・实验研究・

视网膜动脉平滑肌细胞中大电导钙离子激活钾 通道电流和钙离子浓度变化对糖尿病视网膜 动脉收缩的影响

邵珺 姚勇 孙尉 王如兴

214023 无锡,南京医科大学附属无锡人民医院眼科(邵珺、姚勇),心内科(王如兴);215000 苏州市立医院眼科(孙尉)

通信作者:姚勇, Email: pard1@126. com

DOI:10.3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 04. 006

【摘要】 背景 糖尿病视网膜病变(DR)是常见的视网膜微血管并发症,视网膜血管平滑肌细胞大电导 钙激活钾离子通道(BK)是调节血管舒缩和血液动力的主要因素。目前关于视网膜动脉平滑肌细胞 (RASMCs)上 BK 通道的功能变化在 DR 形成中的作用鲜有研究报道。目的 研究正常及糖尿病模型大鼠 RASMCs 中 BK 通道电流、钙离子浓度及不同钙离子浓度下 BK 通道开放概率(NP₀)的变化,探讨 DR 早期的 血管损伤机制。 方法 采用随机数字表法将 50 只 SPF 级 8~12 周龄 SD 大鼠随机分为正常对照组和糖尿病 模型组,糖尿病模型组40只大鼠腹腔内注射60 mg/kg链脲佐菌素(STZ)法制作1型糖尿病模型,正常对照组 大鼠10只同法注射枸橼酸钠溶液。采用酶消化法分离大鼠 RASMCs,应用全细胞膜片钳技术记录大鼠 RASMCs 中 BK 通道电流;采用荧光探针法测定大鼠 RASMCs 内钙离子浓度;采用膜内向膜外型单通道膜片钳 技术记录不同钙离子浓度条件下 RASMCs 中 BK 单通道 NP。的变化。结果 36 只大鼠糖尿病造模成功,造 模成功率为90%。刺激电压大于60mV时,糖尿病模型组大鼠RASMCs中BK通道电流密度明显下降,刺 激电压为100 mV时,正常对照组和糖尿病模型组大鼠 RASMCs BK 通道电流分别为(100±23) PA/PF 和 (50±7) PA/PF,差异有统计学意义(t=19.80, P<0.05)。当加入 BK 通道特异性阻滞剂非洲蝎毒素 100 nmol 后,正常对照组的 BK 通道电流明显减弱,而糖尿病模型组 BK 通道电流无明显变化;正常对照组和糖尿病模 型组大鼠 RASMCs 内钙离子浓度分别为(123±11) nmol/L 和(255±10) nmol/L,差异有统计学意义(t=32.50, P<0.05)。在刺激电位为60mV条件下,随着钙离子浓度增加,BK通道NP。增加,差异有统计学意义(F=15.28, P<0.05)。 结论 糖尿病模型大鼠 RASMCs 中 BK 通道电流下降, 细胞内钙离子浓度升高, BK 单通道 NP。下 降。BK 通道功能改变可能是导致糖尿病时视网膜动脉异常收缩的主要原因之一。

【关键词】 实验性糖尿病;视网膜小动脉;血管平滑肌/代谢;大电导钙离子激活钾离子通道;钙/生理;动物,大鼠;膜片钳

基金项目: 江苏省自然科学基金项目 (SBK201222073); 无锡市医管中心联合攻关项目 (YGZX1206)

Effect of large conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel current and cytosolic calcium concentrations in retinal artery smooth muscle cells on diabetic retinal artery tension Shao Jun, Yao Yong, Sun Wei, Wang Ruxing Department of Ophthalmology (Shao J, Yao Y), Department of Cardiology (Wang RX), Wuxi People's Hospital, Nanjing Medical College, Wuxi 214023, China; Department of Ophthalmology, Suzhou Municipal Hospital, Suzhou 215000, China (Sun W)

Corresponding author: Yao Yong, Email: pard1@126. com

[Abstract] Background Diabetic retinopathy (DR) is a common microvascular complications of the retina, retinal vascular smooth muscle cells of large conductance calcium-activated potassium channels (BK) is a major factor in regulating vasomotor and hemodynamic. Currently, functional changes of BK channel in retinal artery smooth muscle cells (RASMCs) and its role in DR were rarely reported. **Objective** This study was to investigate the early vascular damage mechanisms in DR by detecting the changes of BK channels current, calcium concentration and open probability (NP₀) of BK channel with different calcium concentration in RASMCs of normal and diabetic rats.

Method Fifty SPF SD 8–12 weeks old rats were randomly divided into normal control group and diabetic model group. Forty diabetic rats was intraperitoneally injected with 60 mg/kg streptozotocin to form type 1 diabetic model,10 rats (the normal control group) were injected sodium citrate solution with the same manner. Fluorescent probe was applied to detect calcium concentration in rat RASMCs; RASMCs were isolated by using enzyme digestion, and BK-channel electric currents and calcium concentrations in the RASMCs were measured by whole-cell patch clamp technique and fluorescence assay, respectively. The NP₀ of BK channel was measured by single patch clamp technique.

Results Diabetic models were successfully established in 36 rats with the success rate 90%. When stimulation voltage is greater than 60 mV, the current density of BK channel in RASMCs of diabetic model group decreased; when stimulating voltage was 100 mV, the BK channel currents of RASMCs in the normal control group and diabetic model group were (100 ± 23) PA/PF and (50 ± 7) PA/PF, the difference was statistically significant (t = 19.80, P < 0.05). After adding specific BK channel blocker African scorpion toxin 100 nmol, the BK channel current in the normal control group significantly reduced, and that in the diabetes model group was not significantly changed; the calcium ion concentrations in RASMCs were (123 ± 11) nmol/L and (255 ± 10) nmol/L in the normal control group and diabetic model group, the difference was statistically significant (t = 32.50, P < 0.05). When stimulation voltage was 60 mV, with increasing calcium ion concentration, the NP₀ of BK channel increased (F = 15.28, P < 0.05). **Conclusions** The electric current and NP₀ of BK-channel are obviously reduced and the calcium concentration is evidently elevated in RASMCs of diabetic rats, suggesting that the abnormal of BK-channel is probably one of the important causes of retinal artery abnormal contraction in diabetic rats.

[Key words] Diabetes mellitus, experimental; Retinal arterioles; Muscle, smooth, vascular/metabolism; Large conductance calcium-activated potassium channel; Calcium/physiology; Animals, rats; Patch-clamp

Fund program: Natural Science Foundation of Jiangsu Province (SBK201222073); Wuxi Medical Center Joint Research Project (YGZX1206)

流行病学调查显示,近年来糖尿病患病率呈逐年 升高趋势,中国也是糖尿病多发的国家之一[1-3]。糖 尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病常 见的微血管并发症,已成为当前全球重要的致盲眼病 之一^[4-5]。因此,研究 DR 的发病机制,探索 DR 的早 期预防和治疗方法显得尤为重要。近期研究表明,糖 尿病患者的视网膜血管收缩和血流灌注的减少早于 DR 微血管病变^[6-7],而糖尿病视网膜动脉离子通道的 异常是导致血管异常收缩、血液动力学紊乱的主要原 因之一,其中视网膜血管平滑肌细胞大电导钙激活钾 离子通道(large conductance calcium-activated potassium channel, BK)的改变显得尤为重要^[8]。BK 不仅参与 细胞膜电位的形成,而且可以维持血管平滑肌细胞收 缩和舒张的动态平衡^[9]。目前,关于糖尿病患者视网 膜动脉平滑肌细胞(retinal artery smooth muscle cells, RASMCs) BK 通道的研究很少。本研究中通过测定正 常和糖尿病大鼠 RASMCs 中 BK 通道电流、开放概率 (open probability, NP。)及钙离子浓度的变化, 探讨糖 尿病对视网膜动脉平滑肌异常收缩的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 SPF级8~12 周龄 Spraque-Dawley

(SD)大鼠 50 只(江苏省血吸虫病防治研究所动物中 心提供),体质量(200±30)g,雌雄不限。本研究方案 经南京医科大学实验动物伦理委员会批准,实验动物 的使用和喂养遵循 ARVO 声明。

1.1.2 主要试剂及仪器 II型胶原酶(美国 Worthington公司);牛血清蛋白、木瓜蛋白酶、二硫苏 糖醇、胰蛋白酶抑制剂、弹性蛋白酶、钙离子荧光探针 Fura-2/AM、链脲佐菌素(streptozocin,STZ)(美国 Sigma公司);质量分数0.9% NaCl溶液(江苏恒瑞医 药公司)。Olympus-IX71 倒置显微镜、LAMBDA DG-4 细胞内钙离子浓度荧光测定仪(美国 SUTTER 公司); Metaflur软件分析系统(美国 Molecular Devices公司); SHZ-82 水浴恒温振荡器(金坛市医疗仪器厂); SANXIN PHB-3/pH 计(上海三信仪表厂);FA1604 电 子天平(德国 SARTORIUS 公司);Olympus SZX10 解剖 显微镜、Olympus LG-PS2 光源(日本 Olympus 公司); Axopatch 200B 膜片钳放大器(美国 Axon Instruments 公司)。

1.2 方法

1.2.1 溶液的配制 眼球保存液:NaCl 140.0 mmol/L、 KCl 5.0 mmol/L、CaCl₂ 2.0 mmol/L、D-葡萄糖 5.0 mmol/L、 MgCl₂ 1.3 mmol/L、羟乙基哌嗪乙磺酸(hydroxyethyl piperazine ethanesulfonic acid, HEPES) 10 mmol/L,用 NaOH 调节 pH 至 7.3。D-Hanks 液: NaCl 8.00 g/L、 KCl 5.00 g/L、Na₂ HPO₄ 0.13 g/L、KH₂ PO₄ 0.06 g/L、 NaHCO₃ 0.35 g/L、酚红 0.02 g/L,用 NaHCO₃调节 pH 至 7.4。电极内液:KCl 140.0 mmol/L、HEPES 10.0 mmol/L、 依他酸 1.0 mmol/L、MgCl₂ 1.0 μ mol/L、CaCl₂ 1.0 μ mol/L, 调节 pH 至 7.4。电极外液:KCl 140.0 mmol/L、HEPES 10.0 mmol/L、依他酸 1.0 mmol/L、MgCl₂ 1.0 μ mol/L, 调节 pH 至 7.3。

1.2.2 糖尿病大鼠模型的建立 取40只 SD 大鼠 按60 mg/kg 的剂量腹腔内注射新配制的50 mg/ml STZ 溶液,次日再次腹腔内注射等剂量 STZ 溶液;取 10 只大鼠腹腔内注射质量分数0.9% 枸橼酸钠溶液 作为对照组。清晨尾静脉取血以血糖浓度高于 300 mg/dl作为造模成功的标准^[10],每周测量大鼠体 质量,持续观察8周^[11],收集数据进行统计分析,并 计算成模率。

1.2.3 酶消化法分离大鼠 RASMCs 午后腹腔内注 射质量分数3%戊巴比妥钠3ml麻醉大鼠,颈椎脱臼 法处死,用眼科镊及眼科剪摘取眼球,放入自制保存液 中,4℃冰箱保存备用。将眼球置于琼脂板上固定,在 解剖显微镜下用 Alcon 15°刀沿睫状体扁平部垂直刺 入并划开一个约1/4圈的缺口,用角膜剪将角膜环形 剪开,取下角膜,完整取出晶状体,暴露玻璃体;用眼科 显微无齿镊小心分离视网膜动脉,尽量剔除周边黏附 的玻璃体,放入1ml含1mg牛血清蛋白的保存液中 37 ℃恒温振荡 20 min;转入1 ml 含1.5 mg 木瓜蛋白酶 以及1mg 二硫苏糖醇消化液中 37 ℃ 恒温振荡20 min; 转入1 ml 含Ⅱ型胶原酶1 mg、胰蛋白酶抑制剂1 mg、 弹性蛋白酶 0.25 mg 的消化液中 37 ℃ 恒温振荡 20 min;将消化后的组织置于含有1 ml 保存液的 EP 管 中,4℃冰箱保存4~16h,倒置显微镜下观察,选取轮 廓清晰、边缘不毛糙的细胞进行后续研究。

1.2.4 单通道膜片钳技术记录视网膜动脉平滑肌 BK 单通道电流 取1.2.3 部分分离的 RASMCs,在细胞外 液钙离子浓度为0.001、0.010、0.100、0.300、1.000 μmoL/L 条件下,采用 Axopatch 200B 膜片钳放大器和 pCLAMP 10.2 软件以膜内向外型模式记录正常大鼠和糖尿病 大鼠 BK 单通道电流,设置刺激电位为 60 mV,单次刺 激电压区间刺激为-40~160 mV,阶跃为 10 mV,刺激 时间维持 100 ms,总刺激时间为 10 s;输出信号经 8 极 Bessel 滤波器滤波,采样频率为 20 kHz,滤波频率为 5 kHz,电极电阻为 5~10 MΩ。加入 BK 通道特异性阻 滞剂非洲蝎毒素(iberiotoxin, IBTX) 100 nmol,比较正 常对照组与糖尿病模型组 BK 通道电流变化。BK 通 道 NP₀计算采用如下公式^[12]:NP₀ = Σ (O_nn)/T,其中, N 为通道的开放数量,P₀代表开放概率,NP₀为通道的 总开放概率,T 代表总记录时间,O_n为每个开放水平所 需时间。

1.2.5 荧光探针法测定大鼠视网膜血管平滑肌细胞 内钙离子浓度 打开水浴恒温振荡器,调节水温至 37 ℃,放入含有视网膜动脉和消化液的 EP 管。1 号 消化液含牛血清白蛋白1 mg 及保存液 1 ml,2 号消化 液含木瓜蛋白酶 1.5 mg、二硫苏糖醇 1 mg 及 1 号消化 液1ml,3号消化液含Ⅱ型胶原酶1mg、胰蛋白酶抑制 剂 1 mg、弹性蛋白酶 0.25 mg 及 1 号消化液 1 ml。按 照1、2、3的顺序,每步骤消化20min,最后将消化后的 组织置于含有1 ml 保存液的 EP 管中,4 ℃冰箱保存 4~16h。取出分离好的细胞悬液,在倒置显微镜下观 察,低倍镜下每个视野中含10~15个细胞,大多数 RASMCs 呈蚯蚓状,部分呈短杆状或花生状,形态各 异。RASMCs轮廓清晰,为存活状态。吸取 200 µl 细 胞悬液至 Olympus-IX71 倒置显微镜的细胞池中,再加 人 D-Hanks 液 795 μl, 静置 10 min 后观察, 如果细胞数 量适中(每个视野数量大于10个细胞),状态良好,则 加入1 mmol/L 的 Fura-2/AM 5 µl, 使 Fura-2/AM 终浓 度为5 µmol/L, 避光孵育 30 min。D-Hanks 液连续冲 洗约10ml,然后在荧光倒置显微镜下,每次选取1个 或1个以上 RASMCs 作为靶细胞进行细胞内钙离子 浓度测定。设置LAMBDA-4以 340 nm 及 380 nm 的 波长交替激发,发射波长设为510 nm, MetaFluro软件 实时输出 F340 和 F380 荧光信号强度,并计算荧光信号 强度比值 R(F340/F380)以及时间序列的动态图像。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计学软件进行统计分析。研究 中测量指标的数据资料经 W 检验呈正态分布,以 x±s 表示。采用均衡分组两水平实验设计,正常对照组与 模型组间大鼠 RASMCs 内电流密度、BK 通道 NP₀以及 钙离子浓度的差异比较采用独立样本 t 检验;不同钙 离子浓度下 BK 通道 NP₀的总体差异比较采用单因素 方差分析。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 糖尿病大鼠模型建立情况

糖尿病模型组大鼠共40只,造模成功36只,死亡 2只,病情自发缓解2只,成模率为90%。造模后8 周,正常对照组和糖尿病模型组大鼠血糖水平分别为 (121.80±3.17)mg/dl和(562.50±13.50)mg/dl,差异 有统计学意义(*t*=15.28,*P*<0.05)。 2.2 各组大鼠 RASMCs 中 BK 通道电流的变化

正常对照组 BK 通道电流明显高于糖尿病模型 组,IBTX 处理后正常对照组的 BK 通道电流明显减 弱,而糖尿病模型组电流无明显变化。刺激电压大于 60 mV 时,糖尿病模型大鼠 RASMCs 中 BK 通道电流 密度明显下降;当刺激电压为 100 mV 时,正常对照组 和糖尿病模型组大鼠 RASMCs 中 BK 通道电流分别为 (100±23) PA/PF 和(50±7) PA/PF,差异有统计学意义 (*t*=19.80,*P*<0.05)(图 1)。



图 1 各组大鼠 RASMCs BK 通道电流 A:IBTX 处理前后正常对 照组和糖尿病模型组大鼠 RASMCs BK 通道电流变化 B:不同电压 刺激下正常对照组和糖尿病模型组 RASMCs BK 电流变化 与正常 对照组比较,"P<0.05(独立样本 t 检验) IBTX:非洲蝎毒素

2.3 各组大鼠 RASMCs 中钙离子浓度比较

糖尿病模型组大鼠 RASMCs 内荧光强度明显增强 (图 2)。MetaFluor 软件实时输出正常对照组和糖尿病模 型组 RASMCs 中钙离子浓度分别为(123±11)nmol/L 和 (255±10)nmol/L,组间比较差异有统计学意义 (*t*=32.50,*P*<0.05)(图 3)。



图 2 各组大鼠 RASMCs 中 Fura-2/AM 钙离子荧光强度比较 A: 正常对照组大鼠 RASMCs 中 Fura-2/AM 钙离子荧光强度较弱 B: 糖尿病模型组大鼠 RASMCs 中 Fura-2/AM 钙离子荧光强度增强



2.4 不同钙离子浓度下各组大鼠 RASMCs 中 BK 单 通道 NP₀比较

在刺激电位为 60 mV 条件下,电极外液 Ca²⁺浓度 为 0.00、0.01、0.10、1.00、10.00 和 100.00 mol/L 条件 下,BK 通道 NP₀分别为 0、0.002 8±0.000 9、0.009 2± 0.009 6、0.042 1±0.015 4、0.657 6±0.019 7、3.216 1± 0.891 8,随着 Ca²⁺浓度的增加,BK 通道 NP₀增加(F= 15.28,P<0.05)。

3 讨论

糖尿病视网膜血流动力学的异常是造成视网膜组 织缺血和缺氧、视网膜微循环障碍及新生血管形成的 主要原因^[13]。Scholfield等^[14]于1999年率先开展了 RASMCs的电生理研究,发现视网膜血管缺少自主神 经的控制,其收缩舒张状态主要取决于 RASMCs内的 Ca²⁺电流。BK通道在 RASMCs上表达丰富,因此对维 持视网膜动脉收缩和舒张的动态平衡具有重要的调节 作用^[15]。

McGahon 等^[16]研究发现,糖尿病大鼠 RASMCs 的 BK 通道电流减弱,但电压激活的 BK 通道电流并未发 生改变,与 BK 通道和钙离子释放发生解耦联有关,但 该研究未探讨糖尿病 RASMCs 中 BK 通道开始受损的 钙离子浓度。本研究构建 1 型糖尿病大鼠动物模型, 采用膜片钳技术和细胞内钙离子浓度荧光测定技术比 较正常与糖尿病大鼠 RASMCs 中 BK 通道电流及钙离 子浓度变化及不同钙离子浓度下 BK 通道电流及钙离 子浓度变化及不同钙离子浓度下 BK 通道电流及钙离 子浓度变化及不同钙离子浓度下 BK 通道和制剂 电生理角度探讨糖尿病视网膜动脉损伤的分子机制。 研究发现,糖尿病大鼠 RASMCs 中 BK 通道抑制剂 IBTX 的作用,发现正常对照组大鼠 RASMCs 中 BK 通 道电流明显减弱,而糖尿病模型组大鼠 RASMCs 中 BK 通 道电流明显变化,提示糖尿病发病过程中 RASMCs 的 BK 通道功能受损。

本研究中采用细胞内钙离子浓度荧光测定技术研究 BK 通道功能异常是否伴有钙离子变化,发现糖尿病大鼠 RASMCs 中钙离子浓度较正常对照组明显升高。正常情况下,视网膜动脉通过不同离子通道的共同作用以维持其舒缩状态之间的平衡,但在糖尿病发病过程中,BK 通道功能受损,RASMCs 中 BK 电流减弱,细胞复极减慢,钙离子内流增加^[17]。因此糖尿病患者视网膜平滑肌比正常人更易处于收缩状态,这可能为糖尿病时视网膜动脉异常收缩的病理机制之一。

本研究中进一步采用由膜内向膜外单通道记录模式测定不同钙离子浓度下正常大鼠和糖尿病模型大鼠

RASMCs 中 BK 通道的 NP₀,以进一步阐明糖尿病 RASMCs 中 BK 通道电流密度降低与钙离子浓度增高 的细胞电生理机制,结果表明当钙离子浓度大于 0.2 μmol/L时,糖尿病模型大鼠 RASMCs 中 BK 通道 NP₀较正常对照组明显降低,提示糖尿病 RASMCs 中 BK 通道对钙离子敏感性下降。然而,尽管糖尿病状态 下 BK 通道功能受损,其仍保留钙离子浓度依赖的开 放特性,即随着钙离子浓度的增加,BK 通道 NP₀增 加^[18]。

综上所述,在糖尿病发病早期 RASMCs 中 BK 通 道电流密度和 NP₀细胞膜复极减慢,钙离子内流增加, 从而导致视网膜中央动脉及其分支的异常收缩,导致 视网膜血流灌注减少,视网膜组织缺血和缺氧,继发一 系列玻璃体视网膜微血管病变,最终导致视功能的不 可逆损伤。

参考文献

- [1] Zhang X, Saaddine JB, Chou CF, et al. Prevalence of diabetic retinopathy in the United States,2005-2008 [J]. JAMA,2010,304(6): 649-656. DOI:10.1001/jama.2010.1111.
- [2] Li Y, Liao Y, Fan A, et al. Asian American/Pacific Islander paradox in diabetic retinopathy: findings from the Behavioral Risk Factor Surveillance System, 2006-2008 [J]. Ethn Dis, 2010, 20(2):111-117.
- [3] Nakamura Y, Tomidokoro A, Sawaguchi S, et al. Prevalence and causes of low vision and blindness in a rural Southwest Island of Japan; the Kumejima study [J]. Ophthalmology, 2010, 117 (12): 2315 - 2321. DOI:10.1016/j. ophtha. 2010.03.043.
- [4] Clark A, Morgan WH, Kain S, et al. Diabetic retinopathy and the major causes of vision loss in Aboriginals from remote Western Australia [J]. Clin Exp Ophthalmol, 2010, 38(5):475-482. DOI: 10.1111/j.1442-9071.2010.02278. x.
- [5] Macky TA, Khater N, Al-Zamil MA, et al. Epidemiology of diabetic retinopathy in Egypt: a hospital-based study [J]. Ophthalmic Res, 2011,45(2):73-78. DOI:10.1159/000314876.
- [6] Yang WY. Achieve great success, and blaze a trail; review of clinical and basic research progress of Chinese diabetes in the 21st century[J]. Chin Med J (Engl),2009,122(21):2525-2529.
- [7] Bek T. Lack of correlation between short-term dynamics of diabetic retinopathy lesions and the arterial blood pressure [J]. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol, 2011, 249 (2) : 267 - 271. DOI: 10. 1007/ s00417-010-1525-4.
- [8] McGahon MK, Dash DP, Arora A, et al. Diabetes downregulates large-

conductance Ca^{2*} -activated potassium beta 1 channel subunit in retinal arteriolar smooth muscle[J]. Circ Res,2007,100(5):703-711. DOI: 10.1161/01. RES.0000260182.36481.c9.

- [9] McGahon MK, Zhang X, Scholfield CN, et al. Selective downregulation of the BKbeta1 subunit in diabetic arteriolar myocytes [J]. Channels (Austin), 2007, 1(3): 141-143.
- [10] 王如兴,李肖蓉,羊镇字,等.大电导钙离子激活钾通道对糖尿病大 鼠冠状动脉血管张力的调节[J].中华医学杂志,2010,90(36): 2575-2578. DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2010.36.014.
 Wang RX, Li XR, Yang ZY, et al. Regulation of vascular tension in diabetic coronary artery by large conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel in rats[J]. Nat Med J Chin,2010,90(36):2575-2578. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2010.36.014.
- [11] Lu T, Zhang DM, Wang XL, et al. Regulation of coronary arterial BK channels by caveolae-mediated angiotensin II signaling in diabetes mellitus[J]. Circ Res, 2010, 106 (6) : 1164 - 1173. DOI: 10. 1161/ CIRCRESAHA. 109. 209767.
- [12] Saleh SN, Albert AP, Peppiatt-Wildman CM, et al. Diverse properties of store-operated TRPC channels activated by protein kinase C in vascular myocytes[J]. J Physiol, 2008, 586 (Pt 10) : 2463 - 2476. DOI: 10. 1113/jphysiol. 2008. 152157.
- [13] Grynkiewicz G, Poenie M, Tsien RY. A new generation of Ca²⁺ indicators with greatly improved fluorescence properties [J]. J Biol Chem, 1985, 260(6): 3440-3450.
- [14] Scholfield CN, Curtis TM. Heterogeneity in cytosolic calcium regulation among different microvascular smooth muscle cells of the rat retina [J]. Microvasc Res, 2000, 59 (2) : 233 - 242. DOI: 10. 1006/mvre. 1999. 2227.
- [15] Burgansky-Eliash Z, Nelson DA, Bar-Tal OP, et al. Reduced retinal blood flow velocity in diabetic retinopathy [J]. Retina, 2010, 30 (5) : 765-773. DOI:10.1097/IAE.0b013e3181c596c6.
- [16] McGahon MK, Dash DP, Arora A, et al. Diabetes downregulates largeconductance Ca²⁺-activated potassium beta 1 channel subunit in retinal arteriolar smooth muscle[J]. Circ Res, 2007, 100(5):703-711. DOI: 10.1161/01. RES. 0000260182.36481.c9.
- [17] Stewart M, Needham M, Bankhead P, et al. Feedback via Ca²⁺-activated ion channels modulates endothelin 1 signaling in retinal arteriolar smooth muscle[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2012,53(6):3059-3066. DOI:10. 1167/iovs.11-9192.
- [18] Mori A, Suzuki S, Sakamoto K, et al. Vasodilation of retinal arterioles induced by activation of BKCa channels is attenuated in diabetic rats[J]. Eur J Pharmacol, 2011, 669 (1-3): 94-99. DOI: 10.1016/j. ejphar. 2011.07.042.

(收稿日期:2015-11-15) (本文编辑:尹卫靖 张宇)

读者・作者・编者

本刊对来稿中组织病理学彩色图片及电子显微镜图片中标尺的要求

如果作者稿件中包含有组织病理图、免疫荧光染色图、免疫组织化学图、电子显微镜图片,为了反映组织标本大小的最精确尺度,请在电子版图片的左下方附注标尺。

(本刊编辑部)