

糖尿病性骨质疏松模型雌激素、一氧化氮及转化生长因子 β 1的变化^{*★}

刘中浩, 高红伟, 邢德国, 赵锡武, 王若义, 宫明智

Changes of estrogen, nitric oxide and transforming growth factor beta 1 in rats with diabetic osteoporosis

Liu Zhong-hao, Gao Hong-wei, Xing De-guo, Zhao Xi-wu, Wang Ruo-yi, Gong Ming-zhi

Abstract

BACKGROUND: Diabetes mellitus and ovariectomy are two main reasons for osteoporosis, both of which can lead to variations in nitric oxide (NO) and transforming growth factor β 1 (TGF- β 1).

OBJECTIVE: To study the changes of estrogen, NO, and TGF- β 1 in the rats with diabetic osteoporosis.

METHODS: Rats with diabetic osteoporosis were induced by streptozotocin (STZ). The bone mineral density (BMD) was measured at 4, 8, 12 and 16 weeks after model preparation; the serum estrogen levels was measured by radioimmunoassay method, serum NO levels are detected by nitrate reduction method, serum TGF- β 1 levels determined by ELISA method, and the content of TGF- β 1 in the bone tissues was measured by the immunohistochemical method.

RESULTS AND CONCLUSION: With induction time prolonged, BMD of femur was gradually decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), serum NO level decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), serum TGF- β 1 level increased ($P < 0.01$). The estrogen level in the model group was slightly decreased, but the difference had no significance ($P > 0.05$). Immunohistochemical results showed that TGF- β 1 was mainly expressed in the osteoblast cytoplasm, and the number of positive cells was gradually decreased with induction time prolonged ($P < 0.01$). The changes of serum NO and TGF- β 1 in bone tissues result in lower bone mineral density because of increasing bone absorption and decreasing bone formation. Nitric oxide and TGF- β 1 play an important role in diabetic osteoporosis.

Liu ZH, Gao HW, Xing DG, Zhao XW, Wang RY, Gong MZ. Changes of estrogen, nitric oxide and transforming growth factor beta 1 in rats with diabetic osteoporosis. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(11): 1953-1956.

[http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 糖尿病和卵巢去势是骨质疏松发生的两大主要原因, 均会出现一氧化氮和转化生长因子 β 1的变化。

目的: 探讨雌激素、一氧化氮、转化生长因子 β 1在糖尿病性骨质疏松模型中的变化及意义。

方法: 采用链脲佐菌素诱导制备糖尿病大鼠模型, 于造模后4, 8, 12, 16周, 进行骨密度检测, 并应用放免法检测血清雌激素水平, 硝酸还原酶法检测血清一氧化氮水平, ELISA法检测血清转化生长因子 β 1水平, 免疫组织化学法检测骨中转化生长因子 β 1水平。

结果与结论: 随着链脲佐菌素诱导时间的延长, 糖尿病大鼠股骨骨密度逐渐降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 血清一氧化氮水平逐渐降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 血清转化生长因子 β 1水平逐渐升高($P < 0.01$); 血清雌激素水平轻度降低, 与同时时间点正常大鼠比较差异无显著性意义($P > 0.05$)。免疫组织化学结果显示转化生长因子 β 1主要表达于成骨细胞的胞浆中, 其阳性表达随链脲佐菌素诱导时间的延长逐渐下降($P < 0.01$)。说明糖尿病大鼠血清一氧化氮水平和骨组织中转化生长因子 β 1水平的变化导致了骨吸收增加, 骨形成减少, 使骨密度降低, 参与了糖尿病性骨质疏松的发生。

关键词: 糖尿病性骨质疏松; 大鼠; 雌激素; 一氧化氮; 转化生长因子 β 1

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.11.013

刘中浩, 高红伟, 邢德国, 赵锡武, 王若义, 宫明智. 糖尿病性骨质疏松模型雌激素、一氧化氮及转化生长因子 β 1的变化[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(11):1953-1956. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

First Department of Orthopaedics Surgery, Second Hospital of Shandong University, Jinan 250033, Shandong Province, China

Liu Zhong-hao[★], Master, Attending physician, First Department of Orthopaedics Surgery, Second Hospital of Shandong University, Jinan 250033, Shandong Province, China liuxia990620@163.com

Correspondence to: Gong Ming-zhi, Doctor, Chief physician, First Department of Orthopaedics Surgery, Second Hospital of Shandong University, Jinan 250033, Shandong Province, China gongmzh242@sina.com

Supported by: the Plan of Science and Technology Development of Shandong Province, No. 2008GG30002073*

Received: 2010-09-14 Accepted: 2010-11-02

0 引言

糖尿病因其高发病率、高致残率引起世人关注, 而在糖尿病基础上发生的骨质疏松症使患者生活质量下降, 且容易导致骨折, 严重加重家庭及社会经济负担^[1]。雌激素、一氧化氮、转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)已被证实与骨代谢有关^[2-6]。那么糖尿病性骨质疏松模型中, 雌激素、一氧化氮、TGF- β 1是如何变化的呢?

实验通过观察糖尿病大鼠血清中一氧化

氮、TGF- β 1、雌激素及骨组织中TGF- β 1的变化, 探讨其与糖尿病性骨质疏松症的关系。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 于2008-12/2009-08在山东大学第二医院动物实验中心完成。

材料:

实验动物: 健康清洁级3月龄雌性Wistar大鼠40只, 体质量180~200 g, 由山东大学动物实验中心提供。

山东大学第二医院
骨科一科, 山东省
济南市 250033

刘中浩★, 男, 1969年生, 山东省定陶县人, 汉族, 2003年西安交通大学毕业, 硕士, 主治医师, 主要从事脊柱、创伤以及糖尿病骨质疏松的基础与临床研究。
liuxia990620@163.com

通讯作者: 宫明智, 博士, 主任医师, 山东大学第二医院骨科一科, 山东省济南市 250033
gongmzh242@sina.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2011)11-01953-04

收稿日期: 2010-09-14
修回日期: 2010-11-02
(20100807008/WLM
·Z)

试剂与仪器:

试剂和仪器	来源
链脲佐菌素	美国 sigma 公司
一氧化氮试剂盒	南京建成生物研究所
ELISA 试剂盒、雌激素免疫试剂盒	德国 DRG GmbH 公司
双能 X 射线骨密度测定仪	美国 NORLAND
兔抗大鼠 TGF- $\beta 1$ 单克隆抗体、生物素化山羊抗兔 IgG、TGF- $\beta 1$ SABC 试剂盒	武汉博士德公司
Leica-Qwin 计算机图像分析系统	德国 Leica 公司

实验方法:

实验分组与模型制备: 将40只大鼠随机分为两组, 每组20只。向实验组大鼠腹腔内注射链脲佐菌素60 mg/kg, 定向破坏胰岛细胞, 3 d后测血糖, 血糖高于16.8 mmol/L者为糖尿病大鼠(实验过程中每3 d测1次血糖, 血糖值高于此值者用于实验)。对照组大鼠腹腔内注射等量的生理盐水。实验期间两组大鼠自由进食, 饮水。

血清雌激素、一氧化氮、TGF- $\beta 1$ 检测: 分别于第4, 8, 12, 16周自股静脉取两组大鼠血液, 高速离心后取血清, 放置于-20℃冰箱内。采用放免法测血清雌激素水平; 硝酸还原酶法测血清一氧化氮水平; ELISA法检测血清TGF- $\beta 1$ 水平。

骨密度检测: 分别于第4, 8, 12, 16周每组各取5只大鼠, 麻醉状态下取右侧股骨, 制作病理切片, 以双能X射线骨密度测定仪检测骨密度。

免疫组织化学染色检测股骨TGF- $\beta 1$ 的表达: 采用SABC法进行免疫组织化学检测, 实验步骤按说明书操作。TGF- $\beta 1$ 一抗工作浓度为1:50, 棕黄色至深褐色染色为阳性染色。应用Leica-Qwin计算机图像分析系统在相同灰度阈值设定条件下, 自动测出视野内免疫荧光阳性染色灰度值。

主要观察指标: 血清雌激素、一氧化氮、TGF- $\beta 1$, 股骨骨密度及TGF- $\beta 1$ 的变化。

统计学分析: 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用SPSS 16.0统计软件进行t检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 实验共纳入40只大鼠, 实验过程中无脱失, 全部进入结果分析。

2.2 大鼠血清雌激素水平 随着实验的进行, 两组大鼠雌激素水平均逐渐降低, 第4, 8周降低较慢, 第12, 16周降低加快, 与前一时间点比较差异有显著性意义($P < 0.05$), 但两组间对应时间点比较差异无显著性意义($P > 0.05$), 见表1。

表 1 各时间点大鼠血清雌激素水平 Table 1 Level of serum estrogen at different time points ($\bar{x} \pm s$, $n=5$, nmol/L)		
Group	4 wk	8 wk
Experimental	4.16 $\pm$ 0.06	4.15 $\pm$ 0.07
Control	4.13 $\pm$ 0.05	4.14 $\pm$ 0.09
Group	12 wk	16 wk
Experimental	4.11 $\pm$ 0.11	4.06 $\pm$ 0.14
Control	4.09 $\pm$ 0.13	4.04 $\pm$ 0.13

2.3 大鼠血清一氧化氮水平 随着鼠龄的增长, 正常大鼠血清一氧化氮水平无明显变化, 糖尿病大鼠血清一氧化氮水平逐渐下降。与对照组相应时间点比较, 实验组大鼠血清一氧化氮水平明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 见表2。

表 2 各时间点大鼠血清一氧化氮水平 Table 2 Serum level of nitric oxide at different time points ($\bar{x} \pm s$, $n=5$, nmol/L)		
Group	4 wk	8 wk
Experimental	55.34 $\pm$ 3.37	52.12 $\pm$ 3.69
Control	58.49 $\pm$ 3.17 ^a	57.70 $\pm$ 3.02 ^b
Group	12 wk	16 wk
Experimental	48.80 $\pm$ 2.47	48.02 $\pm$ 2.66
Control	56.68 $\pm$ 2.76 ^b	58.06 $\pm$ 2.23 ^b
^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, vs. experimental group		

2.4 大鼠血清TGF- $\beta 1$ 水平 随着鼠龄的增长, 正常大鼠血清TGF- $\beta 1$ 水平无明显变化, 糖尿病大鼠血清TGF- $\beta 1$ 水平逐渐升高。与对照组相应时间点比较, 实验组大鼠血清TGF- $\beta 1$ 水平明显升高($P < 0.01$), 见表3。

表 3 各时间点大鼠血清中 TGF- $\beta 1$ 水平 Table 3 Serum level of transforming growth factor $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) at different time points ($\bar{x} \pm s$, $n=5$, mg/L)		
Group	4 wk	8 wk
Experimental	976.06 $\pm$ 67.10	1 038.22 $\pm$ 77.19
Control	891.38 $\pm$ 98.47 ^a	898.68 $\pm$ 80.34 ^a
Group	12 wk	16 wk
Experimental	1 156.04 $\pm$ 92.87	1 224.42 $\pm$ 96.48
Control	895.66 $\pm$ 99.92 ^a	881.83 $\pm$ 94.11 ^a
^a $P < 0.01$, vs. experimental group		

2.5 大鼠股骨骨密度 随着鼠龄的增长, 正常大鼠股骨骨密度无明显变化, 糖尿病大鼠股骨骨密度逐渐降低。与对照组相应时间点比较, 实验组大鼠股骨骨密度明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 见表4。

表4 各时间点大鼠股骨骨密度水平
Table 4 Bone mineral density (BMD) of femur at different time points ($\bar{x} \pm s$, $n=5$, g/cm^3)

Group	4 wk	8 wk
Experimental	0.52 $\pm$ 0.09	0.51 $\pm$ 0.08
Control	0.59 $\pm$ 0.09 ^a	0.57 $\pm$ 0.09 ^a
Group	12 wk	16 wk
Experimental	0.46 $\pm$ 0.07	0.37 $\pm$ 0.08
Control	0.58 $\pm$ 0.08 ^b	0.57 $\pm$ 0.06 ^b

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, vs. experimental group

2.6 大鼠骨组织中TGF- $\beta 1$ 的表达 对照组大鼠骨组织中TGF- $\beta 1$ 染色呈阳性, 主要分布在成骨细胞胞浆, 部分骨基质中也有阳性表达, 其阳性细胞染色数目逐渐下降, 但各时间点差异无显著性意义($P > 0.05$)。而实验组骨组织中TGF- $\beta 1$ 的表达范围未变, 但各时间点阳性细胞染色数目下降明显。与对照组对应时间点比较, 实验组大鼠骨组织中TGF- $\beta 1$ 的表达明显降低($P < 0.01$), 见表5。

表5 各时间点大鼠骨微量环境中 TGF- $\beta 1$ 的表达
Table 5 The expression of transforming growth factor $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) in the bone micro-environment at different time points ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Time after model preparation (wk)	Number of positive cells (n)		Gray value	
	Experimental	Control	Experimental	Control
4	56.40 $\pm$ 4.57	64.55 $\pm$ 4.49 ^a	172.49 $\pm$ 11.27	143.49 $\pm$ 10.39 ^a
8	54.20 $\pm$ 5.41	63.30 $\pm$ 3.32 ^a	175.66 $\pm$ 11.08	145.26 $\pm$ 10.38 ^a
12	45.95 $\pm$ 5.45	62.40 $\pm$ 3.44 ^a	188.07 $\pm$ 12.03	143.03 $\pm$ 9.31 ^a
16	35.70 $\pm$ 7.66	63.05 $\pm$ 4.29 ^a	198.79 $\pm$ 11.78	145.36 $\pm$ 9.50 ^a

^a $P < 0.01$, vs. experimental group

3 讨论

糖尿病是一种系统性疾病, 可导致多个系统的病变, 能影响骨代谢引起骨质疏松症^[3, 7], 但机制尚不明确。有研究认为糖尿病骨质疏松中, 某些细胞因子会发生变化^[8-9]。

雌激素通过作用于成骨细胞上的雌激素受体, 改善骨的代谢, 减少骨的吸收, 它还可抑制甲状旁腺介导的骨吸收并增加肠道和肾脏对钙的重吸收, 升高血钙水平, 促进骨的形成^[3]。实验中, 血清雌激素水平逐渐降低, 但与对照组比较差异无显著性意义, 考虑其变化可能与大

鼠年龄增长有关; 而两组大鼠股骨骨密度明显降低, 说明雌激素在糖尿病性骨质疏松发生机制中不起主要作用。

一氧化氮广泛存在于机体的各种组织中, 能诱导破骨细胞的凋亡, 抑制成熟破骨细胞的活性, 减少骨吸收^[5]。实验中, 血清一氧化氮也逐渐降低, 且低于正常大鼠。有研究显示一氧化氮与骨密度有关^[5], 并通过降低对破骨细胞活性的抑制作用, 增强骨吸收, 导致骨密度降低。实验结果与其相符, 说明一氧化氮可能参与了糖尿病性骨质疏松的发生, 但糖尿病中血清一氧化氮水平降低的机制尚不清楚。有研究提示在去卵巢大鼠中, 雌激素水平降低, 可导致一氧化氮水平下降, 减轻对破骨细胞活性的抑制, 增加骨吸收^[6]。但实验中两组雌激素差异无显著性意义, 而一氧化氮降低, 提示糖尿病骨质疏松中可能存在其他机制。Olbrich等^[10]研究认为高糖状态导致血管内皮细胞完整性受损, 导致血管内皮合成的一氧化氮减少; 而Chakravarthy等^[11]研究发现高糖状态时形成的不可逆性糖基化终末产物可与一氧化氮发生化学反应, 导致一氧化氮减少。Kohli等^[12]研究认为糖尿病时机体的L-精氨酸降低使一氧化氮合成的底物不足, 导致一氧化氮降低, 金晓东等^[13]亦证实给糖尿病大鼠补充外源性L-精氨酸时血清一氧化氮水平升高。众多因素影响血清一氧化氮水平下降, 有没有共同通路导致一氧化氮降低呢? 仍需进行更深层次的研究。

TGF- $\beta 1$ 在机体中广泛存在, 尤其在骨组织中含量最为丰富。TGF是一类对靶细胞具有多种特殊作用的细胞生长和分化调节蛋白^[14]。TGF- $\beta 1$ 在不同条件下, 既可促进成骨细胞分化, 又可降低其分化; 而且还可支持破骨细胞形成, 刺激骨的吸收; 它是骨形成和骨吸收之间重要的偶联调节因子^[15]。TGF- $\beta 1$ 可以促进雌激素受体表达, 增强雌激素抑制骨丢失的功能^[16]。实验发现糖尿病大鼠血清TGF- $\beta 1$ 逐渐升高, 与对照组差异有显著性意义。这与Mather等^[17]实验结果一致, 该研究认为血清TGF- $\beta 1$ 升高可能和高血糖、肾脏代谢以及肾素-血管紧张素系统有关。另外, TGF- $\beta 1$ 在对照组骨组织中呈阳性染色, 主要分布在成骨细胞胞浆, 部分骨基质中也有表达, 说明TGF- $\beta 1$ 在正常情况下参与了骨代谢平衡的维持。而糖尿病大鼠骨组织中表达较弱, 说明高糖影响了骨组织中TGF- $\beta 1$ 的表达, 导致骨代谢失衡。实验显示高糖下血清中TGF- $\beta 1$ 升高, 骨组织中TGF- $\beta 1$ 表达降低, 可能是糖尿病中骨的代谢与骨组织中的TGF- $\beta 1$ 表达有关, 血清中TGF- $\beta 1$ 与糖尿病影响肾脏代谢有关, 但仍需进一步研究。

实验中, 糖尿病大鼠股骨骨密度降低, 与对照组差异有显著性意义, 进一步证实糖尿病可以导致骨密度降低, 继而出现骨质疏松, 这和Valéria等^[2]得出的结论一致。TGF- $\beta 1$ 被证实与骨代谢有关, TGF- $\beta 1$ 基因缺失可导致

骨密度降低^[18], 与实验结果相符。同样一氧化氮也被证实可促进骨形成, 抑制骨吸收, 增加内皮型一氧化氮合酶基因的表达或提供外源性一氧化氮均可导致骨密度升高^[19-20]。但是一氧化氮, TGF- $\beta 1$ 之间是否有协同作用, 在糖尿病骨质疏松中协同导致骨密度降低尚不清楚。

综上所述, 糖尿病能够引起大鼠骨密度降低, 导致骨质疏松。在糖尿病骨质疏松大鼠中血清一氧化氮降低, 同时血清TGF- $\beta 1$ 升高, 骨组织中TGF- $\beta 1$ 降低, 说明骨密度降低和骨组织中TGF- $\beta 1$ 的水平有关, 血清中TGF- $\beta 1$ 主要与肾脏代谢有关, 而血清TGF- $\beta 1$ 与骨组织中TGF- $\beta 1$ 有何联系尚需进一步研究。

4 参考文献

- [1] Albright F, Reifstein EC. Parathyroid Glands and Metabolic Bone Disease: Selected Studies. Baltimore: Williams and Wilkins. 1948: 150-164.
- [2] Valéria MG, Luciana A. Osteopenia: a bone disorder associated with diabetes mellitus. J Bone Miner Metab. 2005;23:58-68.
- [3] Khosla S. Update on estrogens and the skeleton. J Clin Endocrinol Metab. 2010;95(8):3569-3577.
- [4] Wimalawansa SJ. Restoration of ovariectomy-induced osteopenia by nitroglycerine. Calcif Tissue Int. 2000;66:56-60.
- [5] Ozgocmen S, Kaya H, Fadilioglu E, et al. Effects of calcitonin, risedronate, and raloxifene on erythrocyte antioxidant enzyme activity, lipid peroxidation, and nitric oxide in postmenopausal osteoporosis. Arch Med Res. 2007;38(2):196-205.
- [6] Das UN. Nitric oxide as the mediator of the antiosteoporotic actions of estrogen, statins, and essential fatty acids. Exp Biol Med (Maywood). 2002;227(2):88-93.
- [7] Schwartz AV, Sellmeyer DE, Strotmeyer ES, et al. Diabetes and bone loss at the hip in older black and white adults. J Bone Miner Res. 2005;20(4):596-603.
- [8] Shaarawy M, Zaki S, Sheiba M, et al. Circulating levels of osteoclast activating cytokines, interleukin-11 and transforming growth factor-beta2, as valuable biomarkers for the assessment of bone turnover in postmenopausal osteoporosis. Clin Lab. 2003;49(11-12): 625-636.
- [9] Su L, Miao YD, Li W, et al. Zhonghua Laonian Yixue Zazhi. 2002; 21(3):182-184.
苏琳, 苗懿德, 李卫, 等. 老年男性2型糖尿病患者尿蛋白排泄率及生长因子与骨质疏松的关系[J]. 中华老年医学杂志, 2002, 21(3):182-184.
- [10] Olbfich A, Rosen P, Hilgem RD, et al. Fosinopril improves regulation of vascular tone in mesenteric bed of diabetic rats. J Cardiovasc Pharmacol. 1996;27(2):187-194.
- [11] Chakravarthy U, Hayes RG, Stitt AW, et al. Constitutive nitric oxide synthase expression in renal vascular endothelial cell is suppressed by high glucose and advanced glycation end products. Diabetes. 1998;47(6):945-952.
- [12] Kohli R, Meininger CJ, Haynes TE, et al. Dietary L-arginine supplementation enhances endothelial nitric oxide synthesis in streptozotocin-induced diabetic rats. J Nutr. 2004;134(3):600-608.
- [13] Jin XD, Chen XF, Dong M, et al. Zhongguo Laonian Xue Zazhi. 2008;28(8):733-735.
金晓东, 陈秀芳, 董敏, 等. L-精氨酸对糖尿病大鼠NO-cGMP信号通路的影响[J]. 中国老年学杂志, 2008, 28(8):733-735.
- [14] Piek E, Heldin CH, Ten Dijke P. Specificity, diversity, and regulation in TGF-beta superfamily signaling. FASEB J. 1999;13(15):2105-2124.

- [15] Nikolidakis D, Meijer GJ, Oortgiesen DA. The effect of a low dose of transforming growth factor beta1 (TGF-beta1) on the early bone-healing around oral implants inserted in trabecular bone. Biomaterials. 2009;30(1):94-99.
- [16] Tao SQ, Pan XC. Zhongguo Guzhi Shusong Zazhi. 2005;11: 302-305.
陶树清, 潘宣超. 转化生长因子 β 对大鼠成骨细胞雌激素受体表达的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2005, 11:302-305.
- [17] Mather A, Chen XM, McGinn S, et al. High glucose induced endothelial cell growth inhibition is associated with an increase in TGFbeta1 secretion and inhibition of Ras prenylation via suppression of the mevalonate pathway. Int J Biochem Cell Biol. 2009;41(3):561-569.
- [18] Pfeilschifter J, Laukhuf F, Müller-Beckmann B, et al. Parathyroid hormone increases the concentration of insulin-like growth factor-I and transforming growth factor beta 1 in rat bone. J Clin Invest. 1995;96(2):767-774.
- [19] Firat SC, Cetin Z, Samanci N, et al. Evaluation of eNOS gene polymorphisms in relation to BMD in postmenopausal women. Maturitas. 2009;63(4):352-356.
- [20] Hukkanen M, Platts LA, Lawes T, et al. Effect of nitric oxide donor nitroglycerin on bone mineral density in a rat model of estrogen deficiency-induced osteopenia. Bone. 2003;32(2):142-149.

来自本文课题的更多信息一

基金资助: 山东省科技发展计划项目 (2008GG30002073)。

作者贡献: 刘中浩进行实验设计, 实验实施为刘中浩、高红伟、赵锡武, 实验评估为邢德国、宫明智, 资料收集为高红伟、王若义, 刘中浩成文, 宫明智审校, 刘中浩对文章负责。

致谢: 感谢山东大学第二医院影像科的老师帮助并指导完成骨密度的测量。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理批准: 实验中对动物的处置符合中华人民共和国科学技术部颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》的相关要求。

本文创新性

提供证据: 中文文献在 CNKI 数据库中检索, 检索词为“糖尿病骨质疏松、一氧化氮、转化生长因子 $\beta 1$ 、雌激素”, 英文文献在 Pubmed 数据库中检索, 检索词为“diabetic osteoporosis, TGF- $\beta 1$, nitric oxide, estrogen”。检索时间为建库至 2010 年, 未见与文章密切相关的研究。

创新点说明: 通过建立糖尿病骨质疏松症大鼠模型, 检测血清中雌激素、一氧化氮、转化生长因子 $\beta 1$ 水平的变化, 并通过检测股骨骨密度及骨组织中转化生长因子 $\beta 1$ 的变化, 探讨糖尿病、雌激素水平、一氧化氮、转化生长因子 $\beta 1$ 与骨质疏松症的关系, 并且进一步改进和完善糖尿病骨质疏松症大鼠模型, 明确糖尿病血清中一氧化氮、转化生长因子 $\beta 1$ 的变化趋势及对骨质疏松症发展进程及程度的影响。