مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال بیست و نهم/شماره ۱۵۸/هفته دوم آذر ماه ۱۳۹۰
مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۰/۷/۱۴

اثر ال–آرژینین، پیش‌ساز نیتریک اکساید و L-NAME، مهارکننده‌ی آنزیم سنتزکننده‌ی نیتریک اکساید، بر رگ‌زایی عروق کرونر در رت‌های طبیعی

دکتر مجید خزاعی[۱]، محمد امین مشیدی[۲]، مسعود تیموری[۲]، شهرزاد عقیلی[۲]، سعید منتظری[۲]، روشنک مهدی‌پور[۲]، فضل الله هاشم زهی[۲]، حورالسادات هاشمی جزی[۲]

چکیده

مقدمه: نیتریک اکساید اثرات مفیدی بر سیستم قلبی–عروقی دارد که یکی از آن‌ها، اثرات آن بر آنژیوزنز است. با توجه به نقش نیتریک اکساید (NO یا Nitric oxide) در فرایند آنژیوژنز، هدف این مطالعه بررسی اثر آگونیست و آنتاگونیست‌های NO بر سطح سرمی فاکتور رشد اندوتلیوم عروقی (VEGF یا Vascular endothelial growth factor) و NO و آنژیوژنز قلبی در رت‌های طبیعی بود.

روش‌ها: تعداد ۱۸ رت نر خریداری شده از انستیتو پاستور به طور تصادفی به سه گروه تقسیم گردیدند. گروه اول (۶ رت) روزانه L-NAME یا L-NG-nitroarginine methyl ester (آنتاگونیست آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز) با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، گروه دوم (۶ رت) ال–آرژینین (پیش‌ساز نیتریک اکساید) ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه سوم (۶ رت) نرمال سالین به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. پس از ۳ هفته نمونه‌ی خونی جهت بررسی سطح سرمی NO و VEGF گرفته شد و نمونه‌های بافتی قلبی پس از قرار دادن در فرمالین جهت بررسی آنژیوژنز تحت رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی CD31 قرار گرفتند.

یافته‌ها: سطح سرمی NO در رت‌های طبیعی ۰/۴۴ ± ۶/۴۵ میکرومول در لیتر بود. مصرف ال–آرژینین سبب افزایش و مصرف L-NAME سبب کاهش در سطح سرمی NO شد اگر چه این تفاوت معنی‌دار نبود ($P > ۰/۰۵$). مصرف ال–آرژینین توانست به طور معنی‌داری سطح سرمی VEGF را افزایش دهد (۷/۰۳ ± ۳۵۳/۰۱ در برابر ۶/۶۱ ± ۷۸/۵). بررسی آنژیوژنز در گروه‌های مختلف نشان داد که ال–آرژینین و L-NAME نتوانستند تغییر معنی‌داری بر دانسیته‌ی مویرگی در قلب حیوانات طبیعی داشته باشند.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد مصرف ال–آرژینین و L-NAME اگر چه ممکن است سبب تغییر برخی فاکتورهای مؤثر بر آنژیوژنز شوند اما بر آنژیوژنز قلبی اثری ندارند. این امر نیاز به مطالعات و بررسی‌های بیشتر در مدل‌های مختلف آنژیوژنز دارد.

واژگان کلیدی: ال–آرژینین، L-NAME، نیتریک اکساید، فاکتور رشد اندوتلیوم عروقی، آنژیوژنز

مقدمه

دیابت پنجمین عامل اصلی مرگ در جهان به شمار می‌رود (۱). در میان عوارض دیابت، بیماری‌های قلبی–عروقی علت اصلی مرگ است که بیشترین میزان آن به علت عوارض ناشی از عروق کرونری می‌باشد (۲).

آنژیوژنز (رگ‌زایی) فرآیند تشکیل عروق جدید یا جوانه زدن رگ‌های جدید از رگ‌های موجود در بافت می‌باشد. این فرآیند به طور بارز در دوران جنینی و در مواردی در دوران پس از تولد و حتی در بالغین مشاهده می‌شود. موارد فیزیولوژیکی همچون ترمیم زخم‌ها، سیکل‌های قاعدگی و موارد پاتولوژیکی همچون رتینوپاتی دیابتی، آندومتریوز و رشد عروق در انواع تومورها از مثال‌های بارز آنژیوژنز پس از تولد می‌باشند.

فاکتورهای متعددی در ایجاد عروق جدید دخیل

[۱] دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۲] دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مجید خزاعی
Email: khazaei@med.mui.ac.ir

می‌باشند که از بین آن‌ها می‌توان به نیتریک اکساید (No) و فاکتور رشد اندوتلیوم عروقی (VEGF یا Vascular endothelial growth factor) اشاره نمود (۴-۳). آنژیوژنز نقش مهمی در تطابق فیزیولوژیکی با ایسکمی را به عهده دارد. با این وجود در شرایط پاتولوژیکی مانند چاقی، فشار خون، دیابت قندی ممکن است ناکافی یا کند باشد. امروزه از آنزیوژنز درمانی برای بهبود زخم، بیماری‌های التهابی، ایسکمی قلب، بیماری‌های عروق محیطی، انفارکتوس میوکارد، سرطان و رتینوپاتی دیابتی استفاده می‌شود (۵). تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که NO تنظیم‌کننده‌ی VEGF است همچنین موجب مهاجرت و تمایز سلول‌های اندوتلیال و تبدیل شدن آن‌ها به مویرگ می‌شود.

هدف ما در این مطالعه بررسی اثر آگونیست و آنتاگونیست نیتریک اکساید (ال-آرژینین و L-NAME یا L-NG-nitroarginine methyl ester) بر رگ‌زایی عروق کرونر در قلب و سطح سرمی VEGF در رت‌های طبیعی بود.

روش‌ها

تعداد ۱۸ رت نر از انستیتو پاستور خریداری گردید. پس از تطابق با لانه‌ی حیوانات گروه فیزیولوژی به مدت یک هفته، حیوانات به طور تصادفی به سه گروه ۶تایی تقسیم شدند. گروه اول L-NAME با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت نمودند (۶). گروه دوم ال-آرژینین با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت نمودند (۷). هر دو دارو به صورت اینتراپریتونئال تزریق گردید. گروه سوم نرمال سالین دریافت نمودند. در طول این مدت حیوانات در شرایط نور و دمای مناسب و دسترسی کامل به آب و غذا قرار داشتند.

پس از ۳ هفته حیوانات با کتامین با دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند و خون‌گیری انجام شد تا پارامترهای سرمی (سطح سرمی NO و VEGF) بررسی گردد. سپس حیوانات با دوز بالای ماده‌ی بیهوشی کشته شدند و قلب آن‌ها خارج گردید و نوک قلب جهت بررسی آنژیوژنز در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد.

غلظت سرمی VEGF توسط روش ELISA (Enzyme linked immunoSorbent assay) و با استفاده از کیت RRV00 (R&D Systems,Minneapolis,USA) و با استفاده از Recombinant standard & reagents اندازه‌گیری شد (۸).

بررسی دانسیته‌ی مویرگی و آنژیوژنز با استفاده از تکنیک ایمنوهیستوشیمی (IHC) انجام شد. جهت ایمونوهسیتوشیمی از آنتی‌بادی اولیه‌ی ضد CD_{31} (Rat monoclonal antibody against murine CD_{31}) به عنوان شاخص سلول اندوتلیال استفاده گردید. ده میدان میکروسکوپی مختلف از هر تهیه‌ی بافتی به طور تصادفی انتخاب شد و مویرگ‌های قابل رؤیت که در واقع سلول‌های CD31 مثبت بودند شمرده شدند. تراکم مویرگی به صورت تعداد مویرگ‌ها به ازای میلی‌متر مربع بیان شد.

در اندازه‌گیری سطح سرمی NO از متد Griess reagent با استفاده از کیت شرکت Promega استفاده گردید. اساس اندازه‌گیری، اندازه‌گیری متابولیت‌های NO با استفاده از دو Reagent به نام سولفانیلامید و NED بود که در کیت موجود بودند. روش اندازه‌گیری، اسپکتروفتومتری و مقایسه‌ی نمونه‌ها با منحنی استاندارد بود.

برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶

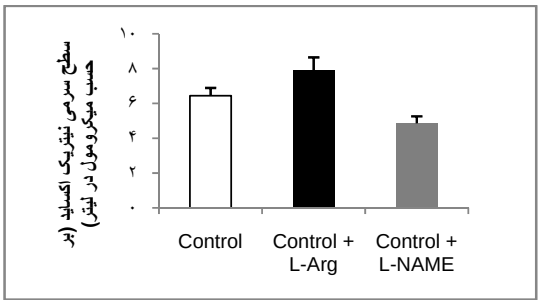
www.mui.ac.ir

(version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده شد. تغییرات سطح فاکتورهای سرمی قبل و پس از آزمایش با آزمون Paired-t و مقایسه‌ی بین گروه‌ها با آزمون One-way ANOVA انجام شد. $P < ۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی گردید.

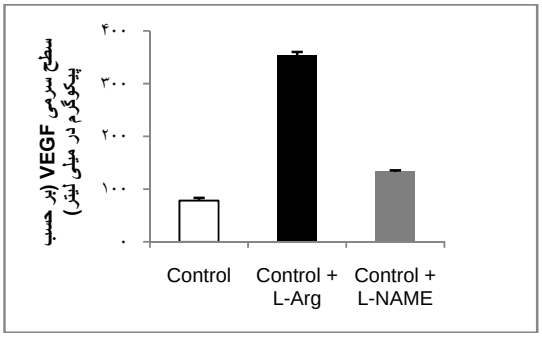
یافته‌ها

سطح سرمی NO در گروه‌های مختلف قبل از آزمایش تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > ۰/۰۵$). در پایان آزمایش سطح سرمی NO در رت‌های طبیعی ۰/۴۴ ± ۶/۴۵ میکرومول در لیتر بود. مصرف ال-آرژینین سبب افزایش و مصرف L-NAME سبب کاهش در سطح سرمی NO گردید اگر چه این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > ۰/۰۵$) (شکل ۱).

سطح سرمی VEGF در ابتدای آزمایش تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف نداشت ($P > ۰/۰۵$). در پایان آزمایش سطح سرمی VEGF در رت‌های شاهد ۵/۱۴ ± ۷۸/۲۲ پیکوگرم در میلی‌لیتر بود. ال-آرژینین توانست به طور معنی‌داری سطح سرمی VEGF را افزایش دهد (۷/۰۳ ± ۳۵۳/۰۱ در برابر ۵/۱۴ ± ۷۸/۲۲) ($P < ۰/۰۵$)، در حالی که L-NAME نتوانست تغییر معنی‌داری در سطح سرمی VEGF ایجاد نماید (شکل ۲).

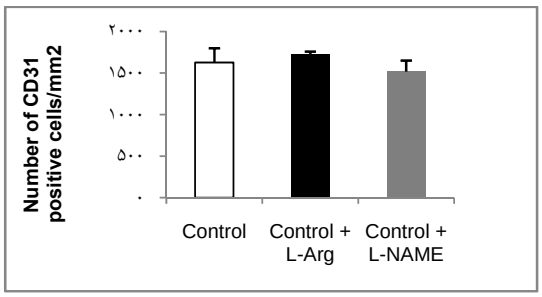


شکل ۱.سطح سرمی نیتریک اکساید (بر حسب میکرومول در لیتر) در گروه‌های مختلف در پایان آزمایش



شکل ۲. سطح سرمی VEGF (بر حسب پیکوگرم در میلی‌لیتر) در گروه‌های مختلف در پایان آزمایش.

***: $P < ۰/۰۵$ در مقایسه با سایر گروه‌ها**



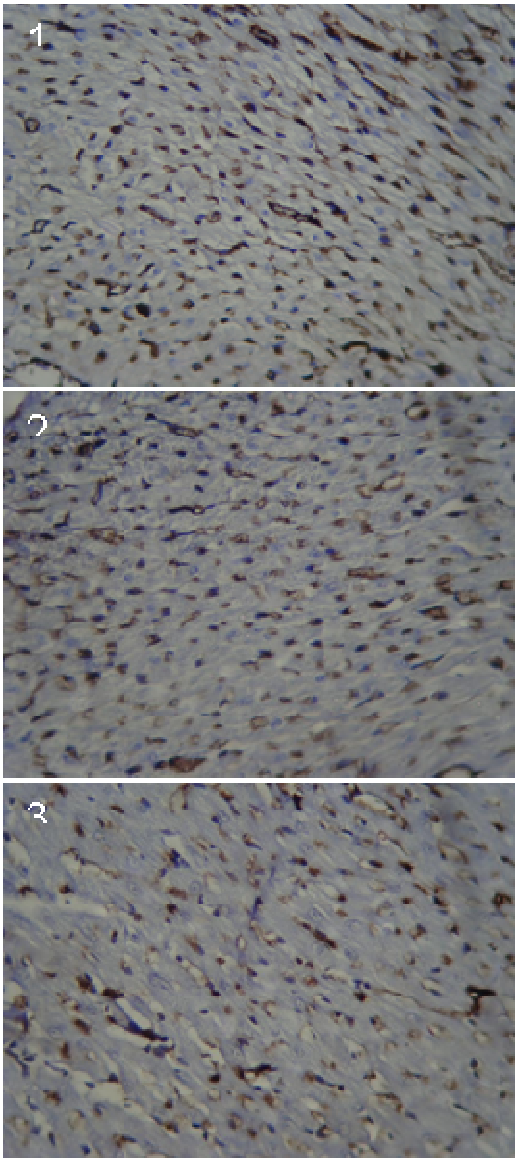
شکل ۳. دانسیته مویرگی در عضله قلبی حیوانات در گروه‌های مختلف

نتایج ما نشان داد دانسیته‌ی مویرگی که شاخص آنژیوژنز می‌باشد با تجویز ال-آرژینین در حیوانات طبیعی تغییر چندانی نداشت. همچنین مصرف L-NAME نیز نتوانست تغییر معنی‌داری بر آنژیوژنز عروق کرونر داشته باشد (شکل ۳). نمونه‌ای از لام‌های ایمونوهیستوشیمی تهیه شده از قلب حیوانات گروه‌های مختلف آزمایش در شکل ۴ نشان داده شده است.

بحث

نتایج مطالعه‌ی ما نشان داد که مصرف ال-آرژینین و L-NAME به طور غیر معنی‌داری به ترتیب سبب افزایش و کاهش سطح سرمی NO گردید. اگر چه ال-آرژینین سبب افزایش سطح VEGF سرمی گردید اما NO مصرف ال-آرژینین و L-NAME نتوانست

www.mui.ac.ir



شکل ۴: نمای میکروسکوپی عضله‌ی قلبی رنگ‌آمیزی شده با آنتی CD31 آنتی‌بادی به روش ایمونوهیستوشیمی در گروه‌های شاهد (۱)، دریافت‌کننده‌ی ال-آرژینین (۲) و دریافت‌کننده‌ی L-NAME (۳). تصاویر با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ تهیه شده است.

تغییر معنی‌داری بر آنژیوژنز قلبی داشته باشد.

توسط سلول‌های اندوتلیال و با استفاده از ال-آرژینین و ملکول اکسیژن و توسط آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز ساخته می‌شود. این آنزیم ال-آرژینین را به NO و ال-سیترولین تبدیل می‌کند (۹). در مطالعه‌ی حاضر ال-آرژینین توانست سبب افزایش سطح سرمی NO گردد. اثرات مفید ال-آرژینین در مدل‌های مختلف بر سیستم قلبی-عروقی نشان داده شده است. مطالعات قبلی نشان می‌دهد که ال-آرژینین در حیوانات دیابتی سبب افزایش عملکرد سلول‌های اندوتلیال و افزایش پاسخ اتساع عروقی در عروق کرونر و آئورت موش‌های دیابتی می‌شود (۱۱-۱۰). NO اثرات بسیار مهم و مفیدی بر سیستم قلبی-عروقی دارد که از آن جمله می‌توان به بهبود عملکرد اندوتیوم، کاهش پرولیفراسیون سلول‌های عضله‌ی صاف و کاهش آترواسکلروز، کاهش تجمع پلاکتی و از همه مهم‌تر افزایش آنژیوژنز اشاره کرد. بنابراین انتظار می‌رود عواملی که بتوانند سبب افزایش یا کاهش NO گردند بر آنژیوژنز نیز اثر تحریکی یا مهاری داشته باشند.

VEGF یک فاکتور مهم دیگر در پرولیفراسیون سلول‌های اندوتلیال است و از جمله شناخته شده‌ترین فاکتورهای رشد اندوتلیال عروقی محسوب می‌شود (۱۲). اگر چه اغلب مطالعات نشان‌دهنده‌ی نقش VEGF بر ایجاد آنژیوژنز در رتین بیماران دیابتی است (۱۴-۱۳) اما مطالعات کمتری به نقش احتمالی VEGF در ایجاد مشکلات عروقی سایر بافت‌ها پرداخته‌اند. مطالعه‌ی ما نشان داد که سطح سرمی VEGF پس از مصرف ال-آرژینین در حیوانات طبیعی افزایش معنی‌داری یافت اگر چه مصرف L-NAME نتوانست تغییر معنی‌داری بر سطح سرمی VEGF ایجاد نماید.

آنژیوژنز عبارت است از پرولیفراسیون و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال و تشکیل مویرگ‌های جدید از عروق از قبل تشکیل شده. عوامل متعددی بر فرایند

www.mui.ac.ir

آنژیوژنز تأثیر دارند. مطالعات مختلف نشان داده است که NO نقش مهمی در فرایند آنژیوژنز دارد (۱۵). به علاوه NO نقش مهمی در مهار آپوپتوز، افزایش پرولیفراسیون و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال دارد (۱۷-۱۶). همچنین NO می‌تواند سنتز و آزادی VEGF از سلول‌های عروقی را افزایش دهد (۱۸). ارتباط متقابلی بین NO و VEGF وجود دارد. مطالعات نشان داده‌اند که VEGF اکسپرشن نیتریک اکساید سنتتاز را افزایش می‌دهد و بیوسنتز NO را از سلول‌های کشت شده اندوتلیوم افزایش می‌دهد (۱۹). پره‌انکوباسیون سلول‌های اندوتلیال با ال-آرژینین سبب افزایش NO بازال و تحریک شده با VEGF می‌شود (۱۵). برعکس استفاده از L-NAME به عنوان آنتاگونیست NO از تشکیل عروق جدید جلوگیری نموده است (۲۰). همچنین نشان داده شده است که استفاده از L-NAME سبب مهار اثرات آنژیوژنیک ماده‌ی P یا TGF بتا می‌شود (۱۷). در مدل آنژیوژنز قرنیه در خرگوش استفاده از L-NAME سبب بلوک آنژیوژنز القا شده توسط VEGF شده است (۲۱).

مطالعه‌ی ما نشان داد که دانسیته‌ی مویرگی که شاخص آنژیوژنز می‌باشد در حیوانات دریافت‌کننده‌ی ال-آرژینین و L-NAME نسبت به گروه عدم دریافت دارو تفاوت معنی‌داری نداشت. این بدان معنی است که حداقل ال-آرژینین با وجود افزایش سطح سرمی NO و VEGF نتوانسته است اثری بر آنژیوژنز قلبی داشته باشد. اگر چه دوزهای داروهای به کار رفته در این مطالعه، بر اساس مطالعات قبلی انتخاب شده است اما شاید اثرات آنژیوژنیک ال-آرژینین بر عضله‌ی قلبی نیاز به دوزهای بالاتر این ماده داشته باشد. از محدودیت‌های مهم این مطالعه این بود که اثر ال-آرژینین و L-NAME بر آنژیوژنز در قلب حیوانات بدون ایجاد ایسکمی مورد بررسی قرار گرفت. از آن جا که هیپوکسی ناشی از ایسکمی یکی از مهم‌ترین محرک‌های ایجاد آنژیوژنز است شاید بتوان اثرات ال-آرژینین و L-NAME را در مدل‌های ایسکمی قلبی بهتر مورد بررسی قرار داد که این خود نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد ال-آرژینین اگر چه سبب تغییر در سطح سرمی برخی فاکتورهای مؤثر در آنژیوژنز در رت‌های طبیعی می‌گردد اما مصرف ال-آرژینین به عنوان پیش‌ساز NO و L-NAME به عنوان مهارکننده‌ی آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز نمی‌تواند تغییر معنی‌داری بر آنژیوژنز قلبی داشته باشد. اثرات این مواد بر آنژیوژنز نیاز به مطالعات و بررسی‌های بیشتر در مدل‌های مختلف بررسی آنژیوژنز به خصوص در شرایط هیپوکسی دارد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که حمایت‌کننده‌ی مالی این طرح تحقیقاتی به شماره‌ی ۱۸۸۱۰۳، بودند کمال تشکر را داریم.

References

1. Hogan P, Dall T, Nikolov P. Economic costs of diabetes in the US in 2002. Diabetes Care 2003; 26(3): 917-32.

2. Bax JJ, Young LH, Frye RL, Bonow RO, Steinberg HO, Barrett EJ. Screening for coronary artery disease in patients with diabetes. Diabetes

www.mui.ac.ir

Care 2007; 30(10): 2729-36.
3. Satchell SC, Mathieson PW. Angiopoietins: microvascular modulators with potential roles in glomerular pathophysiology. J Nephrol 2003; 16(2): 168-78.
4. Bates DO, Hillman NJ, Williams B, Neal CR, Pocock TM. Regulation of microvascular permeability by vascular endothelial growth factors. J Anat 2002; 200(6): 581-97.
5. Kawamura A, Horie T, Tsuda I, Abe Y, Yamada M, Egawa H, et al. Clinical study of therapeutic angiogenesis by autologous peripheral blood stem cell (PBSC) transplantation in 92 patients with critically ischemic limbs. J Artif Organs 2006; 9(4): 226-33.
6. Pistea A, Bakker EN, Spaan JA, Hardeman MR, van RN, VanBavel E. Small artery remodeling and erythrocyte deformability in L-NAME-induced hypertension: role of transglutaminases. J Vasc Res 2008; 45(1): 10-8.
7. Hutchison SJ, Reitz MS, Sudhir K, Sievers RE, Zhu BQ, Sun YP, et al. Chronic dietary L-arginine prevents endothelial dysfunction secondary to environmental tobacco smoke in normocholesterolemic rabbits. Hypertension 1997; 29(5): 1186-91.
8. Khazaei M, Nematbakhsh M. Serum level of vascular endothelial growth factor is increased by estrogen replacement therapy in normotensive and DOCA-Salt hypertensive ovariectomized rats. Clin Chim Acta 2006; 365(1-2): 206-10.
9. Cengel A, Sahinarslan A. Nitric oxide and cardiovascular system. Anadolu Kardiyol Derg 2006; 6(4): 364-8.
10. Ghosh S, Khazaei M, Moien-Afshari F, Ang LS, Granville DJ, Verchere CB, et al. Moderate exercise attenuates caspase-3 activity, oxidative stress, and inhibits progression of diabetic renal disease in db/db mice. Am J Physiol Renal Physiol 2009; 296(4): F700-F708.
11. Moien-Afshari F, Ghosh S, Elmi S, Khazaei M, Rahman MM, Sallam N, et al. Exercise restores coronary vascular function independent of myogenic tone or hyperglycemic status in db/db mice. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2008; 295(4): H1470-H1480.
12. Shibuya M. Structure and function of VEGF/VEGF-receptor system involved in angiogenesis. Cell Struct Funct 2001; 26(1): 25-35.
13. Adamis AP, Miller JW, Bernal MT, D'Amico DJ, Folkman J, Yeo TK, et al. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. Am J Ophthalmol 1994; 118(4): 445-50.
14. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. N Engl J Med 1994; 331(22): 1480-7.
15. Cooke JP. NO and angiogenesis. Atheroscler Suppl 2003; 4(4): 53-60.
16. Morbidelli L, Chang CH, Douglas JG, Granger HJ, Ledda F, Ziche M. Nitric oxide mediates mitogenic effect of VEGF on coronary venular endothelium. Am J Physiol 1996; 270(1 Pt 2): H411-H415.
17. Ziche M, Morbidelli L, Masini E, Amerini S, Granger HJ, Maggi CA, et al. Nitric oxide mediates angiogenesis in vivo and endothelial cell growth and migration in vitro promoted by substance P. J Clin Invest 1994; 94(5): 2036-44.
18. Dulak J, Jozkowicz A, Dembinska-Kiec A, Guevara I, Zdzienicka A, Zmudzinska-Grochot D, et al. Nitric oxide induces the synthesis of vascular endothelial growth factor by rat vascular smooth muscle cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2000; 20(3): 659-66.
19. Hood JD, Meininger CJ, Ziche M, Granger HJ. VEGF upregulates ecNOS message, protein, and NO production in human endothelial cells. Am J Physiol 1998; 274(3 Pt 2): H1054-H1058.
20. Babaei S, Teichert-Kuliszewska K, Monge JC, Mohamed F, Bendeck MP, Stewart DJ. Role of nitric oxide in the angiogenic response in vitro to basic fibroblast growth factor. Circ Res 1998; 82(9): 1007-15.
21. Ziche M, Morbidelli L, Choudhuri R, Zhang HT, Donnini S, Granger HJ, et al. Nitric oxide synthase lies downstream from vascular endothelial growth factor-induced but not basicfibroblast growth factor-induced angiogenesis. J Clin Invest 1997; 99(11): 2625-34.

www.mui.ac.ir

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 29, No 158, 2nd week, December 2011 Received: 21.7.2011 Accepted: 6.10.2011

The Effects of L-Arginine (the Precursor of Nitric Oxide) and L-NAME (Nitric Oxide Synthase Inhibitor) on Coronary Angiogenesis in Normal Rats

Majid Khazaei MD, PhD[1], Mohammad Amin Moshayedi[2], Massoud Teimouri[2], Shahrzad Aghili[2], Saeed Montazeri[2], Roshanak Mehdipour[2], Fazolah Hashemzehi[2], Hourossadat Hashemi Jazi[2]

Abstract

Background: Nitric oxide (NO) has beneficial effects on cardiovascular system including improvement of angiogenesis. The aim of this study was to evaluate the effects of L-arginine (the precursor of NO) and L-NG-nitroarginine methyl ester (L-NAME) (NO synthase inhibitor) on serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and coronary angiogenesis in normal rats.

Methods: In this study, 18 male rats were randomly divided into 3 groups. Groups 1 and 2 received intraperitoneal L-NAME (10 mg/kg/day) and intraperitoneal L-arginine (50 mg/kg/day), respectively. Group 3 (control) received normal saline with the same volume. After 3 weeks, blood samples were taken for measuring serum VEGF and NO concentrations. Coronary angiogenesis was also evaluated using immunohistochemistry method.

Findings: Serum NO concentration in the control group was 6.45 ± 0.44 µmol/l. Serum NO concentrations were increased by administration of L-arginine (7.90 ± 0.75 vs. 6.45 ± 0.44 µmol/l) and decreased by administration of L-NAME (4.86 ± 0.40 vs. 6.45 ± 0.44 µmol/l). L-arginine significantly increased serum VEGF concentration (353.01 ± 7.03 vs. 100.50 ± 6.61 pg/ml; $P < 0.05$). L-arginine and L-NAME could not change capillary density in heart tissue.

Conclusion: Although L-arginine could change some serum angiogenic factors, neither L-arginine nor L-NAME could alter coronary angiogenesis in normal rats.

Keywords: L-arginine, L-NAME, Nitric oxide, Vascular endothelial growth factor, Angiogenesis

[1] Associate Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[2] Student of Medicine, School of Medicine And Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
Corresponding Author: Majid Khazaei MD, PhD, Email: khazaei@med.mui.ac.ir