., Ma, M., Song, Y., Hua, Y., Jia, H., Liu, J., *et al.* (2024) Exercise Attenuates Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury by Regulating Endoplasmic Reticulum Stress and Mitophagy through M₂ Acetylcholine Receptor. *Antioxidants & Redox Signaling*, **40**, 209-221. <https://doi.org/10.1089/ars.2022.0168>
- [12] Law, B.A., Liao, X., Moore, K.S., Southard, A., Roddy, P., Ji, R., *et al.* (2018) Lipotoxic Very-Long-Chain Ceramides Cause Mitochondrial Dysfunction, Oxidative Stress, and Cell Death in Cardiomyocytes. *The FASEB Journal*, **32**, 1403-1416. <https://doi.org/10.1096/fj.201700300r>
- [13] Zhang, Y., Zhu, Z., Zhai, W., Bi, Y., Yin, Y. and Zhang, W. (2021) Expression and Purification of Asprosin in *Pichia Pastoris* and Investigation of Its Increase Glucose Uptake Activity in Skeletal Muscle through Activation of AMPK. *Enzyme and Microbial Technology*, **144**, Article ID: 109737. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2020.109737>

-
- [14] Halling, J.F. and Pilegaard, H. (2020) Pgc-1 α -Mediated Regulation of Mitochondrial Function and Physiological Implications. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, **45**, 927-936. <https://doi.org/10.1139/apnm-2020-0005>
 - [15] Li, W., He, P., Huang, Y., Li, Y., Lu, J., Li, M., *et al.* (2021) Selective Autophagy of Intracellular Organelles: Recent Research Advances. *Theranostics*, **11**, 222-256. <https://doi.org/10.7150/thno.49860>
 - [16] Nguyen, T.N., Padman, B.S. and Lazarou, M. (2016) Deciphering the Molecular Signals of PINK1/Parkin Mitophagy. *Trends in Cell Biology*, **26**, 733-744. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.05.008>
 - [17] Chen, S., Yuan, W., Huang, Q., Xiong, X., Wang, C., Zeng, W., *et al.* (2024) Asprosin Contributes to Pathogenesis of Obesity by Adipocyte Mitophagy Induction to Inhibit White Adipose Browning in Mice. *International Journal of Obesity*, **48**, 913-922. <https://doi.org/10.1038/s41366-024-01495-6>
 - [18] Prashar, A., Bussi, C., Fearn, A., Capurro, M.I., Gao, X., Sesaki, H., *et al.* (2024) Lysosomes Drive the Piecemeal Removal of Mitochondrial Inner Membrane. *Nature*, **632**, 1110-1117. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-07835-w>
 - [19] Lin, Q., Li, S., Jin, H., Cai, H., Zhu, X., Yang, Y., *et al.* (2023) Mitophagy Alleviates Cisplatin-Induced Renal Tubular Epithelial Cell Ferroptosis through ROS/HO-1/GPX4 Axis. *International Journal of Biological Sciences*, **19**, 1192-1210. <https://doi.org/10.7150/ijbs.80775>
 - [20] Chen, Z., Li, S., Liu, M., Yin, M., Chen, J., Li, Y., *et al.* (2024) Nicorandil Alleviates Cardiac Microvascular Ferroptosis in Diabetic Cardiomyopathy: Role of the Mitochondria-Localized AMPK-Parkin-ACSL4 Signaling Pathway. *Pharmacological Research*, **200**, Article ID: 107057. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2024.107057>
 - [21] Wang, D., Jiang, J., Wang, M., Li, K., Liang, H., Wang, N., *et al.* (2024) Mitophagy Promotes Hair Regeneration by Activating Glutathione Metabolism. *Research*, **7**, Article No. 0433. <https://doi.org/10.34133/research.0433>