

國立臺灣體育運動大學  
National Taiwan University of Physical  
Education and Sport  
運動健康科學學系碩士班  
碩士學位論文

補充八週共軛亞麻油酸  
對運動後人體骨骼肌肉肝醣合成的影響  
EFFECTS OF EIGHT-WEEK ORAL  
CONJUGATED LINOLEIC ACID  
SUPPLEMENTATION ON MUSCLE GLYCOGEN  
SYNTHESIS IN EXERCISED HUMAN  
SKELETAL MUSCLE



研 究 生：曹榮鑣

指導教授：程一雄 博士

共同教授：邱彥成 博士

中 華 民 國 101 年 10 月

論文名稱：補充八週共軛亞麻油酸對運動後人體骨骼肌肉肝醣合成的影響

總頁數：80 頁

院校所組別：國立臺灣體育運動大學運動健康科學學系碩士班

畢業及提要別：100 學年度第 2 學期碩士學位論文提要

研究生：曹榮鑣

指導教授：程一雄博士

共同指導：邱彥成博士

## 中文摘要

共軛亞麻油酸(Conjugated Linoleic Acid, CLA)是一群含 18 個碳之共軛雙鍵不飽合脂肪酸。動物試驗指出 CLA 有增加游離脂肪酸氧化速率，降低身體脂肪的生理功能。這次研究探討補充八週 CLA，在單次 60 分鐘 75 % 最大攝氧量( $\dot{V}O_{2\max}$ )腳踏車運動挑戰後，人體骨骼肌肌肉肝醣合成效果之影響。十二名健康男性受試者，在補充八週 CLA 前，接受單次 60 分鐘 75 %  $\dot{V}O_{2\max}$  運動測試。緊接著，給予八週 CLA 補充劑(4 g/d)，然後再一次完成同樣強度單次運動挑戰。每次運動後立即給予等量碳水化合物補充(每公斤體重 2 克)。運動後立即進行第一次肌肉穿刺，並在碳水化合物補充後 3 小時內，每隔 30 分鐘進行血液採樣。最後，運動後第 3 小時進行第二次肌肉穿刺。另外，運動後恢復期 3 小時期間內第 1、2、3 小時，收集氣體樣本。研究結果顯示，CLA 試驗血液葡萄糖、胰島素濃度曲線下面積皆明顯高於控制組( $P < .05$ )。CLA 試驗血漿甘油濃度在運動後 0、30、60 與 180 分鐘明顯低於控制組( $P < .05$ )。CLA 試驗血漿游離脂肪酸濃度在運動後 0、30 與 180 分鐘明顯低於控制組( $P < .05$ )。補充 CLA 無顯著增加單一運動挑戰後 0 至 3 小時肌肉肝醣合成率。但是，補充 CLA 有利於減少單次運動期間肌肉肝醣損耗。另外，CLA 增加 GLUT4 運動後 0 小時與 3 小時蛋白表現量( $P < .05$ )，無法改變 P-AKT、GS 蛋白表現。氣體樣本顯示，補充八週 CLA 後，在運動恢復期

間並不會改變呼吸交換率、脂肪氧化率、碳水化合物氧化率。這次研究顯示，規律運動習慣的健康男性，補充八週 CLA 後，有利降低 60 分鐘 75 %  $\dot{V}O_{2\max}$  單次運動期間肌肉肝醣損耗。但是，補充 CLA 不利於運動恢復期間全身葡萄糖利用及胰島素敏感性增加。因此，這次試驗結果也沒證據可以支持補充八週 CLA 可以顯著增加人體運動後肌肉肝醣增補的效果。

**關鍵字：**增能劑、呼吸交換率、胰島素敏感性

# **Effects of eight-week oral conjugated linoleic acid supplementation on muscle glycogen synthesis in exercised human skeletal muscle**

## **Abstract**

Conjugated linoleic acid (CLA) is a group contained eighteen carbons and unsaturated fatty acids with two double bonds. CLA in animal studies enhanced fatty acid oxidation rate and reduced body fat. Purpose of this study was to demonstrate whether eight weeks oral CLA supplementation can increase glycogen synthesis in exercised human skeletal muscle. Twelve male subjects completed a single bout of exercise at 75%  $\dot{V}O_{2\text{ max}}$  for 60 minutes and accepted subsequently eight weeks oral CLA supplementation (4.0g/day). Immediately after eight weeks CLA supplementation, all subjects finished similarly a single bout of exercise challenge again. Subjects were asked to ingest a high carbohydrate meal immediately after cycling exercise (2g carbohydrate per body weight). Muscle samples were taken by needle biopsy immediately after exercise (0 h) and 3 h following exercise. Blood and gaseous samples were taken every 30 minutes till 3 h recovery after exercise. Lower responses were found in circulating non-esterify fatty acid (NEFA) and glycerol levels after 8 weeks CLA supplementation. Area under curve of glucose and insulin responses were higher response after CLA supplementation ( $P<.05$ ). However, no significant increase in glycogen synthesis was shown

after 8 weeks oral CLA supplementation in exercised human skeletal muscle. But CLA supplementation attenuate muscle glycogen depletion during the exercise challenge at 75%  $\dot{V}O_{2\text{ max}}$  for 60 minutes. In addition, GLUT4 protein expression was up-regulated by CLA supplementation but no similar finding on expressions of P-AKT and glycogen synthesis. No significant influence of respiratory exchange rate (RER), rates of fat and carbohydrate oxidation were found after 8 weeks supplementation based on evidence by gaseous exchange methods. The present study demonstrated that eight weeks oral CLA supplementation attenuated level of glycogen depletion during a single bout of exercise challenge. However, CLA supplementation cannot benefit on improve in whole body glucose uptake and insulin sensitivity. Therefore, there were no evidences to support that eight weeks oral CLA supplementation enhanced glycogen synthesis in exercised human skeletal muscle.

**Key words : ergogenic aid, RER, insulin sensitivity**

## 誌 謝

終於到了寫誌謝這天，回想起碩士生活這二年的研究歷程，感謝程一雄老師的一句話「在研究領域沒有永遠的正確答案，只有合理的解釋」，讓我朝向獨立思考領域邁進一大步。很慶幸碩士歷程遇見許多貴人，感謝張振崗老師提供完善的運科資源，使我在實驗上獲得許多新知識，感謝邱彥成老師與巫錦霖老師細心指導論文並給予寶貴建議，使我在實驗上有了新方向，感謝實驗室廖醫師、蔡主任、林鎰、信同、顥文與霖鉉排除萬難，全力配合實驗。

特別感謝榆家學姐情義相挺以及台體大運科中心玉芳學姐犧牲休假，幫我解決實驗上的問題，北體運動生化營養實驗建文老師與思賢學長耐心及用心的教導，使我學到新的實驗技術。感謝中教大研究室、台體大運科中心與北體運動生化營養實驗室所有夥伴，因為有你們的陪伴，讓碩士生活更加多采多姿。感謝碩班同學世明、冠賢、雅智、怡君、名穗、亭妤、予藍與榕津的照顧及協助處理學校瑣碎事務，你們就像是我生命中的小天使！

就讀研究所一直是我的夢想，兩年前因為有妳的鼓勵，讓我從工作職場回到學校求學，感謝盈君妳在前半段碩士求學歷程中不斷的鼓勵與支持，由衷謝謝妳讓我到夢想的起點。最後謝謝最最親愛的家人、王超人家族以及美蘭，這段日子你們是我最大的支柱與聽眾，如今我即將畢業，就換我來變成你們的支柱，好好的孝順、陪伴你們！再次感謝曾經幫助過我的人，因為有你們才有今天的我！

曹榮鑣 謹誌

中華民國 101 年 8 月

## 目 錄

|                       |      |
|-----------------------|------|
| 中文摘要                  | I    |
| Abstract              | III  |
| 誌 謝                   | V    |
| 目 錄                   | VI   |
| 表 目 錄                 | VIII |
| 圖 目 錄                 | IX   |
| 第壹章 緒 論               | 1    |
| 第一節 研究背景              | 1    |
| 第二節 研究目的              | 2    |
| 第三節 研究假設              | 3    |
| 第四節 研究範圍與限制           | 3    |
| 第五節 名詞操作型定義           | 4    |
| 第貳章 文獻探討              | 5    |
| 第一節 共軛亞麻油酸            | 5    |
| 第二節 共軛亞麻油酸與身體組成之關係    | 6    |
| 第三節 共軛亞麻油酸對胰島素敏感度之影響  | 10   |
| 第四節 共軛亞麻油酸對運動表現之影響    | 14   |
| 第五節 運動與肌肉肝醣合成之關係      | 16   |
| 第六節 碳水化合物攝取時間對肝醣合成之關係 | 17   |
| 第七節 總 結               | 18   |

|                    |           |
|--------------------|-----------|
| <b>第叁章 研究方法與步驟</b> | <b>19</b> |
| 第一節 研究對象           | 19        |
| 第二節 實驗設計與流程        | 19        |
| 第三節 實驗收集與分析方法      | 24        |
| 第四節 資料處理與統計分析      | 28        |
| <b>第肆章 結果</b>      | <b>29</b> |
| 第一節 實驗參與者基本資料      | 29        |
| 第二節 身體組成指標         | 30        |
| 第三節 血液反應           | 31        |
| 第四節 呼吸生理反應         | 43        |
| 第五節 骨骼肌肝醣合成相關蛋白反應  | 49        |
| 第六節 骨骼肌肝醣合成相關反應    | 55        |
| <b>第伍章 討論</b>      | <b>57</b> |
| 第一節 主要發現           | 57        |
| 第二節 血液生化值          | 57        |
| 第三節 骨骼肌能量代謝分子機轉    | 60        |
| <b>第陸章 結論</b>      | <b>63</b> |
| <b>參考文獻</b>        | <b>64</b> |
| 附錄一 人體試驗委員會審查意見表   | 76        |
| 附錄二 受測者同意書         | 77        |
| 附錄三 混和餐點營養成分表      | 78        |
| 附錄四 肌肉穿刺步驟         | 79        |
| 附錄五 肌肉肝醣分析步驟       | 80        |



## 表 目 錄

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 表 2-1 補充混合共軛亞麻油酸對人體脂肪量相關研究 -----  | 9  |
| 表 2-2 補充混合共軛亞麻油酸對人體胰島素的相關研究 ----- | 13 |
| 表 2-3 補充混合共軛亞麻油酸對運動表現的相關研究 -----  | 15 |
| 表 3-1 測量受試者個別攝氧峰值之運動設計 -----      | 21 |
| 表 3-2 抗體資料 -----                  | 27 |
| 表 4-1 受試者身體組成與能量消耗一覽表 -----       | 30 |

## 圖 目 錄

|                              |    |
|------------------------------|----|
| 圖 2-1 共軛亞麻油酸 LA 異構物結構圖 ----- | 5  |
| 圖 3-1 實驗流程圖 -----            | 23 |
| 圖 4-1 血液葡萄糖濃度 -----          | 32 |
| 圖 4-2 葡萄糖反應曲線下面積 -----       | 34 |
| 圖 4-3 血液胰島素濃度 -----          | 36 |
| 圖 4-4 血液胰島素反應曲線下面積 -----     | 38 |
| 圖 4-5 游離脂肪酸濃度 -----          | 40 |
| 圖 4-6 甘油濃度 -----             | 42 |
| 圖 4-7 呼吸交換率反應 -----          | 44 |
| 圖 4-8 脂肪氧化速率 -----           | 46 |
| 圖 4-9 碳水化合物氧化速率 -----        | 48 |
| 圖 4-10 骨骼肌 GLUT4 蛋白量 -----   | 50 |
| 圖 4-11 骨骼肌肝糖合成酶蛋白量 -----     | 52 |
| 圖 4-12 骨骼肌 P-AKT 蛋白量 -----   | 54 |
| 圖 4-13 骨骼肌肌肉肝糖含量 -----       | 55 |
| 圖 4-14 骨骼肌肌肉肝糖合成速率 -----     | 56 |

# 第壹章 緒論

## 第一節 研究背景

肌肉肝醣 (muscle glycogen) 是人體進行中、高強度運動時主要能量來源 (Romijn et al., 1993)，當肝醣的儲存量降低時，則會限制運動表現 (Hermansen, Hultman, & Saltin, 1967)。由此可知，較多肌肉肝醣儲存量可維持更長的運動表現，在長時間運動表現，肌肉肝醣不斷地提供能量，而已經耗盡的肌肉肝醣需要由外部補充能量，幫助肌肉肝醣回補，以完成接下來的運動。例如：臺灣網球選手盧彥勳，在 2010 年進入溫布頓網球錦標八強賽，為了贏得連續的單人及雙人比賽，除了網球比賽中技術表現，將幾乎快要耗竭的肌肉肝醣快速恢復，並保持良好身體狀態是非常最要的，故增加肌肉肝醣含量為提升耐力運動表現的最佳方法之一。

在這背景下，找到可以提高運動後骨骼肌肌肉肝醣合成的營養增補劑，對運動員是非常重要的。人體骨骼肌肌肉肝醣儲存量是中、高強度間歇運動競賽過程中最重要的能量來源，其中包含每次比賽期間只有 3-4 個小時的休息，如果在先前比賽後肌肉肝醣恢復不足，可能會使隨後的運動表現不佳。運動員的體能維持，有賴於充足的骨骼肌肌肉肝醣儲存量，因此有必要建立耐力運動後提升肌肉肝醣合成的最佳方法，以提高運動表現。

在肌肉肝醣恢復期，肌肉細胞內部至少需要消耗外源性的碳水化合物 0.5 g/kg/hr (Ivy, 1998)，最多高達 1.5 g/kg 劑量 (Doyle, Sherman, & Strauss, 1993)，以達到最大運動後肌肉肝醣恢復。在肌肉肝醣相關研究中，證實攝取碳水化合物確實可以提升肝醣含量，進而促進耐力運動表現與持續時間 (Bergström, 1962)。若能藉由營養增補劑的使用，達到節省肌肉肝醣利用率或加速肌肉肝醣再合成效果，應可增加運動員在競技上的表現。

因此本研究依此論點延伸，探討補充八週共軛亞麻油酸後，是否使能量利用偏向脂肪氧化，並提高運動後骨骼肌肌肉肝醣再合成，進而了解共軛亞麻油酸做為營養增補劑的功效，是否可以增加運動後人體骨骼肌肌肉肝醣恢復的可能性。

## 第二節 研究目的

探討人體補充八週共軛亞麻油酸後，進行單一次 75 %  $\dot{V}O_{2\text{ max}}$  腳踏車運動 60 分鐘後，立即攝取碳水化合物是否可以改變葡萄糖、脂肪酸代謝機轉，增加肌肉肝醣再合成效果，並完成不同試驗間，運動前與運動後血糖、胰島素、游離脂肪酸、甘油、氣體分析、肌肉肝醣含量的比較，探討碳水化合物和脂肪氧化速率之變化，做為分析佐證資料。

### 第三節 研究假設

基於上述研究背景與目的，本研究假設：補充八週共軛亞麻油酸，於單次運動挑戰後給予碳水化合物補充後，身體脂肪酸濃度與氧化程度提高，葡萄糖利用與氧化程度降低，使能量偏向脂肪利用，因此節省骨骼肌對葡萄糖利用，進而促進肌肉肝醣再合成。意即補充八週共軛亞麻油酸，在單次 75 %  $\dot{V}O_{2\max}$  腳踏車運動 60 分鐘後，恢復期間補充碳水化合物能增加肌肉肝醣再合成。

### 第四節 研究範圍與限制

- 一、本研究透過肌肉穿刺取得小部分肌肉樣本，對於所採取的肌纖維型態類型，無法證實是否一樣。
- 二、本研究所測量之肝醣濃度為運動後 0 及 3 小時之變化，無法推估 3 小時後肝醣濃度變化。

## 第五節 名詞操作型定義

### 一、最大攝氧量(maximum oxygen consumption, $\dot{V}O_{2\text{ max}}$ )

攝氧量測量過程出現最大值可能並非攝氧量的絕對最大值。本次研究中利用固定式腳踏車測量受試者攝氧量，腳踏車功率以 1.0 kg 開始，每 2 分鐘增加 0.5 kg，當攝氧量不再隨著增加或增加的值小於 2 ml/kg/min 時，並且呼吸交換率大於 1.15，即判定為此受試者的最大攝氧量。

### 二、肌肉肝醣濃度

本研究的肌肉肝醣濃度是以受測者每公克濕骨骼肌肌肉內含微莫耳葡萄糖( $\mu\text{mol/g wet tissue}$ )為測量依據。

### 三、共軛亞麻油酸(conjugated linoleic acid, CLA)

本研究增補劑以 1:1 (cis-9, trans-11 和 trans-10, cis-12) 比例所製成的混合 CLA，內含 95% CLA 成份，以膠囊的形式提供，以 4 g/d 劑量供受試者服用(Eyjolfson, Spriet, & Dyck, 2004)。

## 第貳章 文獻探討

### 第一節 共軛亞麻油酸

#### 一、共軛亞麻油酸的結構與來源

共軛亞麻油酸 (conjugated linoleic acid, CLA) 是人體必需脂肪酸亞麻油酸的幾何異構物，也是一種天然脂肪酸，主要在反芻類動物肉類和乳製品中發現 (Jiang, Wolk, & Vessby, 1999)。CLA 是一群含有共軛雙鍵的亞麻油酸異構物，存在於自然界中，含有 18 個碳及兩個共軛雙鍵不飽合脂肪酸，在結構上屬於必需脂肪酸亞麻油酸 (linoleic acid, LA)。LA 的雙鍵位置位於自 -COOH 端算起第 9 及第 12 號碳上皆為順式結構 (cis form) (Kelly, 2001)；CLA 的雙鍵位置則發現位於  $\Delta 7,9$ 、 $\Delta 8,10$ 、 $\Delta 9,11$ 、 $\Delta 10,12$ 、 $\Delta 11,13$  上，其中一個雙鍵為反式結構 (trans form) (Lavillonniere, Martin, Bougnoux, & Sebedio, 1998)，如圖 2-1。

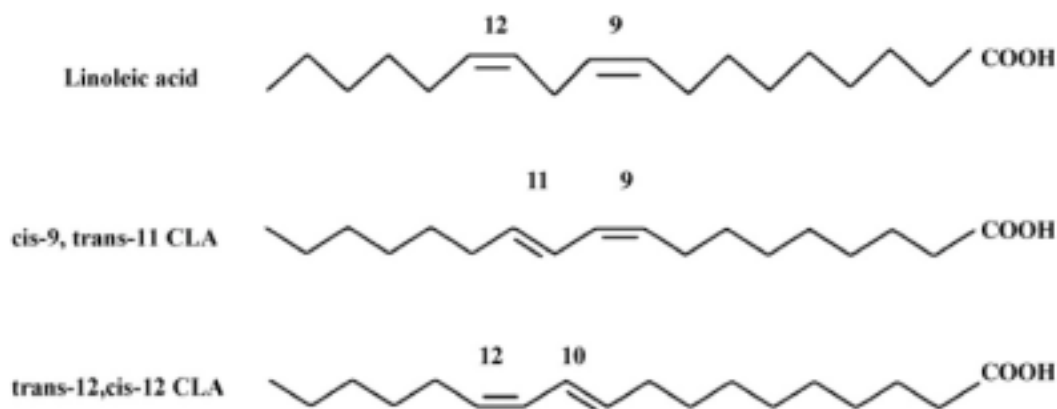


圖 2-1 共軛亞麻油酸 LA 異構物結構圖

(Bhattacharya, Banu, Rahman, Causey, & Fernandes, 2006)

共軛亞麻油酸普遍存在於肉類、乳製品及油脂中。其中 c9,t11-CLA 為最豐富的天然異構物；t10,c12-CLA 對肥胖和胰島素敏感性具有較高影響(Henriksen et al., 2003)。二者約占食物內 CLA 含量 85~90%，其餘 CLA 異構物則占 10~15% (Kritchevsky, 2000)。然而研究單位通常會以 c9,t11-CLA、t10,c12-CLA 相同比例所製成的混合 CLA 做為增補劑(Gaullier, Berven, Blankson, & Gudmundsen, 2002)。

## **第二節 共軛亞麻油酸與身體組成之關係**

近年來共軛亞麻油酸對身體組成的影響已經被廣泛研究，特別是關於能量代謝調控關係，達到減少體脂肪的效果。此章節將探討 CLA 對能量代謝的調控及有效減少體脂肪的劑量：

### **一、共軛亞麻油酸與能量調控**

能量平衡是相對於能量消耗與能量攝入的供需平衡，當能量攝入超過能量消耗，則增加體重和身體脂肪，反之亦然。因此，CLA 降低體脂肪的潛在機制包含減少能量攝入或增加能量消耗。

#### **(一)共軛亞麻油酸減少能量攝取的機制**

首先動物實驗證實給予小鼠 4 週混合 CLA 或單一種 t10,c12-CLA 後，發現小鼠食物攝取量減少(Park et al., 1997)。隨後研究給予小鼠含有 t10,c12-CLA 低脂肪飲食，降低 pro-opiomelanocortin(POMC)到下丘腦神經肽(neuropeptide



Y, NPY)基因表現率，並減少 23.6% 食物攝取量。為了證實此說法，另一項研究對大鼠下視丘注射混合 CLA，亦造成 NPY、刺鼠肽基因相關蛋白(agouti-related peptide, Agrp)和神經肽量減少(Cao et al., 2007)，因此兩項動物實驗結果證實 CLA 會影響下視丘食慾調節基因，達到減少能量攝取的效果(So, Tse, & Li, 2009)。

另外小鼠研究證實補充 CLA 持續 42 天，小鼠體重下降並非是減少食物攝取量所造成(Terpstra et al., 2003)，這表示 CLA 減少體內脂肪並非僅依賴減少能量攝入。

## **(二)CLA 增加能量消耗的機制**

能量消耗包括基礎代謝率、生理性產熱和生理活動等功能。從基礎代謝率角度來看，動物實驗證實 CLA 會經由增加基礎代謝率或脂肪氧化，提高能量消耗，達到降低肥胖的效果。就 CLA 對基礎代謝率的影響，動物實驗已經證實給予雄性小鼠混合 CLA 可以降低體內脂肪量約 50%，並伴隨著基礎代謝率增加(Terpstra et al., 2003)。

在一些研究證實 CLA 除了可以減少身體質量指數 (body mass index, BMI)，增加瘦體組織，進而提高體內基礎代謝率(Steck et al., 2007)。另外，生理性產熱和偶合蛋白(uncoupling protein 2, UCP2)向上調節有著相關性，研究指出齧齒類動物補充混合 CLA，證實會誘導棕色脂肪中 UCP2 轉錄，促進體內基礎代謝，增加能量消耗(Ealey, El-Sohemy, & Archer, 2002)；其他動物研究從脂肪代謝調控機制發現，大鼠餵食單次 t10,c12-CLA，棕色脂肪內粒腺體肉鹼轉移酶(carnitine palmitoyl transferase, CPT)蛋白表現量增加，並加

速脂肪酸氧化速度，使得被用來參與酯化作用脂肪酸量減少 (LaRosa et al., 2006)，其研究結果和 Evans 等人 (2002) 一致，指出 t10,c12-CLA 對不同 3T3-L1 小鼠前脂肪細胞，有增加脂肪酸氧化作用。隨後研究也指出，補充 CLA 可增加齧齒類動物肌肉和肝臟 UCP 表現和  $\beta$  氧化作用 (Ribot, Portillo, Picó, Teresa, & Macarulla, 2007)。

## 二、共軛亞麻油酸有效減少體脂肪的劑量

在人體實驗，Blankson 等人 (2000) 評估 60 位肥胖者 BMI 指數  $25 \sim 30 \text{ kg/m}^2$  受測者，分成 5 組，分別給予 9 g/day 橄欖油 (placebo)、1.4 g/day CLA、3.4 g/day CLA、5.1 g/day CLA 或 6.8 g/day CLA 持續 12 週，CLA 組脂肪比例和 placebo 組相比明顯減少，其中每天給予 3.4 g CLA 降低最多脂肪。另外一項研究，將 20 位專業運動員身體質量指數 (body mass index, BMI)  $> 25$  的受測者，分成男生 5 位，女生 5 位共兩組，接受 1.8 g 混合 CLA 和 placebo 補充。受測者於整個研究過程，每週進行 3 次 90 分鐘運動，飲食和生活習慣都沒有改變，補充 12 週後 CLA 組脂肪明顯減少，BMI 和體重則無顯著改變 (Thom, Wadstein, & Gudmundsen, 2001)。

另外，先前研究以過重有規律性運動的成年人，評估補充 CLA 對身體組成的影響。180 名受測者分別成 3 組，分別補充 4.5 克 CLA-FFA (含有 80% FFA)、4.5 克 CLA-TG (含有 76% TG) 以及 4.5 克橄欖油 (Placebo)，飲食和生活習慣並沒有限制。補充 12 個月後，CLA-FFA 及 CLA-TG 組別，體脂肪減少約 2 kg，肌肉增加 0.7 kg，安慰劑組體脂肪增加 0.2 kg，肌肉量則無增加，相較之下 CLA 組體脂肪明顯減少 (Gaulhier

et al., 2004)。綜上所述有關 CLA 對人體脂肪量之相關研究如表 2-1。

表 2-1 補充混合共軛亞麻油酸對人體脂肪量相關研究

| 參考文獻                  | 受測者(N)<br>BMI(kg/m <sup>2</sup> ) | 劑量(g/d)                                     | CLA 成分                   | 結果          |
|-----------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------|-------------|
| Blankson et al(2000)  | N=52<br>BMI 25-35                 | 3.4 (g/d)<br>x 12                           | 50% t10c12<br>50% c9t11  | 脂肪量<br>明顯減少 |
| Thom et al(2001)      | N=20<br>BMI <25                   | 1.8 (g/d)<br>x 12 weeks                     | 50% t10c12,<br>50% c9t11 | 脂肪量<br>明顯減少 |
| Mougios et al(2001)   | N=24<br>BMI <30                   | 0.7/1.4(g/d )<br>x 4 weeks,<br>respectively | 51% t1012,<br>49% c9t11  | 脂肪量<br>明顯減少 |
| Smedman et al(2001)   | N=53<br>BMI 25                    | 4.2 (g/d )<br>x 12 weeks                    | 50% t10c12,<br>50% c9t11 | 脂肪量<br>明顯減少 |
| Colakoglu et al(2006) | N=44<br>BMI <25                   | 3.6(g/d )<br>x 6 weeks                      | 混合 CLA                   | 脂肪量<br>明顯減少 |

綜上所述，證實共軛亞麻油酸可以有效降低體脂肪，提高體內基礎代謝率。經由文獻整理後發現 CLA 有效降低體脂肪每天最低劑量為 1.8 克 (Thom, Wadstein, & Gudmundsen, 2001)，最高劑量為 6.8 克，其中最佳降低體脂肪劑量為 3.4 克 (Blankson et al., 2000)，故本研究擬每天補充 4 克混合 CLA。

### 第三節 共軛亞麻油酸對胰島素敏感度之影響

胰島素是一種調節吸收、使用和儲存能量的重要荷爾蒙。文獻指出 CLA 能有效活化過氧化體增值劑活化受器 (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)，其中 PPAR 轉錄因子調控多種脂肪酸與脂肪酸衍生物，值得關切的是 PPAR $\alpha$  對骨骼肌脂質和碳水化合物調控有較好的表現，因此 CLA 與 PPAR $\alpha$  相互作用可能改變下游目標蛋白的轉錄，具有改善胰島素敏感性效果 (Moya-Camarena, Vanden Heuvel, Blanchard, Leesnitzer, & Belury, 1999)。

目前已經證實共軛亞麻油酸具有降低體脂肪及血脂含量的功效 (Lambert et al., 2007)，故混合共軛亞麻油酸對胰島素阻抗的影響，如葡萄糖、胰島素將在本節探討：

#### 一、補充混合共軛亞麻油酸對胰島素敏感性的影響

##### (一)補充混合共軛亞麻油酸降低胰島素敏感性

一些動物研究顯示，補充 CLA 對胰島素敏感性、第 II 型糖尿病與心血管疾病重要的相關脂質代謝因子有功效。因此人體實驗，對飲食控制血糖的糖尿病患者，經由補充混合 CLA (3 g/day) 持續 8 週，發現降低胰島素敏感性，且經由口服葡萄糖耐受度測驗，補充 CLA 會增加空腹血糖濃度，這項研究以 Homeostasis Model Assessment (HOMA) 所計算出的 Insulin Resistance (IR) 數值也會增加 (Moloney, Yeow, Mullen, Nolan, & Roche, 2004)。

另外，Thrush 等人(2007)研究 9 名體重過重、沒有糖尿病的受測者，接受混合 CLA (4 g/day)持續 12 週，發現血液和骨骼肌內 CLA 含量明顯增加；血液中腫瘤壞死因子(tumor necrosis factor-alpha, TNF- $\alpha$ )濃度和脂聯素(adiponectin)並沒有改變；骨骼肌神經醯胺含量顯著增加。其中值得注意的是神經醯胺與胰島素訊息下游路徑相互影響，主要是抑制胰島素刺激 AKT 蛋白酶活化，降低骨骼肌胰島素刺激葡萄糖的利用率，然而 TNF- $\alpha$  會刺激神經醯胺合成，進而引起胰島素阻抗(Straczkowski et al., 2004)。CLA 補充後，血液中 TNF- $\alpha$  濃度並沒有改變，因此骨骼肌肉中神經醯胺含量改變可能不是受到 TNF- $\alpha$  影響。同樣地，在先前的研究報告指出，脂聯素可以改善胰島素敏感性(Riserus, Vessby, Arner, & Zethelius, 2004)，研究中脂聯素也沒改變，因此補充 CLA 對胰島素敏感性和肌肉代謝並沒有受到兩個主要改變胰島素敏感性的細胞激素影響。但體重過重、非糖尿病患者補充混合 CLA，人體骨骼肌肉中神經醯胺含量增加，造成降低胰島素敏感性(Thrush et al., 2007)。

## **(二)補充混合共軛亞麻油酸對胰島素敏感性沒有影響**

學者 Smedman 與 Vessby (2001)對健康男性和女性補充混合 CLA (4.2 g/day)持續 12 週，結果補充前與補充後的空腹血糖和胰島素沒有改變，作者認為可能是受測者健康狀況所造成。另外，對過重受測者補充混合 CLA (6 g/day)持續 1 年，前 12 週進行流質食物進行減重，雖然胰島素沒有改變，但補充 2 週 CLA 後，血糖濃度明顯增加，但在之後的時間點血糖並沒有改變，此研究對象為 12 週節食減重後，體重和飲

食維持 1 年，推估結果可能是受到減重的影響 (Whigham, Watras, & Schoeller, 2007)。

Medina 等人(2000)對健康女性進行 30 天嚴格的飲食和生理活動管控，隨後補充混合 CLA (3 g/day)或相同劑量安慰劑(葵花油)持續 64 天，結果 CLA 組胰島素與血糖沒有明顯改變，作者認為可能由於受測者是健康組群，所以導致胰島素濃度沒有明顯差異。

### **(三)補充混合共軛亞麻油酸增加胰島素敏感性**

Eyjolfson 等人(2004)對年輕過重坐式生活的受測者，補充混合 CLA (3.9 g/day)持續 8 週，結果降低空腹胰島素，並改善胰島素敏感度指數 (insulin sensitivity index, ISI)，但是補充混合 CLA 後，10 位受測者僅有 6 位 ISI 值增加，作者認為可能是受測者間個體差異所造成。

接著 Lambert 等人(2007)以非肥胖、規律運動男性及女性為實驗對象，補充混合 CLA 或葵花油 (3.9 g/day)持續 12 週，兩組試驗從開始到補充第 12 週，血糖濃度在第 0、30、60、90、120 分鐘和血糖曲線下面積沒有改變，男性胰島素濃度在 0、30、120 分鐘沒有改變，女性胰島素在 0 和 30 分鐘沒有改變，隨後在 OGTT 測試發現女性受測者在 CLA 組第 120 分鐘胰島素濃度明顯減少，但安慰劑組並沒有顯著減少。綜上所述混合 CLA 對人體胰島素的相關研究如表 2-2。

表 2-2 補充混合共軛亞麻油酸對人體胰島素的相關研究

| 參考文獻                       | 受測者(N)                    | 劑量成分<br>(g/d)                    | 結果                               |
|----------------------------|---------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Lambert et al<br>(2007)    | N= 64<br>規律運動者            | 混合 CLA<br>3.9(g/d)<br>X 12 weeks | 女性 CLA 組第 120<br>分鐘胰島素濃度明<br>顯減少 |
| Eyjolfson et al<br>(2004)  | N=10<br>健康年輕人             | 混合 CLA<br>4(g/d)<br>x 8 weeks    | 胰島素敏感性指數<br>(ISI)降低。             |
| Raff et al.<br>(2008)      | N=38<br>健康年輕人             | 混合 CLA<br>5.5(g/d)<br>x 5 weeks  | 空腹血糖和胰島素<br>沒有改變                 |
| Syvvertsen et al<br>(2006) | N=118<br>健康過重或<br>肥胖女性和男性 | 混合 CLA 3.4(g/d)<br>x 6 months    | 空腹血糖、insulin<br>沒有改變。            |
| Thrush et al<br>(2007)     | N=9<br>過重非糖尿病患者           | 混合 CLA 4.0(g/d)<br>12weeks       | 血液神經醯胺含量<br>增加，降低胰島素<br>敏感性      |

目前對於混合 CLA 對人體胰島素敏感性影響的相關資料是有限的。總結來說，混合 CLA 對肥胖、腹部肥胖及第 II 型糖尿病患者胰島素敏感性是反效果的，但混合 CLA 對年輕、非肥胖及有規律運動者胰島素敏感卻有正面效果，因此需更進一步觀察補充混合 CLA 對運動後補充碳水化合物，恢復期間胰島素敏感性的影響。

## 第四節 共軛亞麻油酸對運動表現之影響

### 一、人體實驗

目前有關 CLA 對運動表現的文獻並不多，Pinkoski 等人(2006)將 76 名受試者，給予 6 週 CLA 與阻力訓練，每天補充 5 克 CLA 或安慰劑，並進行每週 3 天的阻力訓練，觀察阻力訓練期間補充 CLA 的功效，結果 CLA 試驗體脂肪明顯降低(-0.8 kg)與體脂肪率，但兩組試驗呼吸交換率、基礎代謝率以及阻力訓練運動表現並沒有影響。

另一項人體實驗，將 41 名女性受測者分成運動+CLA (n=12)、CLA (n=11)、運動(n=14)、控制組(n=7)共四組。運動試驗為每週進行 3 次，每次 30 分鐘衰竭運動，CLA 試驗給予混合 CLA (3.6 g/day)，以上四組試驗皆持續 6 週，觀察最大運動表現時間。結果運動+CLA 組以及運動組最大運動耗竭時間顯著增加，作者認為雖然先前文獻指出 CLA 可能增加 CPT1 活化和  $\beta$  氧化，因此增加脂肪酸利用率，可能防止肌肉肝醣消耗，但在這次研究顯示，CLA 組並沒有增加耐力運動表現，可能是補充期間運動訓練介入所造成(Colakoglu, Colakoglu, Taneli, Cetinoz, & Turkmen, 2006)。

### 二、動物實驗

先前文獻研究探討給予 CLA 飲食對運動表現與能量代謝的影響，對雄性 BALB/c 老鼠給予含有 0.5 % CLA 飲食持續 1 週，隨後進行游泳與跑步運動，觀察最大運動持續時間與呼吸交換率。實驗結果明顯增加最大游泳耗竭時間，降低跑步期間呼吸交換率、碳水化合物氧化速率以及增加肌肉內



脂蛋白脂解酶(lipoprotein lipase, LPL)的活性，作者認為可能是 CLA 抑制脂肪組織內脂肪合成，增加肌肉內脂蛋白脂解酶，促進運動期間骨骼肌脂肪氧化，提供運動時所需的能量來源，增加最大游泳耗竭時間(Mizunoya, Haramizu, Shibakusa, Okabe, & Fushiki, 2005)。綜上所述混合 CLA 對運動表現的相關研究如表 2-3。

表 2-3 補充混合共軛亞麻油酸對運動表現的相關研究

| 參考文獻                      | 實驗對象                  | 劑量成分<br>(g/d)                   | 結果                                      |
|---------------------------|-----------------------|---------------------------------|-----------------------------------------|
| Pinkoski et al<br>(2006)  | N=76<br>健康男性<br>女性年輕人 | 混合 CLA<br>5(g/d)<br>x 7 weeks   | 1. 體脂肪減少 0.8kg。<br>2. 阻力運動表現沒有影響。       |
| Colakoglu et al<br>(2006) | N=41<br>健康女性          | 混合 CLA<br>3.6(g/d)<br>x 6 weeks | 1. 有運動介入組別均提升耐力運動表現。<br>2. 補充 CLA 降低血糖。 |
| Mizunoya et al<br>(2005)  | 動物實驗<br>BALB/c 老鼠     | 飲食中含<br>0.5%混合<br>CLA           | 1. 增加最大游泳耗竭時間。<br>2. 降低跑步期間呼吸交換率。       |

綜上所述，發現人體實驗補充混合 CLA 期間，運動訓練介入對提升運動表現有明顯效果，可能是運動所帶來的效果高於補充劑本身。在動物實驗沒有運動介入情況下，發現具有降低呼吸交換率，提升最大運動耗竭時間。故需進一步觀察補充混合 CLA 後對人體運動恢復期肌肉肝醣回補速率的影響。

## 第五節 運動與肌肉肝醣合成之關係

醣類與脂肪為運動時主要能量來源，低強度運動時，主要提供運動所需的能量源自於脂肪；中、高強度運動主要提供運動所需的能量源自於碳水化合物。故運動強度的高低與運動時間的長短將決定運動時其主要能量來源之供給處為何(Coyle, 1995)。

激烈運動後首要考量恢復期肌肉肝醣回補至正常含量，而影響肌肉中葡萄糖運輸的主要因素為運動時骨骼肌收縮及胰島素的刺激(Goodyear, Hirshman, Smith, & Horton, 1991)。激烈運動後肝醣合成分為 2 個階段，一是快速合成期，另一是慢速合成期。第一階段為肝醣快速合成期，不需依賴胰島素，因運動引起葡萄糖轉運蛋白(glucose transporter, GLUT4)轉位至細胞膜上，增加肌細胞對葡萄糖的通透性，造成細胞內的葡萄糖-6-磷酸(glucose-6-phosphate, G-6-P)濃度提升以及肌肉細胞對胰島素敏感性增加(Ivy, 1998)，因此也稱非胰島素依賴期(insulin-independent phase)，在運動後約可持續 30-60 分鐘。第二階段為肝醣慢速合成期，激烈運動後肌肉收縮刺激胰島素敏感性，促進葡萄糖運送至細胞內，提升肝醣合成的活性，達到肝醣合成作用(Wojtaszewski et al., 2000)，此作用可持續 24 小時或至肌肉肝醣完全回補。

在肌肉肝醣合成期，慢速合成期的肝醣合成速率只有快速期的 10-30 % (Price et al., 1994)，但若在運動後立即補充碳水化合物，則高出慢速期的肝醣合成速率數倍，隨後持續補充碳水化合物，肝醣回補甚至會高於正常含量(Ivy, 1991)。由此可知，肌肉肝醣濃度和葡萄糖運輸速率以及葡萄

糖轉換成肝醣的能力有極大相關性，而碳水化合物則扮演著人體肌肉肝醣回補的重要角色。

## 第六節 碳水化合物攝取時間對肝醣合成之關係

碳水化合物作為能量供給有三種管道，為血糖、肝臟肝醣以及肌肉肝醣。在中、高強度運動，肌肉使用游離脂肪酸、葡萄糖、肌肉內三酸甘油脂以及肌肉肝醣做為能量來源，而肌肉肝醣直接供應該肌肉使用，故肌肉肝醣儲量的多寡，對耐力運動表現極為重要(Hermansen et al., 1967)。

碳水化合物是人體骨骼肌中能量儲存的重要來源，被認為是提高運動後恢復期的重要因素，其主要目的為幫助肝臟肝醣與肌肉肝醣回補。文獻指出運動後立即補充 1.5 g CHO/kg 比運動後延遲兩小時補充碳水化合物有更好的肌肉肝醣再合成效果，因肌肉細胞對胰島素敏感性增加(Ivy, 1998)。除此之外，無論是液體或固體的碳水化合物對肌肉肝醣再合成的效果是一樣的(Tarnopolsky, Gibala, Jeukendrup, & Phillips, 2005)。

運動後延遲兩小時補充碳水化合物會減少 50 % 肝醣再合成率(Ivy, 1998)，對肌肉肝醣耗盡的運動員而言，運動後 30 分鐘內以及隨後的 4-6 小時，每 2 小時以 0.6-1.0 g CHO/kg/h 進行補充，可充分使肝醣再合成，另外肌肉肝醣再合成對外源性碳水化合物的氧化速率為 1.2 g CHO/kg/h (Jentjens & Jeukendrup, 2003)，因此建議運動後立即補充碳水化合物，並在接下來的 4-6 小時內，持續補充碳水化合物，確保肌肉肝醣和肝臟肝醣恢復(Tarnopolsky et al., 2005)。總

言之，運動後肝醣合成酶的活性上升(Wojtaszewski et al., 2000)，以及胰島素敏感性的提升(Holloszy, 2005)，立即攝取碳水化合物是提高肌肉肝醣回補的最佳時機。

## 第七節 總 結

碳水化合物是人體肌肉肝醣儲存的重要來源。因此劇烈運動後配合碳水化合物補充，對於肌肉肝醣合成的效率有很大的助益。經由文獻整理，CLA 具有抑制脂蛋白脂解酶活性，減少脂肪酸進入脂肪細胞，有助於降低體脂肪合成。然而，目前 CLA 對運動表現的影響，動物實驗指出，補充 CLA 可提升耐力運動表現，故本研究擬探討補充八週 CLA，於單次運動挑戰後給予碳水化合物補充，身體脂肪酸濃度與氧化程度是否能提升，降低葡萄糖利用與氧化程度，使能量偏向脂肪利用，並降低碳水化合物利用，達到較多肌肉肝醣合成效果。

## 第叁章 研究方法與步驟

### 第一節 研究對象

受試對象為十二名有規律性運動的健康男性，自願參加本試驗，並且告知實驗相關步驟及注意事項。

### 第二節 實驗設計與流程

本研究實驗流程經國立臺灣體育運動大學人體試驗委員會審查同意(人委會同意書見附錄一)，每位受測者在參與實驗前，需經告知實驗目的與內容取得受測者同意後簽署參與研究同意書(同意書見附錄二)。正式實驗前先進行前置試驗，測得每位受測者最大攝氧量(maximum oxygen consumption,  $\dot{V}O_{2\max}$ )，做為受測者實驗之運動強度。此研究設計以相依樣本實驗設計，第一次試驗為補充八週混合 CLA 前，第二次試驗為補充八週混合 CLA 後(4 g/d)，兩次試驗間隔二個月。實驗前一晚禁食 10 小時，實驗當天早上八點至實驗室接受採血，在熱身 5 分鐘後進行 75 %  $\dot{V}O_{2\max}$  腳踏車運動 60 分鐘，運動期間允許自由喝水。在兩次試驗中，受試者完成運動後(0h)立即進行採血及肌肉穿刺採取肌肉樣本，並給予碳水化合物飲食，運動後第 3 小時進行第 2 次肌肉穿刺，並且在恢復期 3 小時內每 1 小時採集 10 分鐘氣體，每 30 分鐘採取血液樣本。實驗過程中所採集之肌肉、血液和氣體依不同時間點分別進行樣本分析。

## 一、實驗設計

(一)實驗處理：12名受測者分別各參與兩項試驗，每次試驗至少間隔二個月。

1. 實驗一(補充八週混合 CLA 前 + 碳水化合物)：補充八週混合 CLA 前，進行單次 75 %  $\dot{V}O_{2\text{ max}}$  腳踏車運動 60 分鐘後，進行採集血液與肌肉穿刺，隨後立即補充碳水化合物。
2. 實驗二(補充八週混合 CLA 後+碳水化合物)：補充八週混合共軛亞麻油酸後(成分為 c9,t10-CLA，t10,c12-CLA 比例為 1:1)，進行單次 75 %  $\dot{V}O_{2\text{ max}}$  腳踏車運動 60 分鐘後，進行採集血液與肌肉穿刺，隨後立即補充碳水化合物。

## 二、最大攝氧量( $\dot{V}O_{2\text{ max}}$ )測量與運動強度設定

受試者執行腳踏車運動(Monark 834E, Vansbro, Sweden)，並戴上集氧式面罩與可攜式氣體分析儀(MetaMax3B Cortex Biophysik, Nonnenstrasse, Leipzig, Germany)。運動開始 0~4 分鐘，受試者維持每分鐘 60 轉速(revolutions per minute, RPM)、阻力功率為 0.5 kg 的運動，之後每 2 分鐘腳踏車功率增加 0.5 kg (表 3-1)，直到受試者攝氧量達穩定。

受試者在阻力功率增加的強況下，攝氧量不再隨著增加或增加的值小於 2 ml/kg/min；且時呼吸交換率(respiratory exchange ratio, RER)大於 1.15 (Williams, Powers, & Stuart,

1986)，此時為受試者最大攝氧量，單位 ml/kg/min。接著利用氣體分析儀分析  $\dot{V}O_2$ ，計算出線性迴歸公式  $y = ax + b$  ( $y =$  公斤、 $x = \dot{V}O_2$ )，求得  $a$  (斜率)和  $b$  (截距)，並藉由上述公式求得每位受試者在最大攝氧量 75 %  $\dot{V}O_{2\max}$  的公斤數，即為受試者在正式實驗中進行 60 分鐘的運動強度。

表 3- 1 測量受試者個別攝氧峰值之運動設計

| 階段 | 持續時間<br>(min) | 負 荷<br>(kp) | 轉 速<br>(rpm) | 阻 力<br>(watt) | (kg) |
|----|---------------|-------------|--------------|---------------|------|
| 1  | 0~4           | 0.5         | 60           | 30            | 0.5  |
| 2  | 4~6           | 1.0         | 60           | 60            | 1.0  |
| 3  | 6~8           | 1.5         | 60           | 90            | 1.5  |
| 4  | 8~10          | 2.0         | 60           | 120           | 2.0  |
| 5  | 10~12         | 2.5         | 60           | 150           | 2.5  |
| 6  | 12~14         | 3.0         | 60           | 180           | 3.0  |
| 7  | 14~16         | 3.5         | 60           | 210           | 3.5  |
| 8  | 16~18         | 4.0         | 60           | 240           | 4.0  |
| 9  | 18~20         | 5.0         | 60           | 300           | 5.0  |

### 三、葡萄糖與胰島素曲線下面積計算方法

以運動後血液葡萄糖與胰島素數值為基準線，分別計算兩試驗於基準線以上之面積，低於基準線則不列入計算，所得數據為葡萄糖與胰島素曲線下面積 (Wolever, 2004)。

### 三、碳水化合物飲食內容

每位實驗參與者給予每公斤體重 2 克碳水化合物飲食，內容物包括有玉米片 (0.86 g/kg)、低脂鮮奶 (3.50 g/kg)、白土司 (1.15 g/kg)、草莓果醬 (0.29 g/kg)、葡萄糖粉 (1.80 g/kg)、水 (8 g/kg) (Kallen & Lazar, 1996; Wu, Nicholas, Williams, Took, & Hardy, 2003)。混合餐點營養成分表見附錄三。

### 四、CLA 來源與劑量

本研究使用補充劑為混合 CLA，內含 95 % CLA 成份，比例為 1：1 (*cis*-9, *trans*-11 和 *trans*-10, *cis*-12)，為膠囊型式 (Stepan lipid nutrition Manufacturing, Maywood, New Jersey, USA)。根據本研究文獻整理，補充劑量 4 g 供本次實驗受試者服用 (Eyjolfson et al., 2004)。



## 五、實驗流程圖

Control trail 或 CLA trail

A Carbohydrate meal

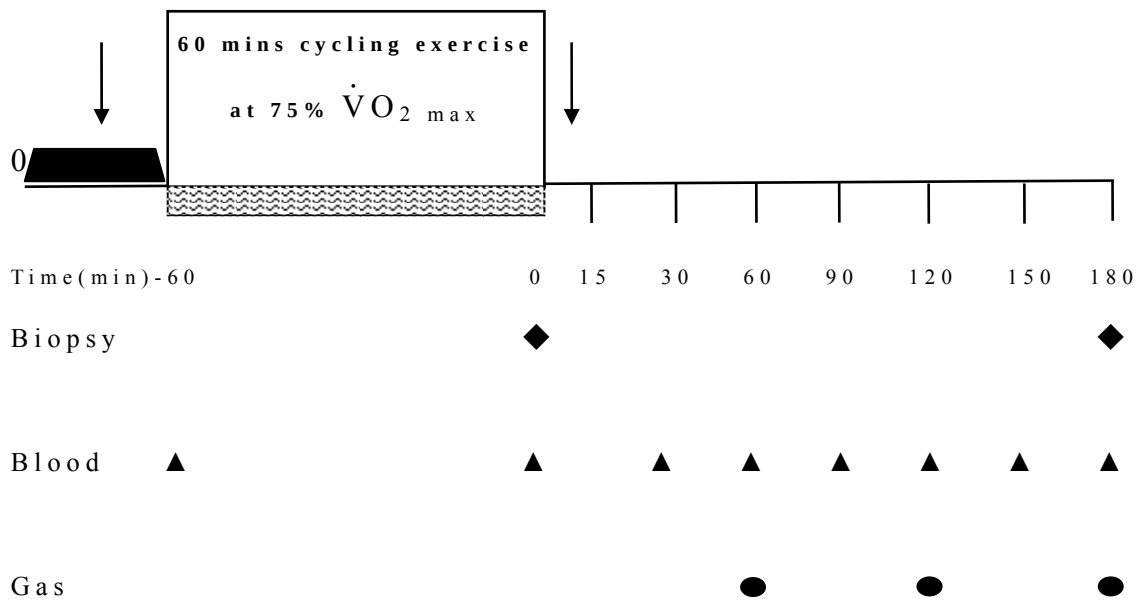


圖 3-1 實驗流程圖

- ◆ 運動後與運動恢復期補充碳水化合物後第 3 小時進行肌肉穿刺採樣。
- ▲ 空腹、運動後與運動恢復期補充碳水化合物後，3 小時內每 30 分鐘進行血液採樣。
- 運動恢復期補充碳水化合物後，3 小時內每 60 分鐘進行 10 分鐘的氣體採樣。

### 第三節 實驗收集與分析方法

#### 一、氣體樣本收集與分析

受試者運動後恢復期間飲食補充後三小時內，每 60 分鐘分別透過氣體分析儀 (Vmax Series 29C, Sensor Medics, California, USA) 收集 10 分鐘氣體，並分析氧氣以及二氧化碳濃度，利用化學計量公式計算碳水化合物與脂肪氧化速率 (Frayn, 1983)，公式如下：

1. 碳水化合物氧化速率 (克/分鐘)

$$= 4.585 \times \dot{V}CO_2 - 3.226 \times \dot{V}O_2 \text{ (l/min)}$$

2. 脂肪氧化速率 (克/分鐘)

$$= 1.695 \times \dot{V}O_2 - 1.701 \times \dot{V}CO_2 \text{ (l/min)}$$

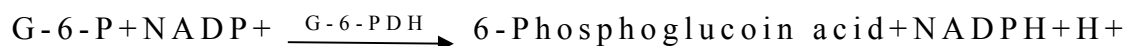
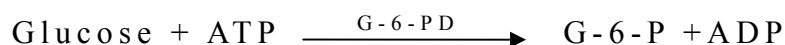
#### 二、血液樣本採集與分析

將收集之血液樣本放至含有抗凝血劑 (EDTA) 採血管內，隨後進行離心 (3000rpm/10 min)，取血液樣本上清液部分，置入 -20°C 冰箱。血液檢測項目包括血糖、胰島素、游離脂肪酸以及甘油，分析方法如下所述：

##### (一) 血糖分析方法

執行葡萄糖氧化酶方法，使用 RANDOX 試劑 (Laboratories Ltd., Ardmere, United Kingdom)，置入 SmartSpec Plus spectrophotometer (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) 進行濃度測量。以自動生化分析儀 (Hitachi 7020, Ibaraki, Japan) 分析，吸光值波長 340 nm，副波長 450

nm，化學反應原理如下：



## (二)胰島素分析方法

血漿中胰島素的濃度採用商業試劑組 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)，使用 Streptavidin 的微粒子與 Anti-insulin AB-biotin、Anti-insulin AB-Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>，產生化學冷光，使用電子化學發光免疫分析儀 (Roche Elecsys 1010/2010, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany；MODULAR ANALYTICS E170, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) 分析。

## (三)游離脂肪酸分析方法

血漿中游離脂肪酸的濃度以商業試劑 (WAKO NEFA, Germany) 進行操作與反應，並以全自動分析儀 (Hitachi 7020, Hitachi Science systems, Ltd, Lbaranki, Japan) 檢測。

## (四)甘油分析方法

血漿中甘油的濃度，以商業試劑 (Randox, Co. Antrim, United Kingdom) 進行操作與反應，並以全自動生化分析儀 (Hitachi 7020, Hitachi Science systems, Ltd, Lbaranki, Japan) 檢測。

### 三、肌肉樣本採集、肝醣濃度與西方點墨法分析

#### (一)肌肉穿刺及處理

由具備醫師執照之合格醫生執行肌肉穿刺樣本取樣，受試者運動後坐在長椅上，先在大腿股外側肌(vastus lateralis)做上一個記號，以優碘與酒精進行消毒，鋪蓋無菌之洞巾，隨後注入 1-2ml 麻醉劑(2% Lignocaine)進行局部麻醉。接著以 14 號肌肉穿刺針(Temno, McGaw Park, IL, USA)於股外側肌進行穿刺，取得肌肉樣本。樣本採集後立即進行去血動作，隨後置入液態氮中。肌肉穿刺步驟見附錄四。

#### (二)肌肉肝醣濃度分析

使用酵素分解法(Passonneau & Lauderdale, 1974)，首先使用 1 N 之氫氧化鉀(KOH)溶解肌肉樣本，再加入 0.3M 醋酸鈉(sodium acetate)調節酸鹼值後，再利用澱粉糖基酶(amyloglucosidase, boehringer Mannheim)將肝醣分解成葡萄糖，接著使用過氧化呈色組合方式(Trider Glucose Kit, Sigma)，在分光光譜儀(Beckman DU-600)OD505 nm 測得葡萄糖濃度(glucosyl unit)後，將所得數據畫出標準曲線，計算回歸公式，最後換算出樣本之肌肉肝醣濃度。肌肉肝醣濃度分析步驟見附錄五。

#### (三)西方點墨法分析(Western Blotting Analysis)

取約 20 mg 的肌肉，以 1:20 的比例，加入含有 1% phosphatase inhibitor cocktail (Sigma, P2850) 的 HES buffer，而後用高速勻漿機將其勻漿。隨後將勻漿液以 100 x g 離心 15 分鐘後取上清液做為蛋白質樣本。將蛋白質樣本與

2X Laemni 緩衝液混和後，取 20 $\mu$ l 之樣本，經由 SDS-PAGE 分離蛋白質，之後轉漬至 PVDF 膜(PALL Life Science, Ann Arbor, MI, USA)。經過 1 小時 blocking 後，分別將一級與二級抗體與目標蛋白結合，本研究使用抗體資訊如下表。並加入 Enhanced chemiluminescence (PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Shelton, CT, USA)溶液進行冷光顏色。

表 3- 2 抗體資料

| 抗體名稱            | Cat. NO. | 公司             | 使用濃度   |
|-----------------|----------|----------------|--------|
| Phospho-AKT     | #4058    | Cell signaling | 1:1000 |
| Anti-GS         | #3893    | Cell signaling | 1:1000 |
| Anti-GLUT4      |          | NIH            | 1:5000 |
| Anti-GAPDH      | A9718    | Sigma          | 1:500  |
| Anti-mouse IgG  | A9917    | Sigma          | 1:2000 |
| Anti-Rabbit IgG | #4685    | Cell signaling | 1:2000 |

#### 第四節 資料處理與統計分析

實驗所得資料以 SPSS for WINDOWS 12.0 版統計套裝軟體進行分析：

- 一、以相依樣本 t 檢定，比較 2 個試驗受試者運動後第 0、3 小時肌肉樣本肌肉肝醣濃度、增加量及回補率之差異。
- 二、以相依樣本 t 檢定，比較 2 個試驗受測者運動後 0 至 3 小時內，呼吸交換率、碳水化合物速率與脂肪氧化速率之差異。
- 三、以相依樣本二因子變異數分析(two-way ANOVA)，比較 2 個試驗受測者運動前及運動後 0 至 3 小時內，每 30 分鐘血液生化值(血糖、胰島素、游離脂肪酸、甘油)之差異。結果如達顯著，進行單純主要效果之檢驗。
- 四、所有數據以平均值  $\pm$  標準誤(mean  $\pm$  SE)表示， $P < .05$  達顯著水準。

## 第肆章 結果

### 第一節 實驗參與者基本資料

十二名受試者平均年齡為  $22.24 \pm 0.63$  歲、身高為  $175.23 \pm 1.83$  公分、身體質量指數為  $23.35 \pm 0.79 \text{ kg/m}^2$ 、最大攝氧量為  $49.3 \pm 2.38 \text{ ml/kg/min}$ 。

## 第二節 身體組成指標

觀察八週共軛亞麻油補充後對身體組成指標與基礎代謝率之差異。結果如表 4-1 所示，兩試驗在脂肪重(%)、淨體重(%)、脂肪重(kg)、淨體重(kg)與基礎代謝率(kcal/day)皆達顯著差異( $P < .05$ )。

表 4-1 受試者身體組成與能量消耗一覽表

| 項目              | Control trial   | CLA trial       | <i>P</i> |
|-----------------|-----------------|-----------------|----------|
| 脂肪重(%)          | 17.26 ± 1.32    | 13.67 ± 1.67    | 0.0001 * |
| 淨體重(%)          | 82.74 ± 1.32    | 86.33 ± 1.67    | 0.0001 * |
| 脂肪重(kg)         | 12.98 ± 1.33    | 10.40 ± 1.47    | 0.0004 * |
| 淨體重(kg)         | 60.58 ± 1.58    | 63.26 ± 1.64    | 0.0002 * |
| 體重(kg)          | 73.56 ± 2.67    | 73.65 ± 2.64    | 0.869    |
| 基礎代謝率(kcal/day) | 1615.25 ± 44.59 | 1673.92 ± 45.24 | 0.0004 * |

所有數據以 mean ± SE表示，(N=12) ”\*”表示與 Control trial 比較有顯著差異( $P < .05$ )



### 第三節 血液反應

#### 一、血糖反應

以相依樣本二因子變異數分析，比較八週共軛亞麻油補充前與補充後，分別經單一次75%  $\dot{V}O_{2\max}$  運動挑戰後補充碳水化合物，觀察兩項試驗血糖指標在各時間點差異。結果發現於兩組試驗空腹、運動後與運動恢復期30分鐘，葡萄糖濃度達顯著差異 ( $P < .05$ ) (請參閱圖4-1)。

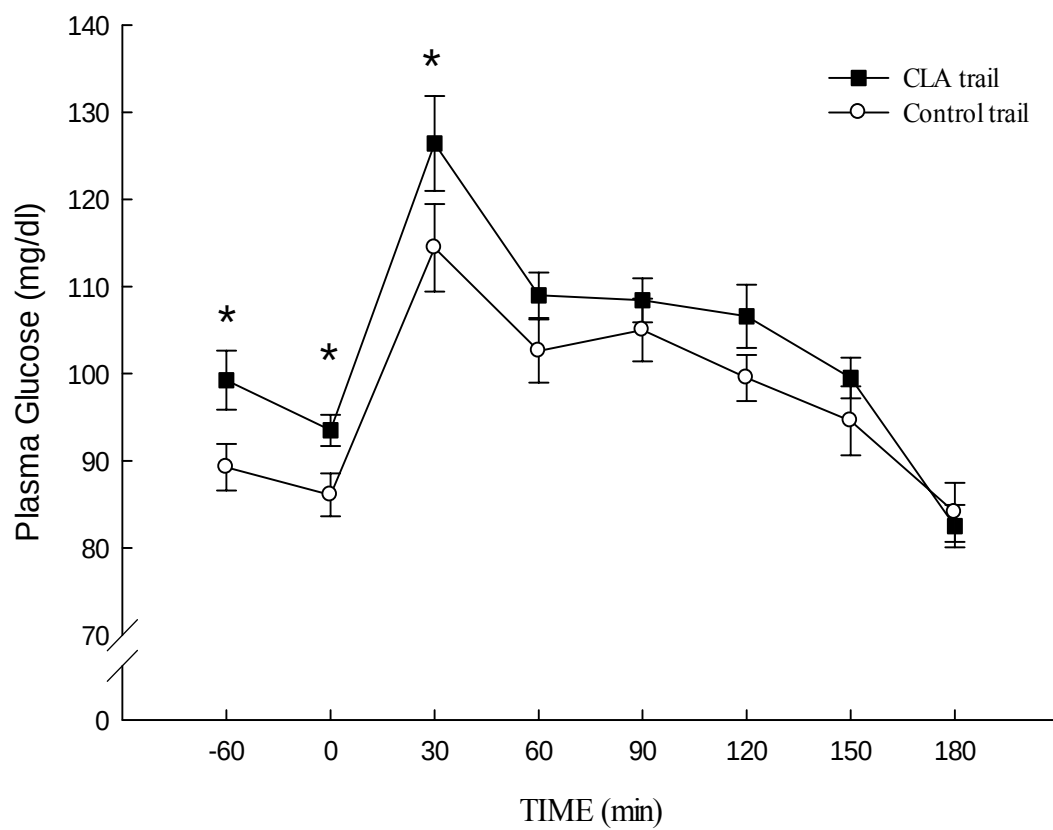


圖 4-1 血液葡萄糖濃度

※ 二項試驗處理後之血液葡萄糖濃度。Control trial 為補充八週共軛亞麻油酸前；CLA trial 為補充八週共軛亞麻油酸後。“\*”表示與 Control trial 比較有顯著差異 ( $P < .05$ )。數值以 mean  $\pm$  SE 呈現 (n=12)。

## 二、血糖反應曲線下面積 (glucose area under the curve, GAUC)

以葡萄糖反應曲線下面積來代表葡萄糖吸收能力，採用運動後血糖值為基準線，分別計算 Control trial 與 CLA trial 於基準線以上之面積，低於基準線之面積不列入計算，所得血糖數值與時間以梯形法計算方式計算總和而得，最後所得結果為 GAUC (Wolever, 2004)。CLA trial GAUC ( $5921.25 \pm 862.86$  mg/dl x min) 顯著高於 Control trial GAUC ( $3861.28 \pm 581.10$  mg/dl x min)。(  $P < .05$  ) (請參閱圖 4-2)。

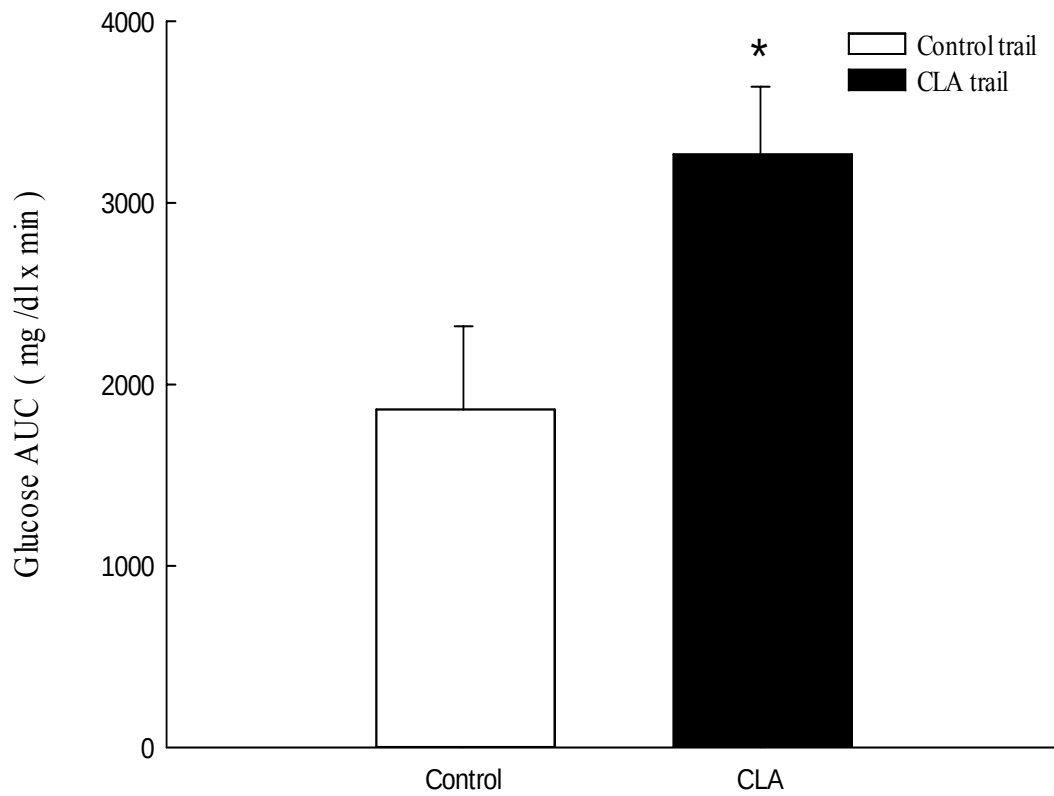


圖 4-2 葡萄糖反應曲線下面積

※二項試驗處理後之葡萄糖反應曲線下面積 Control trial 為補充八週共軛亞麻油酸前；CLA trial 為補充八週共軛亞麻油酸後。”\*”表示與Control trial 比較達顯著差異 ( $P < .05$ )。數值以  $\text{mean} \pm \text{SE}$  呈現 ( $n=12$ )。

### 三、胰島素反應

以相依樣本二因子變異數分析，比較補充八週共軛亞麻油前與補充後，分別經單一次75%  $\dot{V}O_{2\max}$  運動挑戰後補充碳水化合物，觀察兩項試驗胰島素指標在各時間點差異。結果發現於兩組試驗於運動恢復期30與90分鐘，胰島素濃度達顯著差異 ( $P < .05$ ) (請參閱圖4-3)。

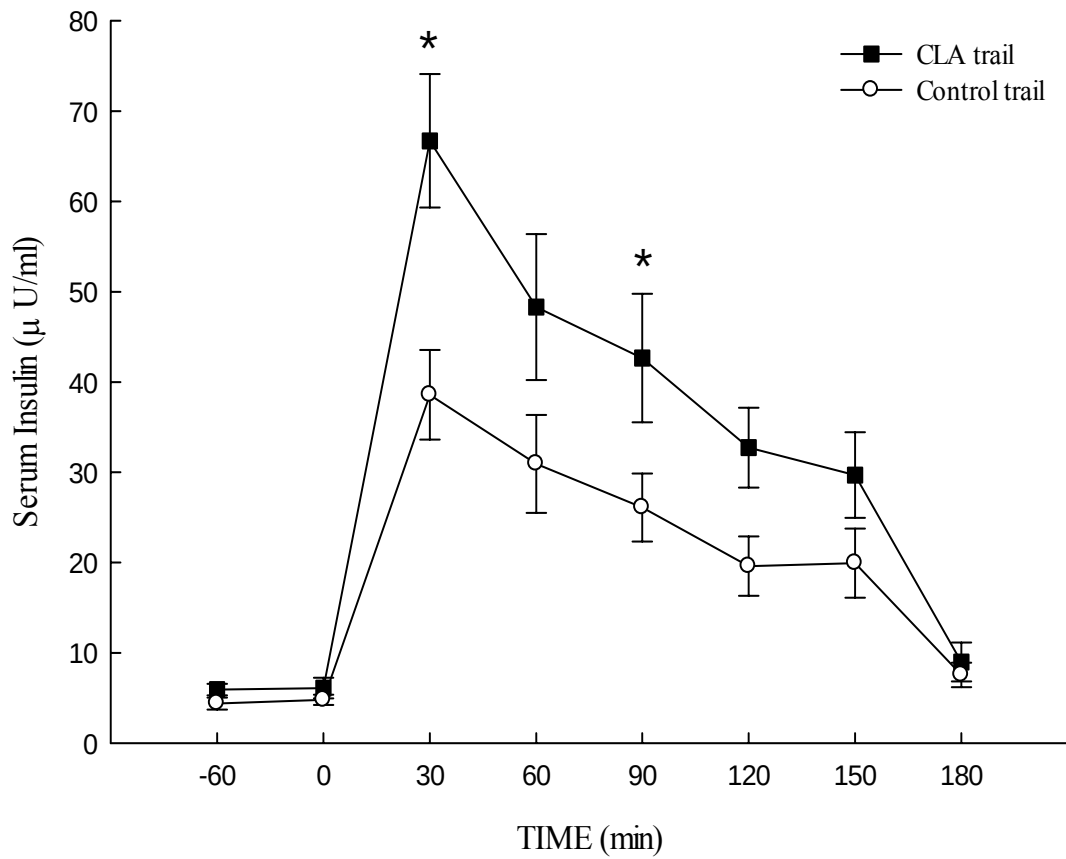


圖 4-3 血液胰島素濃度

※ 二項試驗處理後之血液胰島素濃度。Control trial 為補充八週共軛亞麻油酸前；CLA trial 為補充八週共軛亞麻油酸後。“\*”表示與 Control trial 比較達顯著差異 ( $P < .05$ )。數值以  $\text{mean} \pm \text{SE}$  呈現 ( $n=12$ )。

#### 四、胰島素反應曲線下面積 (Insulin area under the curve, IAUC)

以胰島素反應曲線下面積來代表胰島素敏感度，採用運動後胰島素值為基準線，分別計算 Control trial 與 CLA trial 於基準線以上之面積，低於基準線之面積不列入計算內，所得胰島素數值與時間以梯形法計算方式計算總和而得，最後所得結果為 GIUC (Wolever, 2004)。CLA trial IAUC ( $3405 \pm 415.06 \mu\text{U/ml} \times \text{min}$ ) 顯著高於 Control trial IAUC ( $1908.33 \pm 506.57 \mu\text{U/ml} \times \text{min}$ )。( $P < .05$ )(請參閱圖 4-4)。

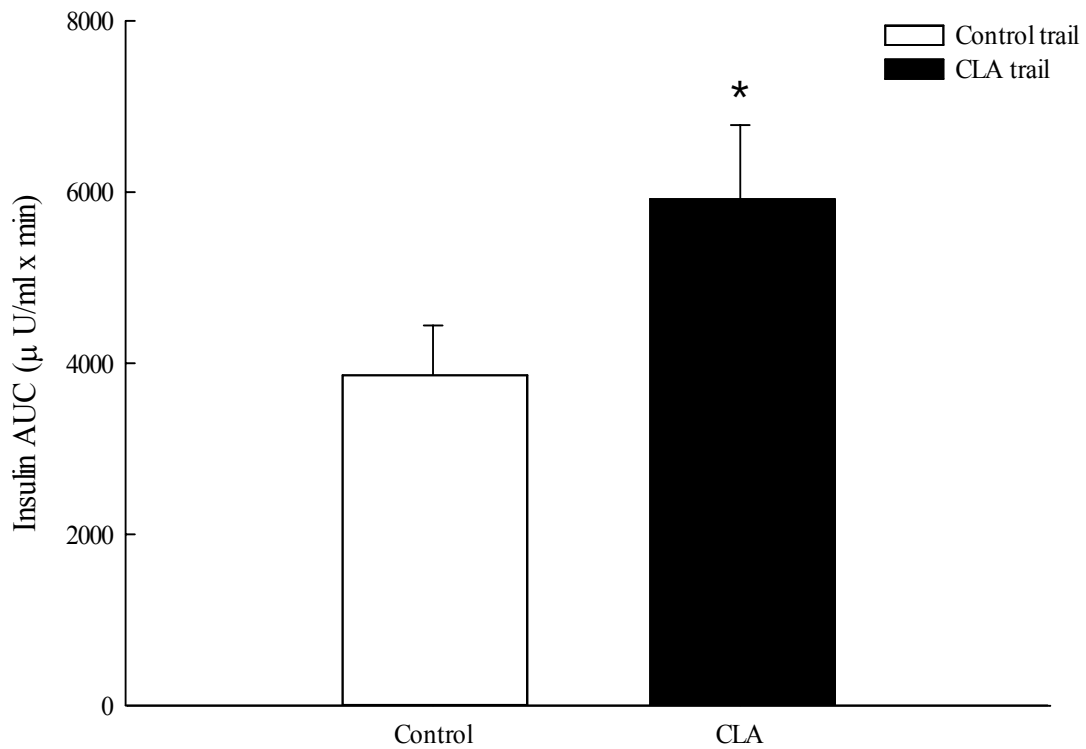


圖 4-4 血液胰島素反應曲線下面積

※二項試驗處理後之胰島素反應曲線下面積。Control trial 為補充八週共軛亞麻油酸前；CLA trial 為補充八週共軛亞麻油酸後。“\*”表示與 Control trial 比較達顯著差異( $P < .05$ )。數值以  $\text{mean} \pm \text{SE}$  呈現 ( $n=12$ )。



## 五、游離脂肪酸濃度反應

以相依樣本二因子變異數分析，比較八週共軛亞麻油補充前與補充後，分別經單一次75%  $\dot{V}O_{2\max}$  運動挑戰後補充碳水化合物，觀察兩項試驗游離脂肪酸濃度在之各時間點差異。結果發現於兩組試驗於空腹、運動恢復期30與180分鐘，游離脂肪酸濃度達顯著差異 ( $P < .05$ ) (請參閱圖4-5)。

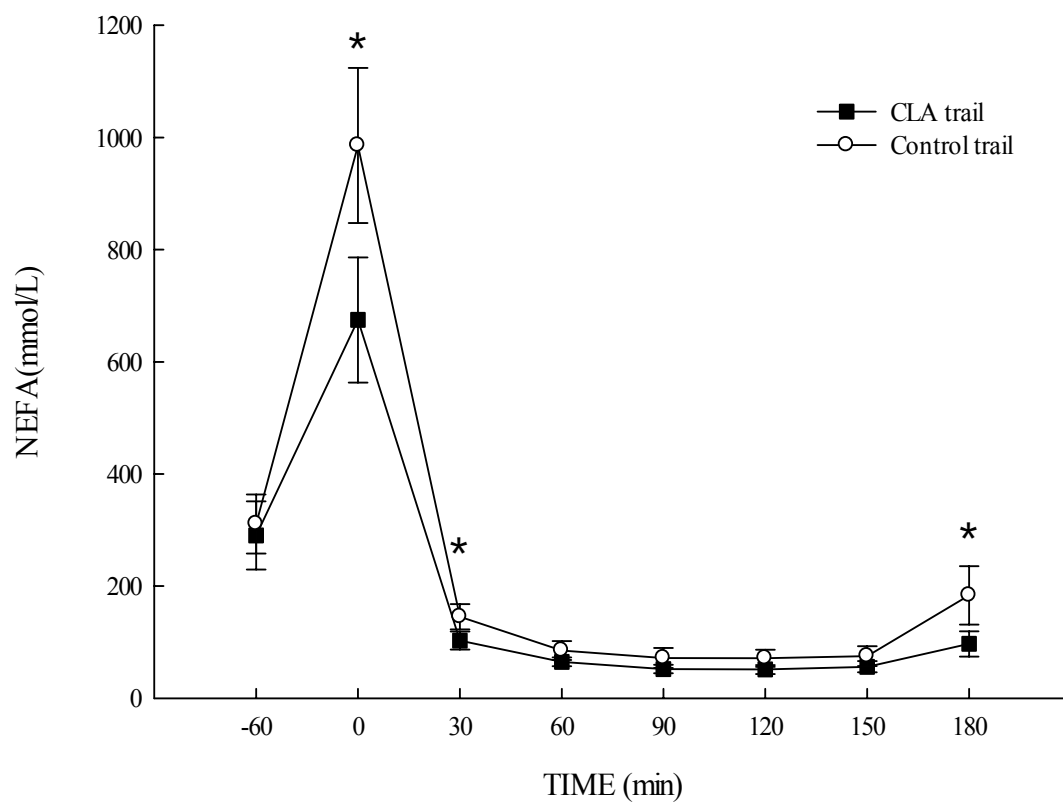


圖 4-5 游離脂肪酸濃度

※二項試驗處理後之游離脂肪酸濃度。Control trial 為補充八週共軛亞麻油酸前；CLA trial 為補充八週共軛亞麻油酸後。 ”\*”表示與 Control trial 比較達顯著差異 ( $P < .05$ )。數值以  $\text{mean} \pm \text{SE}$  呈現 ( $n=12$ )。

## 六、甘油 (glycerol) 濃度反應

以相依樣本二因子變異數分析，比較八週共軛亞麻油補充前與補充後，分別經單一次 75%  $\dot{V}O_{2\text{ max}}$  運動挑戰後補充碳水化合物，觀察兩項試驗甘油濃度在之各時間點差異。結果發現於兩組試驗於運動後、運動恢復期 30、60 與 180 分鐘，甘油濃度達顯著差異 ( $P < .05$ ) (請參閱圖 4-6)。

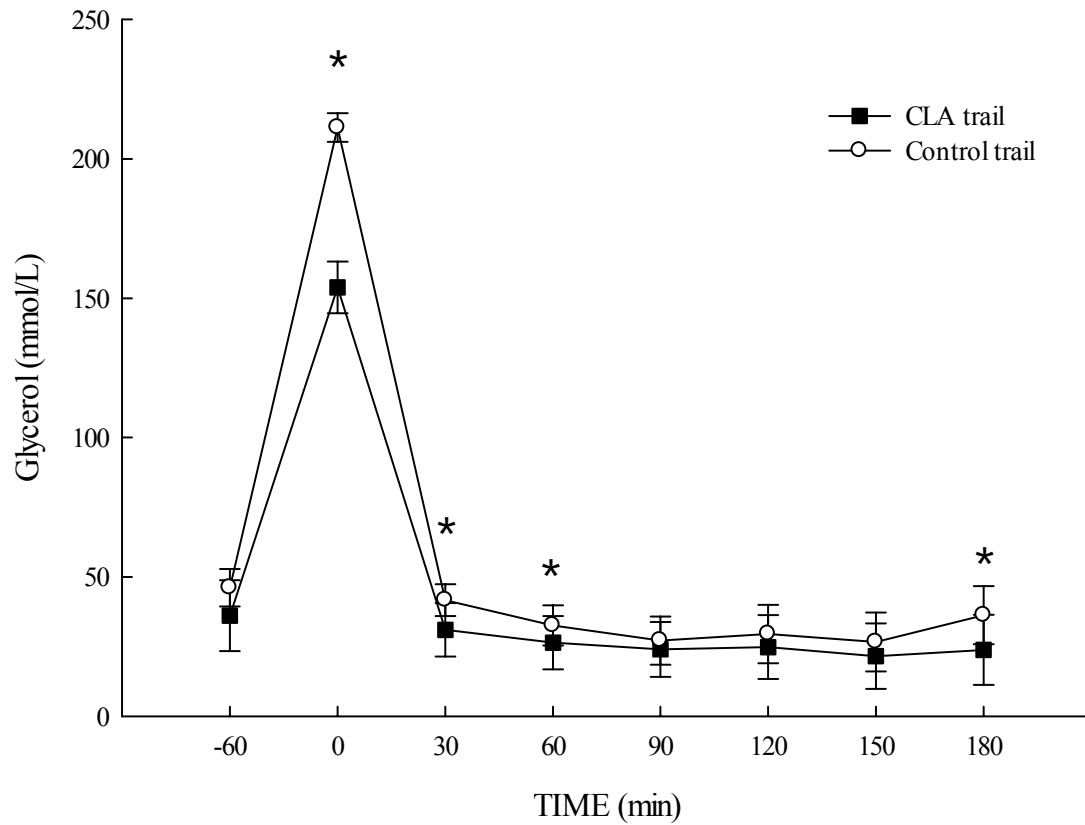


圖 4-6 二項試驗處理後之甘油濃度

※二項試驗處理後之甘油濃度。Control trial 為補充八週共軛亞麻油酸前；CLA trial 為補充八週共軛亞麻油酸後。  
 ”\*”表示與Control trial 比較達顯著差異 ( $P < .05$ )。數值以  $\text{mean} \pm \text{SE}$  呈現 ( $n=12$ )。

## 第四節 呼吸生理反應

### 一、呼吸交換率(respiratory exchange ratio, RER)

Control trial 與 CLA trial 分別於運動恢復期每 60 分鐘收集 10 分鐘氣體樣本，比較兩試驗於運動恢復期 3 小時內每 60 分鐘呼吸交換率之差異，如圖 4-7 所示。結果顯示兩試驗間沒有顯著差異 ( $P < .05$ )。

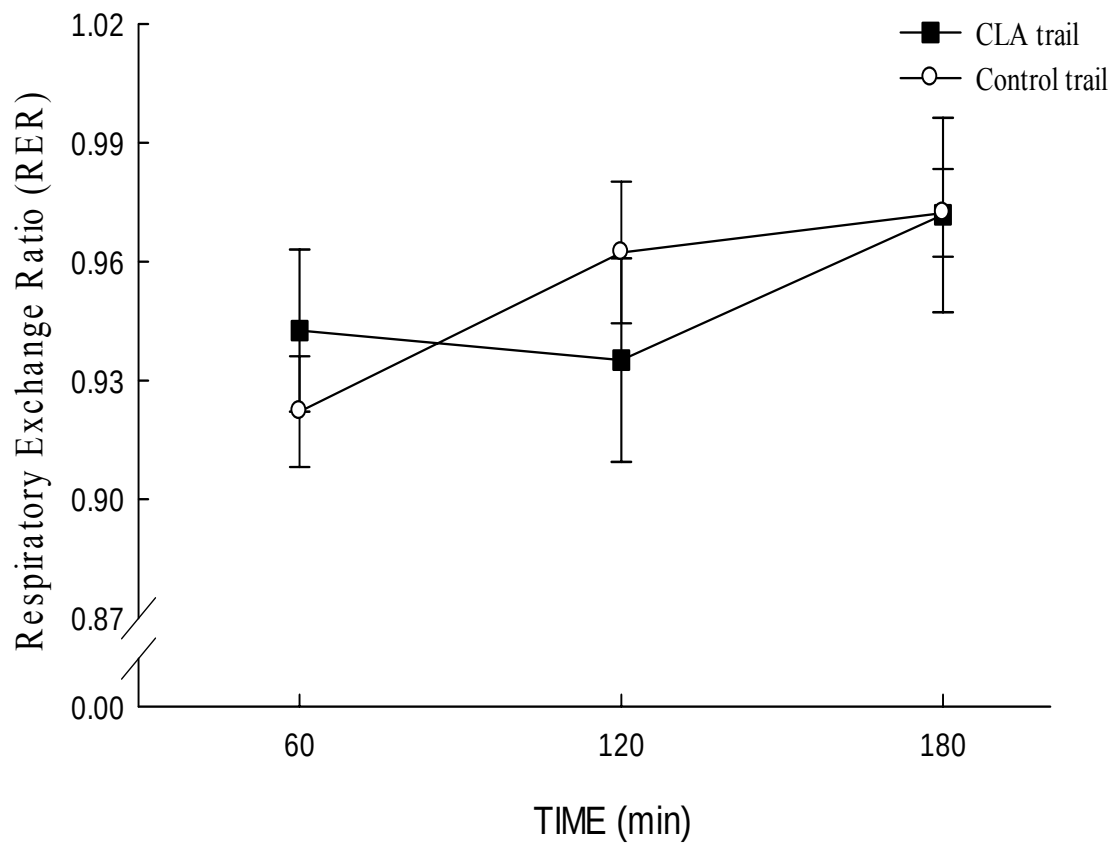


圖 4-7 兩項試驗之呼吸交換率反應

※二項試驗處理後之呼吸交換率。Control trial 為補充八週共軛亞麻油酸前；CLA trial 為補充八週共軛亞麻油酸後。”  
 \* ”表示與 Control trial 比較達顯著差異 ( $P < .05$ )。數值以  $\text{mean} \pm \text{SE}$  呈現 ( $n=6$ )。

## 二、脂肪氧化速率(fat oxidation rate)

Control trial 與 CLA trial 分別於運動恢復期每 60 分鐘收集 10 分鐘氣體樣本，比較兩試驗於運動恢復期 3 小時內每 60 分鐘脂肪氧化速率之差異，如圖 4-8 所示。結果顯示兩試驗間沒有顯著差異 ( $P < .05$ )。

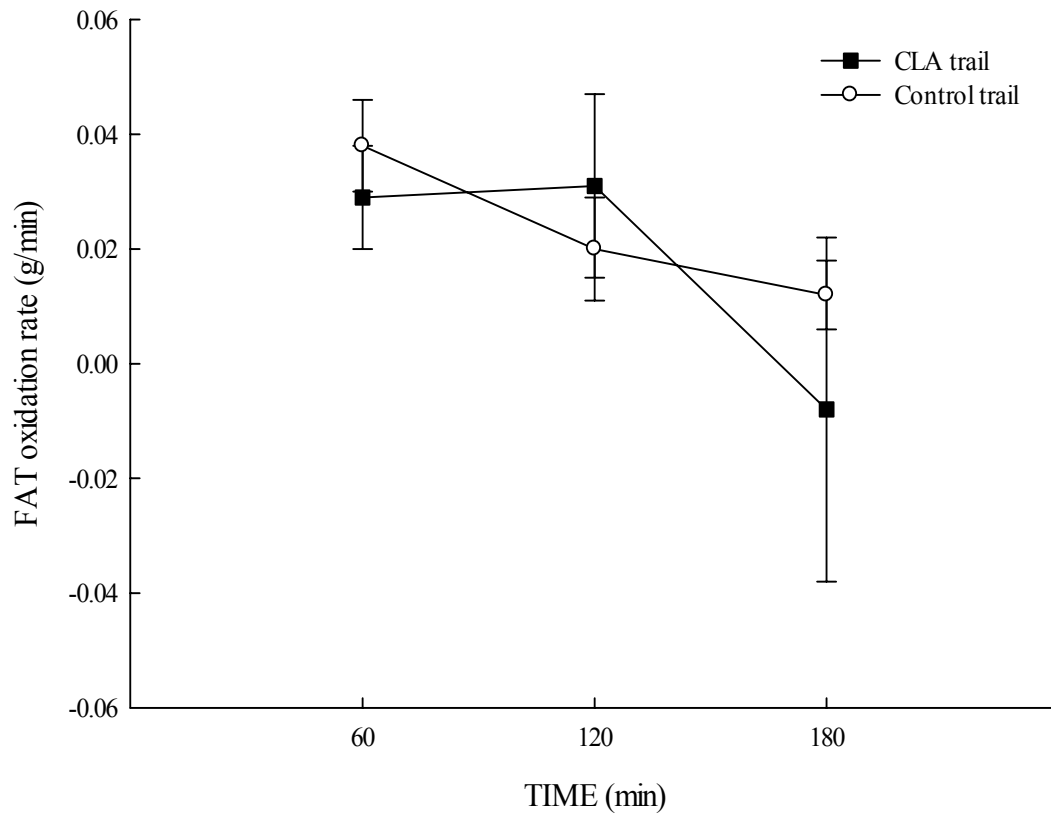


圖 4-8 兩項試驗之脂肪氧化速率

※二項試驗處理後之脂肪氧化速率。Control trial 為補充八週共軛亞麻油酸前；CLA trial為補充八週共軛亞麻油酸後。 ”\*”表示與 Control trial 比較達顯著差異 ( $P < .05$ )。數值以  $\text{mean} \pm \text{SE}$  呈現 ( $n=6$ )。



### 三、碳水化合物氧化速率(carbohydrate oxidation rate)

Control trial 與 CLA trial 分別於運動恢復期每 60 分鐘收集 10 分鐘氣體樣本，比較兩試驗運動恢復期 3 小時內每 60 分鐘碳水化合物氧化速率之差異，如圖 4-9 所示。結果顯示兩試驗間沒有顯著差異 ( $P < .05$ )。

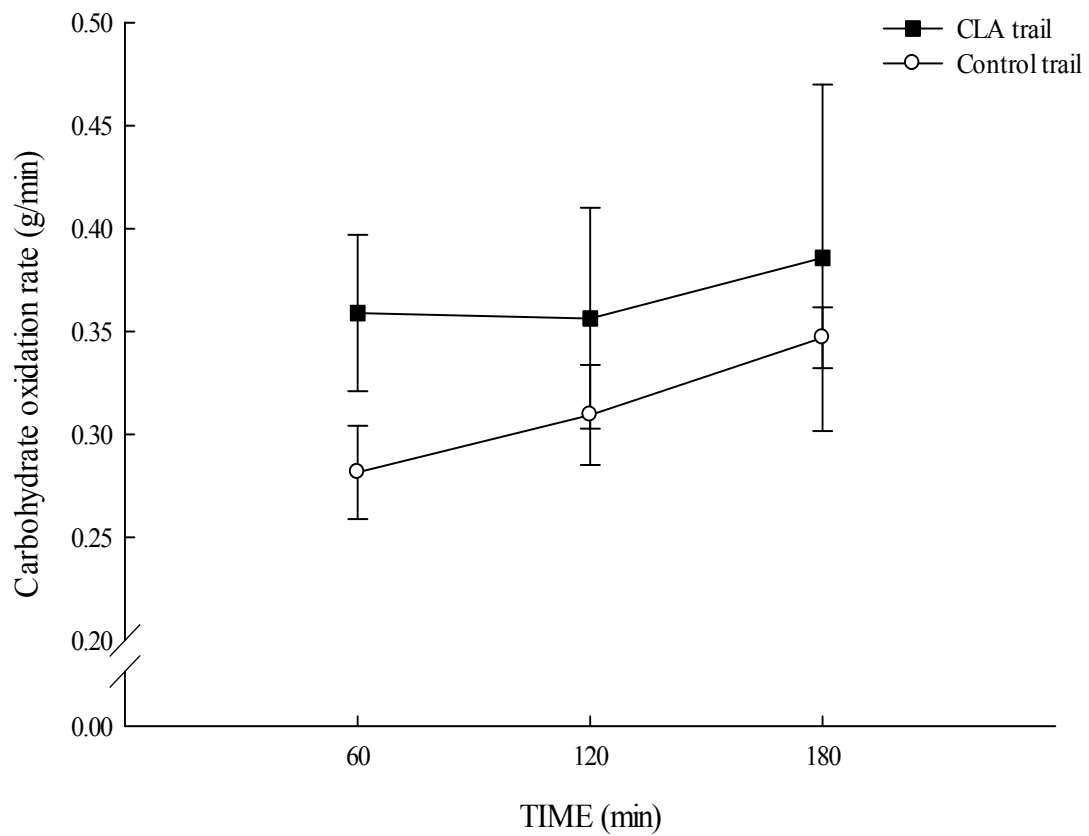


圖 4-9 兩項試驗之碳水化合物氧化速率

※二項試驗處理後之碳水化合物氧化速率。Control trial 為補充八週共軛亞麻油酸前；CLA trial為補充八週共軛亞麻油酸後。 ”\*”表示與Control trial 比較達顯著差異 ( $P < .05$ )。數值以 mean  $\pm$  SE呈現 (n=6)。

## 第五節 骨骼肌肝醣合成相關蛋白反應

### 一、葡萄糖轉運蛋白 4 (glucose transporter 4, GLUT4)

Control trial 與 CLA trial 試驗分別於運動後與運動後補充碳水化合物第 3 小時採集肌肉樣本，比較兩試驗骨骼肌 GLUT4 蛋白量之差異，如圖 4-10 所示。顯示運動後骨骼肌 GLUT4 蛋白含量，CLA trial 顯著高於 Control trial ( $P < .05$ )。

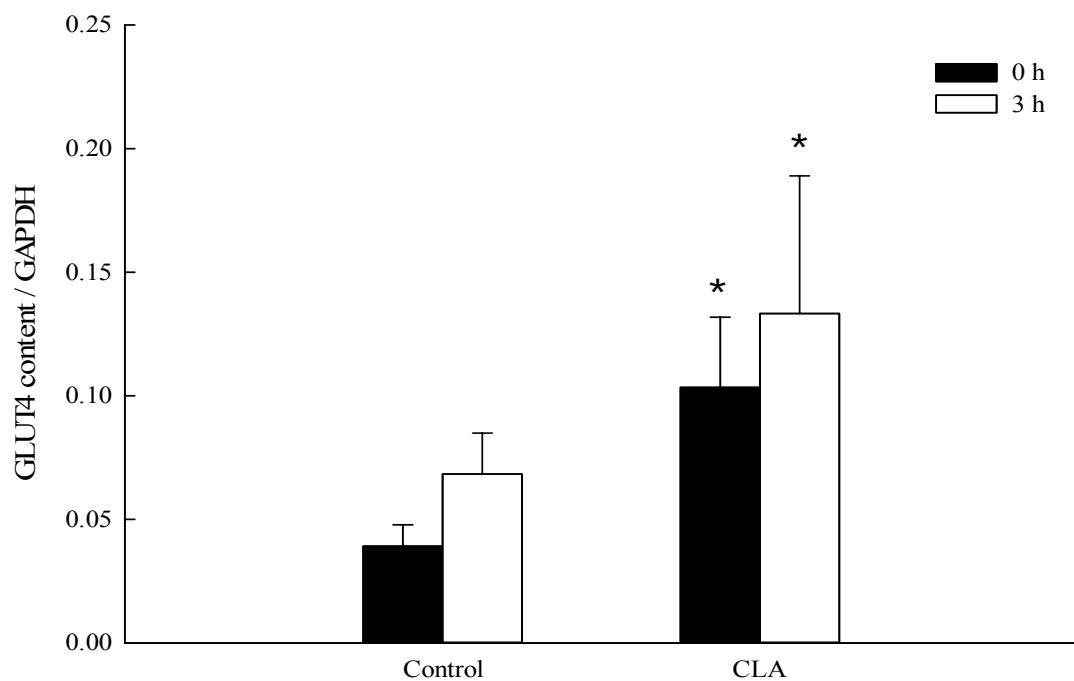
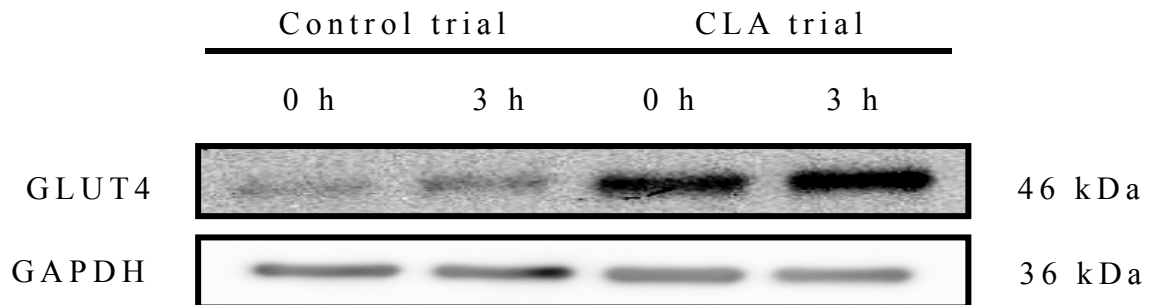


圖 4-10 兩項試驗之骨骼肌 GLUT4 蛋白量

※二項試驗處理後之骨骼肌 GLUT4 蛋白量。Control trial 為補充八週共軛亞麻油酸前；CLA trial 為補充八週共軛亞麻油酸後。“\*”表示與 Control trial 比較達顯著差異 ( $P < .05$ )。數值以  $\text{mean} \pm \text{SE}$  呈現 ( $n=7$ )。

## 二、肝糖合成酶(glycogen synthase, GS)

Control trial 與 CLA trial 分別於運動後與運動後補充碳水化合物第 3 小時期採集肌肉樣本，比較兩試驗骨骼肌肝糖合成酶蛋白量之差異，如圖 4-10 所示。結果顯示兩試驗間沒有顯著差異( $P < .05$ )。

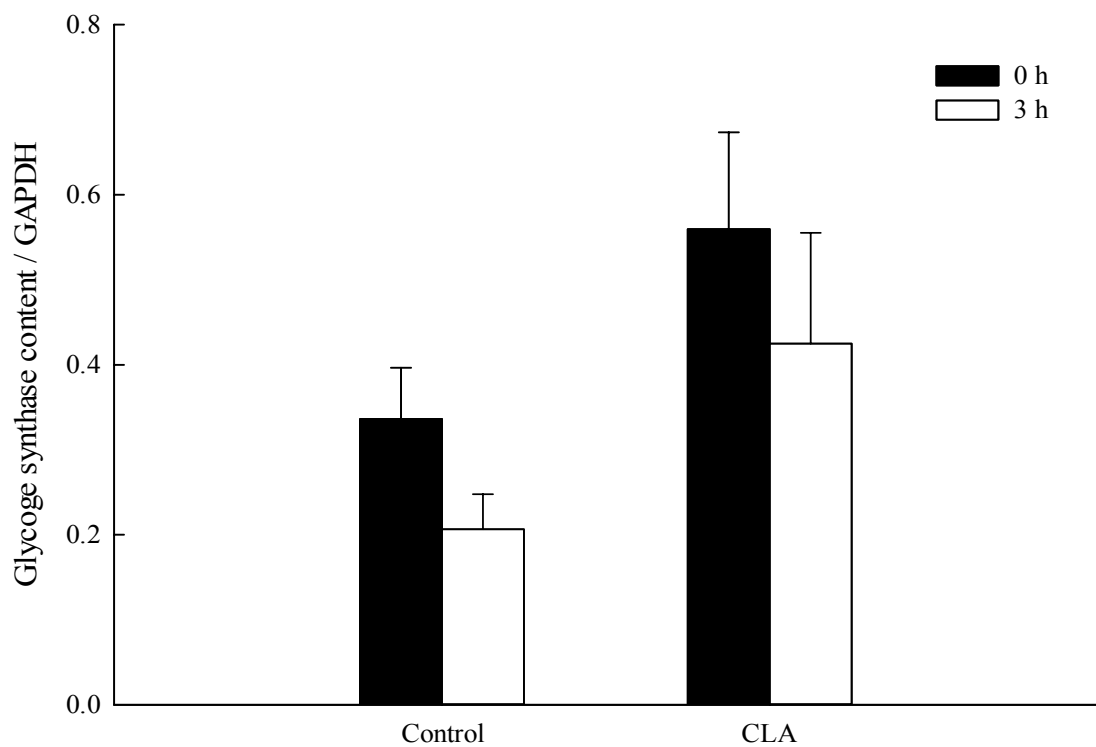
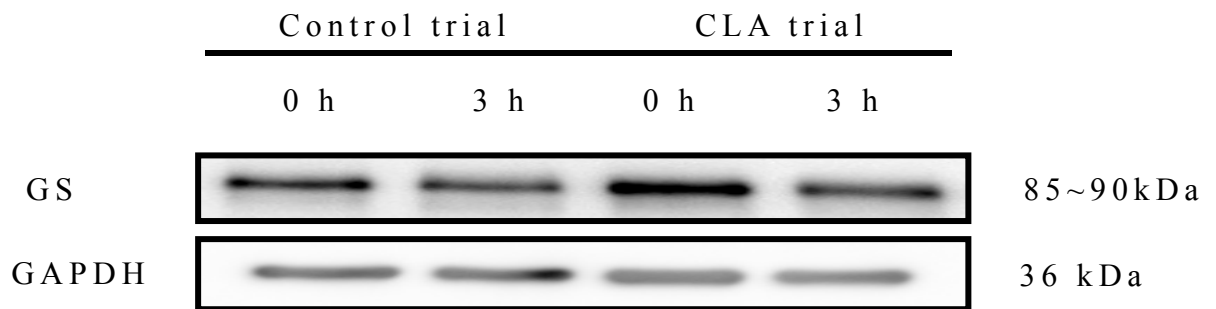


圖 4-11 骨骼肌肝醣合成酶蛋白量

※二項試驗骨骼肌肝醣合成酶蛋白量。Control trial 為補充八週共軛亞麻油酸前；CLA trial 為補充八週共軛亞麻油酸後。"＊"表示與Control trial 比較達顯著差異 ( $P < .05$ )。數值以  $\text{mean} \pm \text{SE}$  呈現 ( $n=8$ )。

### 三、磷酸化 AKT(phosphatase AKT, P-AKT)

Control trial 與 CLA trial 分別於運動後與補充碳水化合物第 3 小時期採集肌肉樣本，比較兩試驗骨骼肌 P-AKT 蛋白量之差異，如圖 4-12 所示。結果顯示兩試驗間沒有顯著差異 ( $P < .05$ )。

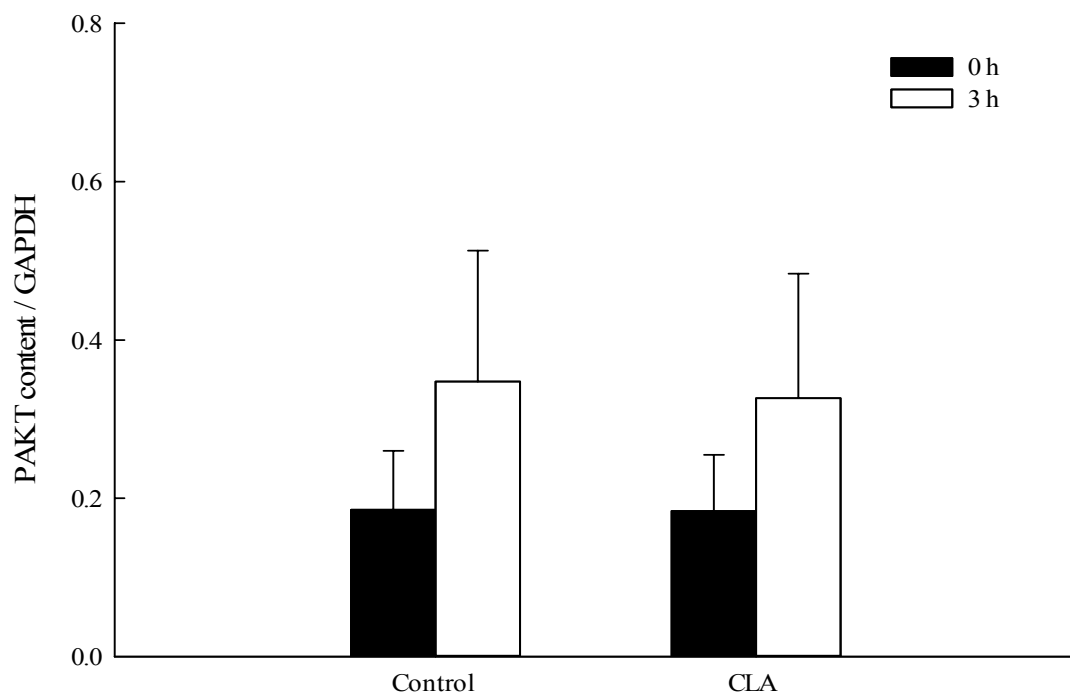
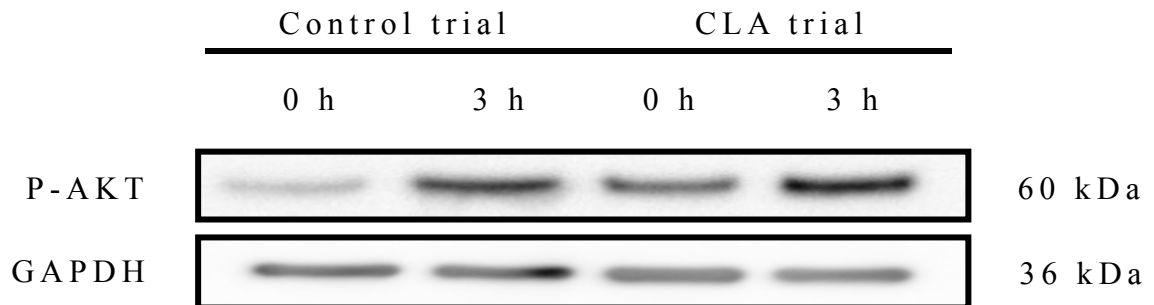


圖 4-12 骨骼肌 P-AKT 蛋白量

※二項試驗處理後之骨骼肌 P-AKT 蛋白量。Control trial 為補充八週共軛亞麻油酸前；CLA trial 為補充八週共軛亞麻油酸後。"＊"表示與 Control trial 比較達顯著差異 ( $P < .05$ )。數值以  $\text{mean} \pm \text{SE}$  呈現 ( $n=8$ )。



## 第六節 骨骼肌肝醣合成相關反應

### 一、肌肉肝糖 (muscle glycogen)

比較兩試驗間骨骼肌肌肉肝醣含量之差異，如圖 4-13 所示。結果顯示 CLA trial 於運動後與運動後補充碳水化合物第 3 小時肝醣含量皆顯著高於 Control trial ( $P < .05$ )。

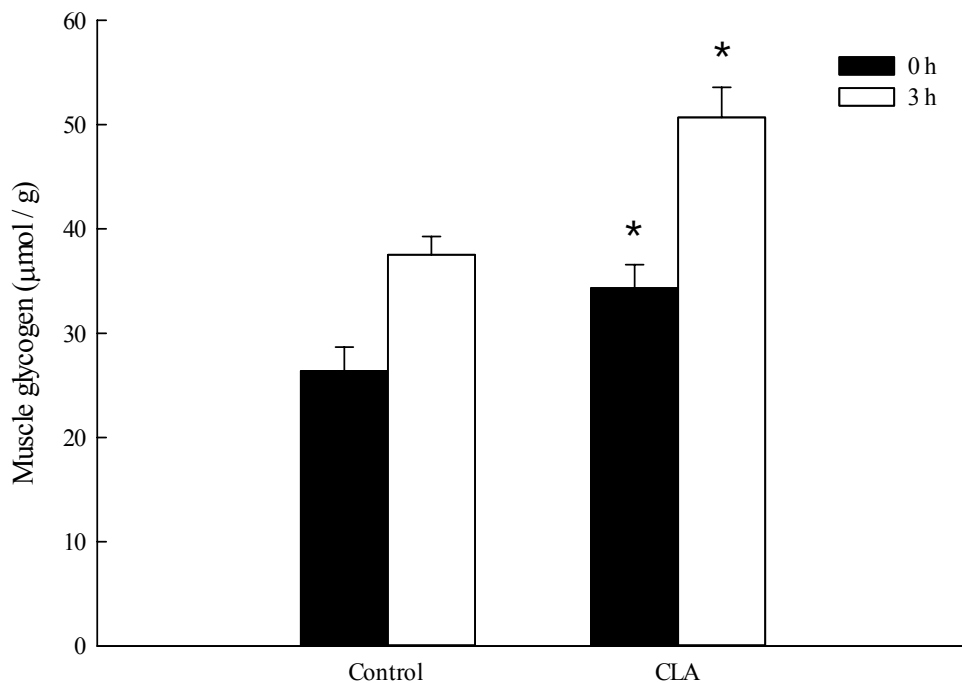


圖 4-13 骨骼肌肌肉肝醣含量

※二項試驗處理後之骨骼肌肌肉肝醣含量。Control trial 為補充八週共軛亞麻油酸前；CLA trial 為補充八週共軛亞麻油酸後。”\*”表示與 Control trial 比較達顯著差異 ( $P < .05$ )。數值以 mean  $\pm$  SE 呈現 (n=9)。

## 二、肌肉肝糖合成速率 (Glycogen synthesis rate)

比較兩試驗間運動恢復期間3小時內骨骼肌肌肉肝糖合成速率之差異，如圖4-14所示。

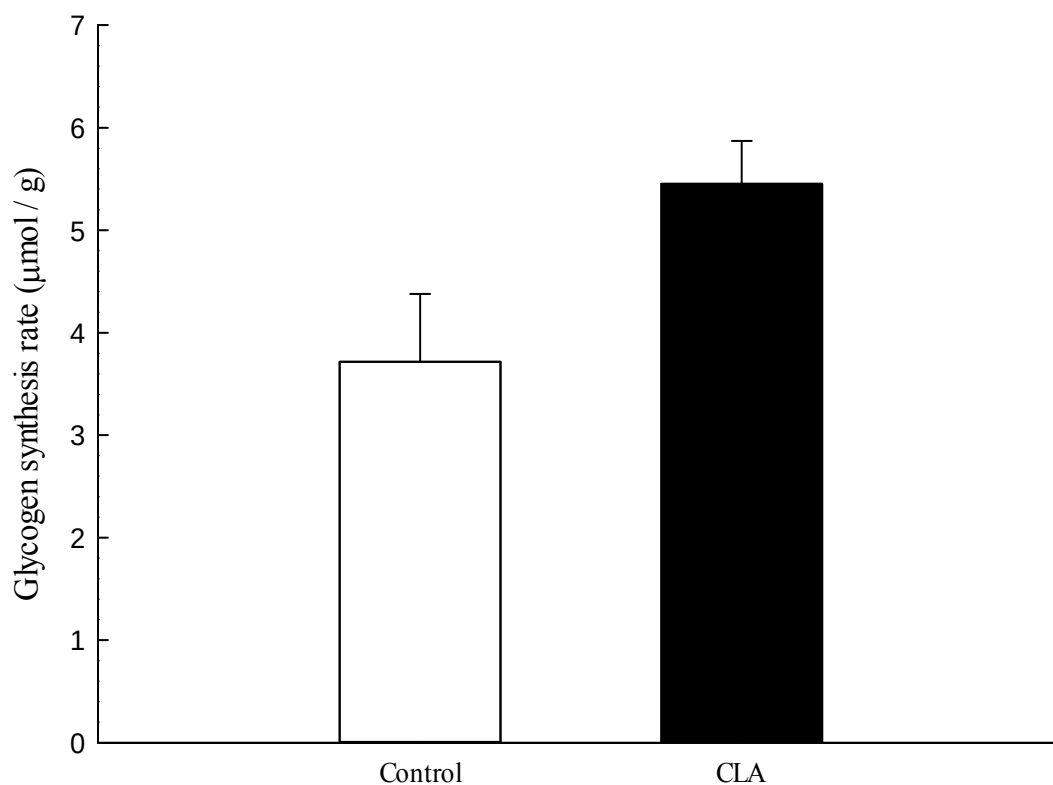


圖 4-14 骨骼肌肌肉肝糖合成速率

※二項驗骨骼肌肌肉肝糖合成速率。Control trial 為補充八週共軛亞麻油酸前；CLA trial 為補充八週共軛亞麻油酸後。 ”\*”表示與 Control trial 比較達顯著差異 ( $P < .05$ )。數值以  $\text{mean} \pm \text{SE}$  呈現 ( $n=9$ )。

## 第伍章 討論

### 第一節 主要發現

本研究探討補充八週混合CLA對單次75 %  $\dot{V}O_{2\max}$  腳踏車運動後補充碳水化合物，是否可以促進運動後肌肉肝醣再合成速率。本實驗主要發現：補充八週混合CLA，在單次60分鐘75 %  $\dot{V}O_{2\max}$  腳踏車運動期間減少肌肉肝醣消耗；運動後補充碳水化合物恢復期3小時內胰島素敏感性降低；運動後以及運動恢復期增加GLUT4蛋白表現量。

### 第二節 血液生化值

本研究經補充八週共軛亞麻油酸後，所分析之血液生化值之變化，如圖4-1到圖4-6所示。血糖與胰島素濃度似乎有較高的趨勢，然而游離脂肪酸、甘油似乎呈現較低的趨勢。觀察運動後恢復期3小時內血糖曲線下面積與胰島素曲線下面積皆達統計差異。

#### 一、血糖、胰島素、脂肪酸與甘油調控機制

本實驗於運動後立即給予碳水化合物故血糖、胰島素、脂肪酸與甘油於運動後30分鐘急遽上升，並隨著時間而降低(圖4-1、圖4-3、圖4-5、圖4-6)，造成此結果的重要因素是因為運動後身體能量處於缺乏狀態，此時攝取外源性碳水化合物會刺激胰島素，促進身體組織對葡萄糖的吸收速率，增加

血液中葡萄糖進入細胞內儲存或利用 (Rose, Howlett, King, & Hargreaves, 2001)。另外，單次60分鐘75 %  $\dot{V}O_{2\max}$  腳踏車運動後，隨著運動時間增加，脂肪也逐漸被做為運動時所需的能量，此時體內三酸甘油脂分解成脂肪酸與甘油做為能量。根據學者Frayn (2003)提出葡萄糖及脂肪酸利用的調控原則，意即攝取碳水化合物飲食後，體內葡萄糖濃度上昇會伴隨著刺激胰島素分泌，此時則抑制脂肪分解成游離脂肪酸與甘油。本實驗兩項試驗於運動後補充碳水化合物血液生化指標血糖、胰島素、脂肪酸與甘油趨勢皆與此論點符合。其中兩試驗補充碳水化合物後3小時內，CLA trial 葡萄糖曲線下面積與胰島素曲線下面積皆顯著高於 Control trial，即補充CLA會降低運動恢復期間胰島素敏感性。

## 二、共軛亞麻油酸對運動恢復期胰島素敏感性的影響

本實驗首次證實補充八週混合CLA，降低運動恢復期間胰島素敏感性。先前研究分別將小鼠進行補充 c9,t10-CLA 以及 t10,c12-CLA，結果最引人注目的是 t10,c12-CLA，是造成瘦體素和脂聯素 mRNA 表現量減少的重要因素，研究結果表示 t10,c12-CLA 影響脂質代謝，可能調控能量平衡以及改變胰島素活化相關蛋白和 mRNA 表現量，亦是造成胰島素阻抗的主因，並非 c9,t11-CLA (Warren et al., 2003)。

人體實驗方面，對腹部肥胖者補充混合CLA、t10,c12-CLA或安慰劑組，每天 3.4 g 持續12週。經由正常血

糖高胰島素血症箝制試驗 (euglycemic-hyperinsulinemic clamp)方法檢測後，確定明顯降低 t10,c12-CLA 組胰島素敏感性，另一方面補充相同劑量混合CLA，血清胰島素和血糖並沒有影響(Riserus, Berglund, & Vessby, 2001)。隨後的研究選用中年健康男性，補充 c9,t11-CLA (1.4g/day)持續6週，發現胰島素敏感性沒有改變，此實驗和動物補充c9, t11-CLA的結果一致，胰島素敏感性並沒有改變(Tricon et al., 2006)。

學者 Thrush 等人(2007)研究9名體重過重、沒有糖尿病的受測者，接受混合CLA (4g/day)持續12週，發現骨骼肌神經醯胺含量顯著增加，進而抑制胰島素刺激 AKT 蛋白酶活化，降低胰島素刺激葡萄糖運輸至骨骼肌，導致胰島素敏感性惡化。上述研究對象皆為肥胖體重過重族群為研究對象，然而本次實驗以有規律運動習慣者為研究對象，發現補充八週混合CLA，於運動後補充碳水化合物恢復期間降低胰島素敏感性，但目前尚不確定是否為混合CLA成分中 c9,t11-CLA或骨骼肌神經醯胺累積造成胰島素敏感性降低。

### 第三節 骨骼肌能量代謝分子機轉

#### 一、共軛亞麻油酸對運動期間肌肉肝醣代謝影響

本次實驗補充八週混合CLA後，可以減少運動期間肌肉肝醣消耗。從運動表現觀點來看，Mizunoya 等人(2005)研究顯示補充CLA後，可增加大鼠運動期間脂肪氧化，增加游泳耐力運動表現。

另外，Kim 等人(2010)研究補充CLA後，增加大鼠跑步機運動表現，接著觀察運動直到衰竭的血清和肝臟代謝濃度，CLA試驗血清甘油濃度明顯低於控制組，游離脂肪酸也減少但非顯著，且CLA組肝臟肝醣含量明顯高於控制組，這些資料證實補充CLA可藉由增加脂肪利用和減少肝臟肝醣消耗，改善老鼠耐力運動表現。上述兩項動物實驗跟本實驗結果很相似，尤其是運動後游離脂肪酸明顯較低。由此推估，本次人體實驗運動期間能量利用偏向脂肪代謝，減少運動期間肌肉肝醣消耗。

#### 二、共軛亞麻油酸對運動後恢復期肌肉肝醣回補速率之影響

骨骼肌為飯後吸收血糖重要器官，運動後補充碳水化合物飲食會促進肌肉肝醣再合成，主要機制為胰島素之作用，再者胰島素可以刺激 GLUT4 蛋白轉位至細胞膜上，增加肌肉組織對血糖的吸收能力，將血糖運輸至相關組織供能量利用或做為肌肉肝醣儲存(Kuo, Hwang, Lee, Castle, & Ivy,

2004)。本次實驗補充八週混合CLA後，運動恢復期3小時，血糖與胰島素曲線下面積皆高於補充前，即降低胰島素敏感性，此現象可能是造成運動恢復期肌肉肝醣合成速率未達差異的主要因素。

另外，運動後碳水化合物攝取時間、型態會影響肌肉肝醣合成效率(Ivy, 1999)，其中運動期間肌肉肝醣消耗量亦是影響恢復期肌肉肝醣再合成的重要影響因素，研究顯示運動後肌肉肝醣消耗量與恢復期肌肉肝醣再合成呈正相關。換句話說，運動後肝醣含量越少，其恢復期間肌肉肝醣再合成效率越高(McCoy, Proietto, & Hargreaves, 1996)。本次實驗補充八週CLA後，發現運動期間可以節省肌肉肝醣消耗，此亦是造成運動恢復期肌肉肝醣合成速率沒有差異的重要因素。

### 三、共軛亞麻油酸對於運動後骨骼肌能量代謝分子機轉

激烈運動後骨骼肌肉肝醣含量降低，肝醣合成酶(glycogen synthase, GS)的活性上升(Wojtaszewski et al., 2000)以及胰島素敏感性的提升(Holloszy, 2005)，此刻立即攝取高碳水化合物可有效提高肌肉肝醣回補。另外，運動後補充碳水化合物會促進骨骼肌對血糖吸收至肌肉組織利用或儲存之外，胰島素也經由增加肝醣合成酶活性，增加肌肉肝醣合成速率，其過程為胰島素經由磷酸化 AKT 增加 Glycogen synthases kinase 3 (GSK-3)磷酸化，再經由促進肝醣合成酶之去磷酸化，增加肝醣儲存量(Srivastava & Pandey, 1998)。然而本次研究發現，補充八週混合 CLA 對運動後與運動恢復期，骨骼肌胰島素路徑中磷酸化 AKT 與肝醣合成酶去磷酸化皆無顯著差異，此結果符合血糖、胰島素與肝醣趨勢。

學者 Sun、Zhou、Wen 與 Liu (2007) 探討 CLA 對 GLUT4 蛋白表現，選用 40 隻 wistar 大鼠，隨機分為控制組、高脂組、高脂+CLA 組(給予 12 週每 100 g 飼料含 CLA，分別為 0.75 g、1.50 g、3.00 g)，每組動物 10 隻，結果發現 CLA 可以增加 GLUT4 蛋白表現量。上述研究與本次實驗結果 GLUT4 蛋白表現量相似。

再者，肌肉細胞 GLUT4 蛋白藉由胰島素活化或肌肉收縮，刺激肌肉細胞對葡萄糖吸收、修復肌肉組織以及肝醣儲存(Henriksen et al., 1990)。當 GLUT4 蛋白轉位至細胞膜上可增加肌肉組織對血糖的吸收能力，將血糖運輸至相關組織供能量利用或儲存(Kuo et al., 2004)。本研究發現經過 8 週 CLA 補充後，除了造成恢復期間胰島素敏感性降低之外，實驗所測得的 GLUT4 蛋白為整個細胞內的表現量，並非為細胞膜上 GLUT4 蛋白，因此推估 GLUT4 蛋白未轉位至細胞膜上，造成全身血糖利用率不佳，導致無法合成更多肌肉肝醣。



## 第陸章 結論

補充八週混合共軛亞麻油酸，身體代謝偏向脂肪利用，包括後續單次運動期間減少肌肉肝醣消耗，但在運動恢復期間降低全身胰島素敏感性，因此無助於肌肉肝醣儲存。就運動後肝醣含量來看，CLA可以減少運動期間肌肉肝醣消耗，將有助延長運動員運動表現或運動末期高強度運動的維持。

## 參考文獻

- Bergström, J. (1962). Muscle electrolytes in man determined by neutron activation analysis on needle biopsy specimens. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 68, 11-13.
- Bhattacharya, A., Banu, J., Rahman, M., Causey, J., & Fernandes, G. (2006). Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 17(12), 789-810.
- Blankson, H., Stakkestad, J. A., Fagertun, H., Thom, E., Wadstein, J., & Gudmundsen, O. (2000). Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *The Journal of Nutrition*, 130(12), 2943-2948.
- Cao, Z. P., Wang, F., Xiang, X. S., Cao, R., Zhang, W. B., & Gao, S. B. (2007). Intracerebroventricular administration of conjugated linoleic acid (CLA) inhibits food intake by decreasing gene expression of NPY and AgRP. *Neuroscience Letters*, 418(3), 217-221.
- Colakoglu, S., Colakoglu, M., Taneli, F., Cetinoz, F., & Turkmen, M. (2006). Cumulative effects of conjugated linoleic acid and exercise on endurance development, body composition, serum leptin and insulin levels. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 46(4), 570-577.

- Coyle, E. F. (1995). Substrate utilization during exercise in active people. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 61(4), 968S-979S.
- Doyle, J. A., Sherman, W. M., & Strauss, R. L. (1993). Effects of eccentric and concentric exercise on muscle glycogen replenishment. *Journal of Applied Physiology*, 74(4), 1848-1855.
- Ealey, K. N., El-Sohemy, A., & Archer, M. C. (2002). Effects of dietary conjugated linoleic acid on the expression of uncoupling proteins in mice and rats. *Lipids*, 37(9), 853-861.
- Evans, M., Brown, J., & McIntosh, M. (2002). Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. *Journal Nutritional Biochemistry*, 13(9), 508-516.
- Eyjolfson, V., Spriet, L. L., & Dyck, D. J. (2004). Conjugated linoleic acid improves insulin sensitivity in young, sedentary humans. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 36(5), 814-820.
- Frayn, K. (1983). Calculation of substrate oxidation rates in vivo from gaseous exchange. *Journal of Applied Physiology*, 55(2), 628-635.
- Frayn, K. (2003). The glucose/fatty acid cycle: a physiological perspective. *Biochemical Society Transactions*, 31(6), 1115-1119.

- Gaullier, J., Berven, G., Blankson, H., & Gudmundsen, O. (2002). Clinical trial results support a preference for using CLA preparations enriched with two isomers rather than four isomers in human studies. *Lipids*, 37(11), 1019-1025.
- Gaullier, J. M., Halse, J., Høy, K., Kristiansen, K., Fagertun, H., Vik, H., & Gudmundsen, O. (2004). Conjugated linoleic acid supplementation for 1 y reduces body fat mass in healthy overweight humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(6), 1118-1125.
- Goodyear, L. J., Hirshman, M. F., Smith, R. J., & Horton, E. S. (1991). Glucose transporter number, activity, and isoform content in plasma membranes of red and white skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 261(5), E556-E561.
- Henriksen, E. J., Bourey, R. E., Rodnick, K. J., Koranyi, L., Permutt, M. A., & Holloszy, J. O. (1990). Glucose transporter protein content and glucose transport capacity in rat skeletal muscles. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 259(4), E593-E598.
- Henriksen, E. J., Teachey, M. K., Taylor, Z. C., Jacob, S., Ptocek, A., Krämer, K., & Hasselwander, O. (2003). Isomer-specific actions of conjugated linoleic acid on muscle glucose transport in the obese Zucker rat. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 285(1), E98-E105.

- Hermansen, L., Hultman, E., & Saltin, B. (1967). Muscle glycogen during prolonged severe exercise. *Acta Physiologica Scandinavica*, 71(2-3), 129-139.
- Holloszy, J. (2005). Exercise-induced increase in muscle insulin sensitivity. *Journal of Applied Physiology*, 99(1), 338-343.
- Ivy, J. L. (1991). Muscle glycogen synthesis before and after exercise. *Sports Medicine*, 11(1), 6-19.
- Ivy, J. L. (1998). Glycogen resynthesis after exercise: effect of carbohydrate intake. *International Journal of Sports Medicine*, 19(2), 142-145.
- Ivy, J. L. (1999). Role of carbohydrate in physical activity. *Clinics in Sports Medicine*, 18(3), 469-484.
- Jentjens, R., & Jeukendrup, A. E. (2003). Determinants of post-exercise glycogen synthesis during short-term recovery. *Sports Medicine*, 33(2), 117-144.
- Jiang, J., Wolk, A., & Vessby, B. (1999). Relation between the intake of milk fat and the occurrence of conjugated linoleic acid in human adipose tissue. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70(1), 21-27.
- Kallen, C. B., & Lazar, M. A. (1996). Antidiabetic thiazolidinediones inhibit leptin (ob) gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(12), 5793-5796.
- Kelly, G. S. (2001). Conjugated linoleic acid: a review. *Alternative Medicine Review: Journal of Clinical Therapeutic*, 6(4), 367-382.

- Kim, J. H., Park, H. G., Pan, J. H., Kim, S. H., Yoon, H. G., Bae, G. S., Lee H., Eom, S. H., & Kim, Y. J. (2010). Dietary conjugated linoleic acid increases endurance capacity of mice during treadmill exercise. *Journal of Medicinal Food*, 13(5), 1057-1060.
- Kuo C. H., Hwang H., Lee M. C., Castle A. L., & Ivy J.L. (2004). Role of insulin on exercise-induced GLUT4 protein expression and glycogen supercompensation in rat skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 96(2), 621-627.
- Kritchevsky, D. (2000). Antimutagenic and some other effects of conjugated linoleic acid. *British Journal of Nutrition*, 83(05), 459-465.
- Lambert, E. V., Goedecke, J. H., Bluett, K., Heggie, K., Claassen, A., Rae, D. E., & Meltzer, S. (2007). Conjugated linoleic acid versus high-oleic acid sunflower oil: effects on energy metabolism, glucose tolerance, blood lipids, appetite and body composition in regularly exercising individuals. *British Journal of Nutrition*, 97(5), 1001-1011.
- LaRosa, P. C., Miner, J., Xia, Y., Zhou, Y., Kachman, S., & Fromm, M. E. (2006). Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid causes inflammation and delipidation of white adipose tissue in mice: a microarray and histological analysis. *Physiological Genomics*, 27(3), 282-294.

- Lavillonniere, F., Martin, J., Bougnoux, P., & Sebedio, J. (1998). Analysis of conjugated linoleic acid isomers and content in French cheeses. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(3), 343-352.
- McCoy, M., Proietto, J., & Hargreaves, M. (1996). Skeletal muscle GLUT-4 and postexercise muscle glycogen storage in humans. *Journal of Applied Physiology*, 80 (2), 411-415.
- Medina, E. A., Horn, W. F., Keim, N. L., Havel, P. J., Benito, P., Kelley, D. S., & Erickson, K. L. (2000). Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effects on circulating leptin concentrations and appetite. *Lipids*, 35(7), 783-788.
- Mizunoya, W., Haramizu, S., Shibakusa, T., Okabe, Y., & Fushiki, T. (2005). Dietary conjugated linoleic acid increases endurance capacity and fat oxidation in mice during exercise. *Lipids*, 40(3), 265-271.
- Moloney, F., Yeow, T. P., Mullen, A., Nolan, J. J., & Roche, H. M. (2004). Conjugated linoleic acid supplementation, insulin sensitivity, and lipoprotein metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(4), 887-895.

- Mougios, V., Matsakas, A., Petridou, A., Ring, S., Sagredos, A., Melissopoulou, A., Tsigilis, N., & Nikolaidis, M. (2001). Effect of supplement with conjugated linoleic acid on human serum lipids and body fat. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 12(10), 585-594.
- Moya-Camarena, S. Y., Vanden Heuvel, J. P., Blanchard, S. G., Leesnitzer, L. A., & Belury, M. A. (1999). Conjugated linoleic acid is a potent naturally occurring ligand and activator of PPAR $\alpha$ . *The Journal of Lipid Research*, 40(8), 1426-1433.
- Park, Y., Albright, K. J., Liu, W., Storkson, J. M., Cook, M. E., & Pariza, M. W. (1997). Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids*, 32(8), 853-858.
- Passonneau, J. V., & Lauderdale, V. R. (1974). A comparison of three methods of glycogen measurement in tissues. *Analytical Biochemistry*, 60(2), 405-412.
- Pinkoski, C., Chilibeck, P. D., Candow, D. G., Esliger, D., Ewaschuk, J. B., Facci, M., Farthing, J. P., & Zello, G. A. (2006). The effects of conjugated linoleic acid supplementation during resistance training. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 38(2), 339-348.
- Price, T., Rothman, D., Taylor, R., Avison, M., Shulman, G., & Shulman, R. (1994). Human muscle glycogen resynthesis after exercise: insulin-dependent and-independent phases. *Journal of Applied Physiology*, 76(1), 104-111.



- Raff, M., Tholstrup, T., Basu, S., Nonboe, P., Sørensen, M.T., & Straarup, E.M. (2008). A diet rich in conjugated linoleic acid and butter increases lipid peroxidation but does not affect atherosclerotic, inflammatory, or diabetic risk markers in healthy young men. *The Journal of Nutrition*, 138(3), 509-515.
- Ribot, J., Portillo, M. P., Picó, C., Teresa Macarulla, M., & Palou, A. (2007). Effects of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on the expression of uncoupling proteins in hamsters fed an atherogenic diet. *British Journal of Nutrition*, 97(06), 1074-1082.
- Riserus, U., Berglund, L., & Vessby, B. (2001). Conjugated linoleic acid (CLA) reduced abdominal adipose tissue in obese middle-aged men with signs of the metabolic syndrome: a randomised controlled trial. *International Journal of Obesity*, 25(8), 1129-1135.
- Riserus, U., Vessby, B., Arner, P., & Zethelius, B. (2004). Supplementation with trans10cis12-conjugated linoleic acid induces hyperproinsulinaemia in obese men: close association with impaired insulin sensitivity. *Diabetologia*, 47(6), 1016-1019.
- Romijn, J., Coyle, E., Sidossis, L., Gastaldelli, A., Horowitz, J., Endert, E., & Wolfe, R. (1993). Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 265(3), E380-E391.

- Rose, A. J., Howlett, K., King, D. S., & Hargreaves, M. (2001). Effect of prior exercise on glucose metabolism in trained men. *American Journal of Physiology : Endocrinology And Metabolism*, 281(4), E766-E771.
- Smedman, A., & Vessby, B. (2001). Conjugated linoleic acid supplementation in humans—metabolic effects. *Lipids*, 36(8), 773-781.
- So, M. H., Tse, I. M., & Li, E. T. (2009). Dietary fat concentration influences the effects of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on temporal patterns of energy Intake and Hypothalamic expression of appetite-controlling genes in Mice. *The Journal of Nutrition*, 139(1), 145-151.
- Srivastava, A. K., & Pandey, S. K. (1998). Potential mechanism(s) involved in the regulation of glycogen synthesis by insulin. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 182(1), 135-141.
- Steck, S. E., Chalecki, A. M., Miller, P., Conway, J., Austin, G. L., Hardin, J. W., Albright, C.D., & Thuillier, P. (2007). Conjugated linoleic acid supplementation for twelve weeks increases lean body mass in obese humans. *The Journal of Nutrition*, 137(5), 1188-1193.

- Straczkowski, M., Kowalska, I., Nikolajuk, A.,  
 Dzienis-Straczkowska, S., Kinalska, I., Baranowski, M.,  
 Zendzian-Piotrowska, M., Brzezinska, Z., & Gorski, J.  
 (2004). Relationship between insulin sensitivity and  
 sphingomyelin signaling pathway in human skeletal  
 muscle. *Diabetes*, 53(5), 1215-1221.
- Sun, C. H., Zhou, X. R., Wen, Y., & Liu, Y. M. (2007). Effects  
 of conjugated linoleic acid on expression of GLUT4  
 protein in skeletal muscle of insulin resistant rat.  
*Chinese Journal of Preventive Medicine*, 41(1), 25-28.
- Syvertsen, C., Halse, J., Høivik, H., Gaullier, J.,  
 Nurminiemi, M., Kristiansen, K., Einerhand, A., M  
 O'Shea, & Gudmundsen, O. (2006). The effect of 6  
 months supplementation with conjugated linoleic acid on  
 insulin resistance in overweight and obese.  
*International Journal of Obesity*, 31(7), 1148-1154.
- Tarnopolsky, M. A., Gibala, M., Jeukendrup, A. E., & Phillips,  
 S. M. (2005). Nutritional needs of elite endurance  
 athletes. Part I: Carbohydrate and fluid requirements.  
*European Journal of Sport Science*, 5(1), 3-14.
- Terpstra, A., Javadi, M., Beynen, A., Kocsis, S., Lankhorst,  
 A., Lemmens, A., & Mohede, I. (2003). Dietary  
 conjugated linoleic acids as free fatty acids and  
 triacylglycerols similarly affect body composition and  
 energy balance in mice. *The Journal of Nutrition*,  
 133(10), 3181-3186.

- Thom, E., Wadstein, J., & Gudmundsen, O. (2001). Conjugated linoleic acid reduces body fat in healthy exercising humans. *The Journal of International Medical Research*, 29(5), 392-396.
- Thrush A.B., Chabowski A., Heigenhauser G.J., McBride B.W., Or-Rashid M., & Dyck D.J. (2007). Conjugated linoleic acid increases skeletal muscle ceramide content and decreases insulin sensitivity in overweight, non-diabetic humans. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 32(3), 372-382.
- Tricon S, Burdge G.C., Jones E.L., Russell J.J., El-Khazen S, Moretti E., Hall W.L., Gerry A.B., Leake D.S., Grimble R.F., Williams C.M., Calder P.C., & Yaqoob P.(2006). Effects of dairy products naturally enriched with cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid on the blood lipid profile in healthy middle-aged men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83(4), 744-753.
- Warren, J., Simon, V., Bartolini, G., Erickson, K., Mackey, B., & Kelley, D. (2003). Trans-10, cis-12 CLA increases liver and decreases adipose tissue lipids in mice: possible roles of specific lipid metabolism genes. *Lipids*, 38(5), 497-504.
- Whigham, L. D., Watras, A. C., & Schoeller, D. A. (2007). Efficacy of conjugated linoleic acid for reducing fat mass: a meta-analysis in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 85(5), 1203-1211.

- Williams, J., Powers, S., & Stuart, M. (1986). Hemoglobin desaturation in highly trained athletes during heavy exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 18(2), 168-173.
- Wojtaszewski, J., Hansen, B. F., Kiens, B., Markuns, J., Goodyear, L., & Richter, E. (2000). Insulin signaling and insulin sensitivity after exercise in human skeletal muscle. *Diabetes*, 49(3), 325-331.
- Wolever, T. (2004). Effect of blood sampling schedule and method of calculating the area under the curve on validity and precision of glycaemic index values. *British Journal of Nutrition*, 91(02), 295-300.
- Wu, C., Nicholas, C., Williams, C., Took, A., & Hardy, L. (2003). The influence of high-carbohydrate meals with different glycaemic indices on substrate utilisation during subsequent exercise. *British Journal of Nutrition*, 90(06), 1049-1056.

## 附錄一 人體試驗委員會審查意見表

國立臺灣體育學院 人體試驗委員會  
人體試驗安全評估審查意見表

|          |                           |      |                    |
|----------|---------------------------|------|--------------------|
| 計畫主持人姓名  | 程一雄                       | 職稱   | 副教授                |
| 所屬單位     | 國立臺中教育大學<br>體育學系          | 聯絡電話 | 04-22183459        |
| 申請計畫名稱   | 共軛亞麻油酸補充對運動後人體骨骼肌肉肝糖合成的影響 |      |                    |
| 其他申請文件名稱 | 無                         |      |                    |
| 經費來源     | 國科會                       | 執行期限 | 2011/8/1-2012/7/31 |
| 試驗機構     | 國立臺中教育大學                  | 執行地點 | 中教大體育系生理實驗室        |
| 申請日期     | 2010 年 12 月               |      |                    |

|                                                                                                                                                       |                                                                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>審查意見</p><br><br><br><p>審查結果    <input checked="" type="checkbox"/> 通過    <input type="checkbox"/> 不通過</p> <p><input type="checkbox"/> 其他：_____</p> |  |
| <p>召集人： <u>張振南</u>      審查日期： <u>99.12.28</u></p>                                                                                                     |                                                                                      |

## 附錄二 受測者同意書

研究題目：補充八週共軛亞麻油酸對運動後人體骨骼肌肉肝醣合成的影響

研究單位：國立臺灣體育運動大學

研究人員：曹榮鑣

長時間運動表現，肌肉肝醣不斷地提供能量，而已經耗盡的肌肉肝醣需要由外部補充能量，進而幫助肝醣回補，因此提高運動後骨骼肌肉肝醣合成的營養增補劑，對運動員是非常重要的。故本研究補充八週共軛亞麻油酸，在單次 75 %  $\dot{V}O_{2\max}$  腳踏車運動 60 分鐘後，恢復期間補充碳水化合物是否能增加肌肉肝醣回補。本研究招募十二名健康自願青年男性為受試者，分別參與兩項實驗，兩項試驗間隔八週，第一次試驗為補充八週共軛亞麻油酸前，第二次試驗為補充八週共軛亞麻油酸，兩項試驗受試者皆進行單次 60 分鐘、75%  $\dot{V}O_{2\max}$  腳踏車運動，實驗期間可以自由補充水分，運動後 0 小時接受肌肉穿刺及血液採樣，隨後補充高碳水化合物(2 克/每公斤體重)飲食，飲食補充後每隔 30 分鐘接受血液採樣，每隔 60 分鐘採集呼出之氣體，直到第 3 小時進行肌肉穿刺。我瞭解在參與研究期間，不可抽菸或喝酒，並盡量維持固定的生活作息、飲食、與運動訓練。

經由參與本研究，可以了解個人的各項生理生化資料，並且提供重要的運動科學資訊。您參與本研究所得的任何資料，都將接受資料保密的政策所保護，除了供給本研究者做為學術上的研究之外，不會對外洩露。

在此感謝您的參與本研究，在實驗期間，若您想退出本研究，您可以隨時告知，即可退出本研究，本研究者將不會有任何的異議。

在此我同意參與本研究，並配合研究者的要求。

同意人：\_\_\_\_\_ (簽名) 日期：\_\_\_\_\_

法定代理人：\_\_\_\_\_

住址：\_\_\_\_\_

聯絡電話：\_\_\_\_\_

### 附錄三 混和餐點營養成分表

| 飲食內容 | 體重<br>(公斤) | 70.0   | 營養成分分析          |                    |            |           |           |           |
|------|------------|--------|-----------------|--------------------|------------|-----------|-----------|-----------|
|      |            |        | CHO<br>(g/100g) | CHO<br>(g/serving) | 蛋白質<br>(克) | 脂肪<br>(克) | 醣類<br>(克) | 熱量<br>(卡) |
| 玉米片  | 0.86       | 60.2   | 84.0            | 50.6               | 4.2        | 0.5       | 50.6      | 223.5     |
| 低脂鮮奶 | 3.50       | 245.0  | 5.1             | 12.6               | 7.1        | 1.2       | 12.6      | 89.8      |
| 白土司  | 1.15       | 80.5   | 51.0            | 41.0               | 8.3        | 3.7       | 41.0      | 230.5     |
| 草莓醬  | 0.29       | 20.3   | 65.6            | 13.3               | 0.1        | 0.1       | 13.3      | 54.6      |
| 葡萄糖水 | 1.80       | 126.0  | 17.9            | 22.6               | 0.0        | 0.0       | 22.6      | 90.2      |
| 水    | 8.00       | 560.0  |                 | 140.1              | 0.0        | 0.0       | 0.0       | 0.0       |
| 總量   |            | 1092.0 |                 |                    | 19.7       | 5.5       | 140.1     | 688.5     |



#### 附錄四 肌肉穿刺步驟

- 1、在人體右側大腿找到股外側肌肉(vastus lateralis)，並做記號。
- 2、於記號處使用優碘與酒精各消毒三次。
- 3、鋪蓋已殺菌之洞巾。
- 4、注射 1-2 毫升局部麻醉藥 (2% Lignocaine)，內含血管收縮素防止出血。
- 5、使用 14 號肌肉穿刺針取得股外側肌肉樣本，取樣過程非常迅速，用一次即丟棄。
- 6、取出穿刺針後，局部再用優碘消毒，並用紗布壓迫止血，受試者休息 30 分鐘防止出血。若還有疼痛，再加以冰敷。
- 7、為防感染，受試者 2 天內禁止傷口碰水，並且每天更換紗布。
- 8、為防傷口再出血，三天內禁止運動，一星期內禁止激烈動。



## 附錄五 肌肉肝醣分析步驟

- 1、活體手術分離肌肉放於液態氮內(絕對需防止回溫，避免肝醣裂解)，進行秤重並紀錄。
- 2、在冰上，加入 500 $\mu$ l 1N KOH，再加入秤過的肌肉樣本於試管內，將試管用膜封裝。
- 3、將試管置入水浴槽內 30 分鐘，溫度控制於 70-80 $^{\circ}$ C，持續 vortex，直到樣本完全溶解。
- 4、取試管內肌肉溶液 100 $\mu$ l 置於 label 好的 1.5ml 小管中。
- 5、室溫下加入 250 $\mu$ l 的 0.3M sodium acetate buffer, pH=4.8，vortex 均勻。
- 6、立即調配冰醋酸水溶液 (glacial acetic acid : ddH<sub>2</sub>O = 1 : 1) 置於小管中，小管需用錫箔紙包起避光；加入 10 $\mu$ l 冰醋酸水溶液於肌肉樣本溶液中，vortex。
- 7、加入 250 $\mu$ l Amyloglucosidase (Amyloglucosidase in 0.3M sodium acetate buffer, 10mg/ml, pH=4.8)，vortex。
- 8、室溫下靜置至少 12 小時。此時可先 label 好隔天要用的小管 (2 ml)。
- 9、隔天，加入 25 $\mu$ l 的 1N NaOH，vortex。
- 10、配置校正液 (Blank)：150 $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O  
序列稀釋標準液 (standard)，分裝 2 小管(作 2 重複)  
將 10 $\mu$ l, 50mg/dl 葡萄糖溶液，加入 140 $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O 中；  
將 10 $\mu$ l, 100mg/dl 葡萄糖溶液，加入 140 $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O 中；  
將 10 $\mu$ l, 200mg/dl 葡萄糖溶液，加入 140 $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O 中；  
將 10 $\mu$ l, 400mg/dl 葡萄糖溶液，加入 140 $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O 中。  
(配完 standard 後，可先看吸光值，數值應從 400mg/dl 那管逐一減半)
- 11、肌肉樣本溶液取 150 $\mu$ l 各裝成 2 小管。
- 12、加入 1.5ml 呈色劑 (glucose color reagent, Trinder)，注意時間間隔，約每 30 秒加一管，才可控制每管的反應時間相同，vortex 均勻。
- 12、室溫下靜置 21 分鐘，第 21 分鐘使用免疫冷光分析儀 Beckman DU 650 UV-Spectrophotometer (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA) 檢測，波長定為 505nm。
- 13、輸出資料，進行資料分析。