第伍章 討論與結論

根據本研究結果將以下列五個方向對耐力性運動訓練及低劑量 L-NAME 對大鼠骨骼肌 nNOS 、 eNOS、生理表現及運動表現進行探討：

一、耐力性運動訓練對大鼠比目魚肌及 eNOS 及 nNOS 的影響

研究結果顯示長期性的耐力性運動訓練有助於大鼠骨骼肌 eNOS mRNA 及蛋白表現。此結果和 Balon 與 Nadler 於 1997 年的研究類似，其研究是發現利用 8 週的耐力性運動訓練再穿插 1 分鐘的衝刺訓練能顯著增強 eNOS 蛋白表現。本研究證實四週耐力性運動訓練即對 eNOS 蛋白表現有增強的作用，且在 mRNA 層級上也觀察到顯著的增加。骨骼肌中的 eNOS 主要存在於微血管內皮細胞中，然而運動訓練已被證實能增強骨骼肌血管內皮生長因子（vascular endothelial growth factor； VEGF）(Amaral, Papanek, & Greene, 2001; Asano 等，1998; Gustafsson, Puntschart, Kaijser, Jansson, & Sundberg, 1999)。此機制有利於運動提高微血管密度及微血管與肌纖維比例之效應(Andersen, 1975; Brodal, Ingjer, & Hermansen, 1977; Hudlicka, Brown, & Egginton, 1992)，因此 4 週耐力性運動訓練可能引發上述機制，進一步增強 eNOS 表現。

在 nNOS mRNA 及蛋白表現，其結果與 eNOS 的不同。本研究發現運動訓練無法顯著提升大鼠骨骼肌 nNOS mRNA 及蛋白表現，有關運動訓

練對 nNOS 表現的影響有不同的結論，如 Balon 與 Nadler 於 1997 年的研究，在耐力性運動訓練穿插 1 分鐘的衝刺訓練可以增強 nNOS 表現；同年 Reiser 等人利用觀察兔子骨骼肌體外電刺激的方式，也發現 nNOS 蛋白表現有增強的現象。但在 Frandsen 等人 2000 年的研究中發現，受試者每分鐘進行 30 秒的膝伸張動作，間隔休息 30 秒並持續一小時，維持 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)；雖然作者推論此現象可能與實驗物種的類別有關，但若配合本研究的研究結果來看，運動型態的不同似乎對 nNOS 蛋白表現刺激的程度有所影響。總結目前的研究，似乎可歸納出耐力性運動無法明顯增強 nNOS 蛋白表現。

二、低劑量 L-NAME 對大鼠比目魚肌及 nNOS 及 eNOS 的影響

在本研究中，低劑量 L-NAME 表現未能顯著提升 nNOS mRNA 表現及蛋白表現，若配合耐力性運動訓練則發現 nNOS mRNA 表現雖僅有增強的趨勢，但在 nNOS 蛋白表現卻有明顯的增強，顯示低劑量 L-NAME 及耐力性運動訓練對 nNOS 表現有明顯加成之作用，至於 nNOS mRNA 表現可能因組內標準誤過大才導致統計意義未達顯著。另外，透過低劑量 L-NAME 配合耐力性運動訓練能顯著加強 eNOS 及 nNOS 的蛋白表現，eNOS mRNA 表現中亦有相同的結果。上述關於低劑量 L-NAME 對 nNOS 及 eNOS 影響之機轉可能與 Grumbach 等（2005）的研究結果相似。

Grumbach 的研究團隊(2005)發現在主動脈內皮細胞接受剪應力(shear stress）刺激前 30 分鐘給予 NO 釋放劑至剪應力刺激結束（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。此研究亦發現 L-NAME 能降低由剪應力所引起 p50 亞硝酸化的現象，因此 Grumbach 等人的研究透過抑制 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。而本研究則是在 eNOS 及 nNOS 活性受運動刺激前一小時，即給予 L-NAME 以達到抑制其活性的作用,可能因此降低運動中 eNOS 及 nNOS 的活性，減少在運動中 NO 對基因轉錄因子-NF-κB 抑制的作用，及減少對 NF-κB 其次單元體的 p50 cysteine 殘基產生 *S*-亞硝化（*S*-nitrosylation）的作用，進而也減緩抑制 NF-κB 對 DNA 鍵結的活性(Matthews, Botting, Panico, Morris, & Hay, 1996)，因此有利於 eNOS 及 nNOS mRNA 的合成。

研究證實大鼠在動物跑步機上進行速度 24m/min 及坡度 5% 的急性運動，能顯著增加骨骼肌 p50 蛋白含量及 NF-κB 的鍵結程度，降低細胞質中 IκBα 及 IκBα 激酶的含量，並且增加 IκBα 及 IκBα 激酶磷酸化，因此有利 NF-κB 進入細胞核促進轉譯作用(Ji, Gomez-Cabrera, Steinhafel, & Vina, 2004)。Ji 等（2004）研究也證實 IκBα 磷酸化及 NF-κB 的鍵結在運動後即刻顯著增加，且在運動後 2 小時達到峰值，而 p60 的蛋白表現亦是

在運動後有增加的趨勢，在第 4 小時即達到峰值，此研究證實急性運動對大鼠骨骼肌 NF-κB 的影響，而有利轉譯作用的進行。因此在單次運動本身即會加強 NF-κB 進入細胞核促進轉譯作用的情況下，再給予低劑量 L-NAME 以抑制 eNOS 及 nNOS 活性，可能減緩其下遊產物 NO 反饋抑制其 mRNA 之生成，此機制在長期性反覆發生的情況下有利於提升 NOS 蛋白質表現。因此在上述的結果發現符合 homesis 的機制，顯示透過 NOS 些微的抑制作用，對於 NOS 表現也會有增強的作用。

三、低劑量 L-NAME 對大鼠尾壓的影響

另一研究結果顯示大鼠平均尾動脈壓在第 4 週開始會顯著造成 Exercise 組與 L-NAME 組及 L-NAME +Exercise 組尾平均尾動脈壓之差距。在前研究結果中，發現運動訓練前一小時給予大鼠 L-NAME 對其主動脈 eNOS 蛋白表現有增強之現象。本研究透過相同實驗處理，長期觀察下卻發現大鼠尾動脈壓反而有顯著升高的現象，初步推論可能與 L-NAME 於大鼠體內藥物殘留時間有關，雖然大鼠主動脈 eNOS 蛋白表現增強，但因 L-NAME 在大鼠體內完全清除的時間可能超過 24 小時，因此一週 5 天 L-NAME 的餵食可能導致大鼠體內 L-NAME 的殘留量逐漸增加，長期下來亦會抑制其動脈 eNOS 的活性，降低 NO 的生成，進而提升大鼠尾動脈壓。

然而骨骼肌中可能因 eNOS 及 nNOS 的總蛋白含量高出主動脈 eNOS 許多，導致殘留下來的 L-NAME 在骨骼肌中不會造成太大的影響，使得透過代償增生的 eNOS 及 nNOS 還是得以在骨骼肌中釋放 NO，進一步促進骨骼肌肝醣儲存。因此，L-NAME 系統性抑制 NOS 活性的效果，可能因組織的不同而有所差異。

此外，有類似本研究實驗設計之文獻指出，於每天早上單次餵食大鼠 L-NAME（10 mg/kg），持續觀察八週的血壓變化，從第 4 週開始大鼠尾壓即明顯高於控制組(Husain, 2003)，但若是 L-NAME 配合耐力性運動訓練，其尾壓與控制組無太大差異，因此 Husain 的研究證實其耐力性運動訓練模式可以反轉，L-NAME 所引起的高血壓現象。然而在本研究結果卻可發現，L-NAME +Exercise 組的尾壓在第 4、6 及 7 週有顯著高於 Exercise 組的現象，顯示本研究耐力性運動訓練對反轉 L-NAME 所引起高血壓的效果低於 Husain 的耐力性運動訓練模式，但此一推論則尚待未來的研究證實。

四、低劑量 L-NAME 對大鼠比目魚肌肝醣及檸檬酸合成酶的影響

Lin 等人在 2004 年的研究發現 4 週低劑量 L-NAME 配合耐力性運動訓練能顯著增加大鼠比目魚肌肝醣含量及檸檬酸合成酶活性，且有高於運動訓練的趨勢。，本研究擬透過延長低劑量 L-NAME 及耐力性運動訓練實驗處理之週數，以觀察低劑量 L-NAME 之效果是否能被放大。然而，結果

顯示實驗週數的延長並不會顯著放大低劑量 L-NAME 之效果，4 週與 8 週低劑量 L-NAME 配合耐力性運動訓練雖然使比目魚肌肝醣含量高於耐力性運動訓練組，但無顯著效果；在檸檬酸合成酶活性的部份，則發現 8 週低劑量 L-NAME 配合耐力性運動訓練這一組有低於耐力性運動訓練組的趨勢，雖然結果一樣未達顯著，但與先前之研究發現有所差異，此現象可能與骨骼肌糖解作用長期性受 NO 抑制，降低乙醯輔酶 A 的產量有關，進而減緩檸檬酸合成酶活性，因此也顯示氧化能力有受到抑制的可能。

五、低劑量 L-NAME 對耐力性運動表現的影響

在先前研究結果中(Lin & Su, 2004)，4 週 L-NAME 的餵食有增加比目魚肌肝醣含量及檸檬酸合成酶活性的趨勢，但本研究結果則發現 Exercise+L-NAME 組第 5 週及第 8 週大鼠耐力性運動表現反而低於 Exercise 組。

在上述討論中發現，低劑量 L-NAME 仍有升高血壓的作用，顯示心血管功能可能受到抑制，因而可能導致運動中血管舒張能力降低。此現象將不利於血液氧氣及氧份在運動中運輸至骨骼肌中，且也會降低肺臟進行氣體交換作用的能力，上述之現象皆可能降低有氧運動能力。另外，在本研究中也發現比目魚肌 nNOS 蛋白表現可透過耐力性運動訓練配合低劑量 L-NAME 而明顯增強，eNOS 蛋白表現則也有強於耐力性運動訓練組的趨

勢。此現象可能使其骨骼肌 NO 產量明顯提高，因而可能產生過多的 NO，再且 NO 對於骨骼肌的呼吸作用有抑制現象，其中包括細胞色素 C 氧化酶 (Kobzik 等，1994)、肌酸肌酶 (Wolosker, Panizzutti, & Engelender, 1996)、烏頭酸合成酶、粒線體複合體 I (Clementi, Brown, Feelisch, & Moncada, 1998)，因而影響骨骼肌有氧代謝系統。雖然在本研究發現 Exercise+L-NAME 組大鼠比目魚肌肝醣含量有高於 Exercise 組的趨勢，但可能因 NO 抑制醣解作用及粒線體呼吸作用，導致骨骼肌肝醣無法在運動中有效的利用，據此也可能降低運動中脂肪的使用能力。

六、結論

本研究證實透過低劑量 L-NAME 配合耐力性運動訓練，能明顯增強 eNOS 及 nNOS 蛋白表現，此現象雖然可能增加骨骼肌中 NO 產量，但卻無法顯著增加骨骼肌肝醣的儲存量及檸檬酸合成酶活性，對耐力性運動表現也無促進的作用。