

·基础研究·

富锶水对老龄小鼠运动能力的改善作用及机制研究

沈志清¹, 和书宇², 李加鹏^{3*}

1 福建中医药大学附属人民医院, 福建 福州 350007;

2 福建中医药大学中西医结合学院 中西医结合研究院, 福建 福州 350122;

3 福建中医药大学体育部, 福建 福州 350122

* 通信作者: 李加鹏, E-mail: lijiapeng62@163.com

收稿日期: 2024-02-23; 接受日期: 2024-05-06

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82405085); 福建省自然科学基金项目(2021J01951, 2023J01850);

2022年度福建中医药大学重大科技创新“揭榜挂帅”专项项目(XJB2022009)

DOI: 10.3724/SP.J.1329.2024.05007

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



摘要 **目的** 探讨富锶水干预对老龄小鼠机体运动能力的影响及其作用机制。**方法** 采用20月龄SPF级雄性C57BL/6老龄小鼠16只,随机分为富锶水组和对照组,每组8只,对照组采用纯净水,富锶水组采用富锶水(6.11 mg/L)替代饮用水,2组均自由饮用,每隔2 d更换1次水瓶,连续干预8周;测量2组体质量及心、肝、肾等脏器的重量,HE染色法检测2组心脏、肝脏、肾脏、肌肉病理改变,拉力测试仪检测2组肌肉拉力值;旷场实验检测2组自主活动能力,免疫组织化学法检测2组肌肉中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6炎症指标表达情况;Western blot法检测2组NF- κ B信号通路的蛋白相对表达量。**结果** 与对照组比较,富锶水组体质量变化差异无统计学意义($P>0.05$);与对照组比较,富锶水组心脏、肝脏、肾脏等脏器差异无统计学意义($P>0.05$);与对照组比较,富锶水组心、肝、肾的病理形态均未产生明显变化;与对照组比较,老富锶水组肌肉组织中肌细胞排列整齐度、紧密程度优于对照组;与对照组比较,富锶水组肌肉拉力(十次拉力)的均值明显增大($P<0.05$);与对照组比较,富锶水组5 min持续位移距离及平均速度明显增加($P<0.05$),静止时间缩短($P<0.05$);与对照组比较,富锶水组肌肉组织中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6表达水平显著降低($P<0.05$);与对照组比较,富锶水组肌肉组织中NF- κ B及p-NF- κ B蛋白相对表达量显著降低($P<0.05$)。**结论** 富锶水通过抑制老龄小鼠肌肉中NF- κ B炎症信号通路的激活,降低肌肉炎症反应,抑制炎症因子表达,提高老龄小鼠肌肉拉力及自主活动能力,可能是富锶水改善老龄小鼠机体运动能力的作用机制之一。

关键词 骨质疏松;富锶水;肌肉;炎症;NF- κ B信号通路;运动能力

基于2020年第七次全国人口普查数据发现中国人口负增长比预期更早到来,人口老龄化速度比预期更快,2024年将有3亿人超60岁、2032年4亿、2048年5亿、2052年5.24亿,2060年前将保持在5亿以上^[1]。伴随着年龄的增长,老年人会出现诸多退行性病变,如骨质流失、肌肉萎缩、肌力下降、运动能力减退,从而影响生活质量。老年群体如何进一步减缓骨质流失、增强肌力、改善机体运动能力是国家大健康战略的重要任务之一。

研究发现,锶可以参与神经及肌肉的兴奋调节^[2]。另外,锶与人体骨骼稳态密切相关,可减少骨质流失,预防骨质疏松^[3]。饮水中高含量锶能够软化血管,减少钠的吸收与代谢,对高血压等心血管疾病具有重要的防治作用^[4]。但目前锶对老年机体运动机能及作用机制的研究仍处于初级阶段。据此,本研究拟采用富锶水对老龄小鼠进行干预研究,以期进一步阐明富锶水提高老龄小鼠运动能力的作用机制,为其推广应用提供实验依据。

引用格式: 沈志清, 和书宇, 李加鹏. 富锶水对老龄小鼠运动能力的改善作用及机制研究[J]. 康复学报, 2024, 34(5): 465-472.

SHEN Z Q, HE S Y, LI J P. Effect and mechanism of strontium-rich water on the exercise ability of aged mice [J]. Rehabil Med, 2024, 34(5): 465-472.

DOI: 10.3724/SP.J.1329.2024.05007

©《康复学报》编辑部, 开放获取 CC BY-NC-ND 4.0 协议

© Rehabilitation Medicine, OA under the CC BY-NC-ND 4.0

1 材料与仪器

1.1 实验动物

雄性 C57BL/6 SPF 级小鼠 16 只, 20 月龄, 购自广州有度生物科技有限公司(2021-0025), 体质量(33.97±2.68)g, 饲养在福建中医药大学动物实验中心[SYXK(闽)2020-0002], 温度(26±2)°C, 12 h 交替光照, 湿度 40%~70%, 适应性喂养 1 周。根据体质量将老龄鼠随机分为对照组和富锶水组, 每组 8 只。本研究经福建中医药大学实验动物伦理委员会审批通过(审批号:FJTCM IACUC 2W2022018)。

1.2 主要实验试剂与仪器

抓力测试仪(型号:DS2-20N, 上海增骏实业有限公司); 旷场实验视频分析系统(型号:XR-XZ301, 上海欣软信息科技有限公司); 石蜡包埋机(型号:JY-BMC, 湖北锦源医疗科技有限公司); 倒置显微镜系统(型号:DM4000B, 德国徕卡仪器公司); 免疫组织化学试剂盒(型号:IT-9720, 福州迈新公司); TNF- α 抗体(型号:gtx35134, 美国 Gene Tex 公司); IL-6 抗体(型号:ab208113, 英国 Abcam 公司); IL-1 β 抗体(型号:ab9722, 英国 Abcam 公司); NF- κ B 抗体(型号:8242S, 美国 CST 公司); p-NF- κ B 抗体(型号:WJ3409698, 美国 Invitrogen 公司)。

2 实验方法

2.1 富锶水干预方案

富锶水采用贵州省遵义市大娄山汇善谷新鲜复合型矿泉水(产品标准号:GB8537, 生产许可证号:SCXK10652032311236), 对照组采用纯净水(<0.0001 mg/L)。富锶水干预组采用富锶水(6.11 mg/L)替代饮水, 2 组均自由饮水, 隔 2 d 更换 1 次高温消毒水瓶, 连续干预 8 周, 干预结束后取材。

2.2 抓力测试仪检测小鼠抓力

抓力测试仪(DS2-20N)购于亚速旺(上海)商贸有限公司, 测试时抓力仪水平放置, 将小鼠平放于拉力测试仪的网状平板, 单手拉住鼠尾以匀速向后拖动小鼠, 记录小鼠拉力峰值, 每只小鼠连续进行 10 次有效测试, 取平均值进行统计。

2.3 旷场实验系统检测小鼠自主活动能力

采用旷场实验进行测试, 为了减少实验前对动物造成的压力和干扰, 应提前将小鼠带入实验室适应实验室环境, 测试时测试人员避免走动发声以干扰小鼠活动。测试区域为正方形区域 50 cm×50 cm, 将小鼠置于测试区域中央, 打开软件对小鼠进行定

位跟踪, 连续测试 5 min, 记录小鼠在测试区域内的活动轨迹、位移距离和静止时间。通过记录的数据进行分析, 测量小鼠单位时间内的位移距离、移动速度和静止时间, 运用 SuperMaze 软件对数据进行了分析。

2.4 HE 染色法检测脏器病理变化

新鲜组织置于 4% 多聚甲醛进行固定, 依次经 70% 乙醇(45 min)、80% 乙醇(45 min)、90% 乙醇(45 min)、95% 乙醇(45 min)、100% 乙醇(45 min), 二甲苯 I、II 中脱水(45 min), 经 60 °C 石蜡 I (15 min)、II (30 min)、III (60 min) 浸泡。模具灌入液体蜡进行包埋, 通过切片机将组织切成 4 μ m 的薄片, 组织切片复水, 将载玻片置于过滤好的苏木素染色液内进行细胞核染色。将组织切片放入过滤后的伊红染料中进行胞质染色, 滴加中性树脂进行封片, 在显微镜 400 倍视野下观察肌肉组织的病理变化。

2.5 免疫组织化学法检测老龄小鼠肌肉炎症指标

组织固定、脱水、浸蜡、包埋、切片、复水(具体步骤同“2.4”), 按配置标准要求配置为 1×抗原修复液, 取 800 mL 加入高压锅中煮沸, 倒入烧杯中, 把组织切片架置入其中(液面需没过组织), 加盖闷 10 min 后取出烧杯, 室温下冷却至室温。配置 1×PBS, 载玻片放入 1×PBS 内, 先后洗 3 次, 5 min/次, 洗去抗原修复液, 组化笔圈定组织, 载玻片平放在湿盒内, 在组织上滴加内源性过氧化物酶阻断剂, 按照 50 μ L/每个组织的比例滴加, 室温下孵育 20 min, 甩去过氧化物酶阻断剂, 将载玻片置于 1×PBS 内, 洗 3 次, 5 min/次, 去除源过氧化物酶阻断剂, 甩干玻片, 滤纸吸干组织周围残余液体, 按 50 μ L/每个组织的比例滴加封闭液, 置于湿盒内, 室温孵育 1 h。甩去封闭液, 按 30 μ L/每个组织的比例滴加一抗工作液(一抗修复液配制比例为 1:200), 将载玻片水平放置于湿盒内, 将湿盒平放于 4 °C 冰箱内孵育过夜, 次日将载玻片置于 1×PBS 内, 洗 3 次, 5 min/次, 去除一抗溶液。取出载玻片甩干, 按 50 μ L/每个组织的比例滴加二抗工作液, 置于湿盒内, 室温条件下孵育 30 min, 将载玻片放置在 1×PBS 内, 洗 3 次, 5 min/次, 去除二抗溶液, 取出载玻片甩干, 按 50 μ L/每个组织的比例滴加过氧化物酶, 置于湿盒内, 室温条件下孵育 20 min。将孵育完的载玻片放置在 1×PBS 内, 洗 3 次, 5 min/每次, 去除过氧化物酶, 以 A:B:C:超纯水=1:1:1:17 的比例配制 DAB 染色工作液, 取载玻片, 甩去残留溶液, 按 30 μ L/每个组织的比例滴加 DAB 显色液, 计时待组织出现棕色后

(不同组织反应时间不同),置于光镜下观察,其中棕黄色为阳性表达,登记反应时间,后置于蒸馏水中洗去DAB终止显色,将载玻片置于过滤好的苏木素染色液内,光镜下观察细胞核呈浅蓝色后终止,确定苏木素染色时间,后自来水冲洗3遍,静置水中返蓝10 min。吹风机侧面吹干载玻片,滴加中性树脂,取盖玻片封片,静置24 h,用400倍镜随机拍摄组织样本6个视野,判断标准以片状或棕黄色颗粒作为蛋白阳性表达,运用Motic 6.0图像分析系统对肿瘤组织中阳性表达率进行统计分析。

2.6 Western blot法检测NF- κ B信号通路中关键蛋白相对表达量

配制好裂解液后取适量加入到样本中,利用组织研磨仪将样本进行研磨(60 Hz、60 s重复3次),随后在冰上进行裂解,用震荡仪每隔5 min震荡1次,共进行4次。后置于4 °C低温高速离心机离心,以14 000 r/min,连续进行20 min离心。将上清液转移到新的1.5 mL离心管中,取出96孔板,按照说明书配制好标准品,在每个标准孔中加入140 μ L超纯水和10 μ L标准品,在每个样本孔中加入149 μ L超纯水和1 μ L蛋白样本,每孔加入100 μ L提前配制好的BCA工作液(工作液配制比例A液:B液=50:1)。盖上孔板盖后置于60 °C烘箱,孵育20 min。用酶标仪在540~570 nm(562 nm)处读值,然后计算出各

个样本的蛋白浓度,以及各个样本的上样量。按照SDS缓冲液的说明书配制变性样品,然后将配制好的样本置于100 °C金属锅中,加热5 min以充分变性蛋白;变性结束后将蛋白样品快速放进冰中,待冷却到室温。将恢复室温的蛋白质样品直接上样到样品孔内,然后进行SDS-PAGE电泳,再用湿转的方法,将蛋白凝胶转移到PVDF膜上。将膜放入封闭液中,室温条件下孵育2 h;根据说明书配制一抗后放置在4 °C的摇床上孵育过夜;随后用TBST洗3次,5 min/次,根据说明书配制二抗,放置在摇床上孵育1 h,随后用TBST洗3次,5 min/次。配制显影液:A液:B液=1:1。将显影液均匀地滴加在膜上,待显影液与膜上二抗反应后,使用Bio-Rad凝胶成像系统进行扫描并数据分析。

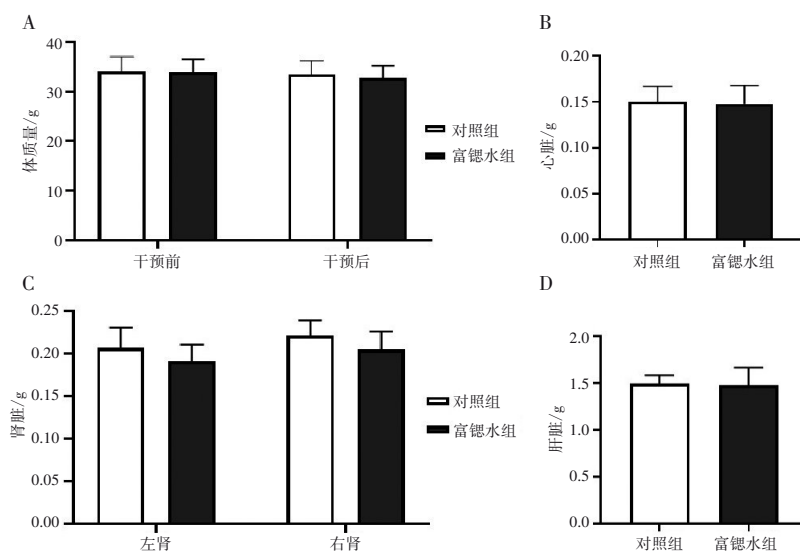
2.7 统计学方法

采用SPSS 26.0统计软件进行数据分析。计量资料服从正态分布采用($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用两样本 t 检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 2组体质量及各脏器质量比较

与对照组比较,富锶水组体质量变化差异无统计学意义($P>0.05$);与对照组比较,富锶水组心脏、肝脏、肾脏等脏器质量差异无统计学意义($P>0.05$)。见图1。



注:与对照组比较,1) $P<0.05$ 。

Note: Compared with the control group, 1) $P<0.05$.

图1 2组体质量及各脏器重量比较

Figure 1 Comparison of body weight and organ weight between two groups

3.2 2组脏器病理比较

与对照组比较,富锶水组心、肝、肾的病理形态均未产生影响;与对照组比较,富锶水组肌肉组织

中肌细胞排列整齐度、紧密程度优于对照组。见图2。

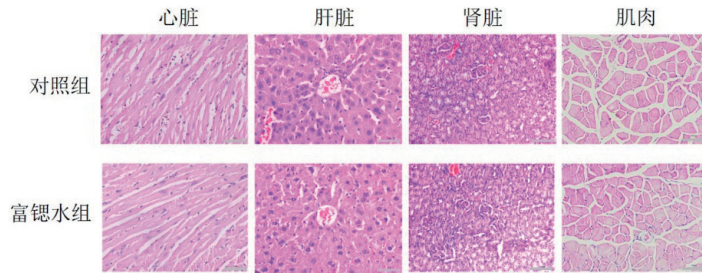


图2 2组脏器病理图(×400)

Figure 2 Pathological images of organs between two groups (×400)

3.3 2组运动能力比较

见图6。

3.3.1 2组肌肉拉力比较 与对照组比较,富锶水组肌肉拉力(10次拉力)的均值明显增大($P<0.05$)。见图3。

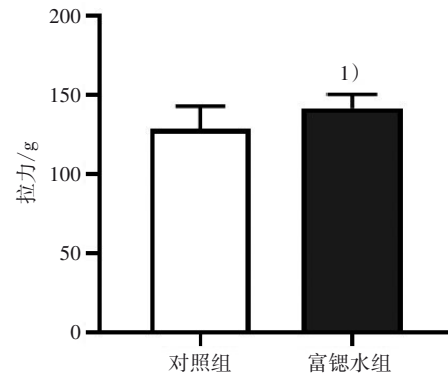
3.3.2 2组自主活动能力比较 与对照组比较,富锶水组5 min持续位移距离及平均速度明显增加($P<0.05$),静止时间缩短($P<0.05$)。见图4。

3.4 2组肌肉炎症因子比较

与对照组比较,富锶水组小鼠肌肉组织中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6表达水平显著降低($P<0.05$)。见图5。

3.5 2组肌肉NF- κ B、p-NF- κ B蛋白相对表达量比较

与对照组比较,富锶水组肌肉组织中NF- κ B和p-NF- κ B蛋白相对表达量均显著降低($P<0.05$)。

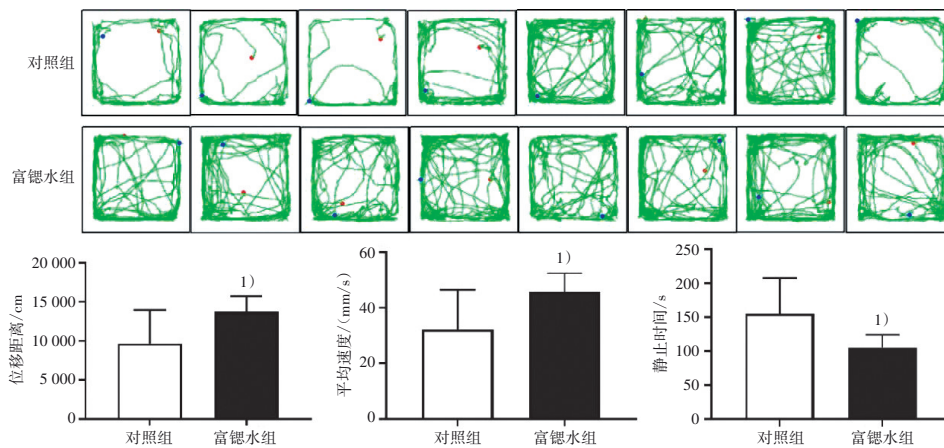


注:与对照组比较,1) $P<0.05$ 。

Note: Compared with the control group, 1) $P<0.05$.

图3 2组拉力测试比较

Figure 3 Comparison of tensile tests between two groups

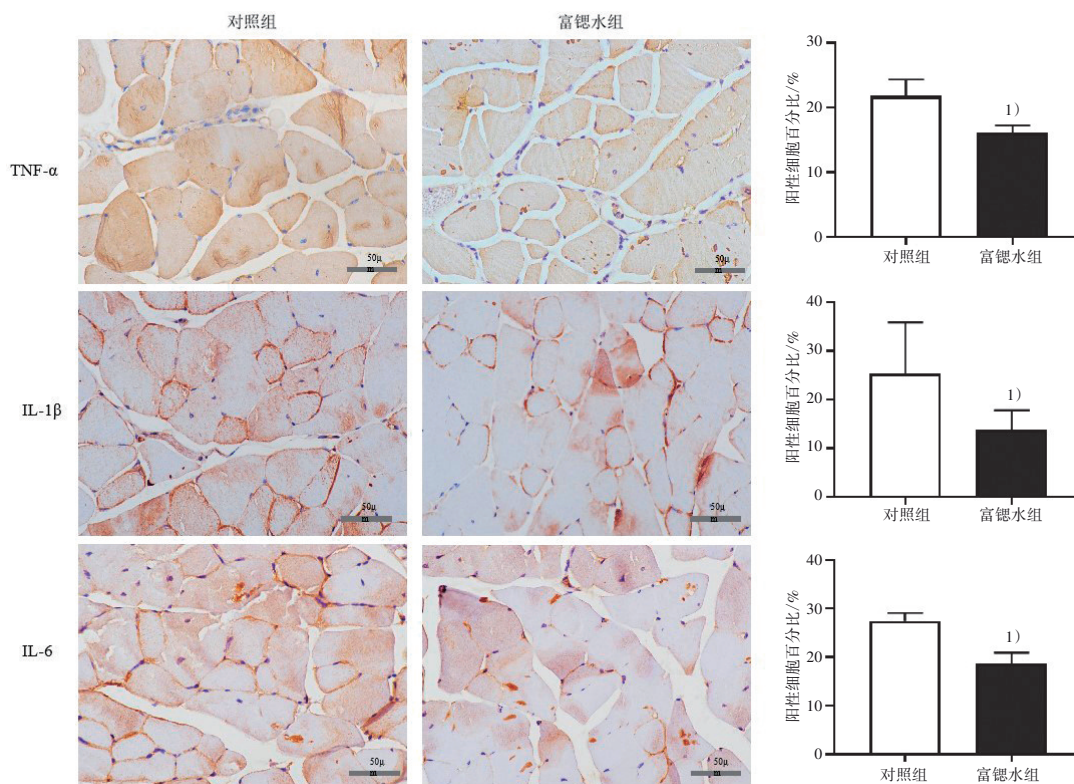


注:与对照组比较,1) $P<0.05$ 。

Note: Compared with the control group, 1) $P<0.05$.

图4 2组旷场实验数据比较

Figure 4 Comparison of open field experimental data between two groups

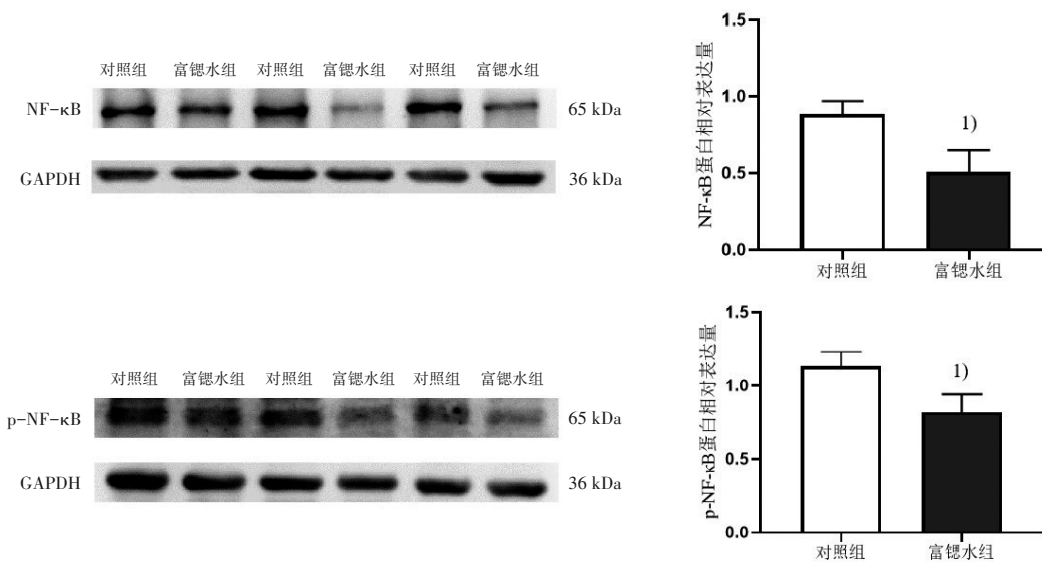


注:与对照组比较,1) $P < 0.05$ 。

Note: Compared with the control group, 1) $P < 0.05$.

图5 2组肌肉 TNF-α、IL-1β、IL-6 炎症指标水平表达比较

Figure 5 Comparison of the expression level of inflammatory markers TNF-α, IL-1β, and IL-6 of muscles between two groups



注:与对照组比较,1) $P < 0.05$ 。

Note: Compared with the control group, 1) $P < 0.05$.

图6 2组 NF-κB、p-NF-κB 蛋白相对表达量比较

Figure 6 Comparison of relative expression level of NF-κB and p-NF-κB protein between two groups

4 讨论

随着生活水平及医疗条件的不断改善,人均寿命不断延长^[5],老年人的比例进一步增大^[6]。老龄化趋势使整个社会面临重大挑战,提高老年人生活质量显得至关重要。随着年龄的增长,人体肌肉不断萎缩,导致运动功能下降,严重影响老年人的生活水平。因此,提高老年人肌肉功能和增强运动能力是提高其生活质量的重要方式。据此,本研究采用富锶水干预老龄小鼠,检测其对运动机能的作用,并探讨其机制,为富锶水用于提高老年人运动机能提供实验依据。

研究发现,微量元素是人体重要组成部分,人体不能产生微量元素,它们的摄入必须来自自然环境,因此,自然环境中的微量元素对人类的健康密切相关^[7]。人体中锶的主要来源为食物和饮水,但其吸收率较低,仅为25%~30%^[8]。饮用水是快速吸收有益或有害元素的重要来源,已知的14种人体必需的微量元素,从水中比从食物中更容易被吸收^[7]。2012年美国发布了“饮用水标准和健康忠告”第2版,指出锶的参考剂量为0.6 mg/(kg·d),终身健康饮用的推荐值为4.0 mg/L^[9],也有研究学者建议将饮用水锶的上限范围固定在10 mg/L的水平^[10],但目前对饮水锶含量的具体上线标准尚未明确。

研究发现,人体缺锶会引起机体代谢出现紊乱,伴随乏力、出虚汗等症状^[11]。另外,锶与老年机体的骨密度关系密切,可通过刺激成骨细胞活性或抑制破骨细胞活性,从而增强骨密度。研究表明,雷奈酸锶能够通过影响骨组织矿物质部分的重塑,进而导致皮质和松质骨体积的增加,刺激骨形成并改善其微结构,从而增加骨骼的机械强度并改善骨组织的整体质量^[12]。一项针对得克萨斯州24个社区45岁以上人群的研究表明,饮用水和尿液中的锶水平与心血管疾病死亡率呈负相关^[13]。研究表明,锶可以抑制氧化应激,显示出明显的抗氧化作用,在心血管疾病的病理和生理中起保护作用^[14];锶可抑制炎症因子的释放,达到抗炎作用,预防心血管疾病发生^[15]。骨骼肌的肌力、病理形态及其功能均与肌肉炎症水平密切相关。

骨骼肌在姿势、运动、产热等方面发挥关键作用。在衰老过程中,肌肉质量和力量减少,导致日常生活活动能力下降,进一步引起老年人向依赖他人的生活方式转变^[6]。老年人肌肉炎症反应的增加是骨骼肌运动能力下降的主要原因^[16],炎症反应导

致快肌纤维萎缩或受损^[17],最终导致肌肉力量下降。因此,改善肌肉力量是提高老年机体健康的重要手段之一。既往研究表明,锶离子可促进成骨细胞生长及抑制破骨细胞形成,从而增加骨组织密度,降低哺乳动物骨折风险^[18]。锶还可通过Wnt和活化T-细胞核因子(nuclear factor of activated T cell, NFATc)途径促进间充质干细胞分化为成骨细胞,从而增加骨密度^[19]。目前锶对肌肉的调节作用,未见相关报道。

本研究采用贵州省遵义市大娄山汇善谷新鲜复合型矿泉水,经检测含锶量为6.11 mg/L,8周干预后检测老龄小鼠运动能力水平,结果发现,富锶水对老龄小鼠的肌肉拉力和单位时间内的位移距离、位移速度以及静止时间等均有显著的改善作用,证实富锶水具有改善老龄小鼠机体运动能力的作用。

锶具有减轻炎症水平、增强免疫的功效^[20]。研究报道,锶通过降低大鼠关节液中IL-1 β 和TNF- α 表达,从而缓解骨关节炎大鼠炎症反应^[17]。炎症反应与老年骨骼肌流失、力量下降和功能损伤密切相关。机体的衰老会诱发肌肉等细胞出现氧化损伤,增加骨骼肌中活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生^[21],增强泛素-蛋白酶体系诱导肌肉蛋白水解,引发骨萎缩;衰老诱导的ROS/RNS积累被认为通过损害肌纤维激活、兴奋/收缩耦合和肌原纤维装置内的跨桥循环来降低肌肉质量^[22]。氧化应激(OxS)和慢性炎症已被证实是衰老过程中的重要标志^[22],氧化应激、线粒体功能障碍和衰老的特征被认为是衰老的关键因素^[23],其中伴随TNF- α 、IL-6、CRP等炎症因子浓度增加为主要特征^[24]。ROS产生的失衡与炎症介质的增加相关^[25],也会导致机体出现慢性炎症状态,形成慢性氧化应激和炎症相互作用协同促进的恶性循环^[26],因此炎症、衰老与肌肉萎缩流失密切相关。研究还发现,老年人机体炎症水平显著增高,与老年病患率、病死率关系密切^[27]。

TNF- α 是凋亡、炎症等信号通路的主要激活因子,是导致肌肉蛋白降解、流失增加,致使肌肉萎缩的主要影响因子;IL-6可作为一种多因子细胞因子(促炎和抗炎),但IL-6的慢性全身性升高会通过抑制肌肉合成代谢导致肌肉萎缩^[28]。TNF- α 和IL-6诱导NF- κ B活化,进而激活与炎症和蛋白水解相关的多个基因,引起肌细胞的泛素化、凋亡或自噬等反应,最终导致骨骼肌丢失^[29]。在《Nature》最新的

研究成果发现,当通过抑制剂处理老龄小鼠后,能明显改善老龄小鼠的炎症,同时延缓老龄小鼠的肌肉力量和耐力快速下降的趋势^[30]。

针对富锶水干预后的老龄小鼠肌肉力量及自主活动能力的测试,结合组织中炎症因子TNF- α 、IL-1 β 、IL-6的表达,证实8周的富锶水干预可显著降低老龄小鼠肌肉中的炎症水平。其中,富锶水通过对NF- κ B经典炎症信号通路调控显著抑制了该信号通路在老龄小鼠肌肉中的激活,结果表明富锶水可能是通过改善老龄小鼠肌肉的炎症水平,抑制NF- κ B炎症信号通路的激活,继而减少了肌肉流失进程,起到延缓老年机体运动能力下降趋势的作用,但具体的作用机制仍有待进一步深入验证和探索。

5 结 论

富锶水能通过抑制NF- κ B炎症信号通路的激活,降低肌肉组织炎症反应,从而增加肌肉力量,继而达到改善老龄小鼠机体运动功能的作用。

参考文献

- [1] 陈卫. 中国人口负增长与老龄化趋势预测[J]. 社会科学辑刊, 2022, 262(5): 133-144.
CHEN W. Prediction of negative population growth and aging trend in China [J]. Social Sci J, 2022, 262(5): 133-144.
- [2] 吴茂江. 锶与人体健康[J]. 微量元素与健康研究, 2012, 29(5): 66-67.
WU M J. The relationship between strontium and human health [J]. Stud Trace Elem Health, 2012, 29(5): 66-67.
- [3] 曾宪录, 高仕, 韩飞, 等. 锶在骨质疏松治疗中的应用研究进展[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(16): 220-224.
ZENG X L, GAO S, HAN F, et al. A review of strontium application in the treatment of osteoporosis [J]. Food Res Dev, 2021, 42(16): 220-224.
- [4] 李牧. 微量元素锶对心血管疾病预防作用研究[D]. 北京: 中国人民解放军医学院, 2012: 7-8.
LI M. Study on the preventive effect of trace element strontium on cardiovascular diseases [D]. Beijing: Military Medical College, 2012: 7-8.
- [5] DZAU V J, INOUE S K, ROWE J W, et al. Enabling healthful aging for all - the national academy of medicine grand challenge in healthy longevity [J]. N Engl J Med, 2019, 381(18): 1699-1701.
- [6] CONSITT L A, DUDLEY C, SAXENA G. Impact of endurance and resistance training on skeletal muscle glucose metabolism in older adults [J]. Nutrients, 2019, 11(11): 2636.
- [7] LV J M, WANG W Y, KRAFFT T, et al. Effects of several environmental factors on longevity and health of the human population of Zhongxiang, Hubei, China [J]. Biol Trace Elem Res, 2011, 143(2): 702-716.
- [8] MARIE P J, AMMANN P, BOIVIN G, et al. Mechanisms of action and therapeutic potential of strontium in bone [J]. Calcif Tissue Int, 2001, 69(3): 121-129.
- [9] 林好滨, 辛志明, 夏瑜鸿, 等. 饮水锶对高血压小鼠血压及炎症功能的影响[J]. 卫生研究, 2023, 52(4): 598-603.
LIN Y Z, XIN Z M, XIA Y H, et al. Effect of strontium in drinking water on blood pressure and inflammatory function in hypertension mice [J]. J Hyg Res, 2023, 52(4): 598-603.
- [10] YI Z W, XIA Y J, LIU X F, et al. Antrodin A from Mycelium of Antrodia camphorata alleviates acute alcoholic liver injury and modulates intestinal flora dysbiosis in mice [J]. J Ethnopharmacol, 2020, 254: 112681.
- [11] 李复兴. 水中锶与生命科学的关系[J]. 中国食品, 2017(23): 58-59.
LI F X. Relationship between strontium in water and life science [J]. China Food, 2017(23): 58-59.
- [12] BAKHIT A, KAWASHIMA N, HASHIMOTO K, et al. Strontium ranelate promotes odonto-/osteogenic differentiation/mineralization of dental papillae cells *in vitro* and mineralized tissue formation of the dental pulp *in vivo* [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 9224.
- [13] WANG S B, SUN J T, GU L F, et al. Association of urinary strontium with cardiovascular disease among the US adults: a cross-sectional analysis of the national health and nutrition examination survey [J]. Biol Trace Elem Res, 2023, 201(8): 3583-3591.
- [14] YALIN S, SAGIR O, COMELEKOGLU U, et al. Strontium ranelate treatment improves oxidative damage in osteoporotic rat model [J]. Pharmacol Rep, 2012, 64(2): 396-402.
- [15] DE MELO NUNES R, MARTINS M R, DA SILVA JUNIOR F S, et al. Strontium ranelate analgesia in arthritis models is associated to decreased cytokine release and opioid-dependent mechanisms [J]. Inflamm Res, 2015, 64(10): 781-787.
- [16] EL ASSAR M, ÁLVAREZ-BUSTOS A, SOSA P, et al. Effect of physical activity/exercise on oxidative stress and inflammation in muscle and vascular aging [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(15): 8713.
- [17] RONALDSON S M, STEPHENSON D G, HEAD S I. Calcium and strontium contractile activation properties of single skinned skeletal muscle fibres from elderly women 66-90 years of age [J]. J Muscle Res Cell Motil, 2022, 43(4): 173-183.
- [18] 黄胥莱, 高亚男, 张养东, 等. 食品中锶功能的研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(15): 397-406.
HUANG X L, GAO Y N, ZHANG Y D, et al. Research progress on strontium function in foods [J]. Food Sci, 2023, 44(15): 397-406.
- [19] SAIDAK Z, HAÏ E, MARTY C, et al. Strontium ranelate rebalances bone marrow adipogenesis and osteoblastogenesis in senescent osteopenic mice through NFATc/Maf and Wnt signaling [J]. Aging Cell, 2012, 11(3): 467-474.
- [20] ALVAREZ M E, SAVOURÉ A, SZABADOS L. Proline metabolism as regulatory hub [J]. Trends Plant Sci, 2022, 27(1): 39-55.
- [21] KADOGUCHI T, SHIMADA K, MIYAZAKI T, et al. Promotion of oxidative stress is associated with mitochondrial dysfunction and muscle atrophy in aging mice [J]. Geriatr Gerontol Int, 2020, 20(1): 78-84.

- [22] HÖHN A, WEBER D, JUNG T, et al. Happily (n)ever after: aging in the context of oxidative stress, proteostasis loss and cellular senescence [J]. *Redox Biol*, 2017, 11: 482–501.
- [23] KUMAR P, LIU C, SULIBURK J, et al. Supplementing *Glycine* and *N*-acetylcysteine (GlyNAC) in older adults improves glutathione deficiency, oxidative stress, mitochondrial dysfunction, inflammation, physical function, and aging hallmarks: a randomized clinical trial [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2023, 78(1): 75–89.
- [24] NISHIKAWA H, FUKUNISHI S, ASAI A, et al. Pathophysiology and mechanisms of primary sarcopenia (Review) [J]. *Int J Mol Med*, 2021, 48(2): 156.
- [25] CANNATARO R, CARBONE L, PETRO J L, et al. Sarcopenia: etiology, nutritional approaches, and miRNAs [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(18): 9724.
- [26] LIGUORI I, RUSSO G, CURCIO F, et al. Oxidative stress, aging, and diseases [J]. *Clin Interv Aging*, 2018, 13: 757–772.
- [27] 范亚坤, 梁芳, 张世阳, 等. 炎症及相关因子对老年人衰弱的影响 [J]. *河北医药*, 2018, 40(14): 2175–2178.
- FAN Y K, LIANG F, ZHANG S Y, et al. The effects of inflammation and inflammatory-associated factors on senile Marasmus [J]. *Hebei Med J*, 2018, 40(14): 2175–2178.
- [28] TUTTLE C S L, THANG L A N, MAIER A B. Markers of inflammation and their association with muscle strength and mass: a systematic review and meta-analysis [J]. *Ageing Res Rev*, 2020, 64: 101185.
- [29] ANGULO J, EL ASSAR M, RODRÍGUEZ-MAÑAS L. Frailty and sarcopenia as the basis for the phenotypic manifestation of chronic diseases in older adults [J]. *Mol Aspects Med*, 2016, 50: 1–32.
- [30] GULEN M F, SAMSON N, KELLER A, et al. cGAS-STING drives ageing-related inflammation and neurodegeneration [J]. *Nature*, 2023, 620(7973): 374–380.

Effect and Mechanism of Strontium-Rich Water on the Exercise Ability of Aged Mice

SHEN Zhiqing¹, HE Shuyu², LI Jiapeng^{3*}

¹ The Affiliated People's Hospital of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350007, China;

² Academy of Integrative Medicine (College of Integrative Medicine), Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350122, China;

³ Department of Physical Education, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350122, China

*Correspondence: LI Jiapeng, E-mail: lijiaopeng62@163.com

ABSTRACT Objective To investigate the effects and underlying mechanisms of strontium-rich water on exercise ability of aged mice. **Methods** A total of 16 male C57BL/6 aged mice at 20 months of age were divided into strontium-rich water group and control group, with 8 mice in each group. The strontium-rich water group was provided with strontium-rich water (6.11 mg/L) instead of drinking water, and the control group was given pure water. Both groups were free to drink, with water bottles being changed every two days for 8 consecutive weeks. Body weight and the weight of organs such as the heart, liver and kidney were detected. The pathological changes of heart, liver, kidney and muscles were detected by HE staining. Tension tester was used to measure the muscle tension of aged mice. The autonomous activity of aged mice was detected by open field experiment. The expression of inflammatory markers TNF- α , IL-6 and IL-1 β in the muscles were detected by immunohistochemistry. The levels of NF- κ B were detected by Western blot in both groups. **Results** Compared with the control group, there was no significant effect on body weight in the strontium-rich water group ($P>0.05$); there was no significant effect on the weight of organs such as heart, liver, and kidney of aged mice in the strontium-rich water group ($P>0.05$). The intervention of strontium-rich water showed no significant changes in the pathological morphology of the heart, liver, and kidneys of aged mice, but compared with the control group, the strontium-rich water group showed better muscle cell arrangement and tightness. Compared with the control group, the average muscle tension in the strontium-rich water group significantly increased ($P<0.05$). The intervention of strontium rich water can significantly increase the displacement distance and average velocity of aged mice over 5 minutes, and reduce their resting time ($P<0.05$). After intervention with strontium-rich water, the expressions of inflammatory factors TNF- α , IL-1 β and IL-6 in muscles significantly reduced ($P<0.05$); the expressions of key proteins NF- κ B and p-NF- κ B in the inflammatory signaling pathway significantly reduced ($P<0.05$). **Conclusion** Strontium-rich water may improve the physical exercise capacity of aged mice by inhibiting the activation of the NF- κ B inflammatory signaling pathway in muscle tissue, reducing muscle inflammation, suppressing the expression of inflammatory factors, and enhancing muscle tension and spontaneous activity in aged mice. This may be one of the mechanisms by which strontium-rich water improve the exercise ability of aged mice.

KEY WORDS osteoporosis; strontium-rich water; muscle; inflammation; NF- κ B signaling pathway; exercise ability

DOI:10.3724/SP.J.1329.2024.05007