

Sprouty2蛋白在糖尿病性心肌病中表达的研究

白雨鑫¹, 潘艳明², 李欣欣¹, 刘勇³, 周倩⁴, 吴琦¹, 郭素芬¹, 刘贵波², 成永霞^{1*}, 孙立新^{1*}

¹牡丹江医学院, 第一临床医学院病理学教研室, 黑龙江 牡丹江

²牡丹江医学院, 基础医学院解剖教研室, 黑龙江 牡丹江

³牡丹江医学院, 医学比较中心, 黑龙江 牡丹江

⁴牡丹江医学院, 基础医学院病理学与病理生理学教研室, 黑龙江 牡丹江

Email: *76992887@qq.com, *cyxgirl2003@163.com

收稿日期: 2020年12月19日; 录用日期: 2021年1月15日; 发布日期: 2021年1月22日

摘要

目的: 探究Sprouty2蛋白对糖尿病心肌病纤维化程度的影响。方法: 选取24只雄性SD大鼠随机分为正常组、DCM组、DCM + Sprouty2慢病毒干扰组, 每组8只。DCM组、DCM + Sprouty2慢病毒干扰组高糖高脂饮食喂养4周后, 腹腔注射链脲佐菌素30 mg/kg, 而正常组普通饲料喂养, 腹腔注射柠檬酸钠缓冲液, 12周时进行慢病毒转染, 16周进行超声心动图检测后处死并取材。分别进行Masson染色、天狼猩红染色、免疫组织化学和TUNEL染色。结果: 与正常组相比, DCM组、DCM + Sprouty2慢病毒干扰组血糖值升高, 而DCM + Sprouty2慢病毒干扰组与DCM组比较, 血糖进一步升高。通过超声心动图检测发现, 抑制Sprouty2蛋白表达会进一步加重心功能障碍。与正常组比较, DCM组、DCM + Sprouty2慢病毒干扰组凋亡细胞数有所增加, 而DCM + Sprouty2慢病毒干扰组的凋亡细胞量明显上升。通过病理学染色观察到, 敲低Sprouty2蛋白导致大量心肌纤维断裂, 大量炎性细胞产生, 胶原纤维表达明显升高。在免疫组化和蛋白表达上, DCM组、DCM + Sprouty2慢病毒干扰组心肌组织中 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)表达量升高, 而DCM + Sprouty2慢病毒干扰组表达更加明显。结论: 抑制Sprouty2蛋白可以促进DCM的纤维化程度, 同时促进心肌细胞凋亡。因此, 激活Sprouty2蛋白的表达可以逆转DCM。

关键词

糖尿病心肌病, Sprouty2蛋白, 心肌纤维化

The Effect of Sprouty2 Protein on Diabetic Cardiomyopathy

Yuxin Bai¹, Yanming Pan², Xinxin Li¹, Yong Liu³, Qian Zhou⁴, Qi Wu¹, Sufen Guo¹, Guibo Liu², Yongxia Cheng^{1*}, Lixin Sun^{1*}

*通讯作者。

文章引用: 白雨鑫, 潘艳明, 李欣欣, 刘勇, 周倩, 吴琦, 郭素芬, 刘贵波, 成永霞, 孙立新. Sprouty2蛋白在糖尿病性心肌病中表达的研究[J]. 临床医学进展, 2021, 11(1): 220-228. DOI: 10.12677/acm.2021.111032

¹Department of Pathology, The First Clinical Medical College, Mudanjiang Medical College, Mudanjiang Heilongjiang

²Department of Anatomy, Basic Medical College, Mudanjiang Medical College, Mudanjiang Heilongjiang

³Medical Comparison Center, Mudanjiang Medical College, Mudanjiang Heilongjiang

⁴Department of Pathology and Pathophysiology, Basic Medical College, Mudanjiang Medical College, Mudanjiang Heilongjiang

Email: *76992887@qq.com, *cyxgirl2003@163.com

Received: Dec. 19th, 2020; accepted: Jan. 15th, 2021; published: Jan. 22nd, 2021

Abstract

Object: To investigate the effect of Sprouty2 protein on the degree of fibrosis in diabetic cardiomyopathy. **Methods:** Twenty-four male SD rats were randomly divided into the normal group, the DCM group and the DCM + Sprouty2 lentiviral interference group, with 8 rats in each group. After 4 weeks of high-sugar and high-fat diet feeding in the DCM and DCM + Sprouty2 lentiviral interference groups, streptozotocin 30 mg/kg was intraperitoneally injected, while the normal group was fed with normal diet and intraperitoneally injected with sodium citrate buffer, lentiviral transfection was performed at 12 weeks, and echocardiography was performed at 16 weeks before sacrifice and sampling. Masson staining, Sirius red staining, immunohistochemistry and TUNEL staining were performed, respectively. **Result:** Compared with the normal group, the blood glucose values were increased in the DCM and DCM + Sprouty2 lentiviral interference groups, while the blood glucose was further increased in the DCM + Sprouty2 lentiviral interference group compared with the DCM group. Inhibition of Sprouty2 protein expression further aggravates cardiac dysfunction as detected by echocardiography. Compared with the normal group, the number of apoptotic cells increased in the DCM and DCM + Sprouty2 lentiviral interference groups, while the amount of apoptotic cells increased significantly in the DCM + Sprouty2 lentiviral interference group. As observed by pathological staining, knockdown of Sprouty2 protein resulted in fragmentation of a large number of myocardial fibers, production of a large number of inflammatory cells, and markedly elevated collagen fiber expression. In immunohistochemistry and protein expression, the expression of α -smooth muscle actin (α -SMA) and vimentin in myocardial tissue was increased in the DCM and DCM + Sprouty2 lentiviral interference groups, while the expression was more pronounced in the DCM + Sprouty2 lentiviral interference group. **Conclusion:** Inhibition of Sprouty2 protein can promote the degree of fibrosis and myocardial apoptosis in DCM. Thus, activating the expression of Sprouty2 protein could reverse DCM.

Keywords

Diabetic Cardiomyopathy, Sprouty2 Protein, Myocardial Fibrosis

Copyright © 2021 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

目前全世界大约有 4.25 亿糖尿病患者,患病率为 8.8%,且数据在进一步增加[1]。有数据显示,超过半数的糖尿病患者死于相关心血管疾病并发症[2]。糖尿病性心肌病已经成为糖尿病患者最主要的致死因素。近来的研究[3][4]发现,糖尿病心肌中发生的脂质代谢紊乱、线粒体损伤、氧化应激等,最终都会

引发心肌纤维化而导致心力衰竭[5]。

研究表明, Sprouty 蛋白表达的变化, 可导致 RTK 等信号通路异常, 引起组织生长发育失调、细胞异常增生及转化, 从而在各种疾病的发生及疾病发展中具有重要的调控作用。

其中 Sprouty2 的过表达能够抑制血管内皮细胞的增殖, 参与心血管系统病变。综上所述, 本实验将首次研究 Sprouty2 在糖尿病性心肌中的表达, 证实其是否参与了糖尿病性心肌病心肌纤维化的病变发展。同时, 本实验采用 Sprouty2 干扰, 进一步观察 DCM 的纤维化程度变化, 明确 Sprouty2 是促进或是抑制 DCM 的进展, 为深化糖尿病性心肌病纤维化提供理论依据。

2. 材料与方法

2.1. 实验材料

2.1.1. 实验动物

选择购自辽宁长生生物有限公司的 SPF 级雄性大鼠(6 周龄)共 24 只, 体重(200 ± 20) g。在牡丹江医学院动物房进行饲养, 自由摄取饲料和水, 湿度和温度在正常范围, 12 h 循环光暗交替。常规适应性喂养 1 周, 将大鼠按每笼 3 只随机分配, 本实验已经通过牡丹江医学院动物伦理委员会审查并获得批准。

2.1.2. 实验试剂与仪器

链脲佐菌素(STZ)(美国 Sigma 公司), 高脂高糖饲料(成分包括胆固醇、玉米淀粉、蔗糖、纤维素、豆油等)购自小泰有泰(北京)生物科技有限公司, 维持饲料由辽宁长生生物技术股份有限公司加工制备。Masson 染色试剂盒和天狼猩红染色液购自北京索莱宝科技有限公司。TUNEL 染色试剂盒(碧云天生物技术公司)。 α -SMA 单克隆抗体(碧云天生物技术公司), Sprouty2 慢病毒 shRNA (沈阳万类生物科技有限公司)。血糖测试仪和血糖试纸(上海罗氏公司), 石蜡切片机(德国 Leica 公司), 正置显微镜(德国 Leica 公司)。

2.2. 实验方法

2.2.1. 动物分组与模型制备

将 24 只 SD 大鼠随机分组, 按每 3 只大鼠一笼进行喂养, 实验分组为正常大鼠(NC 组)、糖尿病心肌病大鼠(DCM 组)、糖尿病心肌病大鼠 + Sprouty2 慢病毒干扰组(DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组)。正常组大鼠进行普通饲料喂养, 而剩余其他组别大鼠进行高脂高糖饮食, 自由饮水[6]。高脂条件下持续喂养 4 周后, 将 NC 组、DCM 组和 DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组进行单次腹腔注射链脲佐菌素 $stz30$ mg/kg, 其余大鼠腹腔注射柠檬酸钠缓冲液。之后经尾静脉采血测量, 当空腹血糖大于 ≥ 11.1 mmol/L 时并且连续测量 2 至 3 天, 建立 2 型糖尿病模型, 喂养直至 12 周然后用 Sprouty2 慢病毒对模型组大鼠进行转染, 1×10^8 TU 慢病毒 shRNA 溶于 50μ L PBS 中制成溶液经尾静脉转染, 在 16 周进行超声心动图测定并处死取材。

2.2.2. 空腹血糖测量

将各组大鼠夜间禁食 12 小时, 饮水正常, 经尾静脉取血测量并记录。为了比较各组大鼠转染前后血糖, 每间隔 7 天测量一次。

2.2.3. 超声心动图

用水合氯醛腹腔注射对各组大鼠进行麻醉, 之后将大鼠置于仰卧位剪去胸毛, 采用 Esaote 超声成像系统, 在转染后 4 周对大鼠进行心功能测量, 测量指标包括左心室射血分数(ejection fraction, EF)和左心室短轴缩短(shortening fraction, FS)。

2.2.4. HE 染色

将各组大鼠处死后取材，放置在 4%多聚甲醛固定，脱水之后进行石蜡包埋，切片烘片：1) 二甲苯浸泡 10 min；2) 逆向梯度乙醇脱水各 5 min；3) 蒸馏水清洗；4) 苏木素染液 10 min；5) 过水，盐酸乙酸稍浸泡；6) 过水 3 min；7) 氨水处理 30 s；8) 滴加伊红；9) 再次顺浓度酒精脱水；10) 二甲苯浸泡 2 次；11) 封固并拍照。

2.2.5. Masson 染色

切片 5 μ m, 烘片 3 到 4 小时：1) 二甲苯浸泡 10 min；2) 逆向梯度乙醇脱水各 5 min；3) 蒸馏水洗 5 min；4) 加入 Bouin 液，于温室作用 3 h，蒸馏水冲洗；5) 天青石蓝染色，稍水洗；6) 苏木素染液 5 min，水洗数秒；7) 丽春红品红染色液滴染 10 min，水洗数秒；8) 滴加磷钼酸溶液 10 min；9) 滴入苯胺蓝染色液 5 min；10) 弱酸溶液处理 2 min，反复两次；11) 乙醇脱水 10 s；12) 二甲苯 5 min；13) 中性树脂胶封固并拍照。

2.2.6. 天狼猩红染色

将心肌组织切片 5 μ m，烘片 4 个小时：1) 二甲苯浸泡 10 min；2) 梯度酒精脱水各 5 min；3) 蒸馏水洗 5 min；4) 天狼星红染液浸泡 1 h；5) 醋酸溶液浸泡数秒；6) 顺浓度酒精脱水；7) 中性树脂盖片；8) 显微镜下观察并拍照。

2.2.7. 免疫组织化学

将心肌组织切片 5 μ m，65 $^{\circ}$ C 烘片 4 个小时：1) 二甲苯 I 浸泡 5 min，二甲苯 II 浸泡 5 min；2) 逆向浓度乙醇脱水各 5 min；3) 蒸馏水清洗；4) 抗原修复，在 3% H₂O₂ 溶液中浸泡 10 min，一蒸水清洗；5) 80%乙醇溶液 5 min；6) 在煮沸的柠檬酸钠溶液中保温 15 min，冷却 2 h；7) PBS 溶液洗 2~3 次，每次 5 min；8) 5% BSA 溶液封闭 1 h；9) 滴加一抗，4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜；10) 再次 PBS 溶液清洗；11) 滴加二抗，PBS 溶液清洗 3 次；12) 显色液显色 5~10 min；13) 苏木素染色；14) 顺浓度乙醇脱水，封片并显微镜下观察。

2.2.8. TUNEL 染色

1) 二甲苯脱蜡 10 min；2) 更换二甲苯脱蜡 10 min；3) 100%乙醇浸泡 5 min；4) 90%、70%乙醇浸泡 5 min；5) 水洗；6) 滴加蛋白酶 K 溶液，室温 30 min；7) PBS 溶液清洗 3 次；8) 滴加 TUNEL 检测液，室温避光 60 min；9) PBS 溶液清洗；10) 封片并在荧光显微镜下观察。

2.2.9. 统计学方法

实验数据采用 SPSS25.0 软件进行分析，多个组别间采用单因素方差分析(One Way ANOVA)。组间比较进行方差分析时，采用 LSD 检验。认为 $p < 0.05$ 差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. 血糖

正常组大鼠进食量和饮水量均正常，排尿排便正常，生理情况良好。与正常组比较，糖尿病心肌病大鼠后期精神状态明显欠佳，饮血量增加，排尿量增加，且部分大鼠尿中带有强烈的酮味，生理情况较差。如表 1 所示，正常组大鼠空腹血糖均维持在正常值范围内(3.9~6.1)，并且转染前后血糖无明显波动。与 NC 组相比，DCM 组大鼠空腹血糖在转染前均已大于 11.1 mmol/L，符合糖尿病血糖升高的表现，并且在转染后随着时间的进展空腹血糖值一直维持大于 11.1 mmol/L，差异有统计学意义($p < 0.05$)；与 DCM 组大鼠比较，DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组在转染后，空腹血糖值有所升高，差异有统计学意义(p

< 0.05)说明抑制 Sprouty2 的表达会加重糖尿病的症状(表 1)。

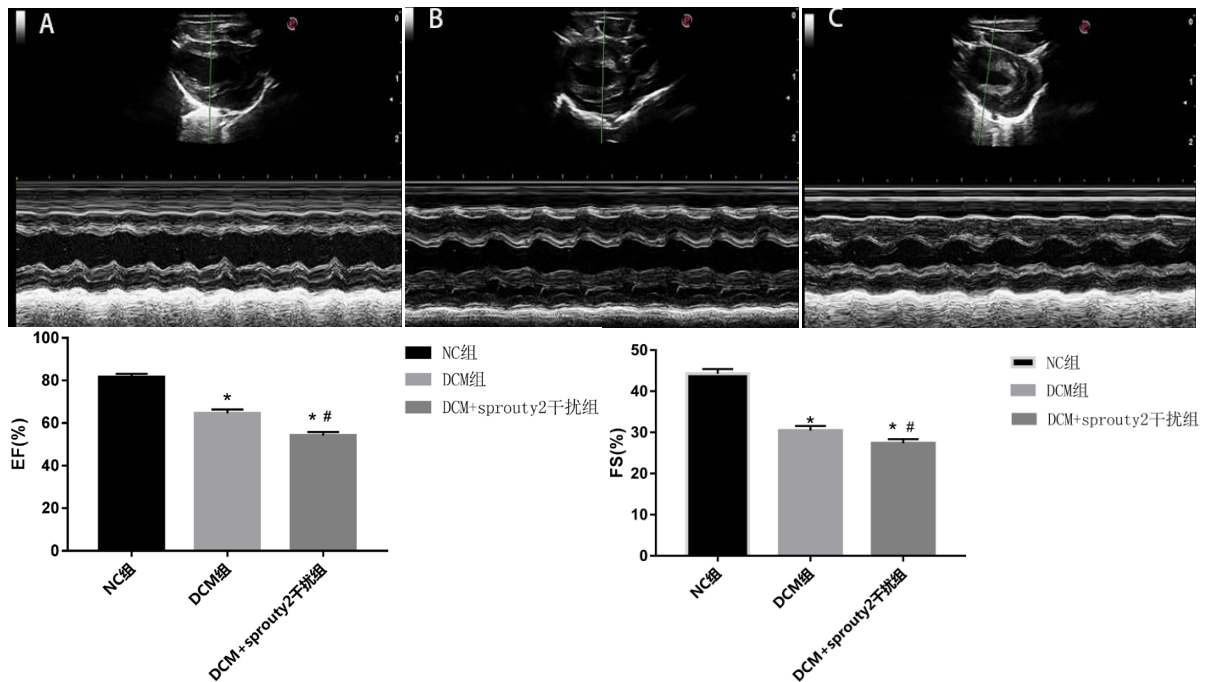
Table 1. Changes of blood glucose in rats of each group
表 1. 各组大鼠血糖变化

	n	转染前	转染后 7d	转染后 14d	转染后 21d	转染后 30d
正常组	8	5.08 ± 0.06	5.26 ± 0.09	5.21 ± 0.15	5.27 ± 0.19	5.28 ± 0.17
DCM 组	8	24.01 ± 0.19*	23.92 ± 0.15*	23.81 ± 0.18*	23.90 ± 0.18*	23.98 ± 0.11*
DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组	8	23.71 ± 0.21*	23.83 ± 0.19*#	24.77 ± 0.15*#	27.02 ± 1.84*#	29.21 ± 1.96*#

注：与正常组比较，*p < 0.05 有统计学意义；转染前比较，#p < 0.05 有统计学意义。

3.2. EF 和 FS

与正常大鼠相比较，DCM 组和 DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组大鼠左心室射血分数 EF 和左心室短轴缩短率 FS 有所下降；与 DCM 组相比，DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组大鼠心肌左心室射血分数 EF 和左心室短轴缩短率 FS 又进一步下降，差异有统计学意义(p < 0.05) (图 1，表 2)。



注：图 A 为 NC 组；图 B 为 DCM 组；图 C 为 DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组(×200)

Figure 1. Echocardiographic changes in each group of rats
图 1. 各组大鼠超声心动图变化

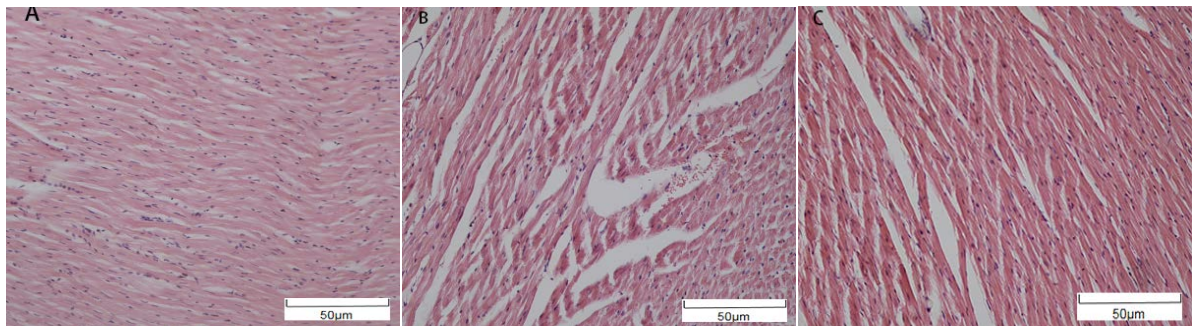
Table 2. Changes of cardiac function in each group
表 2. 各组大鼠心功能变化情况

	n	EF (%)	FS (%)
正常组	8	81.51 ± 1.16	44.28 ± 1.19
DCM 组	8	64.78 ± 2.83*	30.43 ± 1.26*
DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组	8	60.59 ± 1.46*#	27.33 ± 1.04*#

注：与正常组比较，*p < 0.05 有统计学意义；与 DCM 组比较，#p < 0.05 有统计学意义。

3.3. 心肌组织病理学染色

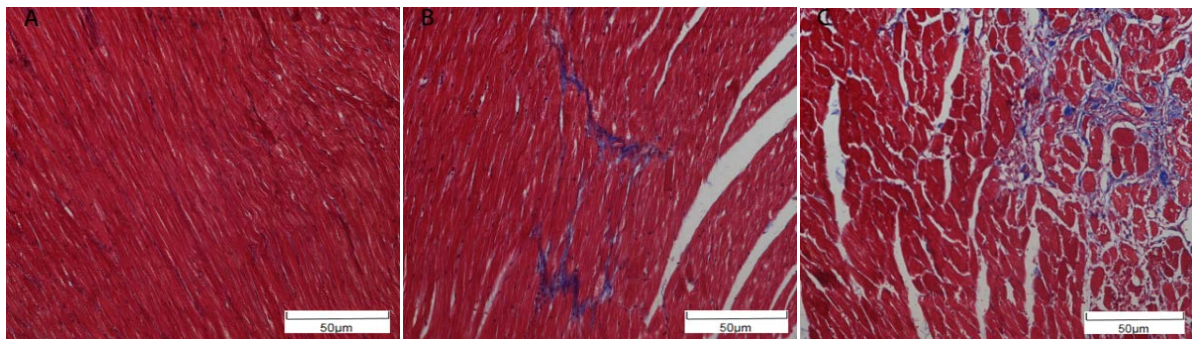
正常组大鼠心肌细胞胞质染色均匀, 心肌纤维排列较为整齐, 局部无炎性细胞聚集。而 DCM 组大鼠出现局部肌纤维断裂且排列紊乱, 出现少量炎性细胞; 与 DCM 组大鼠相比较, DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组会加重肌纤维的断裂, 出现坏死的心肌细胞(图 2)。进一步通过 Masson 染色可以观察到蓝色胶原纤维的表达, NC 组大鼠心肌组织中几乎没有胶原纤维的表达, 而 DCM 组大鼠局部出现蓝色胶原纤维, 且分布于血管周围, DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组会出现大面积胶原纤维的产生(图 3)。在天狼猩红染色上表现出, 抑制 Sprouty2 蛋白的表达会促进胶原纤维的产生, 从而加重心肌纤维化(图 4)。



注: 图 A 为 NC 组; 图 B 为 DCM 组; 图 C 为 DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组($\times 200$)

Figure 2. HE staining was used to observe the changes of myocardial structure

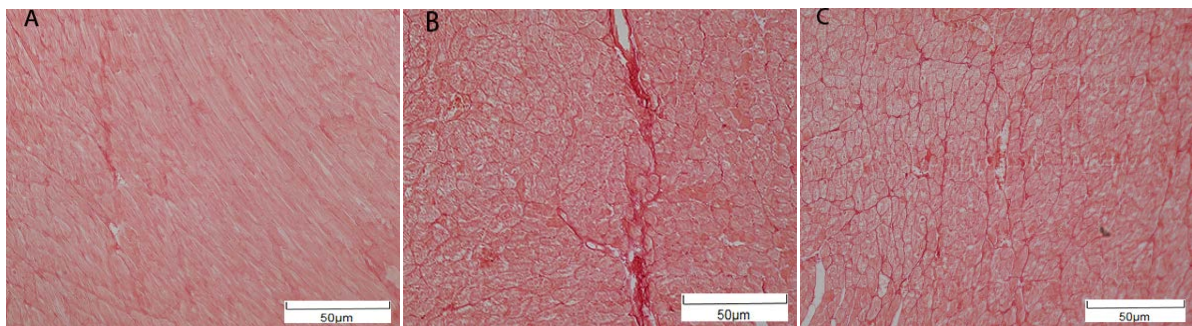
图 2. HE 染色观察各组大鼠心肌结构变化



注: 图 A 为 NC 组; 图 B 为 DCM 组; 图 C 为 DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组($\times 200$)

Figure 3. Masson observation of changes in collagen fibers

图 3. Masson 观察胶原纤维的变化



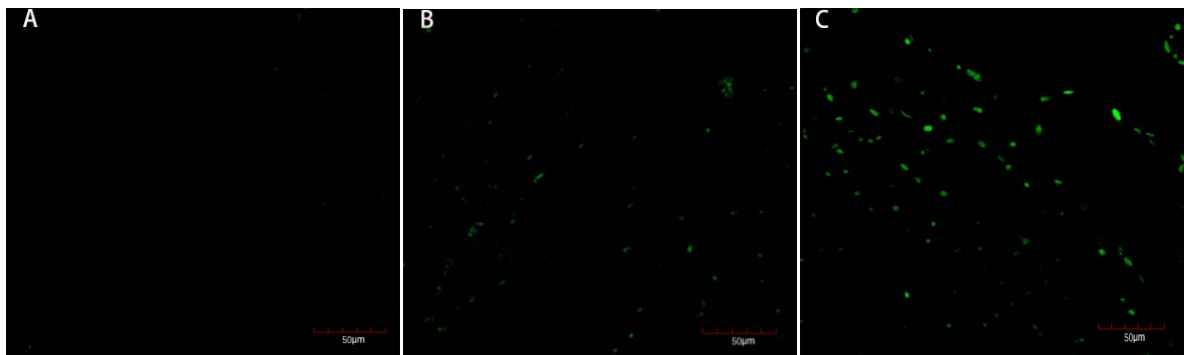
注: 图 A 为 NC 组; 图 B 为 DCM 组; 图 C 为 DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组($\times 200$)

Figure 4. Picrosirius red staining was used to observe the changes of collagen fibers

图 4. 天狼猩红染色观察胶原纤维的变化

3.4. TUNEL

在 TUNEL 染色中凋亡细胞表现为荧光绿色，在 NC 组心肌组织中有少量的凋亡细胞，而在 DCM 组中凋亡细胞数量有所上升，进一步观察，DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组中凋亡细胞数量明显增多，说明抑制 Sprouty2 蛋白的表达会促进心肌细胞的凋亡(图 5)。



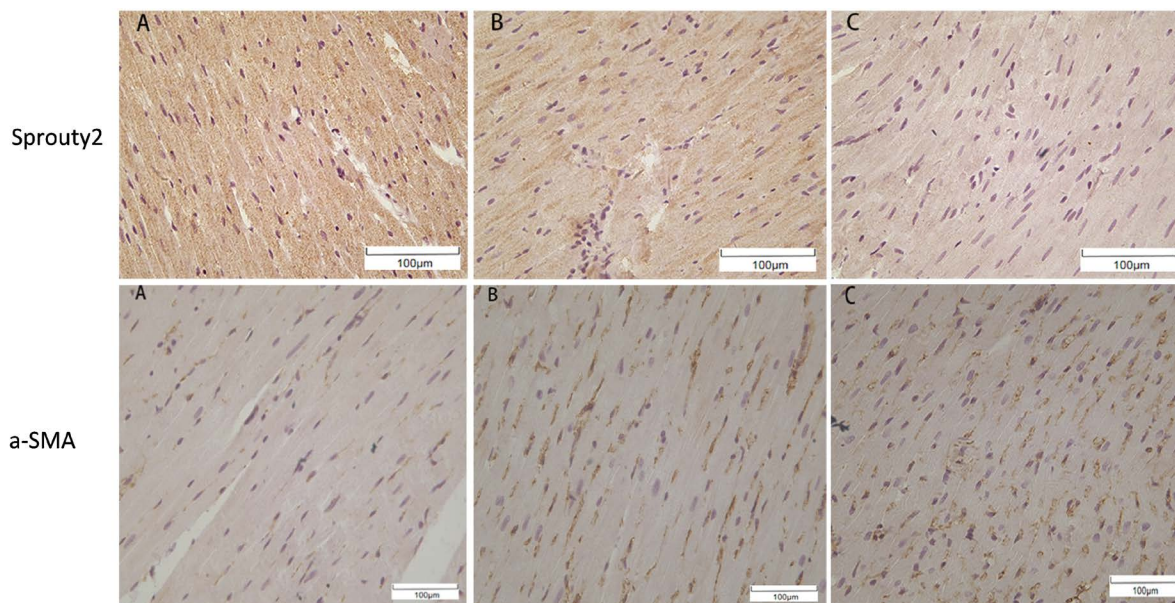
注：图 A 为 NC 组；图 B 为 DCM 组；图 C 为 DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组

Figure 5. Changes of TUNEL staining in rats of each group

图 5. 各组大鼠 TUNEL 染色变化情况

3.5. Sprouty2 及 α -SMA

与正常的心肌组织相比，DCM 组和 DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组大鼠心肌组织中 α -SMA 表达明显增加，Sprouty2 蛋白表达量下降，而与 DCM 组相比较， α -SMA 表达有所上调，Sprouty2 蛋白进一步下降。以上结果说明 DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组转染成功，并且下调 Sprouty2 蛋白的表达会导致心肌纤维化的加重(图 6)。



注：图 A 为 NC 组；图 B 为 DCM 组；图 C 为 DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组($\times 400$)

Figure 6. Changes of immunohistochemical staining in rats of each group

图 6. 各组大鼠免疫组化染色的变化情况

4. 讨论

糖尿病心肌病的发病率和病死率不断上升,已然成为糖尿病患者危及生命的主要原因[7]。糖尿病心肌病会导致一系列影响心功能的改变,包括早期出现心肌结构和心肌细胞的坏死,会出现左心室心肌肥大,心肌硬度增加,舒张功能障碍,而晚期进展出现收缩功能异常,导致心力衰竭严重的会发生猝死[8],如今研究认为高血糖导致的心肌细胞凋亡、线粒体结构功能异常导致活性氧的产生而加重心肌损伤[9],进而促进胶原蛋白的生成引发心肌纤维化,是糖尿病性心肌病最具特征性的病理变化。本实验首先通过对 SD 大鼠高脂饮食后腹腔注射 STZ 的方式建造 2 型糖尿病模型,4 周后 DCM 组大鼠空腹血糖升高,大鼠其他一般情况也符合 2 型糖尿病的特征,说明糖尿病模型成功。对大鼠心功能进行检测,与正常组相比,DCM 组出现心肌肥厚,左心室射血分数和左心室短轴缩短率明显下降,证明发展为糖尿病心肌病。

Sprouty 蛋白参与增殖、运动、存活等多种病理过程,可以改善心肌肥大[10],抑制内皮细胞和血管平滑肌细胞增殖、转化及新生血管形成[11]。Sprouty 蛋白大致分为四种亚型[12]: Sprouty1-4, Sprouty 蛋白最早是在果蝇身上提取得到的,被发现作为抑制 Ras/MAPK 的信号通路的特异性蛋白,依赖其高度的保守性来参与各种疾病的调控[13],主要参与肿瘤细胞的产生、迁移、浸润及增殖。同时研究发现 Sprouty 蛋白对心血管系统具有一定的影响,其家族中 Sprouty1 通过降低 ERK 通路去磷酸化修饰程度抑制 ERK 通路的激活从而阻止心肌肥厚的进一步发展,而 Sprouty2 过表达抑制血管内皮细胞的增殖。在本研究中,DCM 组大鼠 Sprouty2 蛋白表达降低,说明糖尿病性心肌病的发生影响其表达。为进一步探讨 Sprouty2 对于 DCM 纤维化的作用,通过慢病毒转染来抑制 Sprouty2 蛋白的表达,结果发现 DCM + Sprouty2 慢病毒干扰组与 DCM 比较空腹血糖值进一步升高,心功能射血分数和短轴缩短率下降,进而通过病理学染色观察到抑制其表达加重心肌纤维断裂,出现炎性细胞,胶原纤维表达明显增加。在 TUNEL 凋亡实验中,与 DCM 组心肌细胞相比,凋亡细胞增多,在免疫组化和蛋白表达水平发现 α -SMA 表达显著增强。

综上所述,降低 Sprouty2 的表达会促进糖尿病心肌病的发展,可能通过促进心肌细胞的凋亡和心肌纤维化而发生,本实验结果丰富了 Sprouty2 蛋白的作用范畴,同时也充实了 DCM 的发生机制,其中的具体机制有待进一步探究。

基金项目

2019 年度牡丹江医学院研究生创新科研项目(2019YJSCX-08MY); 2018 年度黑龙江省省属高等学校基本科研业务费科研项目(2018-KYYWFMY-0025); 2020 年度黑龙江省省属高等学校基本科研业务费科研项目(2020-KYYWF-0813, 2020-KYYWF-0780); 2020 年度牡丹江医学院研究生创新科研项目(2020YJSCX-MY37)。

参考文献

- [1] Gao, W., Wang, J., et al. (2019) Application of Metabonomics in Diabetic Research. *Scientific and Technological Innovation*, 10, 47-48.
- [2] Mann, D.L. (2011) The Emerging Role of Innate Immunity in the Heart and Vascular System: for Whom the Cell Tolls. *Circulation Research*, 108, 1133-1145. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.226936>
- [3] Wang, S., Li, D. and Liu, O. (2019) Progress in Improving Myocardial Fibrosis Caused by Disease by Exercise. *Chinese Journal of Sports Medicine*, 38, 220-227.
- [4] 王刚, 杨波. 糖尿病心肌纤维化的机制及干预[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2013, 5(6): 669-670.
- [5] Xu, N. and Bai, S. (2019) Research Progress on the Pathogenesis of Diabetic Cardiomyopathy. *Medical Recapitulate*, 25, 520-523.
- [6] 侯丽萍, 宋光耀, 甄云凤. 利拉鲁肽对 2 型糖尿病大鼠的保护作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 22(36): 3734-3738.

-
- [7] Zimmet, P, Alberti, K.G., Magliano, D.J., *et al.* (2016) Diabetes Mellitus Statistics on Prevalence and Mortality: Facts and Fallacies. *Nature Reviews Endocrinology*, **12**, 616-622. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.105>
- [8] Lee, W.S. and Kim, J. (2017) Diabetic Cardiomyopathy: Where We Are and Where We Are Going. *Korean Journal of Internal Medicine*, **32**, 404-421. <https://doi.org/10.3904/kjim.2016.208>
- [9] 陈刚, 林丽香, 庄维特, 等. 糖尿病性心肌病大鼠心肌组织中氧化应激相关基因和能量代谢相关基因的表达及意义[J]. 中国糖尿病杂志, 2003, 11(3): 196-199.
- [10] Yuan, Y., Yan, L., *et al.* (2016) Mnk1(Mitogen-Activated Protein Kinase—Interacting Kinase 1) Deficiency Aggravates Cardiac Remodeling in Mice. *Hypertension*, **68**, 1393-1399. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07906>
- [11] Mason, J.M., Morrison, D.J., Basson, M.A., *et al.* (2006) Sprouty Proteins: Multifaceted Negative-Feedback Regulators of Receptor Tyrosine Kinase Signaling. *Trends in Cell Biology*, **16**, 45-54. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2005.11.004>
- [12] Hacohen, N., Kramer, S., Sutherland, D., *et al.* (1998) Sprouty Encodes a Novel Antagonist of FGF Signaling That Patterns Apical Branching of the Drosophila Airways. *Cell*, **92**, 253-263. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80919-8](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80919-8)
- [13] Masoumi-Moghaddam, S., Amini, A. and Morris, D.L. (2014) The Developing Story of Sprouty and Cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, **33**, 695-720. <https://doi.org/10.1007/s10555-014-9497-1>