

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.014.003
文章编号: 1005-8982 (2018) 014-0013-06

高糖条件下致钙信号改变的机制研究

赵灿, 吴永全

(首都医科大学附属北京友谊医院 心脏中心, 北京 100050)

摘要:目的 探讨高糖对大鼠心房肌钙信号的影响及其机制。**方法** 分离大鼠心房肌细胞, 分成 2 部分: 第 1 部分分左旋葡萄糖 (LG) 组、正常葡萄糖 (NG) 组、高葡萄糖 (HG) 组、HG+尿酸组; 第 2 部分分过氧化亚硝基阴离子 (ONOO⁻) 组、分解后 ONOO⁻ (DC-ONOO⁻) 组、ONOO⁻+尿酸组。观察钙瞬变、钙通道蛋白 RYR2、钙调控蛋白 FKBP12.6 的变化。**结果** HG 组的钙瞬变幅度较 NG 组高, ONOO⁻ 增加钙释放, 尿酸可以减弱其效应; HG 组和 ONOO⁻ 组 RYR2 蛋白的表达降低, 尿酸可抑制 HG 和 ONOO⁻ 导致的 RYR2 蛋白表达效应, 高糖可调控 RYR2 蛋白上游调控分子 FKBP12.6 的表达。**结论** ①高糖及 ONOO⁻ 增加钙释放, 氧化应激抑制因子—尿酸减少钙释放; ②高糖减少 RYR2 表达, 尿酸可以抑制其效应; ③高糖可以通过氧化应激调控 RYR2 上游信号通路分子 FKBP12.6, 从而调控钙信号。

关键词: 钙信号; 心房肌细胞; 氧化应激

中图分类号: R541.7

文献标识码: A

Mechanism of calcium signal change under condition of high glucose

Can Zhao, Yong-quan Wu

(Department of Cardiology, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University,
Beijing 100050, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of high glucose on calcium signals of atrial myocytes and its mechanism. **Methods** The experiment based on isolated atrial myocytes of rats were divided into two parts. The first section included L-glucose (LG), normal glucose (NG), high glucose (HG) and HG+uric acid groups. The second section included ONOO⁻, DC-ONOO⁻, and ONOO⁻+uric acid groups. The changes of calcium transient, calcium channel protein RYR2 and its regulatory protein FKBP12.6 were observed. **Results** Ca²⁺ transient amplitude was larger in the HG group compared with the NG group. Application of uric acid significantly decreased the Ca²⁺ transient amplitude whereas exposure of myocytes to ONOO⁻ markedly increased it. The expression of RYR2 in the HG and ONOO⁻ groups was decreased, uric acid inhibited the effect of HG and ONOO⁻ on RYR2 expression. High glucose regulated the expression of FKBP12.6 in the upstream of RYR2 protein. **Conclusions** High glucose and ONOO⁻ increase the release of Ca²⁺, application of uric acid significantly decreases the amplitude of Ca²⁺ transient. Incubation in high glucose decreases the expression of RYR2 protein, whereas uric acid increases the amount of RYR2 in atrial myocytes. High glucose-induced oxidative stress can regulate the upstream signaling pathways of RYR2 named FKBP12.6.

Keywords: calcium signal; atrial myocyte; oxidative stress

我国成人糖尿病的患病率高达 9.7%^[1], 糖尿病是心房颤动 (以下简称房颤) 的独立危险因素^[2-3]。房

颤可促使心脏电生理及结构改变^[4]。糖尿病与房颤高度相关^[5-7], 但其致房颤的机制还不清楚。糖尿病可以

收稿日期: 2016-11-17

[通讯作者] 吴永全, E-mail: wuyongquan1@126.com

导致心肌收缩功能异常^[8-9], 这与钙信号异常相关^[10]。房颤也与钙信号密切相关^[11]。氧化应激是两者机制联系的一个切合点, 心脏钙通道雷诺定受体 (ryanodine receptor, RYR) 是氧化应激的靶点, 因此糖尿病高血糖可能通过氧化应激影响钙信号^[12]。本实验旨在研究高糖对钙信号的影响及其机制。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

清洁级雄性 SD 大鼠, 1 ~ 3 日龄, 体重 (5.75 ± 0.33) g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。

1.2 主要试剂

荧光染料 fluo-4 (中国科学院生物物理研究所), L-Glucose、胰酶、I 型胶原酶、尿酸购自美国 Sigma 公司, α -actin 一抗 (美国 Santa 公司), α -actin 二抗 (杭州华安生物公司), BCA 试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司), RYR2 一抗 (美国 Millipore 公司), RYR2 二抗 (英国 Abcam 公司), FKBP12.6 一抗 (美国 Proteintech Group 公司), β -actin (美国 Epitomics 公司), 4% 多聚甲醛 (武汉博士德生物工程有限公司)。

1.3 细胞培养

无菌条件下, 取出 1 ~ 3 日龄 SD 大鼠心房组织, 用 PBS 清洗该组织块 2 次, 然后将组织剪成约 1 mm × 1 mm × 1 mm 大小; 加入 4 ml 酶消化液 (0.1% 胰酶和 0.1% I 型胶原酶), 混悬 10 s, 37℃ 条件下消化 10 min, 用滴管吹打制成单细胞悬液, 自然沉淀并收集上清, 用含 10% FBS 培养基终止消化后放置于 4℃ 环境中。剩下的组织再加入 3 ~ 4 ml 酶消化液, 混悬 10 s, 37℃ 条件下消化 10 min, 按上述方法收集上清并终止消化后放置于 4℃ 条件下, 重复该步骤 2、3 次, 直至组织完全被消化。用 200 目不锈钢筛网过滤细胞消化液, 1 200 r/min 离心 10 min, 弃上清, 用含 10% FBS 的 DMEM/F12 培养基混悬沉淀细胞, 接种于 25 cm² 培养瓶, 放置于 37℃、5% 二氧化碳 CO₂ 培养箱, 差速贴壁 1 h 后, 吸出培养基, 按实验需要接种于 6 孔板中继续培养。

1.4 实验分组

1.4.1 第 1 部分 实验分为 4 组: 左旋葡萄糖 (L-glucose, LG) 组 (5.5 mol 右旋葡萄糖 + 17.5 mol 左旋葡萄糖)、正常葡萄糖 (normal glucose, NG) 组 (5.5 mol

右旋葡萄糖)、高葡萄糖组 (high glucose, HG) 组 (23.0 mol 右旋葡萄糖)、HG+ 尿酸组 (100 μ mol 尿酸)。

1.4.2 第 2 部 实验分为 3 组: ① 过氧化亚硝基阴离子 (ONOO⁻) 组: 5.5 mol 右旋葡萄糖孵育 48 h 后, 给予 5 μ mol ONOO⁻ 刺激 6 h; ② 分解后的过氧化亚硝基阴离子 (DC-ONOO⁻) 组: 5.5 mol 右旋葡萄糖孵育 48 h 后, 给予 5 μ mol DC-ONOO⁻ 刺激 6 h; ③ ONOO⁻+ 尿酸组: 5.5 mol 右旋葡萄糖孵育 48 h 后, 予以 100 μ mol 尿酸预处理 6 h, 再给予 5 μ mol ONOO⁻ 刺激 6 h。

1.5 大鼠心房肌细胞的培养

待心房肌细胞生长至 80% 融合时, 弃培养基, 用温育的 PBS 冲洗细胞 2 次, 在室温下用 4% 多聚甲醛固定细胞。用 PBS 冲洗细胞, 在 4℃ 条件下, 用 0.1% Triton X-100 透膜 15 min, 洗涤细胞, 4% BSA 封闭细胞 30 min。加入按比例稀释的 α -actin 一抗, 在 4℃ 冰箱中孵育细胞过夜。洗涤细胞加入 α -actin 二抗, 37℃ 条件下放置 1 h。再次洗涤细胞后在倒置荧光显微镜 (日本 Olympus 公司) 下观察图像。

1.6 钙瞬变的测定

将心肌单细胞与 10 μ mol/L 钙荧光指示剂 Fluo-4 AM (上海赛默飞世尔科技有限公司) 共同孵育, 细胞外液灌流。将孵育好的心肌细胞置入 LSM-Pascal 型激光扫描共聚焦显微镜 (德国 Zeiss 公司) 的载物台上, 用温育好的细胞外液覆盖, 在镜下进行观察。调节激光共聚焦显微镜为线扫描的成像方式, 观察钙瞬变, 通过 MATLAB 7.0 软件分析, 得出钙瞬变的特征。

1.7 Western blot 检测

Western blot 检测大鼠心房肌细胞 RYR2、FKBP12.6。将提取的心房肌蛋白用 BCA 蛋白定量试剂盒定量, 取 45 μ l 蛋白上样到 10% SDS-PAGE 凝胶电泳。将凝胶上的蛋白转移至 PVDF 膜, 用 5% 脱脂奶粉 + TBST 在摇床上封闭 1 h, 加入相应一抗 4℃ 孵育过夜, 洗涤后加入二抗, 室温孵育 1 h, TBST 洗膜后加入 ECL 试剂、曝光、显影、定影、冲洗胶片及对胶片进行扫描分析。

1.8 统计学方法

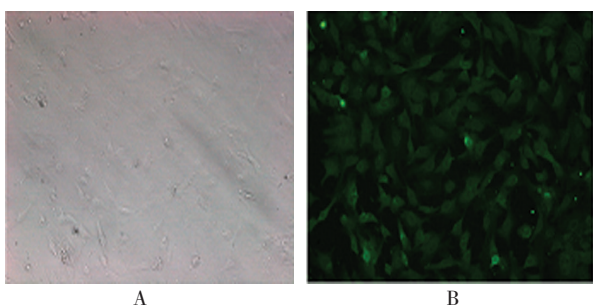
数据分析采用 SPSS 13.0 统计软件, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用单因素方差分析, 两两比较用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠心房肌细胞的鉴定

大鼠心房肌细胞培养 48 h 后, 倒置相差显微镜下单个心房肌细胞呈扁平形、梭形、杆状, 某些细胞在贴壁后形成三角形, 顶部突出, 在部分视野中可观察到自发性搏动的细胞, 采用免疫细胞化学鉴定, 确定为大鼠心房肌细胞。见图 1。

与阴性对照 (见图 1A) 相比, 加入 α -actin 蛋白的大鼠心房肌细胞在胞膜和胞浆中均呈绿色荧光 (见图 1B), 即 α -actin 检测呈阳性。



A: 明场; B: 免疫荧光
图 1 大鼠心房肌细胞 ($\times 200$)

2.2 各组钙瞬变频率和幅度比较

2.2.1 第 1 部分 本实验观察高糖及氧化应激对大鼠心房肌细胞钙瞬变幅度和频率的影响, 结果显示, 各组钙瞬变频率比较, 经单因素方差分析, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 各组钙瞬变幅度比较, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较经 LSD- t 检验, HG 组的钙瞬变幅度与 NG 组比较, 差异有统计学意义 ($t = 4.011, P = 0.000$), HG 组高于 NG 组; HG+ 尿酸组钙瞬变幅度为与 HG 组比较, 差异有统计学意义 ($t = 3.380, P = 0.001$), HG+ 尿酸组低于 HG 组。见表 1。

2.2.2 第 2 部分 各组钙瞬变频率比较, 经单因素方差分析, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。各组钙瞬变幅度比较, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较经 LSD- t 检验, DC-ONOO⁻ 组钙瞬变幅度与 ONOO⁻ 组比较, 差异有统计学意义 ($t = 2.808, P = 0.005$), 氧化应激刺激因子 ONOO⁻ 可促进钙的释放; ONOO⁻+ 尿酸组钙瞬变幅度与 ONOO⁻ 比较, 差异有统计学意义 ($t = 3.309, P = 0.001$), 氧化应激抑制因子尿酸可以减弱 ONOO⁻ 对钙释放的促进作用。见表 2。

表 1 第 1 部分钙瞬变频率和幅度比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	细胞数	频率	幅度
LG 组	29	7.72 \pm 5.08	2.21 \pm 0.45
NG 组	31	7.48 \pm 4.82	2.12 \pm 0.50
HG 组	29	8.10 \pm 6.02	2.66 \pm 0.60 ¹⁾
HG+ 尿酸组	38	7.50 \pm 3.96	2.22 \pm 0.53 ²⁾
F 值		0.158	6.400
P 值		0.854	0.000

注: 1) NG 组与比较, $P < 0.05$; 2) 与 HG 组比较, $P < 0.05$

表 2 第 2 部分钙瞬变频率和幅度比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	细胞数	频率	幅度
ONOO ⁻ 组	36	5.47 \pm 3.54	4.29 \pm 1.46
ONOO ⁻ + 尿酸组	33	3.94 \pm 2.96	3.28 \pm 1.28 [†]
DC-ONOO ⁻ 组	33	4.36 \pm 2.75	3.43 \pm 0.98 [†]
F 值		2.120	6.932
P 值		0.125	0.002

注: [†] 与 ONOO⁻ 组比较, $P < 0.05$

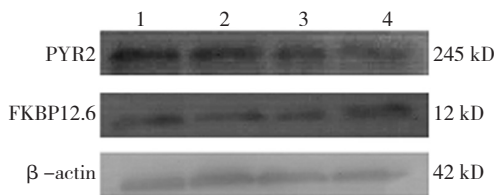
2.3 各组 RYR2 和 FKBP12.6 蛋白表达水平比较

2.3.1 第 1 部分 LG 组、NG 组、HG 组、HG+ 尿酸组的 RYR2 蛋白相对表达量分别为 (1.047 \pm 0.978)、(0.940 \pm 0.016)、(0.564 \pm 0.620) 和 (0.983 \pm 0.132), 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 18.278, P = 0.001$)。进一步两两比较经 LSD- t 检验, HG 组 RYR2 蛋白相对表达量与 NG 组比较, 差异有统计学意义 ($t = 10.169, P = 0.001$), HG 组较 NG 组下降; LG 组与 NG 组 RYR2 蛋白相对表达量比较, 差异无统计学意义 ($t = 1.870, P = 0.175$); HG+ 尿酸组 RYR2 蛋白相对表达量与 HG 组比较, 差异有统计学意义 ($t = 4.976, P = 0.008$), HG+ 尿酸组较 HG 组升高 (见图 2、3)。LG 组、NG 组、HG 组、HG+ 尿酸组的 FKBP12.6 蛋白相对表达量分别为 (0.593 \pm 0.007)、(0.614 \pm 0.014)、(0.438 \pm 0.135) 和 (0.804 \pm 0.507), 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 12.813, P = 0.002$)。进一步两两比较经 LSD- t 检验, HG 组 FKBP12.6 蛋白相对表达量与 NG 组比较, 差异有统计学意义 ($t = 2.950, P = 0.031$), HG 组较 NG 组下降; LG 组与 NG 组 FKBP12.6 蛋白相对表达量比较, 差异无统计学意义 ($t = 2.255, P = 0.087$); HG+ 尿酸组 FKBP12.6 蛋白相对表达量与 HG 组比较, 差异有统计

学意义 ($t=4.349, P=0.012$), HG+ 尿酸组较 HG 组升高 (见图 2、4)。

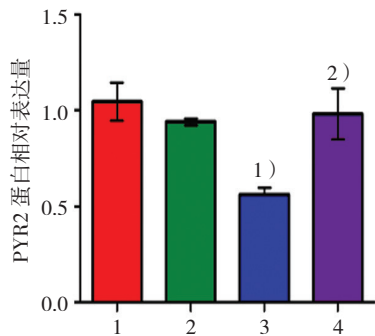
2.3.2 第 2 部分 ONOO⁻ 组、DC-ONOO⁻ 组、ONOO⁻+ 尿酸组的 RYR2 蛋白相对表达量分别为 (0.423 ± 0.051)、(0.673 ± 0.042) 和 (0.667 ± 0.214), 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F=70.841, P=0.000$)。进一步两两比较经 LSD- t 检验, ONOO⁻ 组 RYR2 蛋白相对表达量与 DC-ONOO⁻ 组比较, 差异有统计学意义 ($t=6.586, P=0.003$), DC-ONOO⁻ 组较 ONOO⁻ 组升高; ONOO⁻+ 尿酸组 RYR2 蛋白相对表达量与 ONOO⁻ 组比较, 差异有统计学意义 ($t=11.082,$

$P=0.000$), ONOO⁻+ 尿酸组较 ONOO⁻ 组升高 (见图 5、6)。ONOO⁻ 组、DC-ONOO⁻ 组、ONOO⁻+ 尿酸组的 FKBP12.6 蛋白相对表达量分别为 (0.230 ± 0.217)、(0.849 ± 0.051) 和 (0.857 ± 0.050), 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F=165.062, P=0.000$)。进一步两两比较经 LSD- t 检验, ONOO⁻ 组 FKBP12.6 蛋白相对表达量与 DC-ONOO⁻ 组比较, 差异有统计学意义 ($t=17.308, P=0.000$), DC-ONOO⁻ 组较 ONOO⁻ 组升高; ONOO⁻+ 尿酸组 FKBP12.6 蛋白相对表达量与 ONOO⁻ 组比较, 差异有统计学意义 ($t=17.582, P=0.000$), ONOO⁻+ 尿酸组较 ONOO⁻ 组升高 (见图 5、7)。



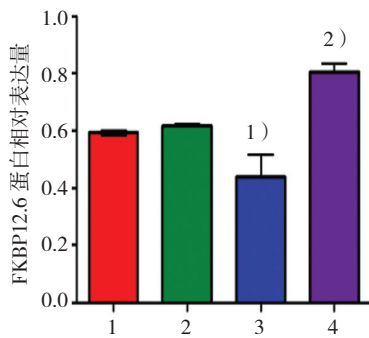
1: LG 组; 2: NG 组; 3: HG 组; 4: HG+ 尿酸组

图 2 第 1 部分各组 RYR2 和 FKBP12.6 蛋白的表达



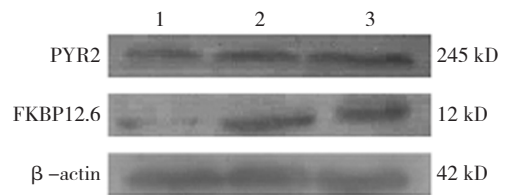
1: LG 组; 2: NG 组; 3: HG 组; 4: HG+ 尿酸组。1) 与 NG 组比较, $P<0.05$; 2) 与 HG 组比较, $P<0.05$

图 3 第 1 部分各组 RYR2 蛋白的表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)



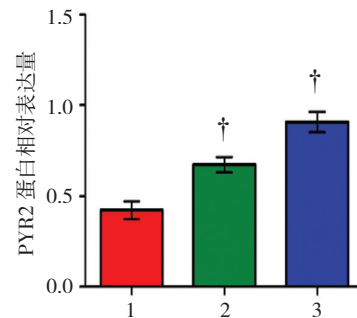
1: LG 组; 2: NG 组; 3: HG 组; 4: HG+ 尿酸组。1) 与 NG 组比较, $P<0.05$; 2) 与 HG 组比较, $P<0.05$

图 4 第 1 部分各组 FKBP12.6 蛋白的表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)



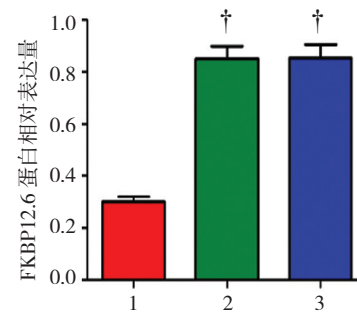
1: ONOO⁻ 组; 2: DC-ONOO⁻ 组; 3: ONOO⁻+ 尿酸组

图 5 第 2 部分各组 RYR2 和 FKBP12.6 蛋白的表达



1: ONOO⁻ 组; 2: DC-ONOO⁻ 组; 3: ONOO⁻+ 尿酸组。† 与 ONOO⁻ 组比较, $P<0.05$

图 6 第 2 部分各组 RYR2 蛋白的表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)



1: ONOO⁻ 组; 2: DC-ONOO⁻ 组; 3: ONOO⁻+ 尿酸组。† 与 ONOO⁻ 组比较, $P<0.05$

图 7 第 2 部分各组 FKBP12.6 蛋白的表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

3 讨论

糖尿病与房颤的发生密切相关^[13], 糖尿病是房颤的高风险因素, 与非糖尿病患者相比, 糖尿病患者具有更高的房颤患病率, 糖尿病病程越长, 血糖控制不良的患者, 房颤发生的风险更大^[14]。尽管有很多研究证实糖尿病与房颤密切相关, 但是糖尿病致房颤的潜在机制还不清楚, 而且既往大多研究是以心室肌细胞为研究对象。高血糖及氧化应激是糖尿病的两大特征, 值得注意的是细胞内钙信号异常也是糖尿病病理生理过程中的一个重要特征, 而且可能与心律失常相关^[15]。

近来有研究证实, 心房肌细胞钙信号异常是调控心房颤动的关键环节, 钙信号甚至可以成为房颤的一个创新的治疗靶点^[11]。钙离子是最简单, 同时也是最复杂的细胞信使。过去 20 多年的研究发现了钙信号的基本单元钙火花^[16], 以及相关钙信号事件, 包括钙波和钙瞬变。心肌细胞内钙火花等钙信号事件在心律失常的发生中起重要作用。钙信号事件受多种 Ca^{2+} 通道蛋白—RyR2 及其上游调控因子—FKBP12.6 的调节。通过这些钙调控蛋白的作用, 调节钙通道蛋白的活性和钙离子的释放与重吸收^[11, 17]。

既往的研究已经证明, 在心室肌细胞中, 糖尿病会使钙信号出现异常, 这与肌浆网 RyR2 及其磷酸化有关, 并进一步确认 RyR2 及其调节蛋白 FKBP12.6 在心室肌钙信号中的作用, 尽管 RyR2 及其磷酸化可导致钙释放增加, 但是心室肌细胞并不意味着心房肌细胞会出现同样的现象, 本研究是建立在心房肌细胞基础上的。

本实验给予高糖刺激大鼠心房肌细胞 48 h, HG 组钙释放增加, HG 组 RyR2 蛋白表达水平下降, 应用氧化应激抑制因子—尿酸可减少钙的释放, 而 RyR2 蛋白的表达上调, 本实验通过对 RyR2 蛋白的测定证实高糖刺激下钙的释放可能与钙通道 RyR2 有关。而 LG 组与 NG 组在蛋白表达方面无差异, 可以推断钙通道的激活是由高糖引起, 而非高渗透压所致, 所以高糖可以激活 RyR2 信号传导通路。

持续的高糖刺激可引起氧化应激和硝化应激, 导致过量一氧化氮 NO 和 O_2^- 产生, 两者通过非酶促化学反应可形成氧化活性极高的 ONOO⁻^[18]。RyR2 等钙通道调控蛋白含有大量的自由巯基, 是活性氧和氮类氧化损伤的极好目标。高糖对心房肌钙信号的影响可能与高糖氧化应激相关。本实验显示, 给予外源性 ONOO⁻ 刺激后, RyR2 蛋白的表达与 DC-ONOO⁻ 组有

差异, 钙离子的释放增多, 说明 ONOO⁻ 参与钙通道的活化。而高糖可以不断产生内源性 ONOO⁻, 是一个长时间的刺激, 更能参与钙通道活化, 调节钙信号的释放。

尿酸是体内核酸嘌呤的代谢产物, 是体内天然抗氧化物质, 是 ONOO⁻ 的特异性清除剂。本研究结果显示, 加用尿酸后, 与 HG 组相比, 钙释放减少, 钙通道蛋白 RyR2 也出现相应的改变, 且 ONOO⁻+尿酸组较 ONOO⁻ 组钙释放减少, 进一步表明尿酸可以消除 ONOO⁻ 的氧化应激作用, 影响钙信号的释放。

目前, 高糖引起钙通道 RyR2 蛋白表达改变的机制并不清楚。FKBP12.6 能和 RyR2 结合, 其中 FKBP12.6 对维持 RyR2 通道的稳定是必需的。FKBP12.6 结合 RyR2 可以稳定 RyR2 闭合状态, 减少 Ca^{2+} 漏出, 促进 RyR2 之间在兴奋收缩过程中的耦联, 增强开闭的同步协调性^[17]。本研究证实, 高糖对 RyR2 蛋白表达的影响可能与其调节蛋白 FKBP12.6 相关。

研究揭示, 高糖可以激活 RyR2 钙信号通路, 增加钙的释放, 氧化应激抑制因子—尿酸可以减少钙的释放。高糖可能通过氧化应激引起 RyR2 蛋白上游信号通路分子—FKBP12.6 调控钙信号。本研究在一定程度上为糖尿病致心律失常机制的研究提供了理论基础。

参 考 文 献:

- [1] YANG W, LU J, WENG J, et al. China national diabetes and metabolic disorders study group. Prevalence of diabetes among men and women in China[J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(12): 1090-1010.
- [2] MÉNDEZ-BAILÓN M, MUÑOZ-RIVAS N, JIMÉNEZ-GARCÍA R, et al. Impact of type 2 diabetes mellitus in hospitalizations for atrial fibrillation in Spain[J]. *Int J Cardiol*, 2016, 221: 688-694.
- [3] STASZEWSKY L, CORTESI L, BAVIERA M, et al. Diabetes mellitus as risk factor for atrial fibrillation hospitalization: Incidence and outcomes over nine years in a region of Northern Italy[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2015, 109(3): 476-484.
- [4] YANG Q, QI X, DANG Y, et al. Effects of atorvastatin on atrial remodeling in a rabbit model of atrial fibrillation produced by rapid atrial pacing[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2016, 16(1): 142.
- [5] PALLISGAARD J L, SCHJERNING A M, LINDHARDT T B, et al. Risk of atrial fibrillation in diabetes mellitus: a nationwide cohort study[J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2016, 23(6): 621-627.
- [6] DUBLIN S, GLAZER N L, SMITH N L, et al. Diabetes mellitus, glycemic control, and risk of atrial fibrillation[J]. *J Gen Intern*

- Med, 2010, 25(8): 853-858.
- [7] HUXLEY R R, FILION K B, KONETY S, et al. Meta-analysis of cohort and case-control studies of type 2 diabetes mellitus and risk of atrial fibrillation[J]. American Journal of Cardiology, 2011, 108(1): 56-62.
- [8] HUYNH K, BERNARDO B C, MCMULLEN J R, et al. Diabetic cardiomyopathy: mechanisms and new treatment strategies targeting antioxidant signaling pathways[J]. Pharmacology Therapeutics, 2014, 142(3): 375-415.
- [9] FREDERSDORF S, THUMANN C, ZIMMERMANN W H, et al. Increased myocardial SERCA expression in early type 2 diabetes mellitus is insulin dependent: in vivo and in vitro data[J]. Cardiovasc Diabetol, 2012, 11: 57.
- [10] ZHAO S M, WANG Y L, GUO C Y, et al. Progressive decay of Ca^{2+} homeostasis in the development of diabetic cardiomyopathy[J]. Cardiovasc Diabetol, 2014, 13(1): 75.
- [11] DOBREV D, NATTEL S. Calcium handling abnormalities in atrial fibrillation as a target for innovative therapeutics[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2008, 52(4): 293-299.
- [12] YAN Y, LIU J, WEI C, et al. Bidirectional regulation of Ca^{2+} sparks by mitochondria-derived reactive oxygen species in cardiac myocytes[J]. Cardiovasc Res, 2008, 77(2): 432-441.
- [13] DEVIDI M, BUDDAM A, DACHA S, et al. Atrial fibrillation and its association with endocrine disorders[J]. J Atr Fibrillation, 2014, 6(5): 959.
- [14] OSTGREN C J, MERLO J, RASTAM L, et al. Atrial fibrillation and its association with type 2 diabetes and hypertension in a Swedish community[J]. Diabetes Obes Metab, 2004, 6(5): 367-374.
- [15] EISNER D. Calcium in the heart: from physiology to disease[J]. Exp Physiol, 2014, 99(10): 1273-1282.
- [16] HOANG-TRONG T M, ULLAH A, JAFRI M S. Calcium sparks in the heart: dynamics and regulation[J]. Res Rep Biol, 2015, 6: 203-214.
- [17] ODA T, YANG Y, UCHINOUMI H, et al. Oxidation of ryanodine receptor (RyR) and calmodulin enhance Ca release and pathologically alter RyR structure and calmodulin affinity[J]. J Mol Cell Cardiol, 2015, 85(4): 240-248.
- [18] SOBEL B E, SCHNEIDER D J. Cardiovascular complications in diabetes mellitus[J]. Curt Opin Pharmacol, 2005, 5(2): 143-148.

(童颖丹 编辑)