第貳章　相關文獻探討

一、運動對 NOS 蛋白表現及活性相關研究

在目前的研究中指出，運動刺激 NOS 活性的機制主要在於可以引發肌漿網釋放鈣離子至肌細胞細胞質中，導致鈣離子含量增加，進一步活化 CaM 與 nNOS 及 eNOS 的鍵結(Moncada & Higgs, 1993)。較早的研究則發現 8 週的耐力性運動訓練穿插 1 分鐘的衝刺訓練可增強大鼠 eNOS 及 nNOS 的蛋白表現(Balon & Nadler, 1997)，而3週長期性體外刺激兔子的肌肉亦可增強 nNOS 蛋白表現及活性(Reiser, Kline, & Vaghy, 1997)，在大鼠跑步機速度為1.3/公里/小時、1.6/公里/小時及1.9/公里/小時，坡度分別為15%、20%及25%，時間皆維持15分鐘的三階段式的急性衰竭運動能增強 eNOS 及 nNOS 的加總活性 (Roberts 等，1999)，但在人體實驗中有研究顯示，每分鐘進行30秒的膝伸張動作，間隔休息30秒並持續一小時，為6週的耐力性運動訓練對 nNOS 蛋白表現及活性無顯著影響(Frandsen 等，2000)，然而作者推論可能與實驗物種的類別有關。而前研究結果則發現一週 5 天為期 4 週的耐力性運動訓練可顯著增強大鼠骨骼肌 eNOS 蛋白表現(Lin 等，2003)，本研究也希望觀察在相同的實驗模式下是否也能影響 nNOS 的蛋白及 mRNA 表現。

二、NO 對 eNOS 的反饋作用

在細胞培養的模式證實(Grumbach 等，2005)，在主動脈內皮細胞接受剪應力刺激前 30 分鐘給予 NO-donor （DPTA-NO）至剪應力刺激結束（6 小時)，其 eNOS mRNA 表現會顯著低於只有接受剪應力刺激的內皮細胞；相對的給予 L-NAME 則會有增強 eNOS mRNA 表現。eNOS promoter 活性及蛋白表現也呈現相同的結果。此研究更進一步觀察 p50 亞硝酸化（nitrosylation），則發現 L-NAME 能降低由剪應力所引起 p50 亞硝酸化的現象，因此 Grumbach 等的研究透過抑制 NO 對 eNOS 反饋抑制的作用，以有利於 NF-κB 增強 eNOS mRNA 表現及活性。低劑量 L-NAME 配合耐力性運動訓練發現能增強大鼠骨骼肌 eNOS蛋白表現，推測有可能因反饋作用的影響，而導致 eNOS 代償增生(Lin 等，2003)。因此本研究將探討低劑量 L-NAME 配合耐力性運動訓練對 NOS 的影響是否與 Grumbach 等人的研究有相同結果。

三、L-NAME 對 NOS 活性及生理的影響

L-NAME 是種非專一且具競爭性 NOS 抑制劑，於其分子結構與 L-arginine 類似，可與 NOS 結合但卻不會產生 NO 的化學物質。已有研究證實耐力性運動前兩天在大鼠飲用水加入 L-NAME （攝取量大約 15 mg/day)，發現其血壓有明顯增加(Higaki, Hirshman, Fujii, & Goodyear, 2001)，而對於肌肉肝醣的攝取無顯著影響，若在急性運動前 2 天在大鼠飲用水添

加 L-NAME,則發現急性衰竭運動後 NOS 活性顯著受到抑制(Roberts 等，1999)。L-NAME 在餵食過後 1 小時開始顯著影響血壓及心率，且餵食後 1 小時的時間點對於血壓及心率的影響也是最大，血壓與心率在餵食 L-NAME 後 1 小時與餵食前比較分別達顯著增加及減少(Gerova, 2000)。然而近年有篇研究證實，大鼠於每天早上餵食 L-NAME（10mg/kg）持續 8 週，其血壓及心率從第 4 週開始皆會顯著高於控制組，然而配合第一週速度為 8 m/min 維持 30 分鐘，並漸增至第五週為 20 m/min 維持 60 分鐘持續至第八週之耐力性運動訓練，其血壓及心率均被正常化(Husain, 2003)。而在前研究結果中，在運動訓練前 1 小時餵食 L-NAME ，並控制 L-NAME 的劑量（5 mg/kg/day)，以使 L-NAME 對大鼠無高血壓之負面影響，且能在運動訓練期間能達到抑制 NOS 活性的效用，研究結果發現第四週 L-NAME 的餵食對大鼠尾壓無顯著影響，但有升高的趨勢，因此本研究擬透過延長實驗處理的時間繼續以持續觀察低劑量 L-NAME 對大鼠尾壓的影響，並與 Husain 的研究結果做一比較。

四、 NO 對骨骼肝醣含量的影響

骨骼肌肝醣是耐力性運動的主要能量來源，目前研究顯示骨骼肌對血糖有肌肉收縮及胰島素兩種吸收的路逕(Nesher, Karl, & Kipnis, 1985)，在觀察人類及大鼠肌纖維母細胞的實驗中已被證實胰島素（insulin）及類胰島素成長因子（insulin like growth factors）可增強內皮細胞 eNOS 活性(Kaliman,

Canicio, Testar, Palacin, & Zorzano, 1999)；另一方面，骨骼肌收縮可以增強 eNOS 及 nNOS 活性及蛋白表現(Balon & Nadler, 1997; Sessa, Pritchard, Seyedi, Wang, & Hintze, 1994; Tidball 等，1998)，Balon 等人也證實 NO 可促進血糖之轉運功能，此現象在人體或動物實驗中都已被證實(Baron, 1994, 1996)，然而肌肉收縮後給予一氧化氮合成酶抑制劑（L-NMMA）則發現其 2-去氧葡萄糖（2-deoxyglucose）之轉運能力有降低之現象，因此 NO 對肝醣含量伴演著重要的角色。

此外，由於肝醣行糖解作用後的產物乙醯輔酶 A 需透過三羧酸循環，進行代謝作用，其中擰檬酸合成酶在三羧酸循環代謝路徑中的第一種酶，能將草醋酸及乙醯輔酶 A 催化成檸檬酸，因此擰檬酸合成酶活性可受乙醯輔酶 A 來取決，據此肝醣是否能順利的行醣解作用可影響擰檬酸合成酶活性。而運動訓練則已被證實能增強檸檬酸合成酶活性，進一步有利於提供耐力性運動表現之所需能量(Spina 等，1996)。

五、本章總結

綜上所述，目前的研究證實耐力運動訓練穿插衝刺性運動訓練能增強 eNOS 及 nNOS 蛋白表現(Balon & Nadler, 1997)，但在人體實驗卻發現對 nNOS 蛋白表現無影響(Frandsen 等，2000)，因而 nNOS 表現是否能受耐力運動訓練而增強，則還有待證實。而透過抑制骨骼肌 eNOS，可能透過

減緩 NO 對 NF-κB 的抑制作用(Grumbach 等，2005)，有增強 eNOS 表現的可能，nNOS 是否也能透過此機制此現象是否也將在本研究進行觀察及探討，若在骨骼肌 NO 產量可能增加的情況下，是否能透過增加肌肝醣含量，進而有利耐力性運動表現，為本研究探討的重點之一。