

## **Response of Vascular Endothelial Growth Factor and Endostatin to a Session Activity before and after a Period of L-Arginine Supplementation in Active Men**

Morteza Motahari Rad<sup>1</sup>, Seyyed Reza Attarzadeh Hosseini<sup>2\*</sup>

1. PhD Student of Sport Physiology, Department of Sport Physiology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2. Professor, PhD of Sport Physiology, Department of Sport Physiology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received: 26 Oct 2016, Accepted: 26 Feb 2017

### **Abstract**

**Background:** The aim of this study was to investigate the response of the most important angiogenic and angiostatic factors to a session activity before and after a period of L-Arginine supplementation in active men.

**Materials and Methods:** In this practical and semi experimental study, 22 active men were selected by convenience sampling method and they were randomly assigned into supplement (n=11) and placebo (n=11) groups. Baseline levels of VEGF and endostatin were measured, then subjects participated an exhaustive treadmill protocol in pre-test and post-test. Immediately and two hours after the protocol, 3 cc blood samples were prepared. The subjects used daily 0.1 g.kg<sup>-1</sup> respectively taking l-arginine and placebo for 14 days. The results were analyzed at the significant level (p<0.05).

**Results:** Immediately after exercise, the levels of VEGF and VEGF to endostatin ratio were significantly decreased in both groups compared to baseline (p≤0.05), and two hours later this change were lower than the baseline value (p≤0.05). The levels of endostatin immediately after exercise were significantly increased in both groups compared to baseline (p≤0.05) and two hours later this change were lower than the baseline value (p≤0.05). Before and after L-Arginine supplementation, the levels, of VEGF and VEGF to endostatin ratio immediately after exercise were not significant (p≥0.05). while this change in the supplementation group were significantly increased two hours after exercise (p≤0.05). There was no significant change in the levels of endostatin between two groups immediately after exercise (p≥0.05); however, these changes were significantly decreased two hours after exercise (p≤0.05).

**Conclusion:** It seems that short-term L-arginine supplementation probably stimulate angiogenesis factors in response to exercise in active men.

**Keywords:** Active men, Angiogenesis, Endostatin, L-arginine, VEGF

\*Corresponding Author:

Address: Faculty of Physical Education and Sport Sciences, the Pardis Department at Ferdowsi University of Mashhad, Azadi Square, Mashhad, Iran

Email: attarzadeh@um.ac.ir

## پاسخ عامل رشد اندوتلیال عروقی و اندوستاتین به یک جلسه فعالیت قبل و بعد از یک دوره مصرف مکمل ال-آرژنین در مردان فعال

مرتضی مطهری راد<sup>۱</sup>، سیدرضا عطارزاده حسینی<sup>۲\*</sup>

۱. دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزش، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲. استاد، دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۸

### چکیده

**زمینه و هدف:** هدف از این پژوهش بررسی پاسخ مهم‌ترین عامل آنژیوژنیک و آنژیواستاتیک به یک جلسه فعالیت قبل و بعد از یک دوره مصرف مکمل ال-آرژنین در مردان فعال بود.

**مواد و روش‌ها:** در این پژوهش کاربردی و نیمه تجربی، ۲۲ مرد فعال به روش نمونه‌گیری در دسترس و هدف‌دار انتخاب و به دو گروه مکمل (۱۱ نفر) و دارونما (۱۱ نفر) تقسیم شدند. مقادیر VEGF و اندوستاتین پایه آن‌ها اندازه‌گیری شد، سپس آزمودنی‌ها یک پروتکل وامانده‌ساز تردمیل در پیش و پس از آزمون انجام دادند و بلافاصله و دو ساعت پس از پروتکل نمونه‌های خونی (۳ سی‌سی) تهیه شد؛ آزمودنی‌ها به مدت ۱۴ روز روزانه ۰/۱ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به ترتیب ال-آرژنین و دارونما مصرف کردند؛ نتایج در سطح معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** بلافاصله پس از فعالیت، مقادیر VEGF و نسبت VEGF به اندوستاتین در گروه در مقایسه با وضعیت پایه کاهش یافت ( $p \leq 0.05$ ) و دو ساعت بعد نیز کمتر از مقادیر پایه بود ( $p \leq 0.05$ ). اندوستاتین سرمی دو گروه نیز بلافاصله افزایش یافت ( $p \leq 0.05$ ) و دو ساعت بعد نیز هم‌چنان بالاتر بود ( $p \leq 0.05$ ). مقادیر VEGF و نسبت VEGF به اندوستاتین بلافاصله پس از فعالیت، قبل و بعد از مصرف مکمل معنی‌دار نبود ( $p \geq 0.05$ )؛ در حالی که این تغییرات در گروه مکمل دو ساعت بعد افزایش یافته بود ( $p \leq 0.05$ ). تغییرات اندوستاتین نیز بلافاصله پس از فعالیت معنی‌دار نبود ( $p \geq 0.05$ )؛ اما این تغییرات دو ساعت بعد کاهش یافته بود ( $p \leq 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد مصرف کوتاه مدت مکمل ال-آرژنین احتمالاً عوامل آنژیوژنیک ناشی از فعالیت را در افراد فعال تحت تأثیر قرار می‌دهد.

**واژگان کلیدی:** ال-آرژنین، VEGF، اندوستاتین، مردان فعال، آنژیوژن

\* نویسنده مسئول: ایران، مشهد، میدان آزادی، پردیس دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی

Email: attarzadeh@um.ac.ir

## مقدمه

سیستم قلبی عروقی اولین سیستمی است که در مرحله گاسترولاوی جنینی تکامل می‌یابد و از شبکه عروق خونی مشتق شده که در دوران جنینی طی فرآیند واسکولوژنز ایجاد می‌شوند. واسکولوژنز سازماندهی اولیه سلول‌های اندوتلیال است که منجر به ایجاد عروق می‌گردد (۱) بدن توانایی ایجاد عروق جدید از عروق تشکیل شده در مرحله واسکولوژنز را دارد که فرآیند آنژیوژنز، هم‌چنین افزایش ضخامت و قطر عروق نیز فرآیند آرتریوژنز نامیده می‌شود. در بالغین، تنها آنژیوژنز و آرتریوژنز رخ می‌دهند. بر این اساس نقش حیاتی عروق در کنترل فرآیندهای بیولوژیک بافت‌های مختلف نظیر بافت عضلانی نمایان می‌شود؛ از این جهت است که محدودیت جریان خون و سیستم انتقال مواد به عنوان عامل مهم و محدود کننده در کیفیت عملکردهای فیزیولوژیک و فرآیند خستگی بافت عضلانی در نظر گرفته می‌شود و توسعه عروقی بافت عضلانی به عنوان عاملی در به تعویق انداختن فرآیند خستگی در نظر گرفته می‌شود (۲).

توسعه عروق در افراد بالغ و سالم تحت شرایط پاتولوژیک خاص نظیر دیابت و سرطان (۳) و هم‌چنین در روند تطابق به شرایط خاص فیزیولوژیک ناشی از فعالیت بدنی مشاهده می‌شود. این فرآیند به طور کلی تحت کنترل عوامل آنژیوژنیک (تحریک کننده‌ها) و آنژیواستاتیک (مهار کننده‌ها) قرار دارد که در بین ده‌ها عامل متابولیکی اثر گذار بر این فرآیند عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) از مهم‌ترین محرک‌ها و اندوستاتین از مهمترین عوامل مهار کننده هستند (۴).

عامل رشد اندوتلیال عروقی گلیکوپروتئینی همودیمیر باند شونده با هپارین با وزن ۴۵ کیلو دالتون است، که قوی‌ترین میتوژن مختص سلول‌های اندوتلیال است (۵). این عامل عمدتاً از سلول‌های اندوتلیال ترشح می‌شود اما عضله صاف، عضله اسکلتی، تاندون‌ها، پلاکت‌ها، تیموس و بافت مغزی نیز می‌توانند در شرایط خاص به ترشح آن بپردازند.

اتصال آن به گیرنده‌های تیروزین کینازی خود زنجیره‌ای آبخاری از واکنش‌ها را فعال می‌کند (۶) که به ترتیب سبب بقا، تکثیر، مهاجرت و نفوذپذیری سلول‌های اندوتلیال شده و در نهایت سبب توسعه عروق به شیوه جوانه زدن و یا دو نیمه شدن می‌شود. اتصال VEGF به اندوستاتین مانع فعالیت آن می‌شود. اندوستاتین پنتایدی ۲۰ کیلو دالتونی و مشتق از پایانه NC<sub>1</sub> کلاژن ۱۸ است. این عامل مهم آنژیواستاتیک با کاهش تکثیر و افزایش آپوپتوز سلول‌های اندوتلیال سبب کاهش یا مهار فرآیند آنژیوژنز می‌شود (۷). بین سطوح VEGF و چگالی عروقی و هم‌چنین نسبت عروق به تار عضلانی رابطه مستقیم وجود دارد، بنابراین به نظر می‌رسد که افزایش سطوح VEGF سبب افزایش آنژیوژنز ناشی از فعالیت می‌شود (۸).

انقباض عضلانی، هایپوکسی، تنش برشی و برخی از سایتوکاین‌ها و متابولیت‌ها سبب تحریک ترشح VEGF و نیتریک اکساید از لایه اندوتلیال عروق می‌شود. افزایش VEGF سبب فعالیت بیش‌تر آنزیم نیتریک اکساید سنتاز اندوتلیال شده و به دنبال آن سنتز نیتریک اکساید از سلول‌های اندوتلیال افزایش می‌یابد. نیتریک اکساید نیز با تحریک گیرنده‌های VEGF سبب توسعه عوامل آنژیوژنیک می‌شود (۹). بر این اساس نیتریک اکساید به عنوان محرک کلیدی در فرآیند توسعه عروق در نظر گرفته می‌شود (۴). از این رو افزایش سنتز آن از طریق افزایش مصرف سوپسترای اصلی آن یعنی ال آرژنین مورد توجه پژوهش‌گران قرار گرفته است (۱۰). به نظر می‌رسد مهار NOS سبب سرکوب آنژیوژنز ناشی از فعالیت می‌شود (۴). بر اساس مبانی بیوشیمیایی موجود مشخص شده که سطوح سوپسترای ال آرژنین میزان سنتز نیتریک اکساید و در نتیجه عوامل آنژیوژنیک و آنژیواستاتیک را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۱، ۱۲). با این وجود تعداد تحقیقات انجام شده در این باره محدود است و نیز یافته‌های بعضی از آن‌ها در تناقض با هم هستند (۱۳) و نمونه‌های فعال کم‌تر مورد توجه بوده است. هم‌چنین با توجه به نقش حیاتی عروق در کنترل عملکردهای بافتی مطالعات با رویکردی

دوگانه در این رابطه مد نظر پژوهش گران است. از سویی توقف فرآیندهای توسعه عروق در درمان سرطان یا افزایش فرآیند توسعه عروق در روند درمان بیماری‌های قلبی و عروقی و هم چنین توسعه عملکرد ورزشی مورد توجه است. از طرفی اهمیت توسعه عروق در مقابله و تعویق انداختن فرآیند خستگی که ماهیتی چند عاملی دارد و از چندین جهت با عملکرد عروقی ارتباط تنگاتنگی دارد مورد توجه قرار می‌گیرد. تعویق فرآیند خستگی هم در توسعه ظرفیت‌های عملکردی ورزشکاران نقش عمده‌ای ایفا می‌کند هم در کسب سازگاری‌های فیزیولوژیک ناشی از فعالیت در حوزه سلامت عمومی؛ بر این اساس و هم چنین با توجه به خلاء دانشی موجود در این حوزه پژوهشگران با بررسی همزمان عوامل مهم آنژیوژنیک و آنژیواستاتیک به دنبال پاسخ به این پرسش بودند که آیا مصرف یک دوره مکمل ال آرژنین بر پاسخ‌های VEGF و اندوستاتین به فعالیت تاثیر گذار است یا خیر؟

### مواد و روش‌ها

این پژوهش کاربردی به روش نیمه تجربی با دو گروه تجربی و کنترل بود که به شیوه پیش‌آزمون و پس‌آزمون به صورت یک سوکور انجام شد. نمونه آماری شامل ۲۲ نفر از مردان فعال شهر مشهد با دامنه سنی ۲۰-۲۶ سال و نمایه توده بدنی ۲۰-۲۵ بودند که حداقل به مدت پنج سال به صورت مداوم هفته‌ای سه جلسه به انجام فعالیت منظم ورزشی می‌پرداختند. این افراد پس از غربال‌گری اولیه به روش نمونه‌گیری در دسترس و هدف‌دار انتخاب و به صورت تصادفی با جایگزین به دو گروه مکمل (۱۱ نفر) با میانگین سنی  $22/86 \pm 3/13$  و نمایه توده بدنی  $21/06 \pm 4/66$  کیلوگرم بر متر مربع و دارونما (۱۱ نفر) با میانگین سنی  $23/12 \pm 2/79$  و نمایه توده بدنی  $21/57 \pm 3/89$  کیلوگرم بر متر مربع تقسیم شدند. لازم به ذکر است که دو نفر از گروه مکمل و دو نفر از گروه دارونما در ادامه پژوهش به علت عدم رعایت معیارهای پژوهش از گروه‌ها کنار گذاشته شدند. در مرحله نخست

اطلاعات لازم درباره ماهیت و نحوه اجرای تحقیق، خطرات احتمالی و نکات ضروری جهت مشارکت در پژوهش در اختیار آزمودنی‌ها قرار گرفت. بر اساس پرسش‌نامه اطلاعات فردی و سوابق پزشکی، سابقه ابتلا به هیچ یک از بیماری‌های قلبی-عروقی، نارسایی‌های کلیوی و تیروئیدی در آنان وجود نداشت و بر اساس پرسش‌نامه ارزیابی فعالیت بدنی حداقل پنج سال فعالیت مداوم داشتند. کالری دریافتی گروه‌ها، با استفاده از پرسش‌نامه کنترل رژیم غذایی، برآورد شد (آزمودنی‌ها روزانه ۲۸۰۰-۳۹۰۰ کیلوکالری دریافت می‌کردند). اندازه‌گیری‌های تن‌سنجی شامل: قد ایستاده (قد سنج مارک سکا ساخت آلمان با حساسیت ۵ میلی‌متر)، وزن (ترازوی سکا با حساسیت ۱۰۰ گرم) و ترکیبات بدنی (دستگاه بیوالکتریکال ایمپدانس مدل ۷۲۰ مارک اینبادی ساخت کره جنوبی) انجام شد. مقادیر VEGF و اندوستاتین سرمی به روش ساندریچ دابل الایزا توسط کیت‌های الایزا (ساخت کمپانی باستر چین تحت لیسانس آمریکا) و قند خون آزمودنی‌ها (دستگاه گلوکومتر ایزی گلوکو ساخت کره جنوبی) اندازه‌گیری شد.

روش کار به این صورت بود که، ابتدا طی جلسه‌ای پس از اندازه‌گیری شاخص‌های تن‌سنجی، اولین نمونه خونی به منظور تعیین وضعیت پایه VEGF و اندوستاتین در حالت استراحت اندازه‌گیری شد. سپس به منظور اندازه‌گیری پاسخ VEGF و اندوستاتین به فعالیت آزمودنی‌ها یک پروتکل وامانده ساز تدریجی (تست استاندارد بروس) را تا سر حد واماندگی انجام دادند و نمونه خونی دوم بلافاصله پس از فعالیت و نمونه خونی سوم دو ساعت پس از آن تهیه شد. پس از آن آزمودنی‌ها به مدت ۱۴ روز علاوه بر انجام تمرینات خود روزانه ۰/۱ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن مکمل (ساخت شرکت کارن) یا دارونما را در سه وهله مصرف کردند (۱۴). پس از اتمام دوره از آزمودنی‌ها طی جلسه مشابه مرحله پیش‌آزمون نمونه‌های چهارم (بلافاصله پس از فعالیت) و پنجم (دو ساعت بعد از فعالیت) نیز تهیه شد. لازم به ذکر است مقادیر VEGF و اندوستاتین مستقل از چرخه شبانه روز

است و فرارگیری در وضعیت هایپو کسی، انجام فعالیت بدنی و هایپوگلیسمی (قند خون کمتر از ۷۰) از مهم ترین عواملی هستند، که سبب تغییرات مقادیر آن ها می شوند (۱۵). در این پژوهش دو عامل اولیه تحت کنترل محقق بود و به سبب کنترل عامل هایپوگلیسمی تمامی آزمودنی ها در صبح روز پیش آزمون و پس آزمون و یک ساعت و نیم پیش از انجام پروتکل وامانده ساز یک وعده غذایی مشابه دریافت کردند علاوه بر این برای حصول اطمینان از کنترل این عامل قبل از تهیه نمونه خونی در مرحله پیش آزمون ( $14/06 \pm 105/51$ ) و پس آزمون ( $104/87 \pm 109/96$ ) گلوکز خون آزمودنی ها اندازه گیری شد، تا آزمودنی ها در وضعیت هایپوگلیسمی نباشند. هم چنین آزمودنی ها ۷۲ ساعت قبل از انجام مرحله پیش آزمون و پس آزمون از انجام هرگونه فعالیت شدید منع شدند و شب قبل از آزمون نیز یک وعده غذایی استاندارد (۶۱ درصد کربوهیدرات، ۲۴ درصد چربی و ۱۵ درصد پروتئین) دریافت کردند.

داده ها با نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ تجزیه و تحلیل شدند. برای طبیعی بودن داده ها از آزمون شاپیروویلک و جهت اطمینان از برابری واریانس گروه ها از آزمون لون و برای همگن بودن گروه ها پیش از اجرای برنامه تمرینی به ترتیب از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. برای تعیین تفاوت بین و درون گروهی از آزمون آماری آنالیز واریانس اندازه گیری مکرر استفاده شد و برای مقایسه نتایج، سطح معناداری ( $p < 0/05$ ) در نظر گرفته شد.

#### یافته ها

آنالیز آماری یافته ها نشان داد که بلافاصله پس از یک جلسه فعالیت وامانده ساز مقادیر VEGF و نسبت VEGF به اندوستاتین در هر دو گروه کاهش معنی داری

یافت، این در حالی بود که مقادیر اندوستاتین دو گروه به لحاظ آماری افزایش معنی داری پیدا کرد. دو ساعت پس از فعالیت این روند معکوس شد و مقادیر VEGF و نسبت VEGF به اندوستاتین شروع به افزایش و مقادیر اندوستاتین شروع به کاهش کرد با این وجود مقادیر VEGF و نسبت VEGF به اندوستاتین نسبت به وضعیت پایه کاهش معنی داری به لحاظ آماری نشان می داد، این در حالی بود که مقادیر اندوستاتین در مقایسه با وضعیت پایه افزایش معنی داری نشان می داد. در نتیجه مصرف مکمل بلافاصله پس از فعالیت تغییرات درون گروهی و بین گروهی در مقادیر VEGF ( $p = 0/339$ ) و نسبت VEGF به اندوستاتین ( $p = 0/129$ ) در گروه مکمل و دارونما به لحاظ آماری معنی دار نبود؛ این در حالی است که مقادیر اندوستاتین در گروه مکمل کاهش معنی داری را نشان می داد ( $p = 0/030$ )، اما این تغییرات نیز در مقایسه با گروه دارونما به لحاظ آماری معنی دار نبود ( $p = 0/362$ ). هم چنین در نتیجه مداخله تغییرات درون گروهی گروه مکمل دو ساعت پس از فعالیت در مقادیر VEGF ( $p = 0/037$ ) و نسبت VEGF به اندوستاتین ( $p = 0/025$ ) افزایش معنی دار به لحاظ آماری مشاهده شد. هر چند تغییرات بین گروهی متغیرهای VEGF ( $p = 0/338$ ) و نسبت VEGF به اندوستاتین ( $p = 0/080$ ) به لحاظ آماری معنی دار نبود. مقادیر اندوستاتین نیز در نتیجه مداخله دو ساعت پس از فعالیت در گروه مکمل کاهش معنی دار به لحاظ آماری نشان می داد ( $p = 0/012$ )، تغییرات بین گروهی این متغیر نیز در نتیجه مداخله دو ساعت پس از فعالیت به لحاظ آماری معنی دار بود ( $p = 0/041$ ).

جدول ۱. مقایسه تغییرات میانگین‌های درون گروهی و بین گروهی متغیرهای فاکتور رشد اندوتلیال عروقی، اندوستاتین و نسبت فاکتور رشد اندوتلیال عروق به اندوستاتین در پاسخ به یک جلسه فعالیت وامانده ساز

متغیر	گروه	انحراف معیار $\pm$ میانگین				تغییرات درون گروهی		تغییرات بین گروهی		
		پیش آزمون	پس آزمون	مقدار F	سطح معنی داری	مقدار F	سطح معنی داری	مقدار F	سطح معنی داری	
VEGF (پیکوگرم بر میلی لیتر)	مکمل	۳۱۲/۰۰ $\pm$ ۶۹/۳۰	۲۳۸/۱۸ $\pm$ ۴۱/۷۴	۱۸/۱۸	۰/۰۰۲*	دارو نما	۳۲۳/۶۳ $\pm$ ۷۴/۹۵	۲۳۰/۳۶ $\pm$ ۲۸/۹۲	۲۱/۶۴	۰/۰۰۱*
	دارو نما	۳۱۲/۰۰ $\pm$ ۶۹/۳۰	۲۷۶/۱۸ $\pm$ ۵۹/۴۴	۱۲/۷۷	۰/۰۰۹*	مکمل	۳۲۳/۶۳ $\pm$ ۷۴/۹۵	۲۸۰/۸۱ $\pm$ ۳۷/۱۸	۱۰/۰۲	۰/۰۱*
اندوستاتین (پیکوگرم بر میلی لیتر)	مکمل	۳۹۷۸/۷۲ $\pm$ ۵۱۱/۹۸	۵۱۵۱/۶۲ $\pm$ ۵۶۲/۸۸	۷۸/۹۷۶	۰/۰۰۱*	دارو نما	۴۱۸۶/۴۵ $\pm$ ۴۲۰/۳۹	۵۳۰/۹۲۷ $\pm$ ۴۶۰/۰۶	۸۵/۲۳۶	۰/۰۰۱*
	دارو نما	۳۹۷۸/۷۲ $\pm$ ۵۱۱/۹۸	۴۵۱۰/۵۴ $\pm$ ۳۵۲/۷۲	۳۱/۳۴	۰/۰۰۱*	مکمل	۴۱۸۶/۴۵ $\pm$ ۴۲۰/۳۹	۴۶۱۱/۰۰ $\pm$ ۴۲۲/۸۴	۳۶/۹۱۴	۰/۰۰۱*
نسبت VEGF به اندوستاتین	مکمل	۰/۰۷۸۹ $\pm$ ۰/۰۱۷۳	۰/۰۴۷۰ $\pm$ ۰/۰۱۱۲	۶۶/۲۳۸	۰/۰۰۱*	دارو نما	۰/۰۷۷۵ $\pm$ ۰/۰۱۸۶	۰/۰۴۳۶ $\pm$ ۰/۰۰۶۳	۴۸/۷۷۶	۰/۰۰۱*
	دارو نما	۰/۰۷۸۹ $\pm$ ۰/۰۱۷۳	۰/۰۶۰۵ $\pm$ ۰/۰۱۰۵	۲۱/۷۹۷	۰/۰۰۱*	مکمل	۰/۰۷۷۵ $\pm$ ۰/۰۱۸۶	۰/۰۶۱۰ $\pm$ ۰/۰۰۹۹	۲۰/۳۴۴	۰/۰۰۱*

جدول ۲. مقایسه تغییرات میانگین‌های درون گروهی و بین گروهی متغیرهای فاکتور رشد اندوتلیال عروقی، اندوستاتین و نسبت VEGF به اندوستاتین در پاسخ به یک جلسه فعالیت وامانده ساز پیش و پس از دریافت مکمل ال-آرژنین

متغیر	گروه	انحراف معیار $\pm$ میانگین				تغییرات درون گروهی		تغییرات بین گروهی		
		پیش آزمون	پس آزمون	مقدار F	سطح معنی داری	مقدار F	سطح معنی داری	مقدار F	سطح معنی داری	
VEGF (پیکوگرم بر میلی لیتر)	مکمل	۲۳۸/۱۸ $\pm$ ۴۱/۷۴	۲۴۷/۴۵ $\pm$ ۳۵/۰۲	۲/۴۴۵	۰/۱۴۹	دارو نما	۲۷۶/۱۸ $\pm$ ۵۹/۴۴	۲۲۵/۹۰ $\pm$ ۳۳/۹۳	۰/۲۲۷	۰/۶۱۰
	دارو نما	۲۳۸/۱۸ $\pm$ ۴۱/۷۴	۲۹۴/۵۴ $\pm$ ۳۶/۴۳	۲/۶۷۵	۰/۱۳۳	مکمل	۲۷۶/۱۸ $\pm$ ۵۹/۴۴	۳۱۶/۶۳ $\pm$ ۵۴/۲۰	۶/۷۶۴	۰/۰۰۲۶*
اندوستاتین (پیکوگرم بر میلی لیتر)	مکمل	۵۱۵۱/۶۳ $\pm$ ۵۶۲/۸۸	۴۸۸۷/۶۳ $\pm$ ۵۵۲/۵۸	۵/۱۷	۰/۰۴۶*	دارو نما	۵۳۰/۹۲۷ $\pm$ ۴۶۰/۰۶	۵۲۵۷/۵۴ $\pm$ ۳۹۶/۶۰	۰/۷۳۶	۰/۴۱۱
	دارو نما	۵۱۵۱/۶۳ $\pm$ ۵۶۲/۸۸	۴۵۱۰/۵۴ $\pm$ ۳۵۲/۷۲	۱۱/۳۴	۰/۰۱۲*	مکمل	۴۵۱۰/۵۴ $\pm$ ۳۵۲/۷۲	۴۲۹۵/۲۷ $\pm$ ۳۹۳/۶۱	۴۲۹۵/۲۷ $\pm$ ۳۹۳/۶۱	۰/۰۱۲*
نسبت VEGF به اندوستاتین	مکمل	۰/۰۴۷۰ $\pm$ ۰/۰۱۱۲	۰/۰۵۱۶ $\pm$ ۰/۰۱۳۰	۴/۲۲۶	۰/۰۵۷	دارو نما	۰/۰۴۳۶ $\pm$ ۰/۰۰۶۳	۰/۰۴۳۶ $\pm$ ۰/۰۰۸۵	۰/۳۴۱	۰/۵۸۰
	دارو نما	۰/۰۴۷۰ $\pm$ ۰/۰۱۱۲	۰/۰۶۰۵ $\pm$ ۰/۰۱۰۵	۲۶/۸۵۵	۰/۰۰۱*	مکمل	۰/۰۶۰۵ $\pm$ ۰/۰۱۰۵	۰/۰۷۳۸ $\pm$ ۰/۰۱۲۶	۰/۰۷۳۸ $\pm$ ۰/۰۱۲۶	۰/۰۰۱*

\* سطح معناداری  $p < 0/05$  در نظر گرفته شده است

## بحث

هدف از این پژوهش بررسی پاسخ مهم‌ترین عامل آنژیوژنیک و آنژیواستاتیک به یک جلسه فعالیت وامانده ساز قبل و بعد از یک دوره مصرف مکمل ال-آرژنین در مردان فعال بود. به نظر می‌رسد فعالیت عوامل آنژیوژنیک و آنژیواستاتیک را تحت تاثیر قرار می‌دهد با این وجود در خصوص نوع تغییرات در پاسخ به فعالیت یافته‌های متناقضی وجود دارد. بلافاصله پس از فعالیت وامانده ساز VEGF کاهش یافت و دو ساعت پس از فعالیت نسبت به مرحله قبل افزایش یافت. این نتایج با یافته‌های، نورشاهی و همکاران (۱۳۹۱)، رنجبر و همکاران (۱۳۹۰)، جیان و همکاران (۲۰۰۴) و گاین و همکاران (۲۰۰۴) همسو بود (۱۶). نورشاهی و همکاران کاهش VEGF را در نتیجه فعالیت حاد برون‌گرا در موش‌های صحرایی گزارش کردند و رنجبر و همکاران کاهش VEGF را در نتیجه یک جلسه فعالیت استقامتی در مردان و زنان فعال و غیرفعال مورد مقایسه قرار دادند، که کاهش VEGF پس از فعالیت معنادار ولی تفاوت در مقایسه بین دو جنسیت معنادار نبود. هم‌چنین، جیان و همکاران نیز کاهش VEGF را در نتیجه یک جلسه فعالیت حاد استقامتی و گاین و همکاران کاهش آن را در نتیجه یک جلسه فعالیت وامانده ساز گزارش کردند (۱۶). از این جهت یافته‌های این تحقیق با یافته‌های رواسی و همکاران (۱۳۹۳)، راس و همکاران (۲۰۱۴)، هویر و همکاران (۲۰۱۲)، سالم و همکاران (۲۰۱۱) در تناقض می‌باشد (۱۷، ۱۸). رواسی و همکاران با مقایسه یک جلسه فعالیت تناوبی و تداومی فزاینده، بر روی مردان جوان غیرفعال افزایش معنی‌دار VEGF را در نتیجه فعالیت بدنی پیش‌رونده، گزارش کردند. راس و همکاران افزایش VEGF را در نتیجه یک جلسه فعالیت در مردان تمرین کرده بیان داشتند (۱۷)، هویر و همکاران و سالم و همکاران افزایش VEGF سرمی را در نتیجه یک جلسه فعالیت استقامتی به ترتیب در مردان جوان سالم و شناگران نخبه گزارش کردند (۱۸، ۱۹). کارنبروک و همکاران نیز

افزایش VEGF را در نتیجه یک جلسه فعالیت استقامتی فزاینده گزارش کردند. بر اساس یافته‌های پیشین سطح آمادگی آزمودنی‌ها، نوع فعالیت و هم‌چنین نوع تارهای عضلانی فراخوانده شده احتمالاً در تغییرات VEGF اثر گذار است؛ به نظر می‌رسد تارهای کند انقباض در اثر هایپوکسی پاسخ VEGF ترشحی قوی‌تری نسبت به تارهای تند انقباض دارند (۲۰). هم‌چنین در نتیجه فعالیت تعادل بین عوامل آنژیوژنیک و آنژیواستاتیک برهم می‌خورد. بنابراین مشاهده تغییرات سطوح VEGF از یک سو وابسته به تعادل عوامل تحریکی و مهارى و از سویی دیگر میزان برداشت آن توسط بافت‌های مختلف است. بر اساس پژوهش به نظر می‌رسد اتصال VEGF به گیرنده‌های موجود روی سلول‌های اندوتلیال نظیر گیرنده‌های تیروزین کینازی VEGFR-1 و VEGFR-2 در نتیجه فعالیت افزایش می‌یابد که این اتصال خود از مهم‌ترین مراحل شروع فرآیند آنژیوژنز است (۲۱). افزایش گیرنده‌های محلول VEGF (sVEGFR-1) به دنبال فعالیت ورزشی نیز مشاهده شده است (۲۲). هم‌چنین VEGF علاوه بر گیرنده‌های اختصاصی خود احتمالاً به سایر پروتئین‌هایی از قبیل هپارین سولفات،  $\alpha_2$  ماکروگلوبین و EPC نیز متصل می‌شود که افزایش این پروتئین‌ها از نشست‌پذیری بیش از حد عروق خونی در مقابل افزایش VEGF محافظت می‌کند (۴). از طرفی یکی از منابع تولید VEGF و هم‌چنین یکی از مهم‌ترین منابع برداشت VEGF عضلات اسکلتی است (۴، ۹)؛ بر این اساس توده عضلانی درگیر در فعالیت نیز بر میزان برداشت VEGF تاثیر گذار است. هم‌چنین با فعالیت افزایش ترشح عواملی نظیر آدیپونکتین (۲۳)، سوماتوستاتین (۲۴)، پپتیدهای ناترپوریتیک، کورتیزول و از همه مهم‌تر اندوستاتین احتمالاً در کاهش بیان ژن و تولید VEGF تاثیر دارند. افزایش آدیپونکتین ممکن است سبب کاهش موقت VEGF شود (۲۳). سوماتوستاتین ۱۴ و ۲۸ فرم‌های فعال آن هستند که پنج گیرنده دارند که در اغلب بافت‌های بدن موجود می‌باشند. اتصال سوماتوستاتین به

گیرنده sst2-R که روی سلول‌های اندوتلیال قرار دارد، سبب کاهش تولید VEGF در سلول‌های اندوتلیال می‌شود (۲۴). پپتیدهای ناتریوتیک ANP، BNP و CNP ممکن است در تنظیم VEGF نقش ایفا کنند (۲۴). در این بین نقش اندوستاتین در کاهش VEGF و ممانعت از فرآیند آنژیوژنز پر رنگ به نظر می‌رسد (۲۵، ۲۶).

مقادیر اندوستاتین سرمی بلافاصله پس از فعالیت وامانده ساز افزایش یافت، این مقادیر دو ساعت بعد کاهش یافت اما هنوز نسبت به وضعیت استراحتی بالاتر بود. اثر فعالیت بدنی و اندوستاتین کمتر مورد توجه بوده است، با این وجود اسپاندر و همکاران (۲۰۱۴) و جیان و همکاران (۲۰۰۴) افزایش اندوستاتین را در نتیجه فعالیت گزارش کردند (۱۶، ۲۷). نورشاهی و همکاران (۱۳۹۱) و سوهر و همکاران (۲۰۱۰) کاهش اندوستاتین را در نتیجه فعالیت مشاهده کردند (۲۸). اسپاندر و همکاران ۴۲ بیمار دیابتی زن و مرد و ۴۵ زن و مرد سالم را با یک تست استاندارد دوچرخه ارگومتر مورد بررسی قرار دادند، که مقدار اندوستاتین سرمی در تمامی گروه‌ها بلافاصله پس از فعالیت افزایش ۱۰-۱۵ درصدی یافت (۲۷). جیان و همکاران نیز بیان داشتند که در نتیجه یک تست استاندارد تردمیل بلافاصله پس از فعالیت میزان VEGF کاهش و میزان اندوستاتین افزایش می‌یابد (۱۶). نورشاهی و همکاران مشاهده کردند که در نتیجه یک جلسه فعالیت برون‌گرا میزان اندوستاتین سرمی کاهش می‌یابد. سوهر و همکاران نیز بیان کردند که در نتیجه تمرین طولانی مدت میزان اندوستاتین پلاسما کاهش می‌یابد (۲۸). احتمالاً اثر افزایشی اندوستاتین بر میزان کاهش VEGF اثر گذار بوده است. اندوستاتین با مهار پیام‌رسانی VEGF از طریق برهم‌کنش مستقیم با گیرنده تیروزین کینازی VEGF-R در سلول‌های اندوتلیال و سرکوب فاکتور نکروزی محرک و هم‌چنین بیان ژن‌های مرتبط با عوامل آنژیوژنیک نظیر: HIF، LD1، MMP-2، integrin- $\beta$  را تعدیل می‌کند و بیان ژن‌های عوامل آنژیواستاتیک نظیر: وازواستاتین و ماسپین را

افزایش می‌دهد (۲۹). به علاوه اندوستاتین از فعال شدن eNOS که ناشی از عملکرد VEGF باشد جلوگیری کرده و به این ترتیب مانع از تولید نیتریک اکساید گردد (۲۹). هر چند مبانی نظری و ارتباطات بیوشیمیایی نقش نیتریک اکساید و پیش‌ساز آن ال-آرژنین را در فرآیند توسعه عروق تا حدودی مورد تایید قرار می‌دهند، با این وجود پژوهش‌های انجام شده در این حوزه محدود می‌باشد و اغلب روی نمونه‌های جانوری یا بیماران انجام شده است، از این نظر مقایسه این پژوهش با پژوهش‌های پیشین دشوار به نظر می‌رسد، با این وجود سوزوکی (۲۰۰۹) اثر شش هفته تمرین هوازی به همراه مکمل دهی ال-آرژنین و ال-اورنتین را بر توسعه عروق عضلات نعلی و کف پای موش‌های صحرایی مورد بررسی قرار داد. در گروه تمرین و مکمل مقادیر VEGF بافتی در عضله کف پای، ۲/۵ برابر افزایش و مقادیر اندوستاتین بافتی نیز کاهش معنی‌دار یافت. در عضله نعلی، نیز مقادیر VEGF ۱/۵ برابر افزایش و مقادیر اندوستاتین نیز به صورت معنی‌داری کاهش یافت (۵). فریتو و همکاران گزارش کردند که ۲۸ روز تمرین به همراه مصرف مکمل ال-آرژنین می‌تواند سبب افزایش VEGF شود (۱۱) و سوزوکی (۲۰۰۶) نشان داد که شش هفته تمرین استقامتی به همراه مصرف مکمل ال-آرژنین سبب افزایش نسبت عروق به تار و هم‌چنین سبب افزایش VEGF بافتی در موش‌های صحرایی شد (۱۲). جیم و همکاران (۲۰۰۵) اثر مصرف ۲۴ ساعت مکمل ال-آرژنین و صعود به ارتفاع ۴۳۴۲ متر بر VEGF و نیتریک اکساید در هفت مرد سالم مورد بررسی قرار دادند، نتایج نشان داد که مصرف مکمل ال-آرژنین سبب افزایش نیتریک اکساید و VEGF شد (۳۰). فریتو و هم‌چنین سوزوکی بیان می‌کنند که تمرین و مصرف مکمل ال-آرژنین می‌تواند از طریق افزایش فعالیت eNOS تولید نیتریک اکساید را افزایش دهد و به دنبال آن سبب افزایش تولید VEGF شود (۱۱، ۱۲)؛ نیتریک اکساید را می‌توان به عنوان یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های VEGF در نظر گرفت (۵، ۱۱). از این جهت به نظر می‌رسد



مصرف ال-آرژنین با فراهم سازی سوبسترای تولید نیتریک اکساید می تواند سبب کاهش محدودیت سوبسترای و افزایش تولید نیتریک اکساید شود (۱۳). علاوه بر این بر اساس پژوهش ها به نظر می رسد، مصرف مکمل ال-آرژنین احتمالاً سبب افزایش رهایش هورمون رشد در پاسخ به فعالیت می شود که این هورمون در افزایش تولید VEGF پس از فعالیت نقش دارد (۱۳، ۲۰).

تغییرات اندوستاتین در پاسخ به یک جلسه فعالیت وامانده ساز در مقایسه بین دو گروه قبل و بعد از مصرف مکمل بلافاصله پس از فعالیت تنها در گروه مکمل به لحاظ آماری معنی دار بود و مقایسه تغییرات بین گروهی به لحاظ آماری معنی دار نبود؛ این در حالی بود که بررسی تغییرات درون گروهی در گروه مکمل و هم چنین مقایسه آن با تغییرات گروه دارونما دو ساعت پس از فعالیت به لحاظ آماری معنی دار بود؛ چنان که سوزوکی (۲۰۰۹) نیز به آن اشاره کرده بود (۵). کاهش معنی دار، اندوستاتین در گروه مکمل احتمالاً ناشی از چند عامل است. جدا شدن اندوستاتین از کلاژن XVIII بستگی به عمل پروتئازها دارد؛ اول این که، به نظر می رسد، در نتیجه فعالیت میزان اثرات پروتئازهای مؤثر بر این فرآیند افزایش می یابد و این امر سبب افزایش اندوستاتین در گردش خون می شود (۲۷). هم چنین بخشی از ال-آرژنین تحت تاثیر آنزیم آرژیناز به الارنیتین تبدیل شود؛ الارنیتین نیز توسط اورنیتین دکربوکسیلاز، دکربوکسیلاسیون پیدا کرده و به پلی آمینازهای اسپرمین و اسپرمیدین تبدیل می شود؛ این امر می تواند سبب کند شدن، روند پروتئولیتیک اندوستاتین از کلاژن ۱۸ شود (۱۳). در ارتباط با عوامل اثر گذار بر اندوستاتین در نتیجه فعالیت اطلاعات کافی در اختیار نیست و آنچه مسلم است، این که در توجیه ساز و کارهای آن نیاز به بررسی های بیش تری است.

دیگر یافته های ما نشان داد که مصرف مکمل ال آرژنین بر نسبت VEGF به اندوستاتین بلافاصله پس از فعالیت وامانده ساز در دو گروه مکمل و دارونما، قبل و بعد از

مصرف مکمل تغییر معنی داری به لحاظ آماری ایجاد نکرد؛ این در حالی است که تغییرات این نسبت دو ساعت پس از فعالیت در گروه مکمل افزایش معنی داری پیدا کرد و تغییرات بین گروهی نیز به لحاظ آماری معنی دار بود. تغییرات در گروه مکمل در نتیجه افزایش VEGF و کاهش اندوستاتین بود. هرچند که بررسی و مقایسه بین گروه ها در مراحل مختلف نشان از این داشت که مصرف مکمل با تحریک عوامل آنژیوژنیک تعادل بین فاکتورهای آنژیوژنیک و آنژیواستاتیک را به سمت عوامل آنژیوژنیک به میزان اندک منحرف ساخته بود که با توجه به اهمیت VEGF و اندوستاتین با اهمیت به نظر می رسد. بنابراین تغییر در این نسبت نشان از تغییر در تعادلات بین عوامل آنژیوژنیک و آنژیواستاتیک دارد (۵، ۱۳).؛ بنابراین به نظر می رسد مصرف مکمل ال-آرژنین احتمالاً هم عوامل آنژیوژنیک و هم عوامل آنژیواستاتیک را در مردان فعال تحت تاثیر قرار می دهد.

### نتیجه گیری

به نظر می رسد فعالیت و مصرف مکمل ال-آرژنین بر عوامل موثر بر آنژیوژنز در مردان فعال اثر گذار است. مصرف مکمل ال-آرژنین احتمالاً از طریق تحریک نسبی فرآیند سنتز و ترشح VEGF و کاهش اندوستاتین سبب تحریک فرآیند توسعه عروق در مردان می شود، با این وجود با توجه به محدودیت تحقیقات نیاز به پژوهش های بیش تر در این زمینه احساس می شود.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق بر گرفته از پایان نامه شماره ۳۱۷۱۸ است که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. در پایان از تمامی ورزشکاران داوطلب شرکت کننده در این پژوهش که با رعایت ملاحظات اخلاقی به تعهدات خویش پایبند بودند تشکر و قدردانی می کنیم. از مربیان، مدیریت محترم و پرسنل آزمایشگاه تشخیص طبی و

10. McConell GK. Effects of L-arginine supplementation on exercise metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2007;10(1):46-51.

11. Fiorito C, Balestrieri ML, Crimi E, Giovane A, Grimaldi V, Minucci PB, et al. Effect of L-arginine on circulating endothelial progenitor cells and VEGF after moderate physical training in mice. *Int J Cardiol*. 2008;126(3):421-3.

12. Suzuki J. L-arginine supplementation causes additional effects on exercise-induced angiogenesis and VEGF expression in the heart and hind-leg muscles of middle-aged rats. *J Physiol Sci*. 2006;56(1):39-44.

13. Suzuki J. Influence of amino acid supplementation on capillary growth in the heart and skeletal muscles. *The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine*. 2013;2(2):237-41.

14. Tsai PH, Tang TK, Juang CL, Chen KW, Chi CA, Hsu MC. Effects of arginine supplementation on post-exercise metabolic responses. *Chin J Physiol*. 2009;52(3):136-42.

15. Oltmanns KM, Gehring H, Rudolf S, Schultes B, Hackenberg C, Schweiger U, et al. Acute hypoxia decreases plasma VEGF concentration in healthy humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006;290(3):E434-9.

16. Gu JW, Gadonski G, Wang J, Makey I, Adair TH. Exercise increases endostatin in circulation of healthy volunteers. *BMC Physiol*. 2004;4(1):2.

17. Ross MD, Wekesa AL, Phelan JP, Harrison M. Resistance exercise increases endothelial progenitor cells and angiogenic factors. *Medicine and science in sports and exercise*. 2014;46(1):16-23.

18. Hoier B, Nordsborg N, Andersen S, Jensen L, Nybo L, Bangsbo J, et al. Pro-and anti-angiogenic factors in human skeletal muscle in response to acute exercise and training. *The Journal of physiology*. 2012;590(3):595-606.

سایر کسانی که ما را در انجام مطلوب این پژوهش یاری دادند؛ سپاس گزاری می نمایم.

#### منابع

1. Breier G. Angiogenesis in Embryonic Development—A Review. *Placenta*. 2000;21:S11-S5.

2. Andrzejewski W, Kassolik K, Kobierzycki C, Grzegorzolka J, Ratajczak-Wielgomas K, Jablonska K, et al. Increased skeletal muscle expression of VEGF induced by massage and exercise. *Folia Histochem Cytobiol*. 2015;53(2):145-51.

3. Mansoury K, seyfi p, Mostafaii A, Mohamadi H. Investigate the mechanisms and causes angiogenesis. *Kurdistan University of Medical Sciences*. 2012;17:96-107.

4. Roy S, Khanna S, Sen CK. Redox regulation of the VEGF signaling path and tissue vascularization: Hydrogen peroxide, the common link between physical exercise and cutaneous wound healing. *Free Radical Biology and Medicine*. 2008;44(2):180-92.

5. Suzuki J. L-Arginine and L-Ornithine Supplementation Facilitates Angiogenesis and Causes Additional Effects on Exercise-induced Angiogenesis in Hind-leg Muscles. *Advances in exercise and sports physiology*. 2009;15(3):101-8.

6. Nourshahi M, chadorneshin HT, Ranjbar K. The stimulus of angiogenesis during exercise and physical activity. *Quarterly of the Horizon of Medical Sciences*. 2013;18(5):286-96.

7. Dvorak HF. Angiogenesis: update 2005. *J Thromb Haemost*. 2005;3(8):1835-42.

8. Suzuki J. Muscle microvascular adaptation and angiogenic gene induction in response to exercise training are attenuated in middle-aged rats. *Comparative Exercise Physiology*. 2015;11(1):23-33.

9. Egginton S. Invited review: activity-induced angiogenesis. *Pflugers Arch*. 2009;457(5):963-77.

19. Hussein HHSA, Mohammed YA, editors. Endurance training enhances circulating plasma vegf and b-fgf in open water swimmers. *Journal of physiological sciences*; 2009; 1(11):102-007.
20. Hoier B, Hellsten Y. Exercise-induced capillary growth in human skeletal muscle and the dynamics of VEGF. *Microcirculation*. 2014;21(4):301-14.
21. Folkman J. Angiogenesis. *Annu Rev Med*. 2006;57:1-18.
22. Wood RE, Sanderson BE, Askew CD, Walker PJ, Green S, Stewart IB. Effect of training on the response of plasma vascular endothelial growth factor to exercise in patients with peripheral arterial disease. *Clin Sci (Lond)*. 2006;111(6):401-9.
23. Lang K, Ratke J. Leptin and Adiponectin: new players in the field of tumor cell and leukocyte migration. *Cell Commun Signal*. 2009;7(1):27.
24. Ribatti D, Conconi MT, Nussdorfer GG. Nonclassic endogenous novel [corrected] regulators of angiogenesis. *Pharmacol Rev*. 2007;59(2):185-205.
25. Blezinger P, Wang J, Gondo M, Quezada A, Mehrens D, French M, et al. Systemic inhibition of tumor growth and tumor metastases by intramuscular administration of the endostatin gene. *Nat Biotechnol*. 1999;17(4):343-8.
26. Sasaki T, Fukai N, Mann K, Gohring W, Olsen BR, Timpl R. Structure, function and tissue forms of the C-terminal globular domain of collagen XVIII containing the angiogenesis inhibitor endostatin. *EMBO J*. 1998;17(15):4249-56.
27. Sponder M, Dangl D, Kampf S, Fritzer-Szekeres M, Strametz-Juranek J. Exercise increases serum endostatin levels in female and male patients with diabetes and controls. *Cardiovasc Diabetol*. 2014;13(1):6.
28. Suhr F, Rosenwick C, Vassiliadis A, Bloch W, Brixius K. Regulation of extracellular matrix compounds involved in angiogenic processes in short and long track elite runners. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2010;20(3):441-8.
29. Digtyar A, Pozdnyakova N, Feldman N, Lutsenko S, Severin S. Endostatin: current concepts about its biological role and mechanisms of action. *Biochemistry (Moscow)*. 2007;72(3):235-46.
30. Mansoor JK, Morrissey BM, Walby WF, Yoneda KY, Juarez M, Kajekar R, et al. L-arginine supplementation enhances exhaled NO, breath condensate VEGF, and headache at 4342 m. *High altitude medicine & biology*. 2005;6(4):289-300.