

番茄红素联合跑台运动对去卵巢大鼠骨质疏松模型的影响

缪律 罗冲* 吕季东

上海体育学院,上海 200438

中图分类号: R-332 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2016) 08-0989-09

摘要: 目的 通过观察番茄红素和跑台运动对去卵巢大鼠骨代谢指标的影响,探究番茄红素联合运动对去势大鼠骨代谢的作用机制。方法 6月龄雌性 Wistar 大鼠,按体质量随机分为6组:假手术组(Sham组)、去卵巢组(OVX组)、去卵巢+运动组(OVX+E组)、去卵巢+番茄红素组(OVX+L组)、去卵巢+运动+番茄红素组(OVX+E+L组)、去卵巢+阿仑磷酸钠组(OVX+AL组)。在12周后取材进行相关指标测试。结果 (1)单纯性的跑台运动能降低去势大鼠脂肪量,提高骨小梁数目的同时提高骨形成标志物骨钙素(osteocalcin, OC)水平,促进骨形成。(2)单纯性的番茄红素疗法能提高去势大鼠的子宫重量、血清甲状腺激素水平,提高相对骨体积、骨小梁厚度和骨内膜骨形成率,增强骨密度的同时降低骨代谢标志物I型胶原氨基末端交联肽(NTx)水平,抑制骨吸收。(3)运动和药物交互作用能降低去势大鼠的脂肪百分比,提高血清雌二醇水平,降低尿8-OHdG和尿脱氧吡啶酮(DPD)水平。改善去势大鼠骨小梁结构参数,提高骨外膜骨形成率、骨强度和抗性变能力,改善全身骨密度。结论 (1)适度的跑台运动可以防止去势大鼠骨丢失,改善去势大鼠骨健康。(2)12周的番茄红素对去势大鼠骨代谢的治疗作用与阿仑磷酸钠效果类似,提高骨强度,降低体内氧化还原反应、加强抗氧化系统功能,维持骨代谢平衡。(3)番茄红素和运动表现出良好的协同作用,对去势大鼠骨重建具有积极的作用。

关键词: 番茄红素;跑台运动;去势大鼠;氧化应激;骨质疏松

The effect of lycopene in combination with treadmill exercise in an osteoporosis rat model

MIAO Lv, LUO Chong*, LV Jidong

Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China

Corresponding author: LUO Chong, Email: luochong@sus.edu.cn

Abstract: Objective To study the effect of lycopene and exercise on bone metabolism in ovariectomized rats, and to explore the relevant mechanism. **Methods** 6 month old female Wistar rats, were random divided into 6 groups stratified by body mass: sham group (sham), OVX group (OVX group), OVX + E group (OVX + Exercise group), OVX + L group (OVX + lycopene group), OVX + E + L group (OVX + Exercise + lycopene group), OVX + A group (ovariectomy + alendronate group). After 12 weeks, the relevant indicators were tested. **Results** (1) Treadmill exercise could decrease fat body mass and improve OC (bone formation marker) levels in ovariectomized rats, as well as improve trabecular number and inhibit bone resorption. (2) Lycopene monotherapy could improve uterine weight and serum thyroid hormone level, and decrease the level of NTX in ovariectomized rats. It also increased the relative bone volume, trabecular thickness and bone formation rate, and promoted bone formation. (3) Exercise in combination with drug treatment could decrease the percentage of body fat in ovariectomized rats, increase the level of serum estradiol, and reduce the level of 8-OHdG and DPD in urine. It also improved the structural parameters of trabecular bone, the rate of bone formation, bone strength and resistance, and whole body bone mineral density in ovariectomized rats. **Conclusion** (1) Moderate treadmill exercise can prevent bone loss and improve bone health in ovariectomized rats. (2) The effects of lycopene on bone metabolism in ovariectomized rats was similar to that of alendronate after 12 weeks, including increased bone strength, reduced oxidation, enhanced function of the antioxidant system and maintenance of bone metabolism balance. (3) Lycopene and exercise showed great synergistic effect, and had positive effects on bone remodeling in ovariectomized rats.

Key words: Lycopene; Treadmill exercise; Ovariectomized rats; Oxidative stress; Osteoporosis

*通讯作者: 罗冲, Email: luochong@sus.edu.cn

1 前言

骨质疏松症是一种常见的、全身性的骨代谢疾病。骨质疏松症在中老年尤其是绝经后妇女中发病率较高,不仅影响人体健康,更加剧了家庭和社会的经济负担。目前中国约有9000万患者,预计到2050年,中国的老年人口将达2.1亿。随着社会老龄化加剧,骨质疏松症及其引发的一系列相关疾病将备受关注。

目前的药物治疗中,降钙素和雌性激素在治疗骨质疏松方面取得了显著的临床效果,但是其价格昂贵,并不能被广大病患接受。所以近年来研究者将焦点集中在中药和食疗上。番茄红素属于萜类胡萝卜素,广泛分布在蔬菜和水果中,具有防止氧化损伤、清除自由基、增加人体免疫力的作用。最近Mackinnon等^[1]研究发现,健康的绝经后妇女在膳食中控制番茄红素的摄入,体内抗氧化酶和过氧化氢酶循环均显著降低。健康的绝经妇女补充番茄红素,能显著降低氧化应激标志物水平和骨吸收标志物水平^[2]。动物研究发现,去势大鼠补充番茄红素后,能有效防止骨量丢失,恢复骨强度^[3,4]。然而,番茄红素对骨保护作用的机制尚不确定。本实验旨在通过观察番茄红素对去卵巢大鼠骨代谢指标的影响,探讨番茄红素在预防和治疗骨质疏松症的作用机制。

2 研究对象与方法

2.1 动物分组及处理

2.1.1 动物分组:6月龄雌性Wistar大鼠90只,购于上海斯莱克动物实验中心,饲养期间,大鼠自由摄食、饮水,动物房温度控制在 $(22.0 \pm 1.0)^\circ\text{C}$,相对湿度 $(50 \pm 10)\%$,明暗周期12:12。饲养1周后,按体重分层随机分为以下6组,(1)假手术组:Sham组($n=15$);(2)去势组:VX组($n=15$);(3)去势+运动组:OVX+E组($n=15$);(4)去势+番茄红素组:OVX+L组($n=15$);(5)去势+运动+番茄红素组:OVX+E+L组($n=15$);(6)阿仑膦酸钠组:OVX+AL组($n=15$)。各组大鼠乙醚吸入麻醉,在严格的无菌操作下,取腰椎后侧正中切口,椎旁钝性分离肌肉组织,切开腹膜,进入腹腔。完整切除双侧卵巢后撒上青霉素粉,缝合皮肤,消毒伤口。假手术组操作仅摘除少许卵巢组织周围脂肪组织,不切除卵巢。1周后,开始实验。

2.1.2 注射和运动方案:(1)注射方案。Sham组、

OVX组和OVX+A组大鼠每天用大鼠玉米油2 mL灌胃,番茄红素治疗组每天灌服含番茄红素的玉米油2 mL(剂量组30 mg/kg体质量配制)。阿仑膦酸钠组每天的剂量为20 mg/kg。实验期间,每天对大鼠称重。所有动物处死前15、14天和5、4天分别皮下注射盐酸四环素30 mg/kg和钙黄绿素5 mg/kg进行体内荧光标记。实验干预12周后进行相关指标测试。(2)运动方案。在OVX+E组和OVX+E+L组,每天运动1 h,每周5次,为期14周。在第1周和第9周,大鼠进行递增负荷实验测试最大有氧速度(maximum aerobic speed, MAS)。实验时以7.5 m/min的速度热身5 min,之后每2 min增加一个速度级别直至大鼠不能跟上跑台速度或停止运动,此时的速度即为MAS。简单来说,1 h的训练计划如下:以MAS的50%进行10 min热身练习。随后进行5组10 min的跑台训练,其中前8 min大鼠以MAS的80%~85%进行锻炼,后2 min大鼠以MAS的50%进行锻炼。

2.2 测试指标

2.2.1 标本收集:(1)血清和尿液指标。在开始实验时第12周采集血液和尿液样本。采集指标前一天晚上所有大鼠禁食。第二天早晨,各组大鼠乙醚吸入麻醉,前3次在大鼠尾部采集血液样本,第12周取腹主动脉血液样本,离心分离血清,检测血清ALP、TRACP的含量,具体操作按试剂盒(购自南京建成工程研究所)说明书进行。尿液样本分析将尿样解冻,在混悬器上混匀,调节pH值为6.0~8.0,然后12 000 r/min离心5 min($r=10\text{ cm}$),取上清50 μL ,用酶联免疫法(ELISA)检测8-羟化脱氧鸟苷(8-OHdG)。每板做一套浓度范围为0.5~200 ng/ml的标准曲线,每份样品做2个平行样。采用Jaffe反应-分光光度法进行尿肌酐分析。(2)骨组织标本。在第12周动物取血后,对骨密度进行测试,然后取左侧股骨、第4、5腰椎、左侧胫骨以备进行各项指标的检测。

2.2.2 体重、脂肪量和骨密度(bone mineral density, BMD):体重、脂肪量、瘦体重使用美国GE公司产DPX-MD型双能X线骨密度仪。用Lunar DPX-MD型骨密标准模型和分析软件度仪及所附小动物梯级在其腰椎体和左侧股骨进行扫描,得出大鼠的BMD。

2.2.3 骨组织形态计量学:(1)骨小梁静态参数。对骨小梁微结构进行 μCT (Skyscan 1072, Skyscan, Belgium)扫描。设置X射线电压为85kV,电流110

μA,对骨组织进行扫描,然后利用三维重建软件进行三维构建。将兴趣区截取下来,使用Skyscan μCT分析软件对骨体积分数(BV/TV)、骨小梁数目(Tb.N)、骨量厚度(Tb.Th)、骨小梁分离度(Tb.Sp)、参数进行测定。(2)皮质骨参数。对皮质骨的研究,本实验通过Micro-CT对胫骨上端、中段进行二维重建。将皮质骨和骨小梁分离,使用二位计算方法,转化为二进制图片。对皮质骨的研究采用了和骨小梁相同的采集特性。重建后,利用扫描分析仪软件绘制骨皮质轮廓。在阈值反转前,采用简单的全阈值法,并开发了适用于骨小梁的分析算法,用来表现皮质孔隙度网络的特性。然后,通过Bouxsein等^[5]的算法来计算骨皮质形态参数。使用ImageJ软件测定皮质骨形态计量学参数。骨组织形态计量学参数有静态和动态参数。通过静态参数可以分析骨量和骨的结构,动态参数为反映骨形成和骨吸收(骨形成)的指标。静态参数包括皮质骨面积(Ct.Ar)、骨髓腔面积(MAR)。动态参数包括骨外膜荧光周长百分比(P-L.Pm)、骨外膜骨形成率(P-BFR/BS)、骨内膜荧光周长百分比(E-L.Pm)、骨内膜骨形成率(E-BFR/BS)、骨内膜骨矿物沉积率(E-E.Pm)。骨吸收参数包括破骨细胞周长百分率(Oc.S/BS)、每毫米破骨细胞数(N.Oc/BS)。骨形成参数包括成骨细胞周长百分率(Ob.S/BS)、骨形成率(BFR/BS)

2.2.4 骨的生物力学性能:通过施加三点弯曲试验

对椎骨进行力学性能的评估。每个椎骨固定在计测仪两个较低的支架上。调整两支点间距离为15mm,将股骨自由放置在支架上,曲面向下,使股骨中点,两支点中心及加载点重合,以1mm/min的速度加载至样本断裂,用Instron 3343软件描述载荷-变形曲线,记录最大载荷(N)。然后转化为力-位移曲线,得出以下骨生物力学参数:从最大负荷和横截面积计算内在的最大载荷(N)、韧性(MPa)和模量(弹性模量,MPa)^[6-7]。

2.2.5 骨形成和骨吸收的生化分析:12周实验后,对骨转换标记进行分析。骨钙素(OC)测定分析骨形成,骨I型胶原氨基端末端交联肽(NTx)测定分析骨吸收。采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定NTx含量。NTx测定使用I型胶原ELISA试剂盒。厂商的批内和批间变异系数分别<8%和<10%。

2.2.6 数理统计与分析:所有数据采用均数±标准差表示,用SPSS 17.0统计软件进行统计分析,Sham组和OVX组对比,采用独立样本T检验,OVX组、OVX+L组、OVX+E组、OVX+L+E组和OVX+AL组先采用双因素方差分析,针对其出现差异的影响因素,再进行独立样本T检验,P<0.05为有显著性差异。

3 结果

3.1 番茄红素和跑台运动对大鼠体成分指标和番茄红素水平的影响(表1)

表1 实验后各组大鼠体成分和番茄红素水平情况(̄x±s)

Table 1 Changes of rats' body weight in different groups at the end of the experiment (̄x±s)

组别	体重(g)		体成分			子宫重量(g/kg)	肝脏番茄红素浓度(nmol/g)	血清番茄红素浓度(nmol/l)
	实验前	实验后	瘦体重(g)	脂肪量(g)	脂肪占比(%)			
Sham组	268.54±5.67	362.85±8.28	298.10±6.37	62.12±2.04	17.34±1.42	93.52±4.56	N	N
OVX组	270.56±6.35	407.28±8.73	317.51±6.22	90.75±1.81 ^a	21.93±1.48	19.86±1.85	N	N
OVX+E组	269.45±6.05	404.35±7.35	327.68±6.57	76.76±2.75 ^b	19.35±1.57	23.58±3.37	N	N
OVX+L组	270.12±6.95	393.53±6.57	311.63±4.81	80.20±2.19	20.16±1.42	39.56±4.21 ^b	22.95±2.35	38.05±6.19
OVX+E+L组	269.85±5.91	383.75±6.57	316.33±5.75	67.41±2.46 ^b	17.65±1.72 ^b	40.75±4.47 ^{bc}	27.64±2.75	50.41±5.32 ^d
OVX+AL组	271.87±3.87	408.75±6.21	322.81±5.32	85.48±2.39	21.17±1.47	19.98±2.27	N	N

注:实验后与实验前比较,^TP<0.05;与Sham组比较,^aP<0.05;与OVX组比较,^bP<0.05;与OVX+E组比较,^cP<0.05;与OVX+L组比较,^dP<0.05。

由表1可知,OVX组大鼠在实验前体重无显著性差异,单纯性的番茄红素治疗并未使体成分指标发生显著变化,子宫重量却得到显著性提高;而单纯性的运动疗法,使得大鼠的脂肪量显著下降;当两种疗法交互作用时,去势大鼠的脂肪百分比显著下降,子宫重量较OVX组显著提高,血清番茄红素浓度较

单纯性番茄红素治疗组显著提高。

3.2 番茄红素和跑台运动对大鼠血清矿物质、酶、骨转换指标和尿液指标的影响(表2)

3.2.1 血清矿物质水平和血浆抗氧化酶活性水平:由表2可知,实验后OVX组的血清钙(Ca)、血磷(P)水平,血清蛋白(Albumin)、血清肌酐水平、谷草

转氨酶(AST)和谷丙转氨酶(ALT)水平无显著性差异;OVX组血清雌二醇水平显著低于Sham组($P < 0.05$),运动和番茄红素交互作用都能显著提高OVX组的血清雌二醇(E_2)水平($P < 0.05$);单纯性的番茄红素治疗能显著提高OVX组的血清甲状腺激素水平($P < 0.05$)。

全身抗氧化活性测试结果表明,OVX组的血浆GPx活性较Sham组显著下降($P < 0.05$),单纯性的

番茄红素治疗能提高去势大鼠的GPx活性。而阿仑膦酸钠治疗未出现显著效果。

3.2.2 尿8-OHdG水平:通过检测8-OHdG水平,也可以分析番茄红素对DNA氧化损伤的治疗效果。8-OHdG水平不受运动的影响,而单纯性番茄红素治疗能显著降低去势大鼠的8-OHdG水平($P < 0.05$)。

表2 番茄红素和运动治疗对去势大鼠血清矿物、酶和激素水平的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of lycopene and exercise on serum levels of minerals, enzymes and hormones in ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	Ca (nmol/l)	P (mmol/l)	Albumin (g/l)	AST (U/l)	ALT (U/l)	E_2	FSH	LH	PTH	Creatinine	GPx	NTx	OC	PINP	8-OHdG	DPD
Sham组	2.41 ± 0.05	1.35 ± 0.06	44.25 ± 2.48	51.54 ± 3.47	29.52 ± 3.45	79.35 ± 4.27	2.46 ± 0.23	1.27 ± 0.29	43.78 ± 3.24	30.76 ± 1.20	212.54 ± 13.30	21.05 ± 3.78	24.81 ± 3.65	7.15 ± 0.57	33.61 ± 4.42	13.26 ± 1.65
OVX组	2.52 ± 0.07 ^a	1.68 ± 0.12 ^a	44.63 ± 2.52	60.77 ± 6.14	32.80 ± 5.81	12.56 ± 2.45 ^a	4.29 ± 0.43 ^a	3.08 ± 0.37 ^a	49.51 ± 3.67 ^a	30.60 ± 1.54	176.75 ± 10.15 ^a	36.23 ± 4.53 ^a	33.09 ± 3.46 ^{ab}	10.25 ± 0.78 ^a	34.50 ± 3.65	30.16 ± 3.23 ^a
OVX + E组	2.51 ± 0.05 ^a	1.62 ± 0.07 ^a	44.57 ± 2.36	55.51 ± 5.66	28.75 ± 4.28	30.23 ± 3.42 ^{ab}	4.18 ± 0.40 ^a	3.00 ± 0.34 ^a	47.23 ± 3.36 ^a	30.24 ± 1.41	227.41 ± 12.56 ^b	35.27 ± 4.32 ^{ab}	34.51 ± 3.37 ^{ab}	9.78 ± 0.31 ^a	30.47 ± 4.26	32.78 ± 3.69 ^a
OVX + L组	2.42 ± 0.03	1.42 ± 0.06	44.97 ± 2.58	48.18 ± 4.20	27.55 ± 3.07	54.30 ± 5.41 ^{bc}	2.79 ± 0.45 ^{bc}	1.68 ± 0.42 ^{bc}	51.04 ± 5.51 ^a	30.77 ± 1.83	268.55 ± 9.56 ^{abc}	20.51 ± 4.75	25.15 ± 3.41 ^{ab}	7.14 ± 0.56 ^{bc}	17.78 ± 3.57 ^{bc}	17.65 ± 2.60 ^{bc}
OVX + E + L组	2.41 ± 0.04	1.40 ± 0.06	45.07 ± 2.61	47.03 ± 4.43	26.27 ± 3.26	57.47 ± 4.86 ^{bcd}	2.61 ± 0.42 ^{bcd}	1.53 ± 0.40 ^{bc}	54.24 ± 5.25 ^a	30.49 ± 1.92	254.61 ± 11.42 ^{ab}	19.89 ± 3.41	24.51 ± 3.12 ^{ab}	6.74 ± 0.49 ^{bc}	15.27 ± 3.26 ^{bc}	20.54 ± 3.66 ^{bc}
OVX + AL组	2.44 ± 0.05	1.42 ± 0.06	45.01 ± 2.45	51.06 ± 3.06	30.02 ± 3.18	13.95 ± 2.29 ^a	3.21 ± 0.35	2.85 ± 0.46 ^a	58.29 ± 5.58 ^a	30.46 ± 2.01	189.95 ± 10.27	25.71 ± 3.94	25.85 ± 3.43	6.60 ± 0.51	32.78 ± 3.98	15.04 ± 1.93 ^b

注:与Sham组比较,^a $P < 0.05$;与OVX组比较,^b $P < 0.05$;与OVX + E组比较,^c $P < 0.05$;与OVX + L组比较,^d $P < 0.05$ 。

3.2.3 骨转换生化指标:骨转换生物标志是反映番茄红素治疗对骨骼作用的指标。OVX组大鼠的骨形成标志物OC水平和PINP水平较Sham组均显著升高($P < 0.05$)。单纯性的运动能使OC水平升高,而单纯性的番茄红素治疗能显著降低OC水平和PINP水平($P < 0.05$)。观察骨代谢标志物(NTx)指标发现,OVX组大鼠的NTx水平显著升高,单纯性的番茄红素治疗,可以使OVX组大鼠NTx水平显著下降($P < 0.05$)。

尿DPD只存在于骨与牙质的I型胶原中,而牙质所占比例极微,可忽略不计,故尿中DPD几乎来

自矿化骨的骨吸收。DPD只有在骨吸收破坏时才释放入血,在血中不参与体内任何代谢,以原形直接从肾脏排出,不受食物和药物的影响。因此,它被认为反映骨胶原降解和骨吸收的灵敏性和特异性较高的生化指标,尿DPD浓度增高即反映骨吸收增强。由表2可知,OVX组的DPD显著提高,番茄红素治疗或番茄红素联合运动疗法能显著降低OVX组大鼠的DPD水平($P < 0.05$)。

3.3 番茄红素和跑台运动对大鼠骨密度的影响(表3)

表3 番茄红素和跑台运动对去势大鼠腰椎和股骨中段BMD指标的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effects of lycopene and treadmill exercise on BMD of lumbar and humerus in ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	腰椎			股骨中段				
	总面积 (mm ²)	BMC (mg/mm)	BMD (mg/cm ³)	BMC (mg/mm)	BMD (mg/cm ³)	厚度 (mm)	骨膜周长 (mm)	骨内周长 (mm)
Sham组	6.97 ± 0.10	5.16 ± 0.10	759.20 ± 8.20	9.48 ± 0.12	1338.60 ± 4.60	0.80 ± 0.01	11.42 ± 0.08	6.24 ± 0.10
OVX组	7.02 ± 0.09	4.73 ± 0.12 ^a	681.6 ± 11.10 ^a	9.32 ± 0.11	1323.80 ± 4.10 ^a	0.78 ± 0.01	11.03 ± 0.08	6.21 ± 0.15
OVX + E组	7.04 ± 0.09	4.88 ± 0.13 ^a	691.60 ± 10.20 ^a	9.41 ± 0.12	1324.00 ± 4.20 ^a	0.78 ± 0.01	11.16 ± 0.09	6.20 ± 0.14
OVX + L组	7.35 ± 0.10	5.46 ± 0.16 ^{bc}	763.80 ± 9.50 ^{bc}	9.57 ± 0.12 ^a	1343.60 ± 4.00 ^{ab}	0.87 ± 0.02 ^a	10.95 ± 0.10	6.00 ± 0.12 ^{abc}
OVX + E + L组	7.38 ± 0.10	5.49 ± 0.15 ^{bc}	771.20 ± 9.90 ^{bc}	9.59 ± 0.13 ^a	1348.00 ± 4.50 ^{ab}	0.88 ± 0.01 ^a	10.90 ± 0.09 ^a	6.03 ± 0.13 ^{abc}
OVX + AL组	7.34 ± 0.09	5.62 ± 0.13 ^{bc}	770.10 ± 9.90 ^{bc}	9.51 ± 0.13	1346.70 ± 4.70 ^{ab}	0.88 ± 0.01 ^a	11.39 ± 0.09	5.91 ± 0.12 ^{ab}

注:与Sham组比较,^a $P < 0.05$;与OVX组比较,^b $P < 0.05$;与OVX + E组比较,^c $P < 0.05$;与OVX + L组比较,^d $P < 0.05$ 。

由表3可知,OVX组大鼠腰椎BMD、BMC指标显著低于Sham组大鼠($P < 0.05$),单纯性的运动未能改善骨密度,单纯性的番茄红素疗法能显著提高腰椎BMD、BMC指标($P < 0.05$),两种疗法共同干预表现出良好的交互作用。

观察股骨中段的BMD指标发现,OVX组的BMD显著低于Sham组($P < 0.05$),而单纯性番茄红素治疗能显著提高股骨中段的BMD($P < 0.05$);运动联合番茄红素能显著提高股骨中段的厚度($P < 0.05$);而单纯性的番茄红素和联合作用,能显著降低股骨中段骨内周长($P < 0.05$)。

3.4 番茄红素和跑台运动对大鼠骨组织形态计量

学的影响

3.4.1 骨小梁静态参数(表4):由表4可知,OVX组的胫骨干骺端和股骨中段采用体外 μ CT分析。如实验预期,同Sham组相比,OVX组大鼠胫骨近端的相对骨体积(BT/TV)、骨小梁数目(Tb. N)、骨小梁厚度(Tb. Th)显著降低($P < 0.05$),骨小梁分离度(Tb. Sp)显著升高($P < 0.05$)。单纯性的运动能显著提高骨小梁数目($P < 0.05$),单纯性的番茄红素治疗能提高去势大鼠的相对骨体积和骨小梁厚度($P < 0.05$),运动交互药物治疗可以显著改善去势大鼠骨小梁结构参数($P < 0.05$)。阿仑膦酸钠治疗效果近似于番茄红素治疗效果。

表4 番茄红素和跑台运动对去势大鼠胫骨上段和股骨中段静态参数的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effects of lycopene and treadmill exercise on bone trabecular structure in ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	胫骨上段				股骨中段		
	BT/TV (%)	Tb. N(1/mm)	Tb. Th(mm)	Tb. Sp(mm)	BT/TV (%)	Ct. Th(mm)	Ct. Po(%)
Sham组	29.15 ± 1.37	5.15 ± 0.11	0.09 ± 0.00	0.08 ± 0.01	65.07 ± 0.57	0.65 ± 0.01	0.22 ± 0.01
OVX组	13.18 ± 0.36 ^a	3.44 ± 0.09 ^a	0.07 ± 0.00 ^a	0.30 ± 0.02 ^a	61.28 ± 0.57	0.62 ± 0.01	0.28 ± 0.01 ^a
OVX + E组	14.05 ± 0.54 ^a	4.05 ± 0.16 ^{ab}	0.07 ± 0.00 ^a	0.28 ± 0.02 ^a	62.79 ± 0.51	0.62 ± 0.01	0.18 ± 0.01
OVX + L组	31.25 ± 1.66 ^b	5.25 ± 0.07 ^{bd}	0.17 ± 0.01 ^{abc}	0.17 ± 0.01 ^{abc}	66.37 ± 0.45	0.71 ± 0.01 ^{bc}	0.23 ± 0.01 ^{bc}
OVX + E + L组	31.97 ± 1.92 ^b	5.62 ± 0.17 ^{bd}	0.18 ± 0.01 ^{abc}	0.16 ± 0.01 ^{abc}	66.86 ± 0.54	0.71 ± 0.01 ^{bc}	0.24 ± 0.01 ^{bc}
OVX + AL组	30.45 ± 1.86 ^b	5.17 ± 0.11 ^d	0.18 ± 0.02 ^{abc}	0.19 ± 0.02 ^{abc}	67.45 ± 0.63	0.70 ± 0.01 ^{bc}	0.23 ± 0.01 ^{bc}

注:与Sham组比较,^a $P < 0.05$;与OVX组比较,^b $P < 0.05$;与OVX + E组比较,^c $P < 0.05$;与OVX + L组比较,^d $P < 0.05$ 。

相比OVX组,单纯性的番茄红素治疗未能改善去势大鼠股骨中段的BT/TV,但是显著提高了OVX组的Ct. Th和Ct. Po指标($P < 0.05$)。

3.4.2 皮质骨参数(表5、6):由表5可知,OVX组大鼠的BT/TV、Tb. N较Sham组显著下降($P < 0.05$),Ob. S/BS和Oc. S/BS显著升高($P < 0.05$),

BFR/BS显著升高($P < 0.05$)。单纯性的运动疗法能促进去势大鼠的骨形成率($P < 0.05$),在此基础上,单纯性的番茄红素治疗还能显著抑制去势大鼠破骨细胞周长百分率($P < 0.05$)。交互作用在显著提高去势大鼠的骨体积分数的同时,能抑制骨吸收,促进骨形成。

表5 番茄红素和跑台运动对去势大鼠胫骨上段动态和吸收参数的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effects of lycopene and treadmill exercise on the dynamic and absorption parameters of the proximal tibia in ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	BT/TV (%)	Tb. N (1/mm)	Ob. S/BS (%)	Oc. S/BS (%)	N. Oc. S/BS (%)	MS/BS (%)	MAR (μ m/d)	BFR/BS (μ m ² /m ³)	BFR/BV (%)
Sham组	22.35 ± 0.45	3.95 ± 0.14	0.60 ± 0.04	1.90 ± 0.09	0.55 ± 0.08	8.51 ± 0.47	1.42 ± 0.06	47.65 ± 2.37	145.6 ± 10.75
OVX组	14.15 ± 0.48 ^a	2.50 ± 0.10 ^a	9.05 ± 0.45 ^a	2.45 ± 0.11	0.79 ± 0.06 ^a	19.35 ± 1.05 ^a	1.41 ± 0.05	101.78 ± 4.07 ^a	370.2 ± 12.29 ^a
OVX + E组	14.42 ± 0.52 ^a	2.55 ± 0.10 ^a	7.85 ± 0.18 ^a	2.43 ± 0.08	0.72 ± 0.07 ^a	17.53 ± 0.76 ^a	1.35 ± 0.04	94.75 ± 5.10 ^{ab}	295.2 ± 10.27 ^{ab}
OVX + L组	27.08 ± 0.29 ^c	4.25 ± 0.09 ^a	0.25 ± 0.03 ^{ab}	1.18 ± 0.09 ^{ab}	0.28 ± 0.03 ^{ab}	4.37 ± 0.26 ^{ab}	0.68 ± 0.04 ^a	10.07 ± 0.96 ^{ab}	33.56 ± 4.54 ^{ab}
OVX + E + L组	27.75 ± 0.39 ^c	4.32 ± 0.09 ^c	0.24 ± 0.03 ^{ab}	1.16 ± 0.10 ^{ab}	0.27 ± 0.03 ^{ab}	4.17 ± 0.25 ^{ab}	0.65 ± 0.04 ^a	10.03 ± 0.85 ^{ab}	31.58 ± 4.31 ^{ab}
OVX + AL组	26.75 ± 0.47 ^b	4.29 ± 0.09 ^b	0.24 ± 0.03 ^{ab}	1.16 ± 0.10 ^{ab}	0.29 ± 0.03 ^{ab}	4.25 ± 0.23 ^{ab}	0.71 ± 0.05 ^a	10.09 ± 1.43 ^{ab}	32.45 ± 3.41 ^{ab}

注:与Sham组比较,^a $P < 0.05$;与OVX组比较,^b $P < 0.05$;与OVX + E组比较,^c $P < 0.05$;与OVX + L组比较,^d $P < 0.05$ 。

由表6可知,去卵巢未对大鼠的静态参数产生影响,显著提高了骨内膜、骨外膜的动态参数($P < 0.05$)。单纯性的运动干预对OVX组大皮质骨参数

影响不明显。单纯性的番茄红素疗法能够显著改善去势大鼠的骨内膜骨形成率。交互作用可以显著提高骨外膜骨形成率和骨沉积率($P < 0.05$)。

3.5 番茄红素和跑台运动对大鼠椎骨的生物力学性能的影响(表7)

表6 番茄红素和跑台运动对去势大鼠胫骨中段皮质骨参数的影响($\bar{x} \pm s$)Table 6 Effects of lycopene and treadmill exercise on cortical bone indices of femur in female rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	Ct. Ar (mm ²)	Ct. Wi (μm)	E-E. Pm/ Ec. Pm (%)	E-L. Pm/ Ec. Pm (%)	E-MAR ($\mu\text{m}/\text{d}$)	E-BFR. BS ($\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$)	P-L. Pm/ Ps. Pm (%)	P-MAR ($\mu\text{m}/\text{d}$)	P-BFR/BS ($\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$)
Sham 组	4.50 ± 0.11	725.6 ± 10.50	3.54 ± 0.52	2.58 ± 0.25	0.77 ± 0.19	5.65 ± 0.49	13.62 ± 2.84	0.97 ± 0.07	74.85 ± 16.69
OVX 组	4.89 ± 0.10	781.0 ± 8.50	7.61 ± 0.62 ^a	6.85 ± 0.48 ^a	1.36 ± 0.17 ^a	34.52 ± 0.58 ^a	49.54 ± 6.28 ^a	1.38 ± 0.07 ^a	272.50 ± 19.54
OVX + E 组	4.94 ± 0.08	775.9 ± 11.50	7.30 ± 0.63 ^a	6.77 ± 0.45 ^a	1.32 ± 0.19 ^a	32.89 ± 3.89	47.27 ± 5.61 ^a	1.34 ± 0.05 ^a	258.30 ± 11.37
OVX + L 组	4.92 ± 0.10	737.3 ± 10.00	4.71 ± 0.34 ^{ab}	2.35 ± 0.24 ^{ab}	0.80 ± 0.17 ^{ab}	6.37 ± 0.78 ^{abc}	21.65 ± 3.78 ^{abc}	1.19 ± 0.03 ^{ab}	138.70 ± 11.91
OVX + E + L 组	4.91 ± 0.09	732.5 ± 10.80	4.48 ± 0.47 ^{ab}	2.33 ± 0.22 ^{ab}	0.98 ± 0.15	6.72 ± 0.98 ^{abc}	19.54 ± 3.56 ^{abc}	1.21 ± 0.04 ^{ab}	133.40 ± 11.54
OVX + AL 组	4.91 ± 0.08	774.5 ± 12.50	4.93 ± 0.23 ^{ab}	2.46 ± 0.26 ^{ab}	0.71 ± 0.12 ^{ab}	6.78 ± 0.82 ^{abc}	52.41 ± 4.92 ^a	1.32 ± 0.04 ^a	250.80 ± 14.38

注:与 Sham 组比较,^a $P < 0.05$;与 OVX 组比较,^b $P < 0.05$;与 OVX + E 组比较,^c $P < 0.05$;与 OVX + L 组比较,^d $P < 0.05$ 。

表7 番茄红素和跑台运动对大鼠椎骨的生物力学性能的影响($\bar{x} \pm s$)Table 7 Effects of lycopene and treadmill exercise on biomechanical properties of vertebral body in ovariectomized rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	最大载荷(N)	韧性(Mpa)	弹性模量(Mpa)
Sham 组	60.25 ± 7.46	0.97 ± 0.45	2425 ± 153
OVX 组	45.85 ± 6.97 ^a	0.77 ± 0.33 ^a	2563 ± 204
OVX + E 组	48.24 ± 5.83 ^a	0.81 ± 0.29 ^a	2812 ± 276 ^a
OVX + L 组	59.78 ± 7.11 ^{bc}	0.88 ± 0.35 ^b	3251 ± 275 ^{ab}
OVX + E + L 组	62.33 ± 8.56 ^{bc}	0.95 ± 0.30 ^{bc}	3476 ± 303 ^{abc}
OVX + AL 组	63.47 ± 8.79 ^{bc}	0.76 ± 0.34	3471 ± 226 ^{abc}

注:与 Sham 组比较,^a $P < 0.05$;与 OVX 组比较,^b $P < 0.05$;与 OVX + E 组比较,^c $P < 0.05$;与 OVX + L 组比较,^d $P < 0.05$ 。

由表7可知,OVX组大鼠的最大载荷、韧性较 Sham 组显著下降($P < 0.05$)。单纯性的番茄红素治疗能显著提高去势大鼠的骨强度,而运动联合药物交互作用可以显著提高去势大鼠的骨强度和抗性变能力($P < 0.05$)。

4 分析与讨论

4.1 跑台运动对去卵巢大鼠骨代谢指标的影响

根据 McClung 等^[8]的研究的运动疗法结合硬化蛋白抗体的最佳剂量建议,使用低剂量的硬化蛋白抗体,每次 5mg/kg,每周 2 次,对老龄去势大鼠进行为期 14 周的实验。实验发现切除卵巢使得老龄大鼠的脂肪量增加,导致脂肪百分比上升^[9-10],骨密度显著下降,这符合实验预期。目前临床采用运动疗法结合药物干预,是治疗骨质疏松症的常见手段。分析运动持续时间对去势大鼠的影响,陈晓红等^[11]研究发现持续 8 周及 8 周以上的中等强度运动跑台运动可以改善去势大鼠的骨密度下降;黄诚胤等^[12]研究发现 12 周的游泳运动能明显抑制去势大鼠股骨骨密度的降低;江大雷^[13]研究发现 12 周的中药

骨疏灵联合运动能改善去势大鼠的骨密度;张健等^[14]研究发现为期 14 周的运动结合雌二醇治疗能改善去势大鼠的骨密度。

本研究中,12 周的跑台运动能降低去势大鼠脂肪量,但未对大鼠骨密度、皮质骨参数产生显著影响,提示只有进行一阶段持续时间的运动锻炼、辅以药物治疗时,才会对骨小梁结构指标产生较大的影响。单纯性运动能使骨形成标志物 OC 水平升高,提高骨小梁数目的同时抑制骨吸收,说明 12 周的跑台运动能促进绝经大鼠骨形成。本研究还表明:单纯性的运动对去势大鼠的椎骨生物力学性能影响效果不大,这一发现与之前刘建宇^[15]研究发现运动能改善去卵巢大鼠股骨生物力学性能的结论不一致,提示运动对去势大鼠骨质疏松症的影响有可能是局部的。

4.2 番茄红素对去卵巢大鼠骨代谢指标的影响

膳食补充作为一种疗法,能改善这一状况。番茄红素存在于红色水果和蔬菜中的类胡萝卜素,是最有效的抗氧化剂之一。番茄红素的清除能力较其它类胡萝卜素高 100 倍^[16]。Ben 等^[17]研究发现,番茄红素的作用可能归功于它的抗氧化性和 II 相酶。基因的转录调控编码由 ARE 信号通路介导。ARE 的主要转录因子是 Nrf2, Nrf2 在抗氧化防御系统中发挥关键作用^[18]。Nrf2 通常存在于 Keap1 中,氧化应激促进 Nrf2 和 Keap1 的解离,使 Nrf2 转移到细胞核作用于靶细胞。Nrf2 还具有抗炎作用。番茄红素及其代谢产物能激活并介导 ARE 信号通路,诱导相关基因的表达,发挥抗氧化作用^[19-20]。

本研究使番茄红素对绝经后大鼠骨代谢及相关生理指标的变化情况。如实验预期,OVX 组大鼠的平均子宫重量显著低于 Sham 组($P < 0.001$),番茄红素治疗能显著提高子宫重量,但是仍显著低于

Sham组($P < 0.001$),而OVX组的平均体重显著高于Sham组($P < 0.001$)。Omi等^[21]研究发现,OVX组大鼠的体重增量要显著高于Sham组。本实验结果与前人研究的去卵巢大鼠模型一致^[21-23],说明造模成功。导致OVX组大鼠体重增长的原因目前还不清楚,但根据最近Dang等^[24]研究报道,雌激素缺乏引起体内脂肪积累,从而导致体重增长。

本研究通过对去势大鼠身体成分的分析,发现番茄红素治疗能有效控制去势大鼠的体重增加和脂肪堆积。还发现番茄红素能显著提高血清 E_2 水平,从而降低了血清FSH和LH水平,表明番茄红素对下丘脑-垂体功能具有积极的调节作用。这一作用机制目前尚不清楚,可能是由于番茄红素治疗提高了 E_2 的水平,从而恢复了雌激素受体的正常表达^[25],也可能是因为提高了组织对雌激素合成的敏感性。血清PTH水平反映了骨吸收的正向调节,本研究中OVX组的血清PTH水平要高于Sham组,与之前的研究结果一致^[26-29],可能是因为雌激素缺乏从而导致OVX组大鼠PTH水平升高。

本研究主要通过观察骨代谢相关指标,比如BMD、骨小梁结构参数、皮质骨参数和股骨的生物力学性能,以及骨形成、骨吸收生化指标,来分析番茄红素对去卵巢大鼠的作用机制。骨质疏松症的特点是骨质量和骨强度的下降,骨折的风险随着提高^[30]。从BMD的数据可以发现,番茄红素对去势大鼠具有保护骨的作用。番茄红素具有防止胫骨、脊椎、股骨骨小梁丢失。BTM水平的改善、生物力学性能的改善,通过番茄红素治疗能提高骨质量。大鼠去卵巢引起的BMD下降、骨微结构恶化与骨重建、骨形成和骨吸收之间的失衡密切相关。BTMS在测定治疗方式对骨重建的影响中应用广泛^[31]。本实验发现,番茄红素治疗能显著降低去势大鼠的BRM水平,还伴随着血清OC、血清PINP水平的下降。通过12周的实验,能观察到MAR、BFR指标的显著降低。对骨组织形态计量学分析发现,番茄红素能显著改善骨吸收指标Oc.S/BS、N.Oc/BS。

之前的研究表明,番茄红素能显著降低绝经后妇女的I型胶原氨基末端交联肽水平(NTx)^[1],提高BDM。Rao等^[32]研究发现番茄红素能抑制破骨细胞的分化和骨矿物质的吸收。Kim等^[33]研究发现番茄红素能刺激成骨细胞的增殖和成骨细胞碱性磷酸酶活性。对雌性大鼠的研究发现,补充番茄红素能显著提高血清骨碱性磷酸酶的活性^[4]。对绝经后妇女的临床研究却未能发现类似情况^[1]。

提示,可能是在雌激素缺乏的情况下,番茄红素治疗对骨吸收的影响更为显著。由于去势大鼠骨形成的下降,大大降低了骨重建速度。本实验结合之前的研究结果^[1,34,32-33],说明番茄红素可以有效改善去势大鼠的骨形成,抑制骨吸收。

4.3 番茄红素和跑台运动交互作用对去卵巢大鼠骨代谢指标的影响

有研究证据表明,活性氧诱导的氧化应激反应会随着年龄增长而加剧,进而破坏骨平衡^[34]。最近有研究表明,绝经后的骨流失可能由活性氧诱导引起^[35],过量的活性氧可能会抑制成骨细胞的增殖分化^[36]。将活性氧诱导的破骨细胞反应作为信号,会提高破骨细胞的分化水平,使骨吸收加快^[37-38]。因此,活性氧水平的不平衡可以加速骨吸收,导致骨质疏松性骨折。而清除过多的活性氧,则是维持骨完整性的有效途径^[39]。缺乏雌激素是导致骨质疏松的原因之一,它与氧化应激的增加有关^[40]。对大鼠进行卵巢切除手术,会诱导氧化应激的增加和抗氧化水平的衰减^[41],对去势大鼠进行研究发现骨髓活性氧水平的升高和抗氧化酶活性的降低^[42]。对去势大鼠进行高水平抗氧化剂治疗,能有效防止雌激素缺乏导致的骨量丢失^[43]。研究发现去势大鼠的血浆脂质过氧化水平较对照组显著提高^[44-45]。Dednarek等^[44]研究发现,女性绝经后血清血脂过氧化水平会升高、抗氧化水平会下降。综上所述,雌激素缺乏引起的骨质疏松往往伴随着较高的氧化应激。

本实验中测定8-OHdG水平,发现单纯性番茄红素治疗能显著降低雌激素缺乏大鼠的DNA氧化损伤和机体氧化应激状态,联合运动后效果更好,而8-OHdG水平不受单纯性运动的影响,提示在进行药物治疗时,药物辅以运动的效果更佳。番茄红素治疗可以防止去势大鼠引起的骨量丢失,当番茄红素联合跑台运动时,这一效果更显著。经过12周的交互作用,能够显著抑制骨吸收,降低骨量丢失。更重要的是,番茄红素可以提高骨密度,维持骨代谢平衡。虽然阿仑磷酸钠治疗能增加去势大鼠的骨量,提高骨强度,但是使用阿仑磷酸钠治疗伴随着骨形成的下降,所以这是番茄红素疗法的一大优势。

通过骨组织形态计量学分析,OVX组的骨体积分数、骨小梁数目较Sham组显著下降,骨小梁分离度、骨小梁形成率出现上升。交互能防止去卵巢对骨小梁结构恶化,降低对皮质骨的影响,抑制孔隙率的增大,说明交互作用能使皮质骨得到增厚和强化。

番茄红素对骨代谢起到保护作用,它能有效促进骨形成,增加骨小梁数目,提高骨量,改善 BRM、BFM 水平。这与之前的研究结果一致^[3,4]。

骨力学性能是预测发生骨折可能性的重要因素,骨强度由骨质量和骨的内在属性决定^[46]。对去势大鼠股骨的生物力学分析发现,番茄红素治疗能有效改善骨强度、韧性和最大应力。OVX + E + L 组较 Sham 组和 OVX 组相比,其抗形变能力要显著好于 Sham 组和 OVX 组。说明番茄红素治疗联合跑台运动对股骨力学性能产生积极的影响,保持骨强度,防止切除卵巢带来的负面影响。大致来说,骨组织形态学分析的结果符合骨密度、骨强度的分析结果。通过 12 周的治疗,可得出结论:番茄红素和阿仑膦酸钠能显著改善骨小梁结构。

活性氧诱导的氧化应激反应会影响骨代谢平衡。因此,通过观察番茄红素治疗后,大鼠骨量的增量就能判断番茄红素的治疗效果。抗氧化防御体系包括 GPx、CAT 和 SOD。对其进行研究可以防止氧化应激反应在骨重建造成的损伤。实验前,OVX 组的血浆谷胱甘肽过氧化物酶活性、过氧化氢酶活性、超氧化物歧化酶活性水平和尿 8-OHdG 水平都显著高于 Sham 组。12 周后,番茄红素治疗显著上调了 OVX 组的酶活性,降低了 8-OHdG 水平。说明番茄红素的抗氧化能力可能对骨骼起到保护作用。之前研究者对飞行员的临床研究表明,番茄红素有益于下调氧化应激指标和 BRMs 水平^[47]。

5 结论

适度的跑台运动可以预防去势大鼠骨丢失,改善去势大鼠骨健康。番茄红素作为安全、有效、自然的治疗方法,对绝经后骨质疏松症的治疗有着一定积极效果。12 周的番茄红素对去势大鼠骨代谢的治疗作用与阿仑膦酸钠效果类似,能改善骨的生物力学性能,抑制骨吸收。这一作用机制可能是番茄红素治疗降低去势大鼠的骨转换、BTMs 和其它微结构参数。番茄红素和运动表现出良好的协同作用,对去势大鼠骨重建具有积极的作用。本研究有益于证明并阐明成骨细胞相关调控机制,为番茄红素治疗骨质疏松症以及相关疾病提供佐证。

【参 考 文 献】

- [1] Mackinnon E, Rao A, Rao L. Dietary restriction of lycopene for a period of one month resulted in significantly increased biomarkers of oxidative stress and bone resorption in postmenopausal women. *Health Aging*, 2011, 15(2) :133-138.
- [2] Mackinnon E, Rao A, Josse R, et al. Supplementation with the antioxidant lycopene significantly decreased oxidative stress parameters and the bone resorption marker N-telopeptide of type I collagen in postmenopausal women. *Osteoporos*, 2011, 22(4) : 1091-1101.
- [3] Liang H, Yu F, Tong Z, et al. Lycopene effects on serum mineral elements and bone strength in rats. *Molecules*, 2012, 17(1) : 7093-7102.
- [4] Iimura Y, Agata U, Takeda S, et al. The protective effect of lycopene intake on bone loss in ovariectomized rats. *Bone Miner*, 2015, 33(1) :270-278.
- [5] Bouxsein ML. Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. *JMBR*, 2010, 25(7) : 1468-1486.
- [6] Turner CH, Burr DB. Basic biomechanical measurements of bones: a tutorial. *Bone*, 1993, 14(4) :595-608.
- [7] Draca N. Biomechanical properties of bones from rats treaded with sevelamer. *Coll Antropol*, 2011, 35(2) :557-563.
- [8] McClung MR, Grauer A, Boonen S, et al. Romosozumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med*, 2014, 370(3) :412-420.
- [9] Shin YS. Prednisolone-induced muscle dysfunction is caused more by atrophy than by altered acetylcholine receptor expression. *Anesth Analg*, 2000, 91(2) :322-328.
- [10] Freedman MR, Horwitz BA, Stern JS. Effect of adrenalectomy and glucocorticoid replacement on development of obesity. *Am J Physiol*, 1986, 250(4) :595-607.
- [11] Chen XH, Zheng L, Yu ZD. Different duration of moderate intensity exercise on ovariectomized rats bone mass and bone micro structure. *Chinese Medical Journal*, 2015, 6(34) : 571-577.
- [12] Huang CY, Li GT. Effects of different loading intensity exercise on the biological index of femur in ovariectomized rats. *Journal of Wuhan Sports University*, 2011, 9(11) :46-49.
- [13] Jiang DL, Zhao Z. Combined application of traditional Chinese medicine Gushuling and exercise on bone loss in ovariectomized rats with Journal of inhibition. *Journal of Capital University of Physical Education*, 2008, 6(3) :76-79.
- [14] Zhang J, Bu SM, Wei ZS. Study of combined with drug effects on bone density in rats. *Journal of Capital University of Physical Education*, 2012, 24(3) :274-210.
- [15] Liu JY. Study of the effect of Exercise on biomechanical properties of femur in Ovariectomized Rats Experimental. *Journal of Tianjin University of Sport*, 2010, 25(6) :537-540.
- [16] Stahl W, Sies H. Antioxidant activity of carotenoids. *Asp Med*, 2003, 24(1) :345-351.
- [17] Ben-Dor A, Steiner M, Gheber L. Carotenoids activate the antioxidant response element transcription system. *Cancer Ther*, 2005, 4(1) :177-186.
- [18] Velumurugan B, Bhuvaneswari V, Nagini S. Antiperoxidative effects of lycopene during N-methyl-N'-nitrosoguanidine-

- induced gastric carcinogenesis. *Fitoterapia*, 2002, 73:604-611.
- [19] Lian F, Wang XD. Enzymatic metabolites of lycopene induce Nrf2-mediated expression of phase II detoxifying/antioxidant enzymes in human bronchial epithelial cells. *J Cancer*, 2008, 123(6):1262-1268.
- [20] Trejosolis C, Pedrazachaverri J, Torresramos M, et al. Multiple molecular and cellular mechanisms of action of lycopene in cancer inhibition. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 2013(10):154-155.
- [21] Omi N, Ezawa I. The effect of ovariectomy on bone metabolism in rats. *Bone*, 1995, 17(17):163-168.
- [22] Turner AS. Animal models of osteoporosis-necessity and limitations. *Eur Cell*, 2001, 1(1):66-81.
- [23] Kim TH, Jung JW, Ha BG, et al. The effects of luteolin on osteoclast differentiation, function in vitro and ovariectomy-induced bone loss. *Biochem*, 2011, 22(1):8-15.
- [24] Dang ZC, van Bezooijen RL, Karperien M, et al. Exposure of KS483 cells to estrogen enhances osteogenesis and inhibits adipogenesis. *Bone Miner*, 2002, 17(3):394-405.
- [25] Raj MV, Selvakumar K, Krishnamoorthy G, et al. Impact of lycopene on epididymal androgen and estrogen receptors' expression in polychlorinated biphenyls-exposed rats. *Reprod Sci*, 2014, 21(1):89-101.
- [26] Kalu DN, Chen C. Ovariectomized murine model of postmenopausal calcium malabsorption. *Bone Miner*, 1999, 14(4):593-601.
- [27] Gomes A, Haldar S, Giri B, et al. Experimental osteoporosis induced in female albino rats and its antagonism by Indian black scorpion venom. *Toxicol*, 2009, 53(1):60-68.
- [28] Li L, Chen X, Lu S, et al. Influence of exercise on bone remodeling-related hormones and cytokines in ovariectomized rats: a model of postmenopausal osteoporosis. *PLoS One*, 2014, 9(11):e112845.
- [29] Yan X, Ye TW. Early molecular responses of bone to estrogen deficiency induced by ovariectomy in rats. *J Clin Exp*, 2015, 8(4):5470-5477.
- [30] Jakubowitz E, Seeger JB, Kretzer JP, et al. The influence of age, bone quality and bone mass index on periprosthetic femoral fractures: a biomechanical laboratory study. *Med Sci Monit*, 2009, 15(11):307-312.
- [31] Bhattacharyya S, Siegel ER, Achenback SJ, et al. Serum biomarker profile associated with high bone turnover and BMD in postmenopausal women. *Bone Miner*, 2008, 23(7):1106-1117.
- [32] Rao L, Krishnadev N, Banasikowska K, et al. Lycopene 1-effects on osteoclast; lycopene inhibits basal and parathyroid hormone-stimulated osteoclast formation and mineral resorption mediated by reactive oxygen species in rats bone marrow cultures. *J Med Food*, 2003, 6(2):69-78.
- [33] Kim L, Rao AV, Rao LG. Lycopene II-effect on osteoblasts: the carotenoid lycopene stimulates cell proliferation and alkaline phosphatase activity in SaOS-2 cells. *J Med Food*, 2003, 6(2):79-88.
- [34] Callaway DA, Jiang JX. Reactive oxygen species and oxidative stress in osteoclastogenesis, skeletal aging and bone dissaes. *Bone Miner*, 2015, 5(4):656-662.
- [35] Maggio D, Barabani M, Pierandrei M, et al. Marked decrease in plasma antioxidants in aged osteoporotic women; result of a cross-sectional study. *Clin Endocrinol*, 2003, 88(4):1523-1527.
- [36] Li M, Zhao L, Liu AL, et al. Hydrogen peroxide induces G2 cell cycle arrest and inhibit cell proliferation in osteoblast. *Anat*, 2009, 292(8):1107-1113.
- [37] Fraser JHE, Halfrich MH, Wallace HM, et al. Hydrogen peroxide but not superoxide, stimulates bone resorption in mouse calvaria. *Bone*, 1996, 19(3):223-226.
- [38] Lee NK, Choi YG, Baik JY, et al. A crucial role for reactive oxygen species in RANKL-induced osteoclast differentiation. *Blood*, 2005, 106(3):852-859.
- [39] Banifi G, Ioro EL, Corsi MM. Oxidative stress, free radical and bone remodeling. *Chem Lab Med*, 2008, 46(11):1550-1555.
- [40] Weitzmann MN, Pacifici R. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory state. *Invest*, 2006, 116(5):1186-1194.
- [41] Muthusami S, Ramachandran I, Muthusami B, et al. Ovariectomy induces oxidative stress and its impairs bone antioxidant system in adult rats. *Chim Atra*, 2005, 360(1-2):81-86.
- [42] Almeida M, Han L, Martin-Milla M, et al. Skeletal involution by age-related oxidative stress and its acceleration by loss of sex steroids. *Biol Chem*, 2007, 282(37):27285-27297.
- [43] Lean JM, Davis JT, Fuller K, et al. A crucial role for thiol antioxidants in estrogen-deficiency bone loss. *Clin Invest*, 2003, 146(6):728-735.
- [44] Hernandez I, Delgado JL, Diaz J, et al. 17 β -estradiol prevents oxidative stress and decreased blood pressure in ovariectomized rats. *Inter Comp Physiol*, 2000, 279(5):1599-1605.
- [45] Topcuoglu A, Uzun H, Balci H, et al. Effects of estrogens on oxidative protein damage in plasma and tissue in ovariectomized rats. *Invest Med*, 2009, 32(2):133-143.
- [46] Ulrich D, van Rietbergen B, Laib A, et al. The ability of three-dimensional structural indices to reflect mechanical aspects of trabecular bone. *Bone*, 1999, 25(25):55-60.
- [47] Ardawi MSM, Qari MH, Rouzi AA, et al. Lycopene supplementation improved bone mineral density, bone resorption and oxidative stress markers in postmenopausal women: the CEOR study. *Bone*, 2012, 50(4):1620-1630.

(收稿日期: 2016-02-04)