پپتید وابسته به ژن کلسی تونین و اعمال آن

دکتر سیدمرتضی کریمیان، استادیار بخش فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

Calcitonin Gene Related Peptide and its Functions

ABSTRACT

Calcitonin Gene Related Peptide (CGRP) was first reported in 1982. This peptide contains 37 amino acids which could be found in Alpha and Beta forms. CGRP shows diversity both in its receptors and biological effects and up to now four different types of receptors have been reported. It can act like a neurotransmitter, local hormone and neuromodulator. They have a variety of effects on different organs such as a potent effect on vasodilation and smooth muscle relaxation. Ability of CGRP for induction of protein extravasation from blood vessels was uncertain. In this study intra-articular infusion of 10^{-6} M CGRP to the rat knee joint induced significant protein extravasation into the rat knee joint space. The amount of protein was detected by modified Iawata method which could detect amount of protein between 5-500mg/L. Higher and lower concentrations failed to induce protein extravasation. Failure in higher concentration was likely due to significant fall in blood pressure. In the presence of an arterial hypotension induced by an α adenoreceptor antagonist, 10^{-6}M of CGRP failed to produce protein extravasation. This effect of CGRP was a specific active effect and not a passive effect due to its potent vasodilation effect, as similar vasodilatory response induced by a β - adrenoreceptor agonist failed to induce protein extravasation. There is more than 50% of sensory neurons which contain CGRP and they are sprcad in all over the body and joints, therefore CGRP induced protein extravasation can potentiate inflammation in different organs.

Key Words: Calcitonin; Gene, Poptide; Neuretransmitter; CGRP

چکیده

پپتید وابسته به ژن کالسی‌تونین (CGRP) اولین بار در سال ۱۹۸۲ گزارش شد. این پپتید دارای ۳۷ اسید آمینه می‌باشد که در ۲ نوع آلفا و بتا یافت می‌شوند. CGRP دارای پراکندگی هم در نوع عمل و هم در نوع رسپتور می‌باشد، بطوری که تاکنون ۴ نوع مختلف رسپتور برای این پپتید گزارش شده است. این پپتید هم می‌تواند مانند نوروترانسمیتر، یا هورمون موضعی و یا نورومدولاتور عمل نماید که باعث بروز آثار گوناگونی بر بافتهای مختلف می‌شود. از جمله انبساط عروقی قوی و شل‌شدگی عضلات صاف، اما توانایی CGRP برای القاء خروج پروتئین از عروق در پرده ابهام بود. در این مطالعه تزریق مداوم داخل مفصلی 10^{-6} مول CGRP به داخل زانوی رات باعث القاء خروج پروتئین از عروق، به فضای مفصلی شد. مقدار پروتئین خارج شده توسط روش اصلاح شده Iawata اندازه‌گیری شد که می‌تواند مقدار پروتئین نام را بین ۵۰۰-۵۰ میلی‌گرم در لیتر اندازه‌گیری نماید. غلظت بالاتر و پایین‌تر CGRP نتوانست باعث القا خروج پروتئین از عروق بشود. علت عدم القاء خروج پروتئین در غلظت بالاتر CGRP، می‌تواند افت شدید فشار خون که جذب سیستمیک این پپتید باعث آن می‌شود باشد، بطوری که در افت فشار خون، به مقدار مشابه که توسط آنتاگونیستهای آلفا آدنورسپتور ایجاد شد، غلظت 10^{-6} مول CGRP نتوانست باعث القاء خروج پروتئین بشود. همچنین اثر القا خروج پروتئین توسط CGRP یک اثر اختصاصی این پپتید بوده و تنها به دلیل اثر انبساط عروقی آن نمی‌باشد، چراکه انبساط عروقی مشابهی که توسط آگونیستهای بتا آدنورسپتور ایجاد شد، نتوانست باعث القا خروج پروتئین از عروق بشود. از آنجایی که بیش از ۵۰٪ از نورونهای حسی دارای CGRP بوده که در تمامی بدن و مفاصل گستردگی دارند، لذا این اثر CGRP

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-19]

می‌توانند باعث تشدید التهاب در بافتهای گوناگون بشود.

واژه‌های کلیدی: CGRP ؛ پپتید، نوروترانسمیتر ؛ ژن

مقدمه

در سالهای اخیر اکتشاف پپتیدها از قسمتهای مختلف بدن شتاب فزاینده‌ای پیدا کرده است. در این میان کشف پپتیدهایی که از انتهای سیستم اعصاب حسی آزاد می‌شود، جایگاه ویژه‌ای را به خود اختصاص داده است. پیدایش این پپتیدها اصل Dale را مبنی بر این که یک نرون فقط یک میانجی ترشح می‌کند را رد کرده(۱) و امروزه معتقدند که هر نورون لااقل دو میانجی ترشح می‌کند که این دسته از ترشحات از گروه پپتیدها می‌باشند. پپتید وابسته به ژن کلسی‌تونین (Calcitonin Gene Related Peptide (CGRP یکی از این پپتیدهای عصبی می‌باشد.

اولین گزارشها مربوط به یافتن این پپتید به سالهای ۱۹۸۲ و ۱۹۸۳ برمی‌گردد. آمارا(۲) و روزنفیلد (۳) (Rosenfield & Amara) گزارشی در مورد CGRP ارائه نمودند. این پپتید دارای ۳۷ اسید آمینه است که به دو صورت در انسان و رات یافت شده است، که در سیستم اعصاب مرکزی کد و تولید می‌شود(۳،۲). پروتئین حاصل از این ترجمه دارای وزن مولکولی برابر ۱۶۰۰۰ دالتون بوده که پس از طی مراحل شکسته شدن، پپتید CGRP با وزن مولکولی ۲۹۰۰ دالتون حاصل می‌شود(۳). نوع بتای این پپتید توسط ژن دیگری کد می‌شود که تنها محصول ژن مزبور می‌باشد که بصورت بیولوژیک فعال می‌باشد (شکل ۱). از گروه پپتیدهای ۳۷ اسید آمینه‌ای، پپتید دیگری به نام آمیلین بدست آمده است که از نظر مشخصات حدود ۴۰ تا ۵۰ درصد شبیه به CGRP می‌باشد که ژن دیگری مسؤول کد کردن و سنتز آن می‌باشد(۴).

توزیع CGRP: بطورکلی باید گفت که CGRP در بیش از ۵۰٪ از رشته‌های اعصاب حسی وجود دارد. حضور این پپتید با تکنیک واکنش ایمنی در اعصاب مرکزی و محیطی یافت شده است(۵).

این پپتید، در سیستم خودکار، در عقده‌های پیش‌سیناپسی سمپاتیک و پاراسمپاتیک، در عقده‌های پس‌سیناپسی رشته‌های عصبی غیرآدرنرژیک غیرکلینرژیک یافت می‌شود (Non Adrenergic Noncolinergic) (۵). همچنین این پپتید در پوست، در عروق خونی، قلب، دستگاه گوارش، زبان، مری، لوزالمعده، غدد بزاقی، ریه‌ها و کلیه‌ها نیز پیدا شده است(۵).

از توزیع گسترده این پپتید می‌توان نتیجه گرفت که مقدار زیادی از این پپتید در بدن تولید و ذخیره شده است، منتها پراکندگی نوع آلفا و نوع بتای آن در بدن متفاوت بوده و مقدارش نیز بصورت مستقل از هم کنترل می‌شود و همچنین اعمال جداگانه‌ای نیز دارد. مولدری(۶) Muldary نشان داده که غالباً همراه CGRP مواد دیگر نیز مانند استیل کولین، ماده پی (SP) و NKY ترشح می‌شود. از این همراهی با سایر مواد این نتیجه‌گیری را می‌توان داشت که CGRP نمی‌تواند خودش مستقلاً عمل کند بلکه معمولاً پاسخ سلولهای هدف را نسبت به میانجی همراهش تنظیم می‌کند.

CGRP نشاندار در سیستم اعصاب مرکزی در نقاط متفاوتی به گیرنده‌هایش متصل می‌شود که لزوماً همان نقاط تولید کننده CGRP نمی‌باشد. حتی در جاهایی، گیرنده‌های CGRP یافت شده که اثر کمی از نرونهای ترشح کننده آن وجود دارد. از جمله اجسام زانویی، پونس و هیپوتالاموس جانبی که بیانگر این نکته است که همیشه یک همبستگی بین میزان عصب‌گیری و تعداد رسپتور در یک نقطه وجود ندارد(۷).

اعمال CGRP: تزریق به داخل سیستم اعصاب مرکزی باعث افزایش جریان خون شده که منجر به افزایش ضربان و فشار خون می‌شود(۷). همچنین می‌تواند در کاهش اشتها، کاهش ترشح اسید معده، کاهش حرکات روده‌ای نقش داشته باشد(۸). این پپتید باعث تغییر درجه حرارت رکتال می‌شود که نشان‌دهنده احتمال دخالت CGRP در تنظیم درجه حرارت می‌باشد(۸). CGRP می‌تواند باعث تشدید و تقویت اثر انبساط عروقی و کاهش احساس درد در پاسخ به تحریکات دردناک بشود.

CGRP باعث دپلاریزه شدن سلولهای عصبی همراه با تشدید تحریک‌پذیری با مکانیسم افزایش جریان مربوط به کلسیم یا با تداخل در اثر سوماتوستاتین می‌شود(۹).

مبانی بیوشیمیایی عمل CGRP در اعصاب مرکزی کاملاً روشن نشده است، اما در محیط بنظر می‌رسد که یک فعال کننده قوی آدنیلات سیکلاز می‌باشد(۱۰). ولی راههای غیر از مسیر آدنیلات سیکلاز را نیز باید مدنظر داشت، از جمله تولید اینوزیتول (۵،۴،۱) تریس فسفات را می‌توان نام برد(۱۱). CGRP در صفحه انتهایی حرکتی همراه با استیل کولین وجود دارد و اثرات متعددی از خود نشان می‌دهد که از جمله آنها افزایش فسفریله شدن رسپتورهای کلینرژیک می‌باشد. سلولهای عضلانی هم دارای گیرنده‌های CGRP متصل به آدنیلات سیکلاز می‌باشند(۱۲)، اما ارزش فیزیولوژیک آنها هنوز روشن نمی‌باشد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-19]

اتصال متابولیک : CGRP غالباً به عنوان یک آنتاگونیست عمل انسولین عمل می‌کند، بخصوص در ارتباط با سنتز گلیکوژن، که مانع سنتز آن می‌شود و برداشت قند وابسته به انسولین نیز مهار می‌شود(۱۲). بنظر می‌رسد که ارزش فیزیولوژیک آن در کنترل متابولیسم عضلات، بویژه در موقع فعالیت عضلانی از طریق عصب باشد که مستقل از کنترل هورمونی بدن می‌باشد و باعث افزایش کاتابولیسم و مقدار ATP در عضلات می‌شود.

اثر بر روی گردش خون : CGRP قویترین منبسط کننده عروقی شناخته شده در بدن است(۱۴) و تزریق یک فمتومول در بین جلد باعث افزایش شدید جریان خون ناحیه به مدت چند ساعت می‌شود که ظاهراً اثر مستقیم CGRP بوده و آزاد شدن هیچ مدیاتوری را در بر نمی‌گیرد(۱۴). رشته‌های عصبی محتوی CGRP در بسیاری از عروق پیدا شده است. غلظت پلاسمایی آن بین ۱۰۰-۱۰ پیکومول می‌باشد، اما بنظر می‌رسد تعداد گیرنده‌ها بیش از این باشد (۱۵)، این وسعت حضور دخالت آنرا در تونیسیته عروق محتمل می‌سازد. خصوصاً وقتی که آنتاگونیست CGRP مانند CGRP 8-37 تزریق می‌شود، انقباض عروقی خفیفی داریم که بیانگر آزاد شدن فیزیولوژیک این پپتید است. امروزه در مورد اثر مهم دخالت در تنظیم موضعی جریان خون با واسطه یا بدون واسطه آندوتلیوم عروق، تردیدی وجود ندارد(۱۴،۱۵). در سیستم وابسته به آندوتلیوم، حضور گاز NO دخالت دارد و موجب آزاد شدن این گاز می‌شود. رشته‌های حاوی CGRP در تمامی قسمتهای دستگاه گوارش مانند روده‌ها، غدد بزاقی، کبد و لوزالمعده پراکنده است(۱۶).

گیرنده‌های CGRP : برای دستیابی و پی‌بردن به ماهیت گیرنده‌ها، نیازمند آگونیستها و آنتاگونیستهای مناسب هستیم. از آنتاگونیستها می‌توان CGRP 8-37 را نام برد که البته به تمامی رسپتورهای CGRP متصل نمی‌شود، حتی در شرایطی بصورت غیررقابتی نیز عمل می‌کند و دیگری CGRP 28-37 TYP می‌باشد که پاسخهای مختلفی با PA_2 متفاوت از خود نشان داده است. از آگونیستها در حال حاضر می‌توان cys(acm) 27 را نام برد. تا کنون ۴ گونه از گیرنده‌ها پیدا شده است که احتمال پیدایش زیرگونه‌های بیشتر نیز وجود دارد. پراکندگی این گیرنده‌ها در بافتهای مختلف متفاوت می‌باشد و البته اثرات متفاوتی نیز از خود بروز می‌دهد. این گیرنده‌ها به قرار زیر هستند(۱۸):

A -
CGRP1 B -
CGRP2-CGRP3

توانایی القا خروج پروتئین از عروق توسط CGRP

اثر انبساط عروقی پایدار CGRP مسؤول بسیاری از واکنشهای التهابی بعدی درعروق می‌باشد، ولی اینکه این پپتید مستقیماً بتواند باعث خروج پروتئین از عروق بشود مورد قبول نبوده اما اشاره می‌شود که می‌تواند اثرات خروج پروتئینی سایر پپتیدها را تشدید نماید(۱۷). با توجه به این اثر تقویت کننده، در این مطالعه مجدداً اثر مستقیم القای خروج پروتئینی توسط CGRP با روش حساستر مورد بررسی قرار گرفت.

روش و مواد

در این مطالعه زانوی رات به عنوان محل آزمایش انتخاب شد. راتها را پس از بیهوش کردن با اورتان (۱/۲ گرم برای یک کیلوگرم وزن زنده، داخل پریتوئن) به پشت خوابانده و پوست ناحیه زانو را برداشته و سرم فیزیولوژی را با سوزن نمره ۲۹ متصل به شلنگ به پمپ مینی‌پالس که سر دیگر آن در داخل ظرف سرم فیزیولوژی بود با سرعت ۰/۲۵ میلی‌لیتر در دقیقه بطور دایم به کپسول پشتی مفصل زانو تزریق کرده و این مایع پس از دور زدن در کپسول مفصلی از ناحیه قدامی کپسول توسط شلنگ دیگر پمپ که سر مکنده آن به سوزن نمره ۲۹ وصل شده بود و در کپسول قدامی وارده شده بود مکیده شده در لوله‌های مختلف جمع‌آوری می‌شود. هر ۸ دقیقه، یک لوله زیر شلنگ جمع‌آوری قرار می‌گرفت و این جمع‌آوری به مدت یکساعت ادامه یافته و سپس ظرف سرم فیزیولوژی با ظرف یکی از غلظتهای CGRP تعویض می‌شد. در این آزمایش ۳ غلظت ۵- مول، ۶- مول و ۷- مول مورد استفاده قرار گرفت. شریان کاروتید چند رات در هر سری از آزمایشات جهت کنترل فشار خون کانوله شده و به دستگاه ثبت فشار خون متصل می‌شد. مقدار پروتئین موجود در نمونه‌ها توسط روش میکروتوربیدیمتری اندازه‌گیری می‌شد. این روش اولین بار توسط یاواتا Iawata(۱۹) معرفی شد. حساسیت این روش تعیین مقدار پروتئین بین ۵۰ تا ۵۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بوده که با تغییراتی که در غلظتها ایجاد شد، میزان حساسیت آن به مقدار ۵ تا ۵۰۰ میلی‌گرم پروتئین در لیتر افزایش یافت و غلظتهای پایین را نیز به دقت اندازه‌گیری نمود. در روش تغییر یافته یاواتا، ۰/۴ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۲٪ بنزتونیم کلراید و ۱/۶ میلی‌لیتر از محلول ۱/۲۲٪ EDTA و ۲/۲٪ NaOH مخلوط کرده و ۰/۲ میلی‌لیتر از محلول نمونه به آن اضافه کرده و خوب بهم زده و به آن ۱۰ دقیقه برای انجام واکنشها فرصت می‌دهیم. سپس مقدار پروتئین را با اسپکتروفتومتر با طول موج ۲۶۰ نانومتر خوانده و عدد بدست آمده را با منحنی استاندارد که با غلظتهای ۵ تا ۵۰۰ میلی‌گرم از سرم آلبومین گاوی تهیه شده بود سنجیدیم. روش آماری به‌کار رفته برای محاسبات پس از تست توزیع نرمال، از ANOVA و Paired T test می‌باشد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-19]

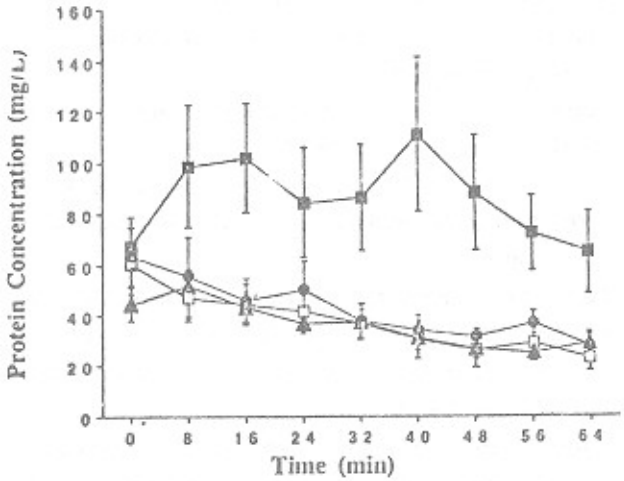
نتایج و بحث

خروج پروتئین از عروق از عوامل اولیه شروع التهاب موضعی می‌باشد.

CGRP در بیش از ۵۰٪ از رشته‌های اعصاب حسی وجود داشته و در شرایط مختلف به تنهایی و یا همراه دیگر نوروترانسمیترها آزاد می‌شود، ولی آیا اینکه بتواند موجب خروج پروتئین بشود یا نه، مشخص نشده است. حتی گزارشی مبنی بر عدم توانایی آن در القای خروج پروتئین گزارش شده است(۱۴).

در این آزمایش غلظت‌های ۷- مول، ۶- مول و ۵- مول CGRP با روش تغییر یافته اندازه‌گیری، جهت بررسی توانایی خروج پروتئین استفاده شد. غلظت‌های ۷- مول و ۵- مول نتوانستند باعث القای خروج پروتئین از عروق بشوند (نمودار ۱) و فقط غلظت ۶- مول توانست در طول مدت آزمایش (۱ ساعت) باعث القای خروج پروتئین از عروق بشود. در تمامی نمونه‌ها (۸ نمونه)، یک اختلاف معنی‌دار در مقدار پروتئین نسبت به کنترل وجود داشت (۲۰/۲ ± ۱۱۱ میلی‌گرم در لیتر و ۸ ± ۲۵ میلی‌گرم در لیتر)، چون CGRP یک منبسط کننده قوی عروقی بوده و این انبساط عروقی سیستمیک باعث افت شدید فشار خون می‌شود (نمودار ۲) در نتیجه عدم توانایی غلظت ۵- مول در القای خروج پروتئین می‌تواند به علت کاهش ۳۰٪ فشار خون باشد. برای اثبات این مدعا، مقدار فشار خون توسط فنوکسی بنزامین انتاگونیست گیرنده القا و بتا، به مقدار ۴ ± ۲۷٪ پایین آورده شد که این کاهش فشار خون برابر با کاهش غظت ۵- مول CGRP (تعداد ۵ رات) بود. برای این منظور از تزریق وریدی غلظت ۴- مول استفاده شد و سپس آزمایش با غلظت ۶- مول تکرار شد که این بار این غلظت نیز نتوانست باعث خروج پروتئین از عروق بشود و مقدار پروتئین اختلاف معنی‌داری با کنترل نداشت (۱۰ ± ۲۷ میلیگرم در لیتر). آیا خروج پروتئین یک پدیده فعال اثر CGRP می‌باشد یا بدنبال

نمودار ۱- خروج پروتئین در زانوی رات در طول زمان با غلظت‌های مختلف CGRP و شاهد



Δ: ۱۰$^{-۷}$ مول؛ ■: ۱۰$^{-۶}$ مول؛ ●: ۱۰$^{-۵}$ مول؛ □: شاهد

زمان صفر، زمان شروع تزریق می‌باشد، تعداد هر گروه، ۹ عدد و گروه شاهد، ۴ عدد رات.

انبساط عروقی ناشی از CGRP بصورت غیرفعال حاصل می‌شود. برای اثبات این مورد از ایزوپروترنول (بتا ۱ و ۲ آگونیست) استفاده شد. غلظت ۵- مول باعث کاهش مقاومت عروقی ۲۹ ± ۱۲/۴۶٪ (تعداد ۴) شد که برابر مقدار کاهش مقاومت غلظت CGRP ۶- مول بود (۲/۱ ± ۱۱/۹) اما این آنتاگونیست نتوانست باعث القا خروج پروتئین بیش از مقدار کنترل بشود (۱۱ ± ۲۹/۸ میلی‌گرم در لیتر)، در نتیجه ثابت شد که القای خروج پروتئین یک اثر فعال CGRP بوده و باعث افزایش مستقیم نفوذپذیری عروق می‌شود. این اثر CGRP یک پدیده پایدار و طولانی مدت بوده و می‌تواند از عوامل مؤثر در شروع التهاب و مشکلات مفصلی باشد.

منابع

1- Paton HD, Fuchs AF, Hille B. Scher AM, Steiner R. Text book of physiology. Sounders int. second ed. 1989 p 242.

2- Amara S.G., Jones V., Rosenfield M.G., Evans R.M. (1982) Alternative RNA processing in Calcitonin gene expression generats mRNA encoding different polypeptide products. Nature (Lond) 298: 240-244.

3- Rosenfield M.G., Mermodj J, Amara S.J., Swanson L.W., Sawchenco P.E., Rivier J., Wale W.W. and Evans R.M. (1983) Production of a novel neuropeptide encoding by calcitonin gene related peptide via tissue specific RNA procesing. Nature (Lond) 304: 129-135.

4- Nishi M., Chan S.J., Nagaatsu S.Bell G.L., Steiner D.F. (1982). Conservation of the sequence of islet amyloid polypeptide in five mammals in consistent with its putative role as an islet hormon. Proc Nat Acad Sci U.S.A. 86: 5738-5742.

5- Yaato A.I. and Tohyama M. (1989) Calcitonin gene related peptide in the nervous system. Prog Neurobiol. 33: 335-386.

6- Muldery P.K., Chatel M.A., Rodrigo J, Allen J.M., Rosenfield M.G., Polak J.M. and Bloom S.R. (1985) Calcitonin gene related peptide in the cardiovascular tissue of the rat. Neuroscience 14: 947-954.

7- Dennis T., Fournier A., Guard S., St Peir S. and Quirion R. (1991). Calcitonin gene related peptide (hCGRP a) binding site in the nucleus accubence. A typical structural requirement and marked phylogenic differences. Brain Res. 539: 59-66.

8- Tannenbaum G.S. and Goltzman D. (1985). Calcitonin gene

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-19]

related peptide mimic calcitonin action in brainom growth hormon release and feeding. Endocrinology. 116: 2685-3688.

9- Wiesenfeld Hallen Z. (1986). Somatostatin and CGRP synergically modulate spinal sensory and reflex mechanism in the rat: behavioral and electrophysiological study. Neuroscience letter. 67: 319-323.

10- Van Valen F., Piechot G. and Jurgens S. (1990). Calcitonin gene related peptide receptor are linked to cyclic adenosine monophosphate production in SK-N-MC neuroblastoma cells. Neuroscience letter 119: 195-198.

11- Kim D. (1991). Calcitonin gene related peptide activates the muscarinic gated K current in atrial cell. Pflugers Arch 418: 338-345.

12- Kreutter D., Orena S.G. and Andrew K.M. (1989). Suppression of insulin stimulated glucose transport in L6 myocytes by Calcitonin gene related peptide. Biochem - Biophys Res Comm. 325: 294-298.

13- Leighton B., Foot E.A., Cooper G. J.S. and King G.M. (1989). Calcitonin gene related peptide, a potent regulator of flycogen metabolism in rat skeletal muscle . FEBS Lett. 249: 357-361.

14- Brain S.D. Williams T.J., Tippens G.R., Morris S.G. and Macintyre I. (1985) Calcitonin gene related peptide is a potent vasodilator. Nature. 313 : 54-56.

15- Pernow J. (1989). Action of constricor (NPY and endothelin) and dilator (SP, CGRP and VIP) peptides on big spelenic and human skeletal muscle arteries: involvement of endothelium. Br. J. Pharmac 97: 983-989.

16- Holzer P. (1994). Calcitonin gene related peptide. Gut peptide: Biochemistry and Physiology, 493-523.

17- Kidd b. L., Mapp P., L., Blake D.R., Gibson S.J. and Polak J.M. (1990). Neurogenic influence in arthritis. Annals Rheumatoic Disease. 49: 649.

18- Dennis T.B., Fournier A., St Peirre S. and Quirion R. (1989) Structure activity profile of Calcitonin gene related peptide in peripheral and brain tissue, evidence for multiplicity. J. Pharm. Exp. Ther. 251: 718-725.

19- Iawata J. and Nishikasa A. (1979) New microturbidimetric method for determination of protein in cerebro spinal fluid and urnie. Clinical Chemistry, 2(P) pp 1317-1319.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-19]