



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

최 승 욱 교수지도

박사학위 청구논문

**L-arginine 투여가 에너지 대사 및
운동수행능력에 미치는 영향**

2010

성신여자대학교 대학원

체육학과

이 천 호

L-arginine 투여가 에너지 대사 및 운동수행능력에 미치는 영향

최 승 욱 교수지도

이 논문을 박사학위논문으로 제출함

2010년 5월

성신여자대학교 대학원

체육학과

이 천 호

인 준 서

이천호의 박사학위 논문으로 인준함.

심사위원 _____ ①

심사위원 _____ ①

심사위원 _____ ①

심사위원 _____ ①

심사위원 _____ ①

성신여자대학교 대학원

논문개요

본 연구는 L-arginine을 6주간 투여하였을 때 에너지대사 및 운동지속시간에 미치는 영향을 관찰하고자 하였다. 동물실험은 수컷 흰쥐 30마리를 세 그룹으로 나누어 통제집단(control group), L-arginine 투여집단(L-arginine treated group), L-NMMA투여집단(N^G -monomethyl-L-arginine treated group)으로 구분하였다. 6주 동안 매일 오전 9시에 L-arginine투여집단과 L-NMMA투여집단에게 각각 단위체중(kg)당 L-arginine은 10 mg/kg/day, L-NMMA은 5 mg/kg/day을 구강 내 투여하였다. 본 연구결과에서 혈중 인슐린 및 글루코스 농도는 L-arginine 투여집단이 유의하게 높았고 L-NMMA투여집단이 가장 낮은 결과를 보였다. 비복근과 가자미근에서 글리코겐, 글리코겐 합성효소, 산화질소 그리고 nNOS발현도 L-arginine 투여집단이 유의하게 가장 높았으며, L-NMMA투여집단은 가장 낮게 나타났다. 운동지속시간도 L-arginine 투여집단, 통제집단, L-NMMA투여집단 순이었다. 이러한 결과로 장기간의 L-arginine 투여가 nNOS 발현을 활성화시켜 NO 생성의 증가를 가져와 지구성운동시 골격근에 글루코스 섭취를 조절하는 요인으로 작용함으로써 운동지속시간 증가에 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 그리고 인체실험에서는 핀 수영선수 9명을 대상으로 하였다. 동일 피검자에게 Placebo섭취와 L-arginine(GNC co., USA)를 구분하여 섭취물질에 따른 변화를 관찰하는 반복측정 실험설계를 채택하였다. L-arginine 섭취 시 6주 동안 매일 아침식사와 함께 체중당 100 mg을 250 ml의 물과 함께 섭취케 하고 Placebo 섭취 실험에서는 L-arginine 섭취 실험과 같은 양의 물에 인공감미료를 용해시켜 같은 시간에 섭취하도록 하였다. 본 연구 결과에서 L-arginine 섭취는 Placebo 섭취보다 호흡상과 글루코스가 증가되었고, 젖산은 감소됨으로써 운동지속시간이 6.3분 정도 증가하였다. 중성지방과 인슐린은 섭취 물질 간에 차이가 없었다. L-arginine 섭취의 경우 글루카곤은 운동 15분과

60분에 증가되었고, 유리지방산은 Placebo 섭취 보다 감소되었다. 따라서 장기간 L-arginine 섭취는 간에서의 글루코스 공급을 증가시키고 NO 생성을 활성화시켜 골격근에 글루코스 섭취를 조절함으로써 운동지속시간을 연장시키는데 유효할 수 있다고 생각된다.

연구결과는 다음과 같다.

1. 혈중 인슐린은 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

2. 혈중 글루코스는 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

3. 비복근 글리코젠은 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

4. 비복근 글리코젠 합성효소는 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

5. 비복근 NO는 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

6. 비복근 NOS는 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

7. 가자미근 글리코젠은 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

8. 가자미근 글리코젠 합성효소는 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

9. 가자미근 NO은 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

10. 가자미근 NOS는 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

11. 최대수영시간은 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었다.

12. 호흡상은 Placebo 섭취보다 운동 30분부터 60분까지 L-arginine 섭취에서 유의하게 증가 하였다.

13. 혈중 글루코스 농도는 L-arginine 섭취가 Placebo 섭취 보다 운동 15분부터 60분까지 유의하게 증가하였다.

14. 젖산농도는 운동 15분과 45분 및 60분에 L-arginine 섭취가 Placebo 섭취 보다 유의하게 감소되었다.

15. 중성지방 농도는 섭취물질 간에 차이가 없었다.

16. 유리지방산 농도는 운동시작과 30분에 Placebo 섭취가 L-arginine 섭취보다 낮은 것으로 나타났다.

17. 인슐린 농도는 L-arginine 섭취와 Placebo 섭취에서 안정시와 운동시 증가되는 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

18. 글루카곤농도는 운동 15분과 60분에 유의하게 증가하였다.

19. 운동지속시간은 L-arginine 섭취가 평균 6.3분 정도 유의하게 증가되었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 L-arginine을 6주간 정기적으로 투여하였을 때 동물실험의 경우 골격근에서 nNOS 발현을 활성화시켜 NO 생성의 증가를 통해 글리코겐 농도가 증가됨으로써 운동지속시간이 증가되었으며, 인체실험에서는 간에서 글루코스 공급을 증가시키고 NO 생성을 활성화시켜 골격근에 글루코스 섭취를 조절함으로써 운동지속시간을 연장시키는데 유효할 수 있다는 결론을 도출하였다.

목 차

논문개요

I. 서론	1
1. 연구의 필요성	1
2. 연구 목적	3
3. 연구 가설	3
4. 용어 정의	5
II. 이론적 배경	8
1. L-arginine의 특성	8
2. 산화질소(Nitric oxide)	10
3. 인슐린과 글루코스 저장	12
4. 에르고제닉 에이드(ergogenic aids)	14
5. 선행연구	15
III. 연구 방법	17
1. 연구대상	17
2. 실험처치 및 설계	19
2. 실험절차 및 분석방법	20
3. 자료분석	25

IV. 연구결과	26
1. 혈중인슐린	26
2. 혈중글루코스	27
3. 비복근 글리코겐	28
4. 비복근 글리코겐 합성효소	29
5. 비복근 NO	30
6. 비복근 NOS	31
7. 가자미근 글리코겐	32
8. 가지미근 글리코겐 합성효소	33
9. 가지미근 NO	34
10. 가지미근 NOS	35
11. 최대수영시간	36
12. 운동 중 호흡상 변화	37
13. 운동 중 글리코스농도 변화	38
14. 운동 중 젖산농도 변화	39
15. 운동 중 중성지방농도 변화	40
16. 운동 중 유리지방산농도 변화	41
17. 운동 중 인슐린농도변화	42
18. 운동 중 글루카곤농도 변화	43
19. 운동지속 시간	44

V. 논의 45

VI. 결론 51

참고문헌

ABSTRACT

표 목 차

표 1. Physical characteristics of subjects	18
표 2. 혈중의 인슐린 농도	26
표 3. 혈중의 글루코스 농도	27
표 4. 비복근 글리코겐 저장량	28
표 5. 비복근 글리코겐 합성효소 발현	29
표 6. 비복근 NO의 활성	30
표 7. 비복근 NOS의 발현	31
표 8. 가자미근 글리코겐 저장량	32
표 9. 가자미근 글리코겐 합성효소	33
표 10. 가자미근 NO의 활성	34
표 11. 가자미근 NOS의 발현	35
표 12. 최대수영시간	36
표 13. 운동 중 호흡상 변화	37
표 14. 운동 중 글루코스 농도 변화	38
표 15. 운동 중 젖산농도 변화	39
표 16. 운동 중 중성지방의 변화	40
표 17. 운동 중 유리지방산농도의 변화	41
표 18. 운동 중 인슐린농도의 변화	42
표 19. 운동 중 글루카곤농도의 변화	43

그림 목 차

그림 1. L-arginine의 화학적 반응	9
그림 2. NO 촉매 반응	11
그림 3. 골격근에서의 인슐린 작용	13
그림 4. 실험동물의 분류와 그룹별 처치 및 실험 설계	17
그림 5. 실험설계	24
그림 6. 집단별 인슐린 농도	26
그림 7. 집단별 혈중 글루코스 농도	27
그림 8. 집단별 비복근의 글리코겐 저장량	28
그림 9. 집단별 비복근의 글리코겐 합성효소 발현	29
그림 10. 집단별 비복근의 산화질소 활성	30
그림 11. 집단별 비복근의 산화질소 합성효소 발현	31
그림 12. 집단별 가자미근의 글리코rps 저장량	32
그림 13. 집단별 가자미근의 글리코겐 합성효소 발현	33
그림 14. 집단별 가자미근의 산화질소 활성	34
그림 15. 집단별 가자미근의 산화질소 합성효소 발현	35
그림 16. 집단별 수영운동 시간	36
그림 17. 운동 중 호흡상 변화	37
그림 18. 운동 중 글루코스 농도변화	38
그림 19. 운동 중 젖산 농도변화	39
그림 20. 운동 중 중성지방 농도변화	40
그림 21. 운동 중 유리지방산 농도변화	41
그림 22. 운동 중 인슐린 농도변화	42
그림 23. 운동 중 글루카곤 농도변화	43
그림 24. 운동지속 시간	44

I. 서론

1. 연구의 필요성

현대과학의 발전과 더불어 스포츠 과학도 발전을 거듭하고 있으며, 모든 스포츠 경기가 점차 경쟁화 되면서 운동선수들과 스포츠 과학자들은 운동수행능력을 향상시키기 위한 다양한 연구를 진행하고 있다. 최근에는 효과적인 식이요법과 과학적 트레이닝 방법뿐만 아니라, 운동수행 향상물질(ergogenic aids)에 대한 관심이 높아지고 있는 실정이다(Gregory & Fitch 2007; McClung, 2007). 현재 운동선수들은 운동수행능력, 즉 경기력을 향상시키기 위해 다양한 영양물질들을 복용하고 있다. 이러한 영양보조물질 중에서 아미노산은 단백질합성의 전구체가 될 뿐 아니라, 아미노산의 유도체가 여러 가지 생리적 기능을 주관하고 있기 때문에 많은 관심을 끌고 있으며, 그 역할과 기능에 대한 많은 연구와 새로운 보고들이 발표되고 있다. 아미노산은 인체 내에서 단백질 구성단위의 역할 그리고 호르몬, 보조효소, 신경전달물질 등의 전구체로, 다양하고 중요한 생물학적 역할을 담당한다(Lehninger et al., 1993). 아미노산 중에서 L-arginine은 염기성 아미노산이고 모든 세포에서 사용되는 조건부 필수 아미노산으로 분류된다(Visek, 1986). L-arginine의 주요 기능 중 하나는 단백질합성이며, 아미노산 요소의 형성을 통해 질소가 분해 작용을 하는 동안 형성된 암모니아의 해독에도 관여한다(Campbell et al., 2004). 또한 L-arginine은 산화질소, 크레아틴, agmatine, 글루타민산염, 오르니틴, 시트룰린과 같은 다양한 생물학적 활동 및 합성 등 수많은 대사 경로에 의해 이용된다(Tong & Barbul 2004; Wu & Morris, 1998). 이러한 생리활성 뿐만 아니라, 운동수행과 관련하여 L-arginine은 creatine 합성과 산화질소(nitric oxide; NO)를 증가시켜 운동수행능력을 향상시키는 물질로

알려져 있기 때문이다(Chromiak, & Antonio 2002; Campbell et al., 2004). NO는 산화질소합성효소(Nitric Oxide Synthase: NOS)에 의해 합성되며 (Bredt et al., 1990), L-arginine의 Guanidino Nitrogen이 산화되어 만들어지는데 이때 산소와 NADPH (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)를 L-arginine과 같이 기질로 삼아 L-citrulline이 생성된다(Fike et al., 2000; Michel & Feron, 1997). NOS는 전신에 분포하는 nNOS(neuronal NOS: NOS I)와 cytokine에 의해 조절되고 대식세포에 존재하여 세포독성에 관여하는 iNOS(inducible NOS; NOS II)가 있으며 혈관 내피세포에 특징적으로 존재하는 eNOS(endothelial NOS; NOS III)가 있다. 이와 같이 NOS는 서로 다른 성질을 가진 세 종류의 이성질체(isoform)로 구성되는데 분포하는 세포에 따라 세 가지 형태로 나뉜다(Alderton et al., 2001). 인체의 골격근에서 nNOS는 근섬유의 근섬유막과 세포질에 위치한다(Frandsen et al., 1996). L-arginine의 식이보충은 NOS 활성을 증가시키며, NO의 전구체인 L-arginine 투여는 NO 생성에 변화를 가져 올 가능성이 있다고 제시되고 있다(Wu & Morris, 1998). 또한 NO는 인슐린과 근수축에 의한 글루코스 이동을 증가시킴으로써 운동시 골격근에 글루코스 섭취를 조절하며 운동수행능력을 증가시킨다고 하였다(Kingwell et al., 2002; Balon & Nadler, 1997; Etgen et al., 1997). 이와 같이 L-arginine 섭취는 근육으로의 글루코스 섭취 증가와 해당과정을 억제 하며(Balon & Nadler, 1994; Mohr et al., 1996), 미토콘드리아의 호흡을 포함한 근육 대사를 조절하여(Reid, 1998) 근 피로를 유발하는 대사산물인 젖산과 암모니아를 감소시킨다(Schaefer et al., 2002). 또한 혈중에 L-arginine농도가 증가하면 글루카곤 분비를 촉진함으로써 간에서 글루코스 공급을 증가시켜 근육에서 글루코스 이용을 향상시킨다고 하였다(Trabelsi & Lavoie, 1996; Colombani et al., 1999). 따라서 장기간의 L-arginine 섭취는 NO 생성의 활성화와 간에서 글루코스 공급을 증가시키는 상승효과를 도모하여 골격근의 글루코스 섭취에 중요한 조절자로 작용할 수 있을 것이며, 운동선

수에게 적용된다면 경기력 향상에 중요한 결과를 도출 할 수 있을것으로 사료된다. 지금까지 L-arginine의 장기섭취로 NO의 발현을 도모하여 골격근내로의 글루코스 유입을 증가시킴으로서 운동시 탄수화물대사에 중요한 글리코겐의 이용을 개선시켜 지구성운동능력을 향상시키고자 하는 연구는 부족한 실정이다. 이에 본 연구는 L-arginine을 장기간 투여 했을때 골격근에서 nNOS 발현을 활성화시켜 NO 생성을 증가시킴으로써 에너지 대사를 활성화 시켜 운동수행능력이 향상되는지 알아보하고자 한다.

2. 연구 목적

본 연구는 장기간의 L-arginine 투여로 흰쥐의 골격근에서 NOS 발현을 활성화시켜 NO 생성을 증가시킴으로써 근육으로의 글루코스 섭취가 증가되어 지구성 운동능력이 향상되는지 관찰하고, 이러한 실험동물의 결과를 근거로 인간에게 장기간 L-arginine을 투여했을 때 지구성 운동시 탄수화물대사와 관련된 에너지기질 이용의 변화와 지구성운동능력에 미치는 영향을 분석하고자 하였다.

3. 연구 가설

본 연구에서 설정한 가설은 다음과 같다.

- 첫째, L-Arginine 투여가 집단별 혈중 인슐린 생성에 차이가 있을 것이다.
- 둘째, L-Arginine 투여가 집단별 혈중 글루코스 생성에 차이가 있을 것이다.
- 셋째, L-Arginine 투여가 집단별 비복근 글리코겐 생성에 차이가 있을 것이다.
- 넷째, L-Arginine 투여가 집단별 비복근 글리코겐 합성효소 생성에 차이가 있을 것이다.

다섯째, L-Arginine 투여가 집단별 비복근 NO 생성에 차이가 있을 것이다.
여섯째, L-Arginine 투여가 집단별 비복근 NOS 생성에 차이가 있을 것이다.
일곱째, L-Arginine 투여가 집단별 가자미근 글리코겐 생성에 차이가 있을 것이다.

여덟 번째, L-Arginine 투여가 집단별 가자미근 글리코겐 합성효소 생성에 차이가 있을 것이다.

아홉 번째, L-Arginine 투여가 집단별 가자미근 NO 생성에 차이가 있을 것이다.

열 번째, L-Arginine 투여가 집단별 가자미근 NOS 생성에 차이가 있을 것이다.

열한 번째, L-Arginine 투여가 집단별 수영 시간에 차이가 있을 것이다.

열두 번째, 호흡상은 L-arginine 섭취가 Placebo 섭취 보다 유의하게 증가할 것이다.

열세 번째, 글루코스 농도는 L-arginine 섭취가 Placebo 섭취 보다 유의하게 증가할 것이다.

열네 번째, 젖산 농도는 L-arginine 섭취가 Placebo 섭취 보다 감소할 것이다.

열다섯 번째, 중성지방 농도는 L-arginine 섭취가 Placebo 섭취 보다 유의하게 증가할 것이다.

열여섯 번째, 유리지방산 농도는 L-arginine 섭취가 Placebo 섭취 보다 유의하게 증가할 것이다.

열일곱 번째, 인슐린 농도는 L-arginine 섭취가 Placebo 섭취 보다 유의하게 증가할 것이다.

열여덟 번째, 글루카곤 농도는 L-arginine 섭취가 Placebo 섭취 보다 유의하게 증가할 것이다.

열아홉 번째, 운동지속시간은 L-arginine 섭취가 Placebo 섭취 보다 유의하게 증가할 것이다.

4. 용어 정의

1) L-arginine

Arginine은 영양학적으로 인간의 성장을 위한 필수아미노산이다. 쥐의 경우 체내에서 합성되지만, 정상적인 성장을 위한 충분한 양은 아니다. L-arginine은 creatine의 생합성을 위한 formamidine donor 뿐만 아니라, 세포내 신호 분자인 산화질소의 전구체 역할을 수행한다.

2) 산화질소(Nitric oxide; NO)

단지 몇 초의 반감기를 가지는 불안정한 분자로서, 내피세포로부터 파생되어 혈관을 이완시키는 강력한 인자이다. 산화질소는 L-arginine, 분자산소, NADPH, 그리고 다른 인자로부터 효소인 NOS에 의해서 활성화 된다. nNOS는 근섬유의 근섬유막과 세포질에 위치한다. NO는 대부분의 포유류 동물의 세포내에서 생성되고 신경계에서는 화학적 신호전달 물질이다. 골격근에서는 대사와 근수축 조절 등 생리학적으로 중요한 조절물질로 알려져 있다.

3) 산화질소 합성효소(Nitric oxide synthase; NOS)

NOS는 내인성 기질인 L-arginine을 이용해 NO를 생성하며 NOS는 eNOS, nNOS, iNOS등 3가지 형태가 있다. 이 중 eNOS와 nNOS는 정상적인 생리적 기능을 위한 NO를 생성하는 반면 iNOS는 평상시에는 세포 내에 존재하지 않다가 외부 상처에 대한 반응 및 염증 같은 면역방어기전의 다양한 과정을 매개하는 cytokines 인 interleukin1 등 염증 원인 내 독소 LPS(lipopolysaccharide)등에 의해 발현하면 NO를 생성한다. 그리고 eNOS와 nNOS는 calmodulin이 존재한 곳에 cytoplasmic 칼슘이온이 증가됨으로써 빠르게 활성화 되며, shear stress와 estrogen에 의해서 활성화 된다.

4) L-NMMA

L-NMMA(N^G -monomethyl-L-arginine)는 NO synthase 억제제이다.

5) 인슐린(Insulin)

인슐린은 췌장의 β 세포에서 합성, 분비되는 것으로 혈액 속의 포도당의 양을 일정하게 유지시키는 역할을 한다. 혈당량이 높아지면 분비되어 혈액 내의 포도당을 세포로 유입시켜 글리코겐의 형태로 저장시키도록 하며 간세포의 글루코스를 억제한다. 그리고 인슐린은 부신수질에서 분비되는 혈당조절 호르몬으로 세포로 당을 유입시켜 글루코스와 지방산을 저장하는 역할을 한다. 운동을 지속적으로 수행하게 되면 인슐린의 양은 감소하고 글루카곤의 양이 증가하게 되는데 이는 운동자체가 인슐린과 같은 작용을 하기 때문에 인슐린의 분비가 억제되는 효과가 있다.

6) 글루코스(Glucose)

글루코스는 탄수화물 대사의 중심적 화합물로서 그 이용 경로는 매우 복잡하며, 에너지원으로서 분해되는 경로는 특히 중요하다. 글루코스는 먼저 헥소키나아제의 작용으로 글루코스-6-인산이 되고, 해당과정을 거쳐서 피루브산으로 분해된다. 또한 호기적 조건에서는 TCA회로를 거쳐서 이산화탄소와 물로 분해된다. 글루코스는 이러한 세포호흡을 통해 분해되어 에너지를 생산하고, 그 에너지는 ATP의 형태로 저장된다. 이 에너지는 발효·호흡 등에 사용된다.

7) 글리코겐(Glycogen)

근육세포에서, 글리코겐은 포도당이 필요할 때 즉시 포도당을 공급하는 역할을 한다. 기타 세포들도 글리코겐을 저장하고 사용한다. 근육세포에는 포도당육인산화효소(글루코오스-6-포스파타아제)가 없어 포도당을 혈액으로

운반할 수 없다. 따라서 간세포와는 달리, 근육 내부에 저장된 글리코겐은 근육세포에서만 소모된다.

8) GLUT4 (glucose transporters4)

인슐린 의존성 포도당 운반체이다. 즉, GLUT 4를 암호화하는 GLUT 4 gene의 발현은 인슐린에 의해 조절된다. 지방조직, 심장근, 골격근 세포에서 발견된다.

9)에르고제닉 에이드(ergogenic aids)

그리스어에서 일(ergo)과 생산(gen)의 합성어로 에르고제닉은 일을 할 수 있는 잠재능력을 향상시킨다(increase potential for work output)는 뜻과 돕는다(aid)뜻이 합성된 용어로 경기력 향상을 목적으로 트레이닝 이외에 사용하는 영양보조물이나 심리적, 기술적 처치들을 뜻한다.

II. 이론적 배경

1. L-arginine 특성

1886년, Schulze 및 Steiger 가 루핀(Lupin) 발아물의 물 추출액에서 얻어진 침전물 중에서 발견하여 명명하였다. 생체 내에서는 암모니아의 대사나 요소의 합성에 관여하는 요소 사이클의 중간체로서, 아르기닌노호박산으로부터 생합성되고, 아르기나아제에 의해서 분해되어 요소와 오르니틴으로 되어, 글루타민산을 거쳐 TCA사이클에서 주로 대사된다(Rodriguez et al., 2003; Morris et al., 2002). 체내에서 정상치 이하일 경우 생리적 욕구를 충족시키기 위해 체내에서 합성되지만 필요량을 충족시키기 위해 식사의 형태로 적당량 섭취해야 하는데 면역상태를 증진을 위한 경장영양과 정맥영양의 면역영양 공급원으로도 사용된다. 또한 생명유지를 위한 단백질 합성과 뇨 형성 과정에서 생성되는 암모니아의 해독작용 및 산화질소, creatine, polyamines, L-glutamate, L-poline, agmatin, tetrapeptide tuftsins 등과 함께 면역 조절 물질로도 작용하며, 당신생 아미노산으로 사용되거나 생물적 에너지를 생산을 위해 분해될 경우 D-glucose나 glycogen으로 전환될 수 있다. 과량의 L-arginine은 뇌하수체의 성장호르몬과 prolactin, 췌장의 glucagon과 Insulin 분비를 자극한다. 분자식은 $C_6H_{14}N_4O_2$, 분자량 174.20 dalton으로 알려져 있다. 아르기닌은 단백질의 구성단위의 하나로서, 생체 내에서 오르니틴 회로의 구성성분이며, 아르기나제의 작용에 의해 요소와 오르니틴으로 분해되며, 또한 시트룰린과 아스파라긴산으로부터 생성된다(Rodriguez et al., 2003). 아르기닌은 생체 내에서 각종 조직의 기능을 조절하는 작용을 하며, 특히 면역기능 향상과 종양세포를 억제하는 항암활성을 나타낸다(Roomi et al., 2005).

1) L-arginine의 화학반응

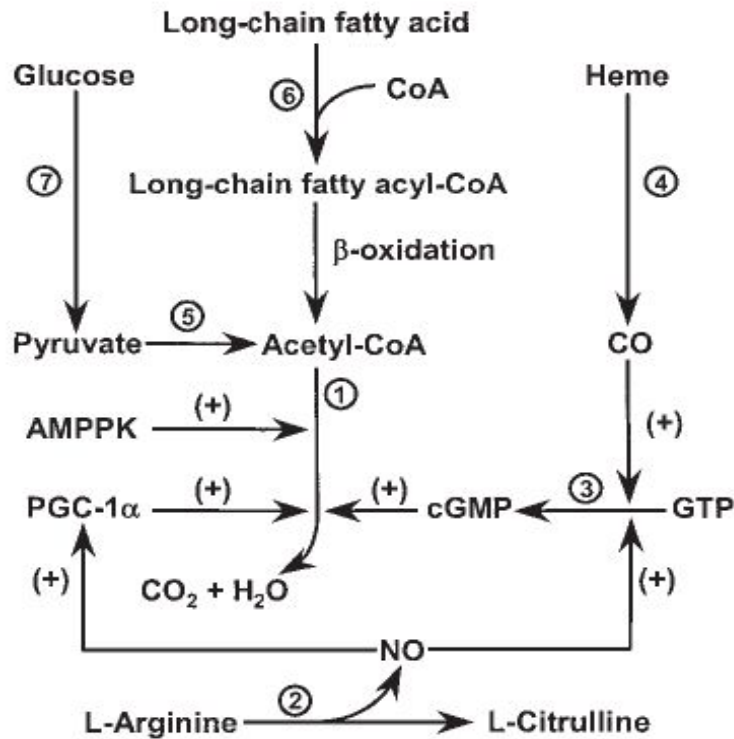


그림1. L-arginine의 화학적 반응(Fu WJ et al, 2005)

산화 기질 아르기닌 보충의 역할을 위해 제시된 메커니즘.

- (1) 크렙스 회로 효소
- (2) 산화질소 신타아제
- (3) 구안닐리 싸이클러제
- (4) 헴산화효소(HO)
- (5) 피부르산염 탈수소효소
- (6) 필수지방 아실코에이(지방산의 운반분자) 효소
- (7) 당분해 효소

2. 산화질소(Nitric Oxide)

1) 산화질소(Nitric Oxide)의 반응

NO는 L-arginine 산화질소 경로 (L-arginine/nitric oxide pathway)를 통하여 산화질소 합성 효소(nitric oxide synthase: NOS)가 L-arginine을 기질로 삼아 합성되며, 전하를 띠지 않으므로 세포내나 세포막을 가로질러서 세포 사이를 자유롭게 확산하여 이동할 수 있는 무기물질로 이루어진 신호전달물질이다. NO가 혈관계에서 혈관 이완과 혈류를 조절하는 신호 전달자(signaling molecules)로 작용하는 것은 guanylate cyclase를 활성화하여 cyclic guanosine monophosphate(cGMP)를 생산함으로써 혈관의 평활근 세포를 이완 시키기 때문이다(Rapoport et al., 1983). 따라서 NO 생산의 결함과 내피세포 장애는 다양한 심혈관질환을 가진 환자의 운동능력을 제한하는 중요한 요소가 될 수 있다. NO가 내피세포성 이완인자(endothelial derived relaxing factor: EDRF)로 알려지면서 NO의 전구물질인 L-arginine 투여를 주제로 한 대부분의 연구들은 고혈압, 당뇨, 간경변, 허혈성 심장질환, 뇌 조직의 허혈 재관류 손상 등의 질환에서 혈관 내피세포 기능의 개선에 초점이 맞추어 졌다. NO는 세포막에 위치하고 있는 cellular guanylate cyclase를 자극시켜 세포내 2차 신호전달물질인 cGMP농도의 상승에 관여하며 결과적으로 세포내 칼슘농도를 저하시켜 혈관의 평활근을 이완시킨다(Segal, 1994).

따라서 NO는 혈관의 확장을 촉진하고 저항을 감소시킴으로써(Campbell et al., 2004) 내피세포의 기능장애를 조절하여 다양한 심혈관 질환을 개선시키며, NO의 전구물질인 L-arginine 섭취가 심혈관 질환자의 운동능력에 증가를 가져온다는 연구들이 제시되고 있다(Cheng & Baldwin, 2001; Ceremuzynski & Herbaczynska, 1997; Craeger et al., 1992). 골격근 대사에서 NO의 중요 기능은 혈관확장을 통해 에너지 기질의 공급과 섭취를 증가시키는 것이다(Kobzik et al., 1994). NO는 운동에 의한 혈류량 증가

(hyperaemia)에 영향을 미치며(Lau et al., 1998), 글루코스 섭취, 해당과정, 미토콘드리아의 호흡을 포함한 근육 대사를 조절한다고 보고하고 있다(Reid, 1998). NO의 이러한 기능이 외인성 L-arginine 투여로 향상된다면 골격근에 글루코스 섭취를 증가시켜 지구성 운동능력의 개선에 중요한 결과를 얻을 수 있을 것이다.

2) 산화질소(Nitric Oxide)의 촉매 반응과 기전

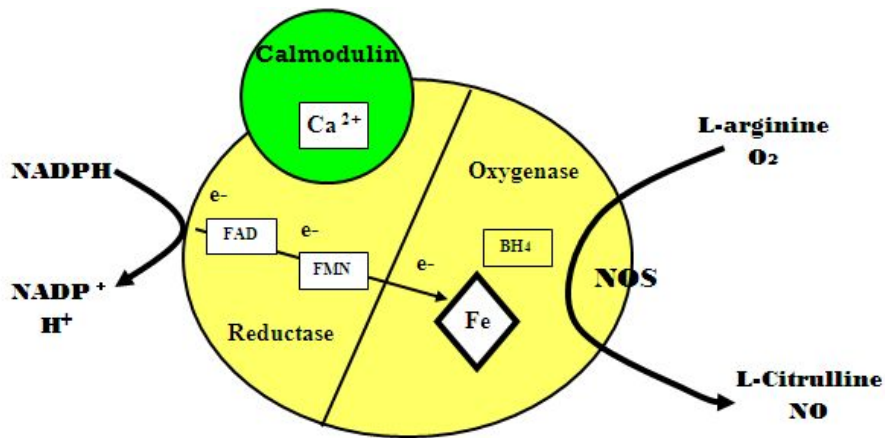


그림2. NO 촉매 반응

전자는 NADPH에 의해 효소의 환원효소영역에 제공되고 FAD과 FMN 산화환원 반응 운송체를 통해 산소와 효소 영역까지 진행된다. 그것들은 생 산물과 같이 L-arginine, 시트룰린, NO와 산소촉매반응을 위한 활동장소에서 haem iron과 BH4와 상호 작용을 한다. 전자는 화합 Ca^{2+} CaM의 존재를 필요로 하는 환원효소 영역을 통해 흐른다(Alderton et al., 2001).

3. 인슐린과 글루코스 저장

인슐린은 내분비 기능을 하는 랑게르한스섬의 베타세포에서 분비되는 폴리펩티드 호르몬으로서 식사 등에 의해 혈당이 상승되면 분비가 촉진되고, 조직에 따라 연료의 이용을 조절하며 단백질의 합성을 도와주는 가장 중요한 호르몬 중의 하나이다(Longhurst et al., 1979). 인슐린은 골격근, 심근, 지방조직 등에 혈당의 흡수를 촉진시키고 혈당이 저하가 되면 인슐린 분비는 억제된다. 인슐린의 정상 신호체계는 인슐린이 세포막에 존재하는 인슐린 수용체 (Insulin receptor; IR)에 부착한 후, 세포질 내에서 인슐린 수용체 기질 IRS-1(Insulin receptor substrate-1)에 의해서 세포내 신호경로가 관여하며, 세포내 티로신 인산과정은 IRS-1의 자기인산화를 촉진하고, 활성화된 IRS-1은 PI3-Kinase(phosphatidylinositol 3-kinase)와 같은 신호경로의 활성화를 통해 당수송체인 GLUT4(glucose transporter 4)가 세포막으로 이동(translocation)이 일어나 세포내로 글루코스의 흡수를 증가시킨다(Jessen & Goodyear, 2005; Goodyear et al., 1995). 또한 근수축시 글루코스 섭취의 조절은 칼슘, PKC(protein kinase C), AMPK(AMP activated protein kinase), NO(nitric oxide)등 다양한 요인들이 관여한다(Richter et al., 2001; Hayashi et al., 1997). 이러한 요인 중에 산화질소(NO)는 인슐린과 근수축에 의한 글루코스 전달 증가 강화에 작용함으로써 운동 시 골격근에 글루코스 섭취를 조절하며 운동수행능력을 증가시킨다고 한다(Kingwell et al., 2002; Balon & Nadler, 1997; Etgen et al., 1997).

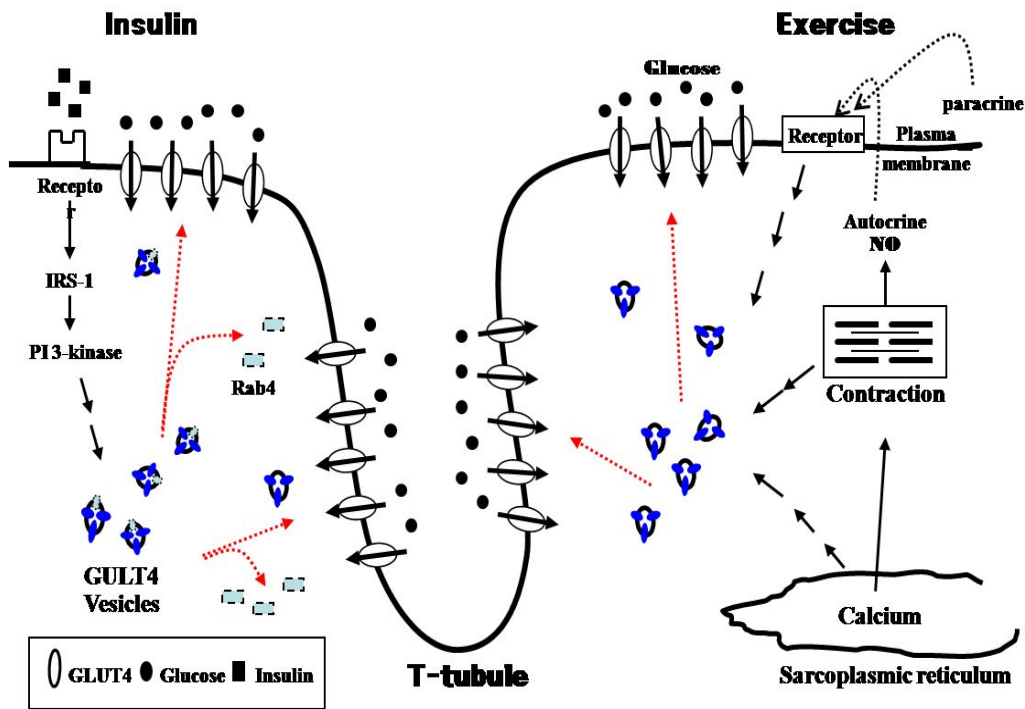


그림3. 골격근에서의 인슐린의 작용

근육 수축과 인슐린은 GLUT 4의 이동을 야기 시킨다. GLUT 4를 함유한 소낭(vesicles)의 세포내 기원은 분명하지 않지만 운동과 인슐린은 별개의 GLUT 4를 함유한 소낭을 보충하는 것으로 보인다. 인슐린 유발 GLUT 4의 이동은 인슐린 수용체 기질 IRS-1(Insulin receptor substrate-1)과 PI3-Kinase(phosphatidylinositol 3-kinase)와 Rab4의 배치전환을 포함한다. 수축은 PI3-Kinase와 AMPK(AMP activated protein kinase)를 독립 메커니즘으로 이용하고 Rab4의 재배치를 유발하지 않는다(Hayashi et al., 1997).

4. 에르고제닉 에이드(ergogenic aids)

운동선수들의 운동수행능력향상에 영향을 미치는 요인들에는 체력, 영양상태, 트레이닝방법 그리고 영양학적 에너지 보충제(Nutritional ergogenic aids)의 섭취 등을 들 수 있다.(Willams, 1998). 운동선수들의 경기력 향상에 대한 관심이 증대되면서 최근 운동수행능력을 향상시키기 위한 목적으로 에르고제닉 에이드(ergogenic aids)에 대한 관심이 크게 증대되고 있다. 운동수행능력의 증진을 목적으로 사용되는 보조물에는 암페타민, 베타 차단제, 카페인 코카인, 이뇨제 등이 있으며 호르몬제에는 혈액 도핑, 염기성 약물 등이 있다 (Willmore & Costill, 1995). 이러한 영양보조물질 중에서 에너지대사와 관련된 탄수화물을 운동시 섭취는 혈당 보충과 포도당 산화를 증가시킴으로써 운동수행능력을 증가시켰으며(Coyle, 1994), 탄수화물과 지방이 혼합된 용액의 섭취 시 운동수행능력이 향상에 도움이 되었다(Lambert, Hawley, Noakes. & Dennis, 1996). 인체 내 보충된 탄수화물은 근 글리코겐의 저장량을 증가시켜 (Ahlborg & Felig 1976) 운동 중 근육과 간 glycogenolysis 비율을 촉진할 수 있는 잠재적 역량을 높게 하여(Vissing, Wallace, Scheurink, Galbo, & Steffeys, 1989) 결과적으로 운동수행능력을 증가시킨다고 하였다. 에너지 보충제로 탄수화물의 효과가 입증 되었다.(Bergstrom & Hultman, 1996; Noble, 1986). 이렇듯 지구성 운동시 에너지 대사의 활성화 과정에서 탄수화물이 주된 에너지원으로 역할을 하게 된다.(Felig & wahren, 1971). 그중 BCAA(Branched-chain amino acid)는 근 단백질에 존재하는 필수 아미노산 중 약 30%를 구성하는 물질로서 운동시간이 길어질 경우 골격근에서 산화되어 에너지원으로 이용되는 대표적인 아미노산 이다.

운동시 활동근에서 BCAA의 분해는 상당히 증가되며, 활동근에서의 산화율 증가는 혈장 BCAA 농도를 감소시킨다. 그리고 BCAA의 분해 및 산화정도는 운동 강도와 운동 지속시간에 의존한다(Kaspert & Snider, 1987). 특히, BCAA

의 산화율은 근 glycogen이 고갈되는 수준에서 상당한 수준으로 증가된다 (Block & Buse, 1990). 운동이 시작되면 근육내의 유리 아미노산중 glutamate의 농도는 감소하고 alanine 농도는 증가하는 것으로 알려져 있다(Sahlin, Katz, & Broberg, 1990). 고강도 운동수행 시 신체의 산성증 현상은 무산소성 해당과정을 제한하고 세포내 pH농도를 저하시키는 원인이 되어 젖산과 수소이온 농도(H⁺)를 증가시켜 피로를 증가시키는 가장 중요한 요인으로 작용한다(Sahlin, 1986). 이러한 인체의 산성화 현상은 정상 상태에 비하여 피로를 빠르게 느끼게 하여 탈진을 지속시키게 되는데 이를 사전에 저지하는 목적으로 인위적으로 알칼리화 시킨다면 혈중젖산농도의 증가와 운동수행능력의 향상이 가능하다는 연구가 보고되고 있으며 많은 연구가 진행 중에 있다.

5. 선행연구

지금까지 NO의 전구물질인 L-arginine 투여를 주제로 한 대부분의 실험들은 NO가 내피세포성 이완인자(endothelial derived relaxing factor)로 알려지면서 고혈압, 당뇨, 간경변, 허혈성 심장질환, 뇌 조직의 허혈 재관류 손상 등의 질환에서 NO 합성과 분비 증가에 중요한 역할을 할 것으로 생각되어 혈관 내피세포 기능의 개선에 초점이 맞추어졌다. 또한 NO가 항산화효과를 상승시키는 것은 세포막에 위치하고 있는 cellular guanylate cyclase를 자극시켜 세포내 2차 신호전달물질인 cGMP농도의 상승에 관여하기 때문으로 세포내 여러 질환과 항산화효소들의 변화에 관해서도 연구가 진행되었다. Balon 과 Nadler(1994)는 쥐에게 8주간 트레드밀 운동을 실시한 결과 골격근에서 NOS 증가를 확인 하였고, Roberts 등(1999)도 트레드밀 달리기 운동 후 비복근에서 NOS가 증가되는 것을 관찰 하였다. 그리고 Silveira 등(2003)과 Tidball 등(1998)은 쥐에게 전기 자극을 주었을 때 골격근에서 NO 생산이 증가된다고 하였다. 이와 같이 운동이 NOS의 발현을 증가시켜 NO 생성에 변화를 가져

올수 있다는 연구도 보고되고 있다. 고 콜레스테롤 쥐와 정상 쥐의 경우 L-arginine을 식이로 보충한 결과 최대산소섭취량이 증가되며(Maxwell et al., 2001) 특히 L-arginine의 장기섭취가 심혈관 질환을 보유한 환자의 최대산소섭취량을 증가시킨다고 제시(Cheng & Baldwin, 2001; Ceremuzynski et al., 1997; Rector et al., 1996)되고 있으나 건강한 사람의 경우 효과가 없었다는 연구(Abel et al., 2005)도 관찰되고 있어 명확한 결론에 도달되지 못하고 있다. 또한 실험동물에서 산화질소 합성 억제제를 투여할 경우 근육내 글루코스 섭취가 감소되는 것에 관해서도 논쟁이 계속되고 있어 후속연구가 필요한 실정이다(Stephens et al., 2004 ; Rottman et al., 2002; Higaki et al., 2001). 그리고 L-arginine이 성장억제 호르몬인 somatostatin 분비를 제한하여 성장호르몬 분비를 촉진할 수 있어 골밀도와 관련이 있으며(Collier et al., 2006) 운동시 축적된 젖산농도의 감소에 효과가 있다고 한다(Burtscher et al., 2005). 그러나 L-arginine 정맥 주입은 건강한 사람과 관상동맥질환을 가진 환자의 심박수와 혈압에 영향이 없었으며(Brett et al., 1998; Quyyumi, 1998), 특히 운동시 사람의 골격근에 L-arginine을 주입한 경우에도 골격근의 혈류에 영향이 없었다(Hickner et al., 1997). 이와 같이 단기간에 주입되는 L-arginine의 정맥주사는 골격근의 혈류에 영향을 미치지 못하는 것으로 제시되고 있다. 지금까지 L-arginine 투여가 영향이 없었다는 연구들을 종합해 보면 섭취기간이 단기간에 수행된 실험들이었다. 그리고 실험설계도 운동수행시간이 짧았고, 운동강도가 높았으며, 점증적 부하로 설정된 8-15분 정도의 최대산소섭취량을 이용한 실험으로 구성되었다. 따라서 L-arginine을 장기간 투여했을 때 골격근의 nNOS 발현과 NO 생성에 변화를 관찰하여 지구성운동시 에너지 대사에 미치는 영향을 분석하는 것은 의미있는 결과를 도출할 것으로 생각된다.

III. 연구 방법

1. 연구대상

1) 실험동물

본 연구는 Korea Institute of Toxicology에서 분양받은 4주령 ICR계 수컷 흰쥐 30마리를 대상으로 하였다. 실험동물 사육실은 사육실내의 온도, 습도, 조명 등이 자동 제어되어 일정한 조건의 사육환경을 제공하도록 되어 있는 시설을 갖추어 실험동물에 영향을 미치는 환경적 요인을 제어하였다. 실험동물은 총 30마리를 세 그룹으로 나누어 통제집단(Control group: CON) 10마리, L-arginine 투여집단(L-arginine treated group; LAG) 10마리, L-NMMA투여집단(N^G -Monomethyl-L-arginine treated group; LNG)) 10마리로 구분하여 6주간 사육하였다. 실험동물의 분류와 그룹별 처치에 대한 실험설계는 <그림 4>과 같다.

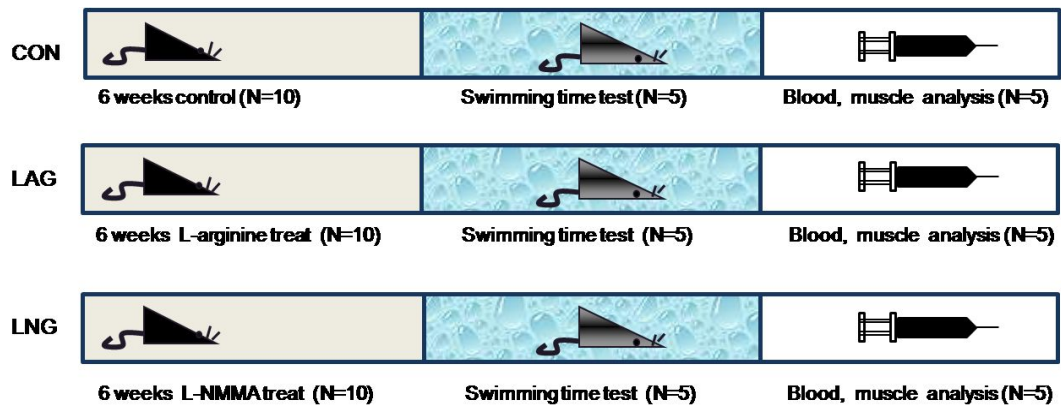


그림 4. 실험동물의 분류와 그룹별 처치 및 실험 설계.

2) 인체실험

본 연구의 대상자는 K 대학교(3명)와 H고교(6명)에 재학 중인 핀 수영선수 9명을 대상으로 하였다. 이들은 실험 전 6개월 이내에 영양보조물이나 약물을 복용한 적이 없었고 건강상태가 양호하였다. 피검자의 신체적 특성은 표 1과 같다

표 1. Physical characteristics of subjects

Year(y)	17.7±1.6
Body height(cm)	171.9±6.2
Body weight(kg)	72.8±6.7
VO ₂ max(ml/kg/min)	44.7±6.5
Career(y)	4.6±1.2

Values are mean±SD

2. 실험처치 및 설계

1) 실험동물

본 연구에 본 연구에서 통제집단은 일반 멸균 사료와 무균음료를 충분히 제공하였다. L-arginine 투여에 따른 효과를 분석하기 위한 L-arginine 투여 집단은 매일 오전 9시에 단위체중(kg)당 10 mg의 L-arginine을 구강 내 투여하였고, L-NMMA투여집단도 매일 오전 9시에 단위체중(kg)당 5 mg의 L-NMMA을 구강 내 투여하였다.

(1) L-arginine & L-NMMA 투여

본 실험에 사용될 L-arginine (Sigma, U.S.A)은 NO의 전구체로서 사용되며, L-NMMA (Calbiochem, U.S.A)는 NOS의 억제제로 사용되었다. 통제군의 경우 본 실험 전까지 정상식을 실시하고 투여 그룹(L-arginine 투여, L-NMMA투여)은 존대(oral zonde needle)를 사용하여 구강 내 투여하였다. 모든 투여는 오전 9시 1회 동일한 방법으로 실시하였다.

2) 인체실험

본 연구에서는 동일 피검자에게 물 투여(Placebo)와 L-arginine(GNC co., USA) 투여로 구분한 후 이 두 물질을 6주 간격으로 반복 적용하여 투여물질에 따른 변화를 관찰하는 반복측정 실험설계를 채택하였다. 투여물질을 달리한 처치 순서는 이중 맹검에 의한 무작위 할당법을 적용하였다. L-arginine 투여 시 6주 동안 매일 아침식사와 함께 체중당 100mg을 250ml의 물과 함께 섭취케 하고 물 투여실험에서는 L-arginine 투여 실험과 같은 양의 물에 인공감미료(레몬즙 첨가)를 용해시켜 같은 시간에 섭취하도록 하였다.

3. 실험절차 및 분석방법

1) 실험동물

(1) 측정변인

본 연구에서 L-arginine 투여에 대한 효과를 관찰하기 위하여 최대 수영 운동시간, 혈중 인슐린 및 글루코스 농도를 분석하였고, 비복근(gastrocnemius muscle)과 가지미근(soleus muscle)에서 글리코겐(Glycogen), 글리코겐 합성효소(Glycogen Synthase; GS), 산화질소(Nitric Oxide; NO) 그리고 산화질소 합성효소(Nitric Oxide Synthase ; NOS)발현을 분석하였다.

(2) 최대 수영운동능력시간 측정

최대 수영운동능력시간 측정은 물의 온도 30℃로 유지하였으며, 수조풀은 가로 180cm, 세로 70cm, 높이 80cm, 크기의 직사각형 수조풀을 이용하였고, 실험동물의 꼬리가 수조풀 바닥에 닿지 않도록 수위를 조절하였다. 최대수영운동능력 시간의 측정은 한번에 6마리씩 탈진 시까지 수영운동을 시켰고, 실험동물이 수면에서 바닥으로 가라앉아 10초 이내에 다시 수면으로 떠오르지 못할 때를 탈진(exhaustion)으로 판정하여 그때까지의 시간을 최대수영운동능력으로 측정하였다.

(3) 혈액채취 및 혈액 분석

본 연구에서는 6주간의 실험종료 후 실험동물의 복대정맥에서 혈액을 채취하였으며, 채취된 혈액은 즉시 4℃에서 3,000 rpm으로 20분간 원심분리하여 혈청에서 인슐린, 글루코스를 측정하였다. 인슐린은 Insulin Ab가 코팅된 검사 튜브에 검체를 200 μ l 씩 첨가하였다. Ab가 코팅된 검사 튜브에 검체를 200

μl 씩 첨가한 다음, ^{125}I insulin(DPC, U.S.A)을 1.0 ml 씩 다시 첨가하고 실온(24°C)에서 20시간 동안 배양한 후, aspiration 하였다. 이러한 과정이 종료되게 되면, 튜브에 있는 내용물을 완전히 흡입해 내고 v-counter(COBRA 5010 II Quantum, U.S.A)를 이용하여 정량 분석하였다. 글루코스는 Hitachi 747(Hitachi, Japan)을 이용하여, U.V 방법으로 340 nm에서 측정하였다.

(4) 조직 샘플링

실험동물의 조직은 6주간의 실험종료 후 채취하였다. 에틸에테르(ethyl ether)를 이용하여 마취시켰으며 마취된 실험동물은 오른쪽 뒷다리에서 비복근과 가자미근을 샘플링 한 후 샘플링 한 조직은 액화질소 용기(MVE사, U.S.A)에 넣어 급속 냉동시켜 분석 전까지 냉동고(Revco사, U.S.A)에 넣어 -80°C 상태로 보관하고, Glycogen, GS, NO 그리고 NOS를 분석하였다.

(5) 조직 분석방법

가. Western blot

실험동물의 비복근과 가자미근으로부터 단백질을 추출하기 위해 조직에 20mM Tris-HCl pH 8.0 1% NP-40, 150mM EDTA, 10% glycerol, 0.1% β -mercapt oethanol, 0.5mM DTT를 넣고 분쇄하였다. 그 후 4°C에서 12,000 g로 15분간 원심분리하여 상층액의 단백질을 취하고, 이후 Bradford법을 이용하여 spectrophotometer(SpectraMAX M2, Molecular Device Co., USA)를 이용하여 단백질을 정량화하였다. 단백질의 전기영동은 sodium dodecyl sulfate polyacrylamid gel electrophoresis(SDS-PAGE)를 시행하였다. 단백질에 sample buffer(0.125M Tris pH 6.8, 2% SDS, 25% glycerol, bromphenol blue, 2-mercaptoethanol)를 섞어 100°C에서 진탕 후 sample buffer에 녹인 단백질(40 μg)을 12%와 15%의 gradient gel에서 전기영동 하였다. 전기영동시 minigel 전기영동장치(SE 600

Hofer Sci. Ins. USA)를 사용하였고, 90V의 전압을 가하여 2시간 동안 진행하였다. 전기영동 후 gel을 Coomassie brilliant blue R-250으로 1시간동안 염색시키고 탈염색액(10% acetic acid & 10% methanol)으로 탈색시켜 젤 상에서 단백질 밴드를 확인하였다. Gel에 존재하는 단백질 중에서 NOS와 glycogen synthase 단백질을 확인할 목적으로 Western blot법을 시행하였다. 단백질 transfer 장치(Hoefler Semiphor, Pharnacia Bio., USA)를 이용하여 120mA에서 2시간 동안 gel의 단백질을 0.45 μ m의 polyvinylidene difluorid (PVDF)막 (Millipore Co., USA)으로 옮겼다. 이 PVDF막을 일차항체의 비 특이적 결합을 차단하기 위하여 Tris buffer saline(TBS)에 3% bovine serum albumin을 녹인 blocking buffer에 넣어 1시간 동안 반응시켰다. 여기에 일차항체인 NOS와 glycogen synthase(Cell Signaling Technology, USA)를 4°C에서 하룻밤 동안 반응시킨 후 0.05% Tween20-TBS (TTBS)로 3회 세척하였다. 이 후 이차항체인 goat rabbit IgC conjugated AP(Santa Cruz, USA)를 1:2,000으로 희석하여 1시간 동안 반응시켰다. TTBS로 2회 세척 후 alkaline phosphates 용액(0.1 M Tris, 0.1 M NaCl, 0.01 M MgCl₂)에 세척하고 여기에 NBT와 BCIP를 넣어 발색시켰다. 또한 동일 조건에서 NOS와 Glycogen Synthase의 대조실험으로 β -actin의 발현을 관찰 분석하였다.

나. 조직 글리코겐 분석

글리코겐 분석은 전체 글리코겐 양과 이를 다시 프로글리코겐(proglycogen : PG)과 매크로글리코겐(macroglycogen: MG)으로 나누어 정량하여 분석하였다. 냉동된 10-12mg의 근육샘플에 200 μ l의 과염소산(perchloric acid : PCA, 1.5M)을 첨가하여 20분간 얼음위에서 PCA용액에 용해시킨 후 3000rpm에서 15분간 원심분리 하였다. 분리된 샘플의 상층액 100 μ l는 새로운 튜브에 옮겨 MG의 측정을 위해 사용하였고, pallet은 분석을 위해 이용하였다. 분리된 두 샘플에 1N 의 HCL을 첨가한 후 98°C 수조(water bath)에서 2시간동안 배양

(incubation)시켰다. 그 후 모든 샘플에 2M '3배 전색체'(Trisbase)로 중성화시키고 흔들어 희석 한 후 3000rpm에서 10분간 원심분리하여 다시 상층액을 분리한 뒤 분광광도계(spectrophotometer : Smart Spec 3000, Bio Red, U.S.A)로 최종 분석을 수행하였다. 전체 글리코젠은 폴리글리코젠과 메크로글리코젠 농도를 합한 값으로 나타내었다.

다. 조직 NO 분석

NO의 분석은 상용화된 Kit(Nitrate/Nitrite Colorimetric Assay Kit Cayman chemical)를 사용하여 Griess Reagent [(1% sulfanilic acid+5% H₃PO₄)+(0.1% naphthyl ethylene diamine dihydrochloride + Distilled water)]를 이용한 방법으로 측정하였다. nitrate reductase를 이용하여 nitrate을 nitrite로 환원시킨 후 540nm의 흡광도에서 측정하였다. NO_x = nitrite(NO₂) + nitrate(NO₃)

2) 인체실험

피검자들은 L-arginine 투여 효과를 검증하기 위한 본 실험에 임하기 전 개별 상대적 운동강도(60%, 80% 최대산소섭취량)를 결정하기 위해 자전거에르고미터를 이용하여 ACSM(1991)의 방법으로 최대산소섭취량을 측정하였다. 최대산소섭취량의 측정은 본 실험 1주일 전에 실시하였다. 피검자는 실험 당일 2시간 30분 전에 실험실에 도착하여 약 30분간 의자에 앉아 대기하였다. 본 운동 시작 2시간 전에 규정식(640Kcal)과 함께 투여물질을 경구로 섭취하였다. 운동시작 30분 전에 약 5분간 준비운동을 하고, 그 후 피검자를 자전거 에르고미터에 앉게 하여 안장의 높이를 조절하면서, 운동을 부하시킬 준비를 하고 휴식을 취하였다. 본 운동 10분 전에 5분간 피검자의 안정 시 호기가스를 측정하

고, 운동시작 5분 전에 주전정맥에 3-way가 부착된 카테터를 삽입시켜, 운동 시작 1분 전에 주전정맥에서 채혈을 완료하였다. 채혈 및 운동에 의한 체액 감소를 방지하기 위하여 모든 운동시간에 걸쳐 생리 식염수를 분당 1ml씩 주입하였다. 점증적 최대운동부하 테스트를 통하여 얻은 최대산소섭취량을 근거로 최대산소섭취량의 60%에서 60분간 운동을 실시하고, 60분 이후부터는 운동부하 강도를 최대산소섭취량의 80%로 증가시켜 탈진할 때까지 운동을 실시하였다. 피검자가 페달을 50rpm 지속적으로 회전시키지 못할 때를 탈진시점으로 판정하였다. 이 때 호흡상은 초기 60분 동안 최대산소섭취량의 60% 운동부하시에 매 2분 동안 자동 가스 분석기를 이용하여 측정하였다. 운동시작 후 탈진까지의 시간은 Seiko사 전자식 stop watch(1/100초)를 사용하여 계측하였다. 그리고 글루코스, 젖산, 유리지방산, 중성지방, 인슐린 및 글루카곤 분석을 위한 혈액 채취는 피검자의 주전정맥에 설치 한 카테터를 통하여 운동 중에도 혈액을 용이하게 채취할 수 있도록 하였다. 혈액의 채취 시기는 최대산소섭취량의 60% 강도에서 60분간 운동 할 때 15분 간격으로 1회에 약 10ml씩 채취하였다. 혈액은 녹십자에서 분석하였다. 본 실험의 운동과정은 <그림 5> 와 같다.

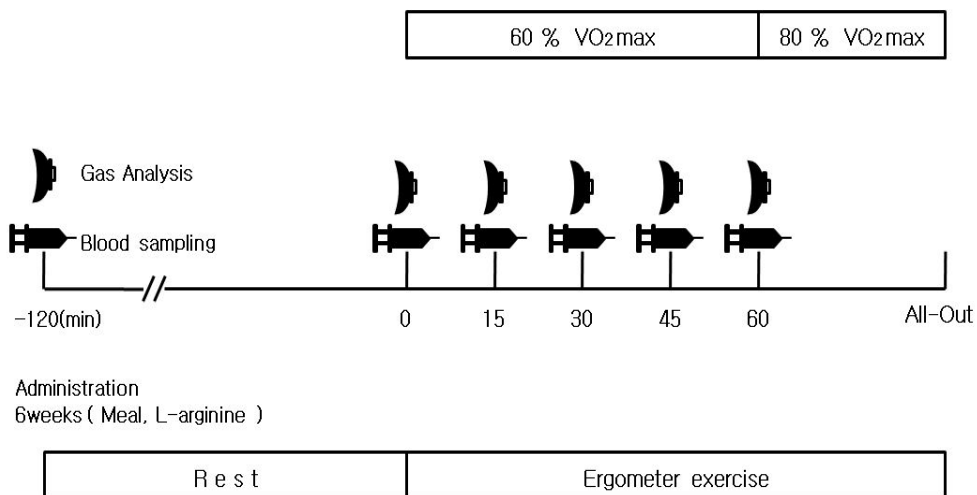


그림 5. 실험 설계.

본 실험에서는 예상 밖의 변인들이 영향을 줄 것으로 판단되어 피검자들은 실험기간 동안 비정상적인 생활습관 및 과격한 운동을 금지하였다. 그리고 알콜 및 카페인이 함유된 음료와 약물의 섭취도 제한하였다. 피검자의 생체리듬을 고려하고, 측정의 오차를 최소한으로 줄이기 위해 피검자는 순번을 정한 다음 주 1회, 동일 요일, 동일 시간에 실험을 실시하였다. 모든 실험은 오전에 끝날 수 있게 진행하였다.

4. 자료분석

1) 실험동물

본 연구의 자료처리는 SPSS 15.0 통계 프로그램을 이용하여 각 변인별 평균과 표준편차를 산출하며, 세 개의 집단 간 차이 비교는 one-way ANOVA를 이용하여 분석하였다. 유의한 차이가 나타난 변인에 대한 각 집단 간 차이 분석은 Tukey로 검증하였고, 모든 검증의 유의수준은 .05 이하로 하였다.

2) 인체실험

본 연구에서는 L-arginine의 투여 효과를 검증하기 위하여 호흡상, 글루코스, 젖산, 유리지방산, 중성지방, 인슐린, 글루카곤, 운동지속시간 등에 대해 조건별, 측정 시기 별 차이를 알아보기 위해 이원반복측정분산분석(2-way repeated measured ANOVA)을 실시하였으며, 실험 조건 간 차이는 종속 T 검증을 실시하였고, 연구의 목적에 따라 운동시간에 따른 변화는 분석에서 제외하였다. 통계적 유의수준은 .05 미만으로 설정하였다.

IV. 연구결과

1. 혈중 인슐린

집단별 혈중 인슐린 농도는<표 2><그림 6>과 같다. 혈중 인슐린 농도는 통제군의 경우 0.27 ± 0.03 ng/ml, L-NMMA 투여군은 0.19 ± 0.02 ng/ml 그리고 L-arginine 투여군은 0.36 ± 0.02 ng/ml으로 나타나 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

표 2. The effect of fed with L-arginine and L-NMMA

Item	Group	Number	Mean±S.D	F value
Insulin (ng/ml)	Control	5	$0.27 \pm 0.03^{a,b}$	12.7
	L-NMMA	5	0.19 ± 0.02^b	
	L-arginine	5	0.36 ± 0.02^a	

a: $P < 0.05$ vs. Control group or b: $P < 0.05$ between L-arginine and L-NMMA group.

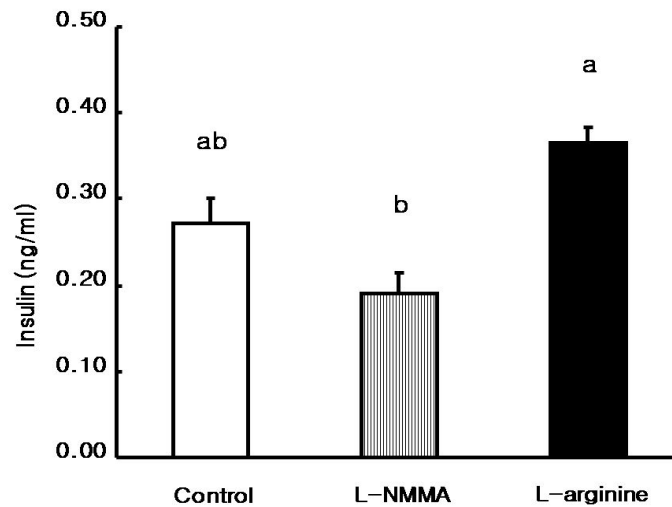


그림 6. 집단별 혈중 인슐린 농도.

2. 혈중 글루코스

집단별 혈중 글루코스 농도는 <표 3> <그림 7>과 같다. 혈중 글루코스 농도는 통제군의 경우 132.40 ± 4.27 mg/dl, L-NMMA 투여군은 106.20 ± 4.25 mg/dl 그리고 L-arginine 투여군은 157.40 ± 4.91 mg/dl으로 나타나 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

표 3. The effect of fed with L-arginine and L-NMMA

Item	Group	Number	Mean \pm S.D	F value
Glucose (mg/dl)	Control	5	132.00 ± 4.27^b	32.57
	L-NMMA	5	106.20 ± 4.25^c	
	L-arginine	5	157.40 ± 4.91^a	

a: $P < 0.05$ vs. Control group or b: $P < 0.05$ between L-arginine and L-NMMA group.

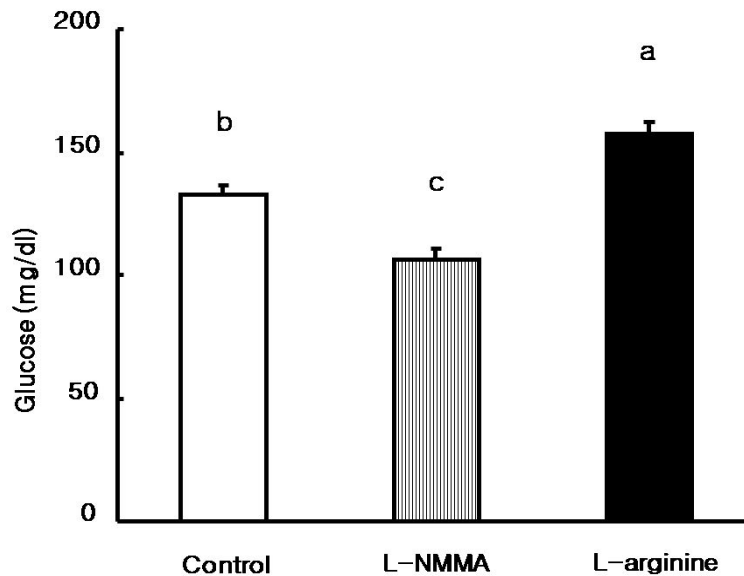


그림 7. 집단별 혈중 글루코스 농도.

3. 비복근 글리코겐

집단별 비복근 글리코겐 저장량은<표 4>, <그림 8>과 같다. 비복근 글리코겐 저장량은 통제군의 경우 9.03 ± 0.35 mg/g, L-NMMA 투여군은 6.62 ± 0.61 mg/g 그리고 L-arginine 투여군은 13.61 ± 0.75 mg/g으로 나타나 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

표 4. The effect of fed with L-arginine and L-NMMA

Item	Group	Number	Mean±S.D	F value
Gastrocnemius glycogen (mg/g)	Control	5	9.03 ± 0.35^b	35.51
	L-NMMA	5	6.62 ± 0.61^c	
	L-arginine	5	13.61 ± 0.75^a	

a: $P < 0.05$ vs. Control group or b: $P < 0.05$ between L-arginine and L-NMMA group.

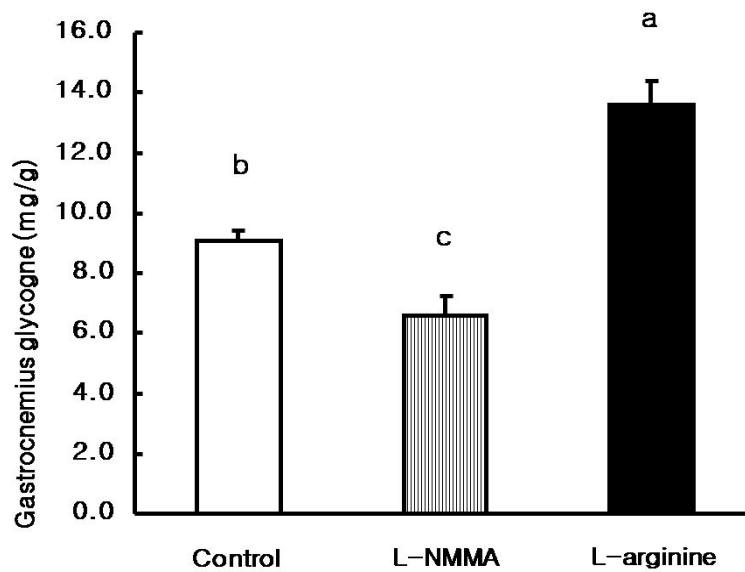


그림 8. 집단별 비복근 글리코겐 저장량.

4. 비복근 글리코겐 합성효소

집단별 비복근 글리코겐 합성효소 발현은<표 5>, <그림 9>와 같다. 비복근 글리코겐 합성효소 발현은 통제군의 경우 $100.00 \pm 0.00\%$, L-NMMA 투여군은 $90.00 \pm 3.89\%$ 그리고 L-arginine 투여군은 $129.00 \pm 3.70\%$ 로 나타나 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

표 5. The effect of fed with L-arginine and L-NMMA

Item	Group	Number	Mean \pm S.D	F value
Gastrocnemius GS (% of control)	Control	5	100.00 ± 0.00^b	42.74
	L-NMMA	5	90.00 ± 3.89^b	
	L-arginine	5	129.00 ± 3.70^a	

a: $P < 0.05$ vs. Control group or b: $P < 0.05$ between L-arginine and L-NMMA group.

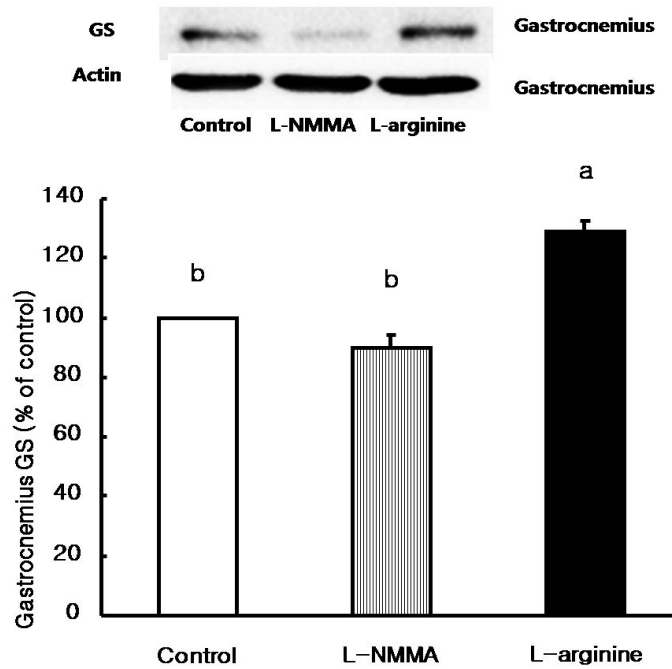


그림 9. 집단별 비복근 글리코겐 합성효소 발현.

5. 비복근 NO

집단별 비복근 NO 활성은 <표 6>, <그림 10>과 같다. 비복근 NO 활성은 통제군의 경우 1.00 ± 0.00 , L-NMMA 투여군은 0.69 ± 0.05 그리고 L-arginine 투여군은 2.21 ± 0.27 으로 나타나 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

표 6. The effect of fed with L-arginine and L-NMMA

Item	Group	Number	Mean±S.D	F value
Gastrocnemius NO (arbitrary unit)	Control	5	1.00 ± 0.00^b	26.23
	L-NMMA	5	0.69 ± 0.05^b	
	L-arginine	5	2.21 ± 0.27^a	

a: $P < 0.05$ vs. Control group or b: $P < 0.05$ between L-arginine and L-NMMA group.

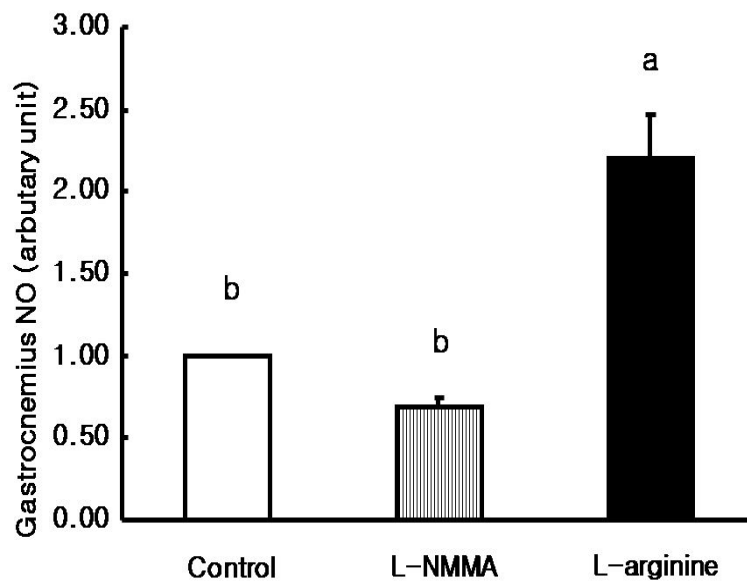


그림 10. 집단별 비복근 산화질소 활성.

6. 비복근 NOS

집단별 비복근 NOS 발현은 <표 7>, <그림 11>과 같다. 비복근 NOS 발현은 통제군의 경우 $100.00 \pm 0.00\%$, L-NMMA 투여군은 $84.20 \pm 2.35\%$ 그리고 L-arginine 투여군은 $123.80 \pm 4.93\%$ 로 나타나 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

표 7. The effect of fed with L-arginine and L-NMMA

Item	Group	Number	Mean \pm S.D	F value
Gastrocnemius NOS (% of control)	Control	5	100.00 ± 0.00^b	39.9
	L-NMMA	5	84.20 ± 2.35^c	
	L-arginine	5	123.80 ± 4.93^a	

a: $P < 0.05$ vs. Control group or b: $P < 0.05$ between L-arginine and L-NMMA group.

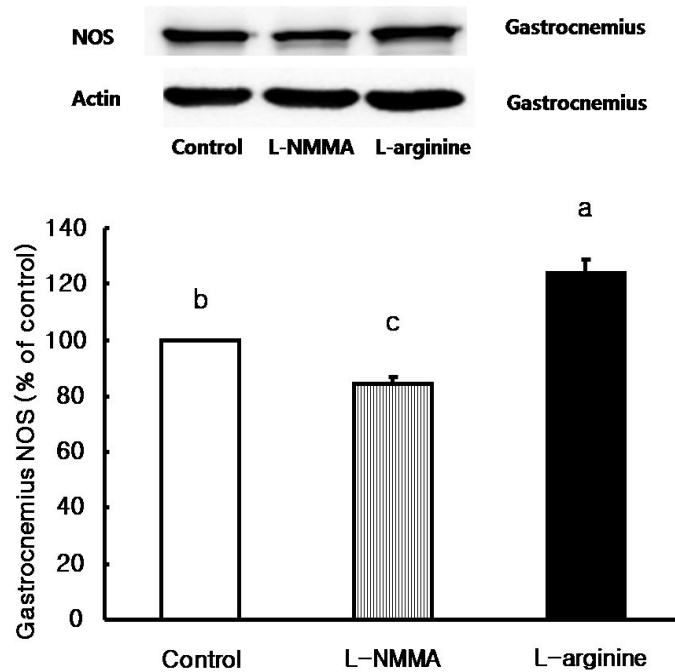


그림 11. 집단별 비복근 산화질소 합성효소 발현.

7. 가자미근 글리코겐

집단별 가자미근 글리코겐 저장량은 <표 8>, <그림 12>와 같다. 가자미근 글리코겐 저장량은 통제군의 경우 7.50 ± 0.63 mg/g, L-NMMA 투여군은 4.29 ± 0.26 mg/g 그리고 L-arginine 투여군은 10.08 ± 0.39 mg/g 으로 나타나 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

표 8. The effect of fed with L-arginine and L-NMMA

Item	Group	Number	Mean±S.D	F value
Soleus glycogen (mg/g)	Control	5	7.50 ± 0.63^b	40.9
	L-NMMA	5	4.29 ± 0.26^a	
	L-arginine	5	10.08 ± 0.39^a	

a: $P < 0.05$ vs. Control group or b: $P < 0.05$ between L-arginine and L-NMMA group.

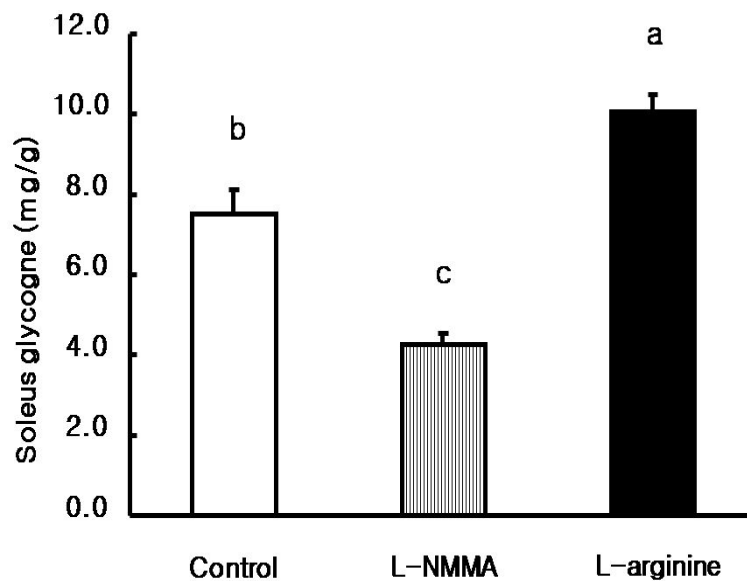


그림 12. 집단별 가자미근 글리코겐 저장량.

8. 가자미근 글리코젠 합성효소

집단별 가자미근 글리코젠 합성효소 발현은<표 9>, <그림 13>과 같다. 가자미근 글리코젠 합성효소 발현은 통제군의 경우 $100.00 \pm 0.00\%$, L-NMMA 투여군은 $86.40 \pm 2.11\%$ 그리고 L-arginine 투여군은 $135.80 \pm 3.61\%$ 로 나타나 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

표 9. The effect of fed with L-arginine and L-NMMA

Item	Group	Number	Mean \pm S.D	F value
Soleus GS (% of control)	Control	5	100.00 ± 0.00^b	111.63
	L-NMMA	5	86.40 ± 2.11^c	
	L-arginine	5	135.80 ± 3.61^a	

a: $P < 0.05$ vs. Control group or b: $P < 0.05$ between L-arginine and L-NMMA group.

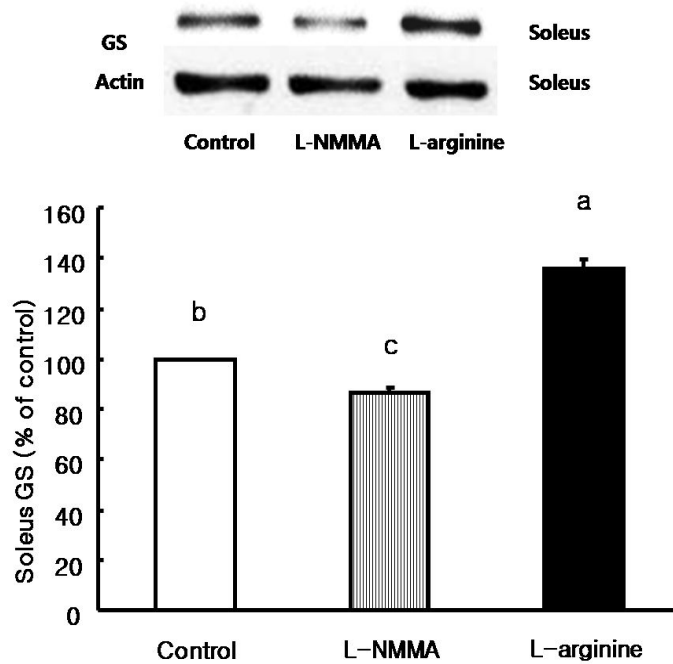


그림 13. 집단별 가자미근 글리코젠 합성효소 발현.

9. 가자미근 NO

집단별 가자미근 NO 활성은 <표 10>, <그림 14>과 같다. 가자미근 NO 활성은 통제군의 경우 1.00 ± 0.00 , L-NMMA 투여군은 0.77 ± 0.05 그리고 L-arginine 투여군은 1.89 ± 0.23 으로 나타나 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

표 10. The effect of fed with L-arginine and L-NMMA

Item	Group	Number	Mean±S.D	F value
Soleus NO (arbutrary unit)	Control	5	1.00 ± 0.00^b	19.6
	L-NMMA	5	0.77 ± 0.05^b	
	L-arginine	5	1.89 ± 0.23^a	

a: $P < 0.05$ vs. Control group or b: $P < 0.05$ between L-arginine and L-NMMA group.

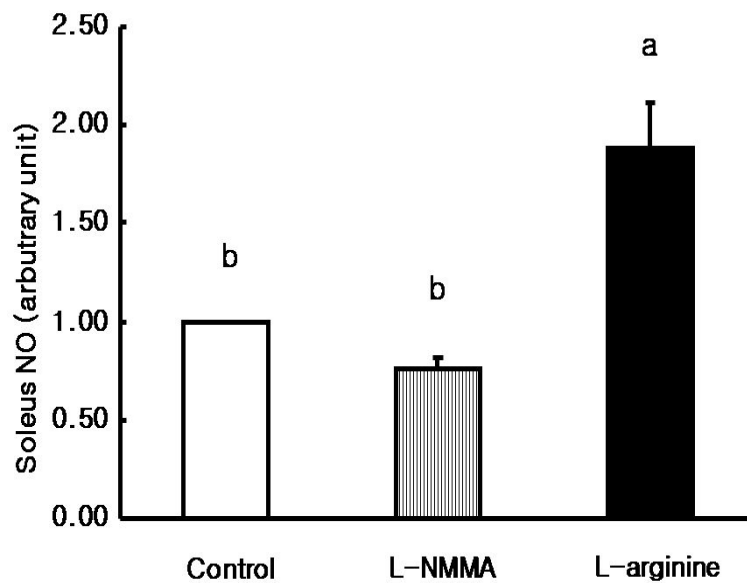


그림 14. 집단별 가자미근 산화질소 활성.

10. 가자미근 NOS

집단별 가자미근 NOS 발현은 <표 11>, <그림 15>와 같다. 가자미근 NOS 발현은 통제군의 경우 $100.00 \pm 0.00\%$, L-NMMA 투여군은 $77.00 \pm 2.61\%$ 그리고 L-arginine 투여군은 $127.00 \pm 5.97\%$ 로 나타나 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

표 11. The effect of fed with L-arginine and L-NMMA

Item	Group	Number	Mean \pm S.D	F value
Soleus NOS (% of control)	Control	5	100.00 ± 0.00^b	44.21
	L-NMMA	5	77.00 ± 2.61^c	
	L-arginine	5	127.00 ± 5.97^a	

a: $P < 0.05$ vs. Control group or b: $P < 0.05$ between L-arginine and L-NMMA group.

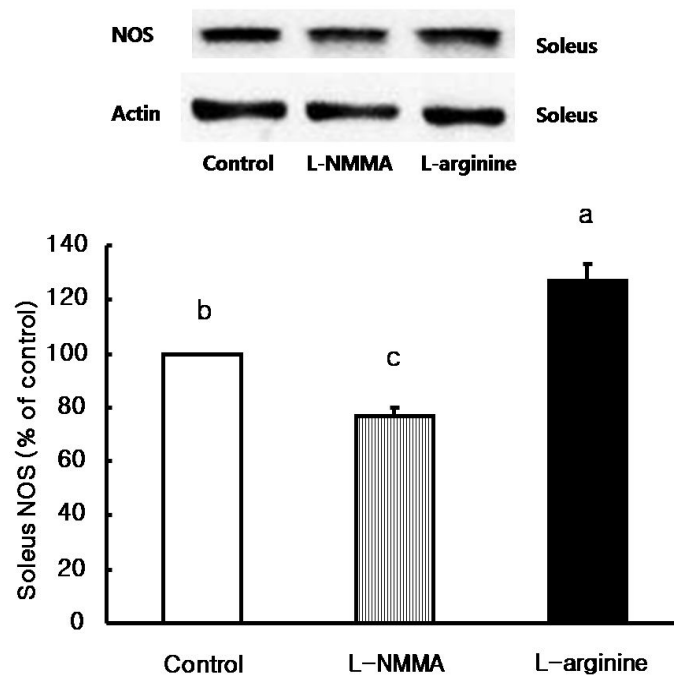


그림 15. 집단별 가자미근 산화질소 합성효소 발현.

11. 최대수영시간

집단별 수영운동 시간은<표 12>, <그림 16>과 같다. 최대수영운동 시간은 통제군의 경우 152.20±9.15 min, L-NMMA 투여군은 126.00±15.81 min 그리고 L-arginine 투여군은 285.80±28.49 min으로 나타나 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었다.

표 12. The effect of fed with L-arginine and L-NMMA

Item	Group	Number	Mean±S.D	F value
Swimming time (min)	Control	5	152.20±9.15 ^b	19.24
	L-NMMA	5	126.00±15.81 ^b	
	L-arginine	5	285.80±28.49 ^a	

a:P<0.05 vs. Control group or b:P<0.05 between L-arginine and L-NMMA group.

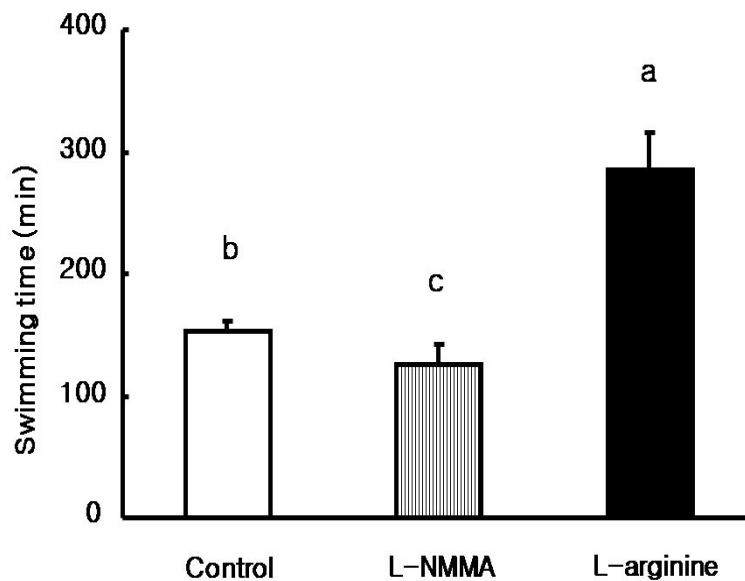


그림 16. 집단별 수영운동 시간.

12. 운동 중 호흡상 변화

운동 중 호흡상 변화는 <표 13>, <그림 17>과 같다. 운동 30분에 L-arginine 섭취시 0.90 ± 0.03 , Placebo 섭취시 0.86 ± 0.03 으로 나타났고, 운동 45분과 60분에 L-arginine 섭취는 0.89 ± 0.03 및 0.88 ± 0.03 으로 나타났으며, Placebo 섭취는 0.86 ± 0.03 및 0.85 ± 0.02 로 나타나 운동 30분부터 60분까지 L-arginine 섭취에서 유의하게 증가되는 경향을 보였다.

표 13. Changes of RQ during cycle ergometer exercise at 60% $\dot{V}O_{2max}$.

Group	-120	0	15	30	45	60
Placebo		0.79 ± 0.08	0.89 ± 0.04	0.86 ± 0.03	0.86 ± 0.03	0.85 ± 0.02
L-arginine		0.81 ± 0.09	0.92 ± 0.04	$0.90 \pm 0.03^*$	$0.89 \pm 0.03^*$	$0.88 \pm 0.03^*$

*: $P < 0.05$

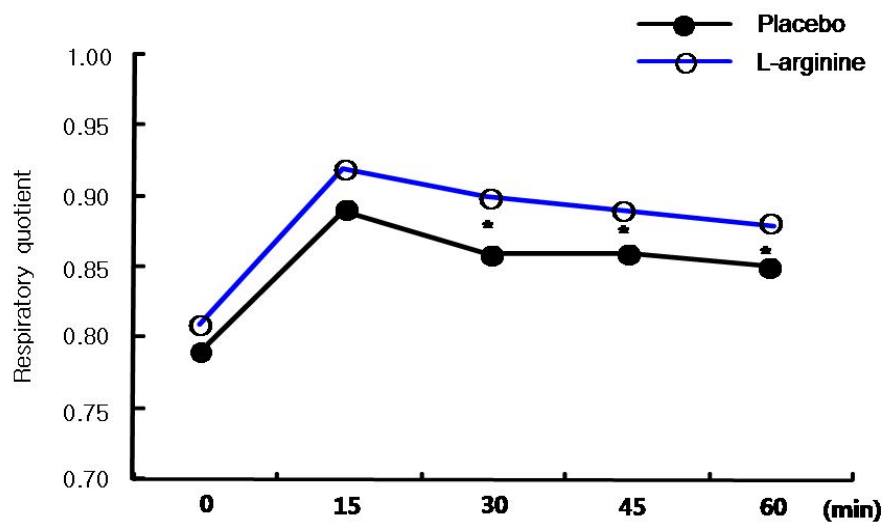


그림 17. 운동 중 호흡상 변화.

13. 운동 중 글루코스 농도변화

운동 중 글루코스 농도변화는 <표 14>, <그림 18>과 같다. 운동 15분과 30분에 L-arginine 섭취는 84.9±9.6 mg/dl 및 85.1±8.8 mg/dl, Placebo 섭취는 73.8±3.6 mg/dl 및 77.7±6.3 mg/d 로 나타났으며, 운동 45분과 60분에 L-arginine 섭취는 83.0±6.6 mg/dl 및 82.9±7.6 mg/dl 나타났고, Placebo 섭취는 78.8±5.6 mg/dl 및 78.9±6.2 mg/dl 로 나타나 혈중 글루코스 농도는 L-arginine 섭취가 Placebo 섭취 보다 운동 15분부터 60분까지 유의하게 증가하였다.

표 14. Changes of glucose during cycle ergometer exercise at 60% $\dot{V}O_{2max}$.

Group	-120	0	15	30	45	60
Placebo	79.1±3.2	80.7±9.9	73.8±3.6	77.7±6.3	78.8±5.6	78.9±6.2
L-arginine	81.4±7.2	84.2±7.6	84.9±9.6*	85.1±8.8*	83.0±6.6*	82.9±7.6*

*: P<0.05

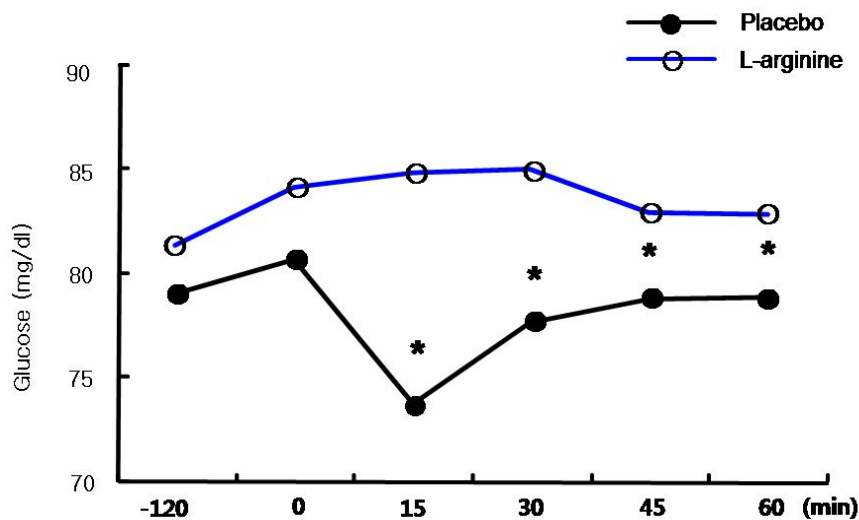


그림 18. 운동 중 글루코스 농도변화

14. 운동 중 젖산 농도변화

운동 중 젖산 농도변화는 <표 15>, <그림 19>와 같다. 운동 15분에 L-arginine 섭취는 2.68 ± 0.35 mmol/l, Placebo 섭취는 3.80 ± 0.34 mmol/l로 나타났으며, 45분과 60분에 L-arginine 섭취는 2.01 ± 0.25 mmol/l 및 2.03 ± 0.24 mmol/l로 나타났으며, Placebo 섭취는 2.83 ± 0.44 mmol/l 및 2.87 ± 0.53 mmol/l로 나타내어 L-arginine 섭취가 Placebo 섭취 보다 유의하게 감소되었다.

표 15. Changes of lactate during cycle ergometer exercise at 60% $\dot{V}O_{2max}$.

Group	-120	0	15	30	45	60
Placebo	0.72 ± 0.23	1.12 ± 0.31	3.80 ± 0.34	3.14 ± 0.31	2.83 ± 0.44	2.87 ± 0.53
L-arginine	0.84 ± 0.24	1.03 ± 0.33	$2.68 \pm 0.35^*$	2.45 ± 0.78	$2.01 \pm 0.25^*$	$2.03 \pm 0.24^*$

*: $P < 0.05$

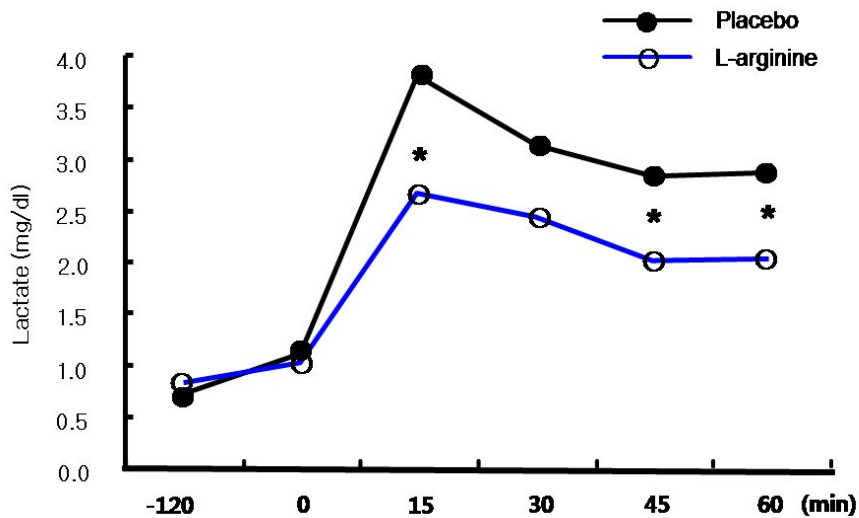


그림 19. 운동 중 젖산 농도변화

15. 운동 중 중성지방 농도변화

운동 중 중성지방 농도변화는 <표 16>, <그림 20>과 같다. 운동 중의 L-arginine 섭취와 Placebo 섭취는 혈장의 중성지방의 농도변화에는 섭취물질 간에 차이가 없었다.

표 16. changes of triglyceride during cycle ergometer exercise at 60% $\dot{V}O_{2max}$.

Group	-120	0	15	30	45	60
Placebo	86.5±38.9	105.0±44.8	123.1±52.9	122.0±52.5	118.9±51.5	116.3±51.9
L-arginine	95.8±31.2	110.5±39.6	116.9±33.2	112.5±31.2	111.0±31.1	107.1±35.9

*: P<0.05

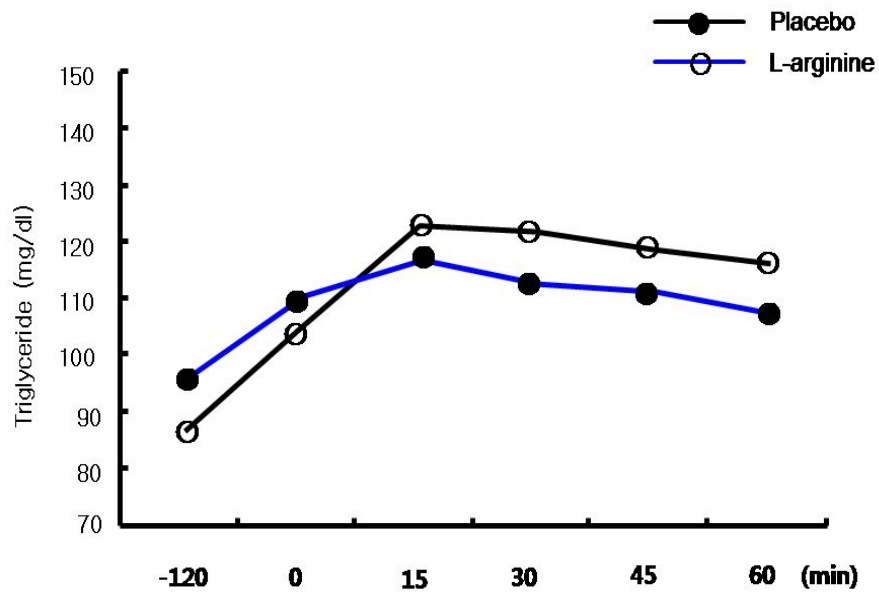


그림 20. 운동 중 중성지방 농도변화

16. 운동 중 유리지방산 농도변화

운동 중 유리지방산 농도변화는 <표 17>, <그림 21>과 같다. 운동시작과 30분에 L-arginine 섭취는 105.8 ± 49.0 uEq/l 및 619.0 ± 289.7 uEq/l, Placebo 섭취는 167.8 ± 75.3 uEq/l 및 1176.3 ± 329.1 uEq/l 로 나타나 유리지방산 농도의 변화는 Placebo 섭취 보다 L-arginine 섭취가 보다 낮은 것으로 나타났다.

표 17. Changes of free fatty acid, during cycle ergometer exercise at 60% $\dot{V}O_{2max}$.

Group	-120	0	15	30	45	60
Placebo	319.0 ± 107.7	167.8 ± 75.3	325.8 ± 236.3	1176.3 ± 329.1	1325.4 ± 332.7	1510.8 ± 373.7
L-arginine	304.4 ± 430.6	$105.8 \pm 49.0^*$	188.1 ± 96.4	$619.0 \pm 289.7^*$	996.9 ± 389.4	1159.9 ± 316.7

*: $P < 0.05$

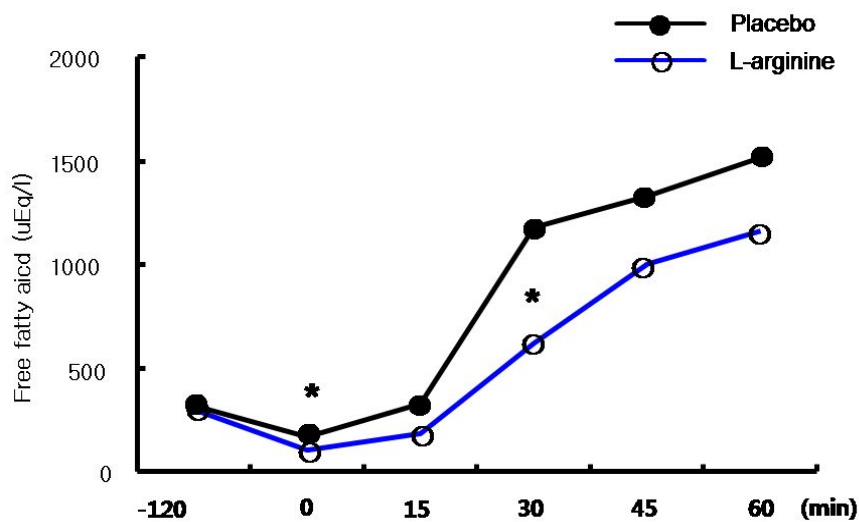


그림 21. 운동 중 유리지방산 농도변화

17. 운동 중 인슐린 농도변화

운동 중 인슐린 농도변화는 <표 18>, <그림 22>과 같다. 본 연구결과 에서 인슐린 농도는 L-arginine 섭취와 Placebo 섭취에서 안정시와 운동시 증가되는 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

표 18. Changes of insulin during cycle ergometer exercise at 60% $\dot{V}O_{2max}$.

Group	-120	0	15	30	45	60
Placebo	15.4±1.9	29.3±17.4	19.3±3.4	15.3±3.5	13.7±2.1	13.2±2.2
L-arginine	26.0±3.0	31.2±16.6	26.0±9.4	19.7±8.0	16.7±5.2	16.2±5.1

*: P<0.05

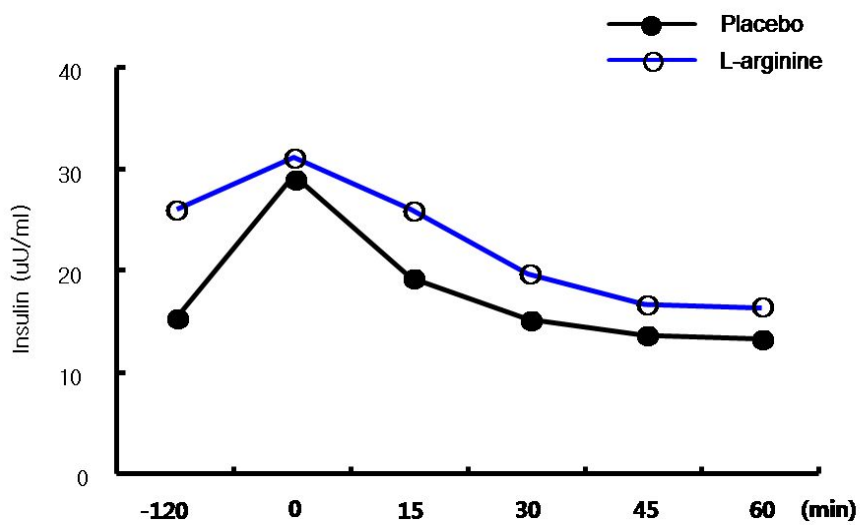


그림 22. 운동 중 인슐린 농도변화

18. 운동 중 글루카곤 농도변화

운동 중 글루카곤 농도변화는 <표 19>, <그림 23>과 같다. 운동 15분과 60분에 L-arginine 섭취는 81.3 ± 9.8 Pg/ml 및 81.0 ± 8.7 Pg/ml, Placebo 섭취는 67.8 ± 9.8 Pg/ml 및 73.3 ± 10.1 Pg/ml 로 나타났으며, 글루카곤 농도는 L-arginine 섭취가 Placebo 섭취보다 운동 15분과 60분에 유의하게 증가하였다.

표 19. Changes of glucagon during cycle ergometer exercise at 60% $\dot{V}O_2\max$.

Group	-120	0	15	30	45	60
Placebo	57.9 ± 12.7	66.8 ± 10.1	67.8 ± 9.8	73.0 ± 18.3	73.7 ± 13.7	73.3 ± 10.1
L-arginine	$70.3 \pm 10.8^*$	75.1 ± 7.6	$81.3 \pm 9.8^*$	79.2 ± 8.3	80.4 ± 7.3	$81.0 \pm 8.7^*$

*: $P < 0.05$

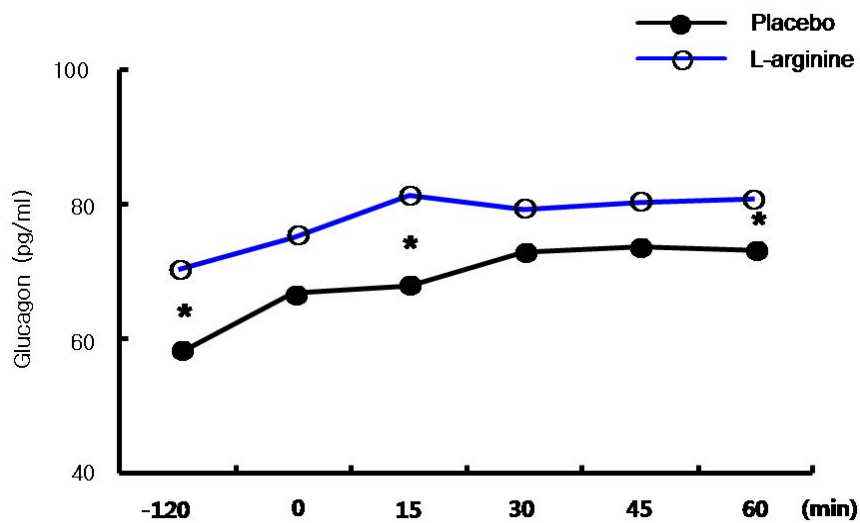


그림 23. 운동 중 글루카곤 농도변화

19. 운동지속 시간

운동지속시간은 <그림 24>에 제시된 바와 같이 L-arginine 섭취가 72.8 ± 5.7 분, Placebo 섭취가 66.5 ± 3.5 분으로 나타나 L-arginine 섭취가 평균 6.3분 정도 유의하게 증가되었다.

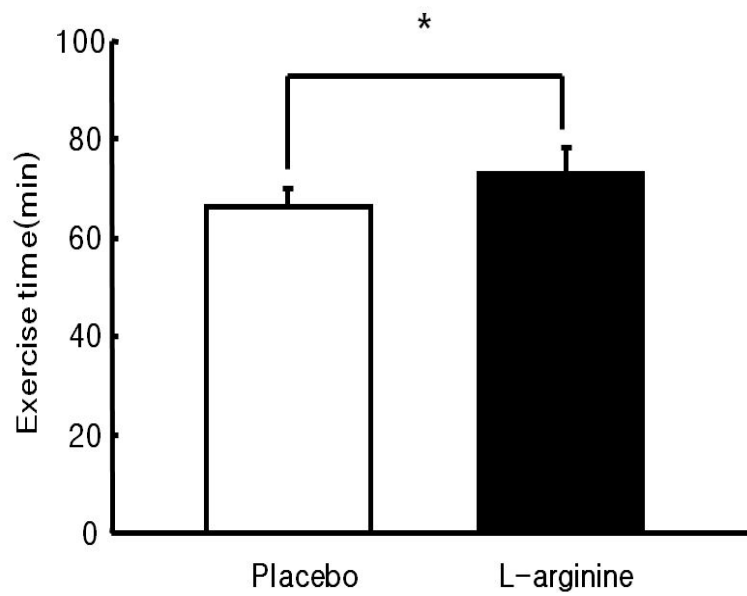


그림 24. 운동지속 시간

V. 논의

NO의 전구물질인 L-arginine 투여가 운동수행능력 향상에 효과가 있다는 (Cheng & Baldwin, 2001; Ceremuzynski et al., 1997; Craeger et al., 1992) 연구들이 제시되고 있다. NO의 수준은 L-arginine의 수준과 밀접한 연관성을 가지고 있으며, NO가 골격근 대사에서 중요한 기능을 하는 것은 혈관확장을 통해 에너지 기질의 공급과 흡수를 증가시키고(Kobzik et al., 1994), 운동에 의한 혈류량 증가에 영향을 미치기 때문이다(Lau et al., 1998). 또한 L-arginine 투여는 글루코스 흡수증가와 해당과정을 억제 하며(Balon & Nadler, 1994; Mohr et al., 1996), 미토콘드리아의 호흡을 포함한 근육 대사를 조절한다고 보고되고 있다(Reid, 1998).

따라서 NO의 이러한 기능이 외인성 L-arginine 투여로 향상된다면 골격근에 글루코스 흡수를 증가시켜 지구성운동능력의 개선에 중요한 결과를 얻을 수 있을 것이다. 또한 혈액 내에 L-arginine농도가 증가하면 운동시와 안정시 글루카곤 분비를 촉진시킴으로써 간에서 글루코스 흡수를 증가시켜 근육에서 글루코스 이용률을 향상시킬 수 있다(Colombani et al., 1999; Trabelsi & Lavoie, 1996). 이와 같이 L-arginine의 장기간섭취로 NOS의 발현을 활성화시켜 NO 생성이 증가되고 간에서의 글루코스 공급을 증가시킬 수 있다면 상승효과를 도모하여 운동 시 골격근에서 인슐린에 의한 글루코스 흡수를 조절하며 운동수행능력을 증가시킨다고 보고하였다(Kingwell et al., 2002; Balon & Nadler, 1997). 운동 시 골격근에 글루코스 흡수가 증가하는 것은 근 수축 시 세포막으로 GLUT4의 이동이 증가 되는 것 때문으로 알려져 있다(Jeukendrup et al., 1999; Hayashi et al., 1997). 또한 운동 시 글루코스 흡수를 조절하는 기전은 다양하며, 이러한 여러 요인 중에 NO는 운동 시 근육에 혈류를 증가시키며, 인슐린과 근 수축에 의한 글루코스의 흡수를 높이는 작

용을 한다(Kingwell et al., 2002; McConnell & Kingwell, 2006). 본 연구에서 제시된 바와 같이 인슐린 농도는 L-NMMA투여집단이 가장 낮게 나타났으며, L-arginine 투여집단에서 가장 높게 나타났다. 이러한 결과는 L-arginine투여가 NO 합성을 위한 기질 이외에 인슐린, 글루카곤의 분비를 촉진할 수 있으며(Bode-Boger et al., 1999), L-arginine투여가 안정시 혈중의 인슐린 농도를 약 2배 정도 증가시켰다는 연구와도 일치하였다(Quyyumi 1998). 또한 L-NMMA투여집단에서 인슐린 농도가 가장 낮게 나타남으로써 NO 활성이 인슐린 분비와 관련성이 있는 것으로 사료된다. 그러나 본 연구와 선행연구의 결과는 안정시 수준에서 측정된 결과이다. McConnell 등(2006)은 L-arginine투여 시 지구성 운동시 인슐린 농도에 변화 없이 골격근의 글루코스 제거율(clearance)이 증가되었기 때문에 L-arginine투여로 증가된 NO가 글루코스 제거율과 관련성이 있을 것으로 유추하였으며, 추후 L-arginine투여가 지구성운동을 수행할 때 인슐린 농도와 글루코스 제거율에 어떠한 영향을 미치는지 검토한다면 NO의 역할을 명확히 할 것으로 생각된다. 또한 투여 집단별 글루코스 농도는 인슐린의 결과와 같은 양상을 보였다. L-arginine 투여집단의 경우 인슐린 농도가 가장 높게 나타났기 때문에 혈중의 글루코스 제거율이 높아져 글루코스 농도가 낮게 나타날 것으로 사료되었으나 가장 높은 농도를 보였다. 이러한 결과는 L-arginine 투여는 운동시와 안정시에 글루카곤 분비를 촉진하여 간에서 글루코스 공급을 증가시켜 결과적으로 근육에서 글루코스 이용률을 증가시킨다는 연구결과(Trabelsi & Lavoie, 1996)로 설명되어질 수 있다.

본 연구에서는 L-NMMA투여집단의 경우 비복근(gastrocnemius muscle)과 가지미근(soleus muscle)에서 NOS와 NO가 가장 낮았고, 글리코겐 합성효소의 활성과 글리코겐 농도도 가장 낮게 나타남으로써 운동지속시간도 감소되었다. 따라서 이러한 결과는 NO가 골격근에서 글루코스 섭취를 조절하는 중요한 요인으로 작용 할 수 있다는 것을 시사한다.

본 연구에서는 NO의 역할을 명확히 하기 위하여 NO전구물질인 L-arginine을 장기간 투여한 결과 비복근과 가자미근의 NOS와 NO가 가장 높았는데 이러한 결과는 L-arginine투여가 NOS 활성을 증가시켜 NO생성에 변화를 가져왔다는 연구결과(Fu et al., 2005; Wu & Morris, 1998)와 일치하였다. 쥐 실험에서 트레드밀 운동 후 비복근에서 NOS가 증가되는 것을 관찰 되었다(Roberts et al., 1999). 그리고 Reiser 등(1997)은 3주간 토끼 근육에 자극을 주었을 때 NOS 발현의 증가를 보고하였으며, 또 다른 실험에서는 쥐에게 전기 자극을 주었을 때 골격근에서 NO 생산이 증가된다고 하였고(Silveira et al., 2003; Tidball et al., 1998), 8주간 트레드밀 운동을 실시한 결과 골격근에서 NOS 증가를 확인 하였다(Balon & Nadler; 1994). 본 연구에서는 L-arginine 투여만으로 선행연구에서 제시된 운동에 의한 NOS 활성 증가와 동일한 효과를 확인할 수 있었다. 또한 비복근과 가자미근의 글리코겐 농도도 가장 높았고 운동지속시간도 증가되어 외인성 L-arginine 투여가 지구성 운동능력을 향상시키는 것으로 최대 수영운동시간을 증가로 확인되었다. 이와 같이 L-NMMA투여집단과 L-arginine투여집단에서 제시된 연구결과를 고려할 때 NO가 골격근에 글루코스 흡수를 조절하는 요인이라는 것을 확인할 수 있었다. 추후 인간을 대상으로 장기간 L-arginine을 투여한 후 지구성 운동 시 다양한 체내 생리활성 효과를 검증한다면 후속 연구의 기초자료로 제공될 수 있을 것이다.

내인성 L-arginine은 L-ornithine과 L-citrulline 전구체로 부터 신장에서 주로 합성되며(Dhanakoti et al., 1990), 외인성 L-arginine은 소장에서 흡수되어 간으로 이동되고, 많은 부분이 urea cycle에 사용되므로 상대적으로 적은 양이 NO 생산의 기질로 사용되어 질수 있다(Boger et al., 2004). 이와 같이 간에서 L-arginine을 urea로 분해하는 arginase의 활성이 높은 것은 외인성 L-arginine이 체순환에 도달되는 것을 제한하는 요인이 될 수 있으며(Van de Poll et al., 2004), 섭취된 L-arginine의 약 68%가 혈액에 도달되는 것으로 보

고되었다(Bode-Boger et al., 1998). 이러한 관점에서 건강한 성인의 경우 충분한 양이 체내에서 생성되지만(Castillo et al., 1993; Castillo et al., 1994) 장시간 운동 시 내인성 L-arginine은 부족할 가능성이 시사되며, 외부에서 투여되는 L-arginine은 탄수화물 대사에 긍정적으로 작용 할 가능성이 있다. 이에 본 연구에서는 운동선수에게 6주간 L-arginine을 섭취케 했을 때 지구성 운동 시 에너지 대사 및 운동지속시간에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 호흡상은 운동 30분부터 60분까지 L-arginine 섭취가 유의하게 증가되는 경향을 보였다. 이러한 결과는 본 연구의 인슐린 농도가 섭취물질 간에 차이가 없는 것을 고려 할 때 L-arginine 섭취에 의한 NO 증가가 GLUT4 이동을 증가시켜 활동근에 에너지 생산을 위해 글루코스 이용을 증가시킴으로써 호흡상이 높아진 것으로 생각된다. 혈중 글루코스 농도는 L-arginine 섭취가 물 섭취보다 운동 15분부터 60분까지 유의하게 증가하였다. 이러한 결과는 L-arginine 섭취가 글루카곤 분비를 촉진하여(Gerich et al., 1974), 안정시와 운동 시 간에서 글루코스 공급을 증가시켜 근육의 글루코스 이용을 향상시킬 수 있다는 연구(Trabelsi & Lavoie, 1996; Colombani et al., 1999)를 반영한 것으로 생각된다. 본 연구에서도 글루카곤 농도는 운동 15분과 60분에 유의하게 증가됨으로써 간에서 혈액으로 글루코스 공급이 증가되어 혈중 글루코스가 증가된 것으로 생각된다. 젖산 농도는 물 섭취와 L-arginine 섭취의 경우 L-arginine 섭취가 물 섭취보다 유의하게 감소되었다. 건강한 피검자를 대상으로 L-arginine 3 g을 정맥 주사하여 점증적 부하로 운동을 실시했을 때 L-citrulline이 유의하게 증가하였고(Schaefer et al., 2002), 젖산과 L-citrulline 사이에 음의 상관관계가 있는 것을 관찰 하였다. 그리고 Mills 등(1999)은 NO 합성효소 억제제가 젖산을 증가시킨다고 하였다. 이러한 선행연구를 고려할 때 본 연구에서 젖산이 감소된 것은 L-arginine 투여로 NO가 증가됨으로써 해당과정이 억제되어 나타난 결과로 생각된다. 중성지방은 운동시간이 지속됨에 따라 카테콜라민과 성장호르몬 등이 간의 hormone sensitive lipase를 자극하여 간의 중성지방 분비를 촉진함으로

써 증가되는 것으로 알려져 있으나 본 연구에서는 투여 물질 간에 차이가 없었다. 그리고 활동근에 유리지방산 공급이 증가되면 근육의 citrate 농도가 증가되고, 당 분해의 감소로 장시간 운동에 의한 탈진시간이 연장된다(Essing et al., 1980). 본 연구에서 유리지방산 농도는 물 투여보다 L-arginine 투여가 낮은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 L-arginine 투여로 지방분해가 감소되었다는 것을 의미하며, NO 공여자(donor)가 지방조직과 지방세포의 지방분해를 활성화시키는 카테콜라민의 영향을 약화시키고(Gaudiot et al., 1998; Klatt et al., 2000), NOS 억제제는 피하지방조직에서 지방분해를 증가시키며, NO 공여자인 니트로글린세린과 NO 가스는 지방세포에서 글리세롤 방출을 감소시킨다는 연구(Andersson et al., 1999)로 설명 되어질 수 있다. 운동 시 카테콜라민은 증가되는 것으로 관찰(McConnell et al., 1994)되기 때문에 L-arginine 투여에 의한 NO 증가가 카테콜라민 분비를 억제하여 본 연구의 유리지방산농도가 낮아진 것으로 판단된다. L-arginine은 인슐린의 분비를 촉진하고, 혈관확장에 기여할 수 있다고 제시되고 있다(Anderson et al., 1991; Caidahl et al., 1994; Bode-Boger et al., 1999). L-arginine이 인슐린 분비를 촉진하는 NO가 활성화되어 cGMP를 증가 시키는 것과 NO의 혈관 이완작용으로 β 세포가 혈중 글루코스에 많이 노출되면 NO의 β 세포자극이 증가하기 때문이다(Schmidt et al., 1992; Bilski et al., 1995; Konturek et al., 1997). 따라서 근 수축에 글루코스 이용 수준이 증가하는 것은 L-arginine에 의한 NO생산 증가가 GLUT4 이동을 증가시키기 때문인 것으로 유추하였다. 그리고 Colombani 등(1999)도 2주간 L-arginine과 L-aspartate를 복합 투여했을 때 마라톤 31 km와 운동 종료시의 인슐린 농도를 분석한 결과 변화가 없었다고 하였다. 본 연구에서도 인슐린 농도는 L-arginine 투여가 물 투여보다 안정시와 운동시 증가되는 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이가 없는 것으로 나타나 동일한 결과를 보였다. 운동지속시간은 L-arginine 투여가 평균 6.3분 정도 유의하게 증가되었다. 이러한 결과는 최성근 등(2009)이 동물실험에서 6주간 L-arginine을 투여 했을

때 NOS 발현을 활성화시켜 NO 생성의 증가를 가져와 골격근의 글루코스 섭취를 조절하는 중요한 요인으로 작용함으로써 최대 수영운동 시간이 증가되었다는 연구와 일치하였다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 L-arginine을 6주 이상 장기간 섭취 할 경우 지구성 운동 시 에너지 대사에 긍정적인 영향을 가져와 운동지속시간이 향상되는 것을 확인 할 수 있었다. 향후 L-arginine과 함께 glucose나 fructose와 같이 glycemc index가 상이한 물질이나, 지방이용을 증가시키는 물질과 함께 복합처치 후 다양한 체내 생리활성 효과를 검증한다면 운동선수의 경기력 향상에 기여할 수 있을 것이다.

VI. 결론

본 연구에서는 L-arginine을 장기간 투여 했을 때 NO 생성의 증가를 통해 글리코겐 농도가 증가됨으로써 지구성 운동시 탄수화물 대사와 관련된 에너지기질 이용의 변화와 운동지속시간에 효과가 있는지 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 혈중 인슐린은 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

2. 혈중 글루코스는 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

3. 비복근 글리코겐은 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

4. 비복근 글리코겐 합성효소는 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

5. 비복근 NO는 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

6. 비복근 NOS는 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

7. 가자미근 글리코겐은 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군

사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

8. 가자미근 글리코겐 합성효소는 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

9. 가자미근 NO은 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

10. 가자미근 NOS는 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었으며, L-NMMA 투여군과 통제군 사이에 통계적인 유의차가 나타났다.

11. 최대수영시간은 L-arginine 투여군과 L-NMMA 투여군 및 통제군 사이에 통계적인 유의차가 있었다.

12. 호흡상은 Placebo 섭취보다 운동 30분부터 60분까지 L-arginine 섭취에서 유의하게 증가 하였다.

13. 혈중 글루코스 농도는 L-arginine 섭취가 Placebo 섭취 보다 운동 15분부터 60분까지 유의하게 증가하였다.

14. 젖산 농도는 운동 15분과 45분 및 60분에 L-arginine 섭취가 Placebo 섭취 보다 유의하게 감소되었다.

15. 중성지방 농도는 L-arginine 섭취시와 Placebo 섭취시 혈장의 중성지방의 농도변화에는 섭취물질 간에 차이가 없었다.

16. 유리지방산 농도는 운동시작과 30분에 Placebo 섭취가 L-arginine 섭취보다 낮은 것으로 나타났다.

17. 인슐린 농도는 L-arginine 섭취와 Placebo 섭취에서 안정시와 운동시 증가되는 경향을 보였으나, 통계적으로 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

18. 글루카곤농도는 운동 15분과 60분에 유의하게 증가하였다.

19. 운동지속시간은 L-arginine 섭취가 평균 6.3분 정도 유의하게 증가되었다.

결론적으로 L-arginine을 6주간 정기적으로 투여하였을 때 흰쥐의 골격근에서 nNOS 발현을 활성화시켜 NO 생성이 증가되고 글리코겐 농도가 증가됨으로써 운동지속시간이 증가되었으며, 인체실험의 경우 L-arginine 섭취는 간의 글루코스 공급을 증가시키고 NO 생성을 활성화시켜 골격근에 글루코스 섭취를 조절함으로써 운동지속시간을 연장시키는데 유효할 수 있다는 것을 확인하였다.

참고문헌

- 최성근·박석·이천호 (2009) L-arginine 투여가 골격근의 산화질소 합성 효소 발현과 글리코겐 농도 및 운동지속시간에 미치는 영향, 한국체육학회지, 48, 495-506.
- ACSM. (1991). Guidelines for exercise testing and prescription. 4th ed, Philadelphia, Lea & Febiger, pp. 62-63.
- Abel T., Knechtle, B, Perret, C, Eser, P., von Arx, P., & Knecht, H (2005). Influence of chronic supplementation of arginine aspartate in endurance athletes on performance and substrate metabolism—a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *International Journal of Sports Medicine*, 26: 344-349.
- Ahlborg G., Felig P. (1976). Influence of glucose ingestion on fuel-hormone response during prolonged exercise. *J Appl Physiol*. Nov;41(5 Pt. 1):683-8.
- Alderton W.K., Cooper. C.E., & Knowles, R.G. (2001). Nitric oxide synthase: structure, function and inhibition. *Journal of Biochemistry*, 357: 593-615.
- Anderson E.A., Hoffman RP., Balon TW., Sinkey CA., Mark AL. (1991). Hyperinsulinemia produces both sympathetic neural activation and vasodilation in normal humans. *J Clin Invest*, 87, 2246-2252.
- Andersson K, Gaudiot N., Ribiere C., Elizalde M., Giudicelli Y., Arner PA. (1999). Nitric oxide-mediated mechanism regulates lipolysis in human adipose tissue in vivo. *Br J Pharmacol*, 126, 1639-1645.
- Balon T.W., & Nadler J.L. (1994). Nitric oxide release is present from incubated skeletal muscle preparations. *Journal of Applied Physiology*, 77: 2519-2521.

- Balon T.W., & Nadler J.L. (1997). Evidence that nitric oxide increases glucose transport in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 82: 359-363.
- Bilski J, Konturek JW., Konturek SJ., Domsche W. (1995). The involvement of endogenous nitric oxide in vagal-cholinergic stimulation of exocrine and endocrine pancreas in dogs. *Int J Pharmacol*, 18, 41-49.
- Bode-Boger S.M., Boger, R.H., Loffler, M., Tsikas, D., Brabant, G., & Frolich, J.C. (1999). L-arginine stimulates NO-dependent vasodilation in healthy humans-effect of somatostatin pretreatment. *Journal of Investigative Medicine*, 47: 43-50.
- Bredt D., Hwang P., Snyder S. (1990). Localization of Nitric Oxide Synthase Indicating a Neural Role for Nitric Oxide. *Nature*, 347, 768.
- Brett S.E., Cockcroft, J.R., Mant, T.G.K., Ritter, J.M., & Chowienczyk, P.J. (1998). Haemodynamic effects of inhibition of nitric oxide synthase and of L-arginine at rest and during exercise. *Journal of Hypertension*, 16: 429-435.
- Burtscher M., Brunner F., Faulhaber M., Hotter B., Likar R. (2005). The prolonged intake of L-arginine-L-aspartate reduces blood lactate accumulation and oxygen consumption during submaximal exercise. *J Sports Sci Med*, 4, 314-322.
- Caidahl K., Eden S., Bengtsson BA. (1994). Cardiovascular and renal effects of growth hormone. *Clin Endocrinol*, 40,393-400.
- Campbell BI., Bounty PML., Roberts M. (2004). The ergogenic potential of arginine. *J Int Soc Sports Nutr*, 1, 35-38.
- Chromiak JA., Antonio J. (2002). Use of amino acids as growth hormone-releasing agents by athletes. *Nutrition*, 18, 657-661.

- Cheng J.W., & Baldwin, S.N. (2001). L-arginine in the management of cardiovascular diseases. *The Annals of Pharmacotherapy*, 35: 755-764.
- Colombani PC., Bitzi R, Frey-Rindova P., Frey W., Arnold M., Langhans W., Wenk C. (1999). Chronic arginine aspartate supplementation in runners reduces total plasma amino acid level at rest and during a marathon run. *Eur J Nutr*, 38, 263-270.
- Collier J., Rorty M., Sandborg C. (2006). Rafting the Ethical Rapids. *HEC Forum*. 2006 Dec;18(4):332-41.
- Colye E. F. (1994). Fluid and carbohydrate replacement during exercise. How much and why? *Sports Science Exchange*. 7(3), 1-6.
- Creager M.A., Gallagher, S.J., Girerd, X.J., Coleman, S.M., Dzau, V.J., & Cooke, J.P. (1992). L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *Journal of Clinical Investigation*, 90: 1248-1253.
- Essig DA., Costill DL., Van Handel PJ. (1980). Effects of caffeine ingestion on utilization of muscle glycogen and lipid during leg ergometer cycling. *Int J Sports Med*, 1, 86-90.
- Etgen G.J., Fryburg, D.A., & Gibbs, E.M. (1997). Nitric oxide stimulates skeletal muscle glucose transport through a calcium/contraction and phosphatidylinositol-3-kinase-independent pathway. *Diabetes*. 46: 1915-1919.
- Fike C.D., Kaplowitz, M.R., Rehorst-paea, L.A., & Nelin, L.D. (2000). L-arginine increase nitric oxide production in isolated lungs of chronically hypoxic newborn pigs. *Journal of Applied Physiology*, 88:1797-1803.

- Frandsen U., Lopez-Figueroa, M.O., & Hellsten. Y. (1996). Localization of nitric oxide synthase in human skeletal muscle. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 227: 88-93.
- Fu W.J., Haynes, T.E., Kohli, R., Hu, J., Shi, W., Spencer, T.E., Carroll, R.J., Meininger. C.J., & Wu, G. (2005). Dietary L-arginine supplementation reduces fat mass in Zucker diabetic fatty rats. *Journal of Nutrition*, 135: 714-721.
- Gaudiot N., Jaubert AM., Charbonnier E., Sabourault D., Lacasa D., Giudicelli Y., Ribiere C. (1998). Modulation of white adipose tissue lipolysis by nitric oxide. *J Biol Chem*, 273, 13475-13481.
- Gerich JE., Lorenzi M., Schneider V., Kwan CW., Karam JH., Guillemin R., Forsham PH. (1974). Inhibition of pancreatic glucagon responses to arginine by somatostatin in normal man in insulin-dependent diabetics. *Diabetes*, 23, 876-880.
- Gregory AJ., Fitch RW. (2007). Sports medicine: performance-enhancing drugs. *Pediatr Clin North Am*, Aug;54(4), 797-806.
- Goodyear L.J., Giorgino, F., Balon, T.W., Conodorelli. G., & Smith. R.J. (1995). Effects of contractile activity on tyrosine phosphoproteins and phosphatidylinositol 3-kinase activity in rat skeletal muscle. *American Journal of Physiology Endocrinology And Metabolism*, 268: E987-E995.
- Hayashi T., Wojtaszewski JFP., Goodyear LJ. (1997). Exercise regulation of glucose transport in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 273, E1039-E1051.
- Hickner, R.C., Fisher, J.S., Ehsani, A.A., & Kohrt, W.M. (1997). Role of nitric oxide in skeletal muscle blood flow at rest and during dynamic exercise in humans.

American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology
273: H405-H410.

Higaki Y., Hirshman M.F., Fujii, N., & Goodyear, L.J. (2001). Nitric oxide increase glucose uptake through a mechanism that is distinct from the insulin and contraction pathways in rat skeletal muscle. *Diabetes*, 50: 241-247.

Jessen N., & Goodyear, L.J. (2005). Contraction signaling to glucose transport in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 99 330-337.

Jeukendrup AE., Wagenmakers AJM., Stegen JHCH., Gijzen AP., Brouns F., Saris WHM. (1999). Carbohydrate ingestion can completely suppress endogenous glucose production during exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 276, E672-E683.

Kasperek G. J., & Snider, R. D.(1987). Effect of exercise intensity and starvation on activation of branched-chain keto acid dehydrogenase by exercise. *Am J Physiol.*, 252: E33-E37

Kingwell BA., Formosa M., Muhlmann M., Bradley SJ., McConell GK. (2002). Nitric oxide synthase inhibition reduces glucose uptake during exercise in individuals with type 2 diabetes more than in control subjects. *Diabetes*, 51, 2572-2580.

Klatt P., Cacho J., Crespo MD., Herrera E., Ramos P. (2000). Nitric oxide inhibits isoproterenol-stimulated adipocyte lipolysis through oxidative inactivation of the beta-agonist. *Biochem J*, 351, 485-493.

Kobzik L., Reid, M.B., Bredt, D.S., & Stamler, J.S. (1994). Nitric-oxide in skeletal muscle. *Nature*, 372 546-548

Konturek JW., Hengst K., Kulesza E., Gabryelewicz A., Konturek SJ., Domschke W. (1997). Role of endogenous nitric oxide in the control

of exocrine and endocrine pancreatic secretion in humans. *Gut*, 40, 86–91.

Lambert EV., Noakes TD., Dennis SC., Hawley JA.(1996). The effect of carbohydrate ingestion on the motor skill proficiency of soccer players. *Int J Sport Nutr.* Dec;6(4):348–55

Lau K.S., Grange, R.W., Chang, W.J., Kamm, K.E., Sarelius, I., & Stull, J.T. (1998). Skeletal muscle contractions stimulate cGMP formation and attenuate vascular smooth muscle myosin phosphorylation via nitric oxide. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 431. 71–74.

Lee AD., Hansen, P.A., & Holloszy, J.O. (1995). Wortmannin inhibits insulin-stimulated but not contraction-stimulated glucose transport activity in skeletal muscle. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 361: 51–54

Lehninger AL., Nelson, DL., & Cox, MM (1993). *Principles of biochemistry; with an extended discussion of oxygen-binding proteins.* Worth Publishers, Inc, 710.

Longhurst J., & Zelis, R. (1979). Cardiovascular responses to local hindlimb hypoxemia: relation to the exercise reflex. *Am J Physiol* 237: 359–365.

Lund S., Holman, GD., Schmitz, O., & Pedersen, O (1995). Contraction stimulates translocation of glucose transporter GLUT4 in skeletal muscle through a mechanism distinct from that of insulin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92: 5817–5821.

McClung M., Collins D. (2007). "Because I know it will!": placebo effects of an ergogenic aid on athletic performance. *J Sport Exerc Psychol*, Jun;29(3), 382–94.

McConell G., Fabris S., Proietto J., Hargreaves M. (1994). Effect of

carbohydrate ingestion on glucose kinetics during exercise. *J Appl Physiol*, 77, 1537–1541.

McConnell G.K., Huynh, N.N., Lee-Young, R.S., Canny, B.J., & Wadley, G.D. (2006). L-arginine infusion increases glucose clearance during prolonged exercise in human. *American Journal of Physiology Endocrinology And Metabolism*, 290: E60–E66.

McConnell G.K., Kingwell B.A. (2006). Dose nitric oxide regulate skeletal muscle glucose uptake during exercise?. *Exerc Sport Sci Rev*, 34, 36–41.

Michel T., & Feron, O. (1997). nitric oxide synthases: Which, how, and why?. *The Journal of Clinical Investigation* 100: 2146–2152.

Mills P.C., Marlin D.J., Scott C.M., Smith N.C. (1999). Metabolic effects of nitric oxide synthase inhibition during exercise in the horse. *Res Vet Sci*, 66, 135–138.

Mohr S., Stamler, J.S., Brune, B. (1996). Posttranslational modification of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase by S-nitrosylation and subsequent NADH attachment. *J Biol Chem*, 271, 4209–4214.

Morris S.M. Jr. Regulation of enzymes of the urea cycle and arginine metabolism. *Annu Rev Nutr* 2002; 22: 87–105.

Maxwell A.J., Ho, H.V., Le, C.Q., Lin, P.S., Bernstein, D., & Cooke, J.P. (2001). L-arginine enhances aerobic exercise capacity in association with augmented nitric oxide production. *Journal of Applied Physiology*, 90: 933–938.

Quyuni A.A. (1998). Does acute improvement of endothelial dysfunction in coronary artery disease improve myocardial ischemia? a double-blind comparison of parenteral D- and L-arginine. *Journal of the American College of Cardiology*, 32

904-911.

- Rector T.S., Bank, A.J., Mullen, K.A., Tschumperlin, L.K., Sih, R., Pillai, K., Kubo, S.H. (1996). Randomized, double-blind, placebo controlled study of supplemental oral L-arginine in patients with heart failure. *Circulation*, 93: 2135-2141.
- Reid MB. (1998). Role of nitric oxide in skeletal muscle synthesis, distribution and functional importance. *Acta Physiol Scand*, 162, 401-409.
- Reiser P.J., Kline, W.O., & Vaghy.P.L. (1997). Induction of neuronal type nitric oxide synthase in skeletal muscle by chronic electrical stimulation in vivo. *Journal of Applied Physiology*, 82: 1250-1255.
- Richter E.A., Derave, W., & Wojtaszewski, J.F. (2001). Glucose, exercise and insulin: emerging concepts. *The Journal of Physiology*, 535: 313-322.
- Roberts C.K., Barnard, R.J., Jasman, A., & Balon, T.W. (1999). Acute exercise increases nitric oxide synthase activity in skeletal muscle. *American Journal of Physiology Endocrinology And Metabolism*, 277: E390-E394.
- Rodriguez PC, Zea AH, DeSalvo J, Culotta KS, Zabaleta J, Quiceno DG, Ochoa JB Ochoa AC. L-Arginine consumption by macrophages modulates the expression of CD3 ζ chain in T lymphocytes. (2003). *J Immunol*, 17: 1232-1239.
- Rottman J.N., Bracy, D., Malabanan, C., Yue, Z., Clanton, J., & Wasserman, D.H. (2002). Contrasting effects of exercise and NOS inhibition on tissue-specific fatty acid and glucose uptake in mice. *American Journal of Physiology Endocrinology And Metabolism*, 283: E116-E123.
- Sahlin K. (1986). Muscle fatigue and lactic acid accumulation. *Acta Physiol Scand Suppl.* 556:83-91.

- Sahlin K., Katz, A., & Broberg. S (1990). Tricarboxylic acid cycle intermediates in human muscle during prolonged exercise. *Am J Physiol.*, 259: C834-C841.
- Schaefer A., Piquard, F., Geny B., Doutreleau S., Lampert E., Mettauer B., Lonsdorfer J. (2002). L-Arginine Reduces Exercise-Induced Increase in Plasma Lactate and Ammonia. *Int J Sports Med*, 23, 403-407.
- Schmidt HHHW., Warner TD., Ishii K., Sheng H., Murad F. (1992). Insulin secretion from pancreatic B cells caused by L-arginine-derived nitrogen oxides. *Science*, 255, 721-723.
- Segal S.S. (1994). Invited editorial on " Nitric oxide release is present from incubated skeletal muscle preparation." *Journal of Applied Physiology*, 77: 2517-2518.
- Silveira LR, Pereira-Da-Silva, L, Juel, C, & Hellsten, Y. (2003). Formation of hydrogen peroxide and nitric oxide in rat skeletal muscle cells during contractions. *Free Radical Biology & Medicine* 35: 455-464.
- Stephens T.J., Canny, B.J., Snow, R.J., & McConnell, GK (2004). 5'-aminoimidazole-4-carboxamide- ribonucleoside-activated glucose transport is not prevented by nitric oxide synthase inhibition in rat isolated skeletal muscle. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology* 31: 419-423.
- Tidball J.G., Lavergne, E., Lau, K.S., Spencer, M.J., Stull, J.T., & Wehling, M. (1998). Mechanical loading regulates NOS expression and activity in developing and adult skeletal muscle. *American Journal of Cell Physiology* 275: C260-C266.
- Tong BC., Barbul, A. (2004). Cellular and physiological effects of arginine. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 4(8), 823-32.
- Trabelsi F., and Lavoie JM. (1996). Arginine induced pancreatic hormone secretion during exercise in rat. *J Appl Physiol*, 81, 2528-2533.

- Vissek WJ. (1986). Arginine needs, physiological state and usual diets. A reevaluation, *J Nutr*, 116, 36-46.
- Vissing J., Wallace JL., Scheurink AJ., Galbo H., Steffens AB. (1989). Ventromedial hypothalamic regulation of hormonal and metabolic responses to exercise. *Am J Physiol*. May;256(5 Pt 2):R1019-26.
- Williams M. H. (1998). Nutritional ergogenics and sports performance. *Physical Activity and Fitness Research Digest*, 3(2): June.
- Willmore H. J. & Costill, L. D. (1995). *Physiology of sport and exercise*. Human Kinetics Press. 359-370.
- Wu G & Morris, SM (1998). Arginine metabolism: Nitric oxide and beyond. *The Biochemical Journal* 336: 1-17.

ABSTRACT

The effects of L-arginine on energy metabolism and exhaustion time during endurance exercise

Lee, Cheon Ho
Department of Physical Education
Graduate School
SungShin Women's University

The purpose of this study is to investigate whether L-arginine administration for 6 weeks can affect the exhaustion time during endurance exercise. Thirty of Sprague-Dawley rats were randomly divided into three groups: the control group, L-arginine treated group and L-NMMA treated group. Every day on 9 am during the six weeks period, we performed oral administration on L-arginine treated group and L-NMMA treated group by giving 10 mg/kg/day of L-arginine and 5 mg/kg/day of L-NMMA for six weeks. Here, we found that L-arginine treated group showed significant increase on concentration of insulin and glucose, whereas L-NMMA treated group showed significant decrease on concentration of insulin and glucose. L-arginine treated group glycogen, glycogen synthase, NO, and nitric oxide synthase expression in both the gastrocnemius muscle and soleus muscle; whereas L-NMMA treated group showed significant decrease on glycogen, glycogen synthase, NO, and nitric oxide synthase expression. The amount of exhaustion time was

ordered as follows: L-arginine treated group, Control group, and L-NMMA treated group. Our results suggested that prolonged administration of L-arginine increased the nitric oxide synthase expression as well as production of NO that acts as a mediator on glucose uptake in skeletal muscle. As shown in above results , we have proven a significant increase in exhaustion time. To identify the effect of L-arginine in human with exercise, we hypothesize whether L-arginine's prolonged administration can induce the alteration on the energy metabolism and exhaustion time in fin swimming athletes. In two experiments designed as a double-blind crossover test, nine subjects ingested 100mg/kg of L-arginine or a placebo via tablets for 6 weeks and then participated in cycle ergometer. They cycled at 60% V_{O_2max} for one hour and then the exercise intensity was gradually increased to 80% V_{O_2max} until exhaustion. L-arginine not only significantly increased the respiratory quotient and glucose concentration during one hour of exercise but also decreased lactate concentration in blood which enlarged the exhaustion time by 6.3 min. The administration of L-arginine did not cause any change in triglyceride concentration, insulin concentration, but the glucagon concentration tended to increase according to the duration of the exercise. These results suggested that prolonged administration of L-arginine may increase the liver glucose output and nitric oxide production, working as a mediator of glucose uptake in skeletal muscle.