

تهیه، فرمولاسیون و کنترل کیفی کیت یک مرحله ای $^{99m}\text{Tc-EDDA/HYNIC-TOC}$ به عنوان رادیوداروی پپتیدی جدید جهت تصویربرداری از تومورهای با رسپتور مثبت سوماتوستاتینی

دکتر مصطفی گندم کار^۱، دکتر رضا نجفی^۱، دکتر سید اسماعیل سادات ابراهیمی^۲، دکتر محمدحسین بابائی^۱

۱- بخش رادیوایزوتوپ، مرکز تحقیقات هسته ای، سازمان انرژی اتمی ایران

۲- گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

استفاده از $^{111}\text{In-DTPA-Octreotide}$ به عنوان روش تشخیص کلینیکی در آنکولوژی جهت تصویربرداری از تومورهای با رسپتور مثبت سوماتوستاتینی به طور گسترده ای کاربرد پیدا کرده است. با این وجود ^{111}In دارای جنبه های منفی متعددی از جمله دسترسی محدود به آن، انرژی گامای غیر ایده‌ال و تشعشع بالا به مریض می باشد. $^{99m}\text{Tc-EDDA-HYNIC-D-Phe}^1\text{-Tyr}^3\text{-Octreotide}$ به عنوان عاملی جدید و بالقوه برای جایگزینی با Octreoscan در تصویربرداری رسپتورهای سوماتوستاتینی مورد بررسی قرار گرفت. این کمپلکس مشتق آنالوگ سوماتوستاتین با هیدرازینو نیکوتینیک اسید می باشد که دارای اتیلن دی آمینو دی استیک اسید (EDDA) به عنوان لیگاند همراه با پایداری بالای *in vivo* و *in vitro* می باشد. بازده نشاندارسازی بیش از ۹۰٪ در اکتیویته ویژه بالا به دست آمد. خصوصیات HPLC، توزیع بیولوژیکی و اتصال به رسپتور بررسی شد. فرمولاسیون بدست آمده به سرعت با تکنسیوم نشاندار شده و پایدار می باشد که آن را برای استفاده بالینی مناسب کرده است.

واژه‌های کلیدی: سوماتوستاتین، هیدرازینونیکوتینیک اسید، تیروزین اکتروتاید، اتیلن دی آمینو دی استیک اسید، تکنسیوم- 99m

مقدمه

امروزه استفاده از آنالوگ های سوماتوستاتین جهت تصویربرداری از تومورها بعنوان ابزار بالینی در آنکولوژی پذیرفته شده است. ^{123}I تیروزین اکتروتاید و $^{111}\text{In-DTPA}$ اکتروتاید دارای تجمع خوبی در تومورهای با رسپتور مثبت سوماتوستاتینی می باشند ولیکن دفع کیدی صفراوی اکتروتاید نشان دار شده با ^{123}I و در نتیجه اکتیویته زمینه ای بالا در ناحیه شکمی مانع از شناسایی تومورهای این نواحی می شود و همچنین عدم دسترسی به ^{123}I با خلوص بالا در تمام مراکز موجب گردیده تا $^{111}\text{In-DTPA-Octreotide}$ به عنوان رادیوداروی انتخابی برای این نوع تشخیص ها شناخته شود (۱). با توجه به این که تکنسیوم- 99m به عنوان رادیونوکلیدی با انرژی مناسب و ایده ال جهت تصویربرداری SPECT به شمار می رود. ما

اخیرا در مورد تهیه آنالوگ سوماتوستاتین با نام تیروزین-۳- اکتروتاید (TOC) به عنوان قسمت پپتیدی باند شونده به رسپتور و هیدرازینونیکوتینیک اسید به عنوان لیگاند دو منظوره برای اتصال به تکنسیوم- 99m گزارش کردیم (۲). نشاندارسازی با تکنسیوم- 99m نیاز به لیگاند همراه جهت پایدار کردن پیوند تکنسیوم و دنباله هیدرازینی باند شده به پپتید دارد. در بررسی قلبی ما از تریسین به عنوان لیگاند همراه استفاده کردیم، که دارای بازده نشان دارسازی بالا و پایداری *in vitro* نسبتا خوب بود ولی در *in vivo* از پایداری مطلوب برخوردار نبود که استفاده بالینی آن را دشوار می سازد؛ لذا جهت افزایش پایداری از لیگاند همراه EDDA (اتیلن دی آمینو دی استیک اسید) استفاده شده است. EDDA به عنوان لیگاند همراه انتخابی می باشد از آنجایی که لیپوفیلیسته و در نتیجه

سپس با استفاده از HPLC خالص سازی گردید.

ب- نشانداز کردن ^{99m}Tc -HYNIC-Tyr³-Octreotide

ما قبلاً نشاندار کردن پپتید با لیگاند همراه تریسین و نتایج بررسی‌های *in vivo* و *in vitro* در کنترل کیفی آن را گزارش کردیم (۲). در این بررسی از لیگاند همراه EDDA جهت نشان دار سازی استفاده گردید و روش‌های مختلف نشاندارسازی بررسی شد.

۱- استفاده از EDDA به تنهایی:

به محلولی از ۱۰ میکروگرم پپتید در بافر سدیم استات ۰/۵ مولار با $\text{pH}=5.2$ ؛ ۲۵ میکرولیتر محلول $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، 10mg/10ml در 0.1N HCl؛ ۰.۱N نیم میلی لیتر آب مقطر حاوی ۱۰ میلی گرم EDDA؛ یک میلی لیتر محلول سدیم پرتکتات حاوی ۱۵ میلی کوری اکتیویته اضافه گردید و بعد از یک ساعت انکوبه کردن در دمای اتاق میزان نشاندارسازی و خلوص رادیوشیمیایی با استفاده از HPLC؛ ITLC و Seppak-C18 مشخص شد.

۲- استفاده از تریسین و EDDA بصورت جداگانه:

به محلولی از ۱۰ میکروگرم پپتید در بافر سدیم استات ۰/۵ مولار با $\text{pH}=5.2$ مقدار یک میلی لیتر محلولی حاوی ۱۰۸ میلی گرم تریسین؛ ۲ میلی لیتر سدیم استات ۰/۵ مولار با $\text{pH}=5.2$ ؛ 40mCi/ml سدیم پرتکتات و ۷۵ میکرولیتر $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، 10mg/10ml در 0.1N HCl اضافه کرده؛ به مدت یک ساعت در دمای اتاق انکوبه کرده و سپس به ویالی حاوی ۱۰ میلی گرم EDDA در نیم میلی لیتر آب مقطر $\text{pH}=8$ اضافه گردید و ۲۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد حرارت داده شد. میزان نشاندارسازی و خلوص رادیوشیمیایی اندازه گیری و مشخص گردید.

۳- استفاده از تریسین و EDDA بطور همزمان:

در این روش ابتدا مقدار ۲۰ میلی گرم تریسین به صورت جداگانه در ویالی وزن شده و به آن نیم میلی لیتر فسفات بافر ۰/۲ مولار $\text{pH}=6$ اضافه و حل گردید. سپس ۱۰ میلی گرم EDDA در ویال جداگانه ای وزن

دفع کیدی کاهش داده شده و پایداری *in vivo* به علت عدم داشتن فرم‌های رزونانسی افزایش می یابد و همچنین جذب بالا به رسپتورهای سوماتوستاتینی گزارش شده است (۳).

در این مقاله روشی برای نشاندارسازی مشتقی از سوماتوستاتین با ^{99m}Tc بررسی شده است که با لیگاند همراه EDDA بازده نشاندارسازی بالایی بدست می آید و مناسب جهت استفاده بالینی به عنوان آلترناتیوی برای Octreoscan می باشد.

مواد و روش‌ها

BOC تیروزین اکتیوناید از کمپانی Bachem، کلرونیکوآستیک اسید از Fluka، هیدرات هیدرازین از Fluka، تریسین از Fluka، اتیلن دی آمینو دی استیک اسید از Fluka، آزوبنزوتری آزولیل تترامیل یورونیوم هگزا فلوروفسفات (HATU) از Sigma، دی متیل فرمامید از Fluka، دی ایزوپروپیل اتیل آمین از Fluka، رده سلولی AR42J از کلینیک پزشکی هسته ای اینسبروگ اتریش (این رده سلولی که از سلولهای توموری پانکراس موش صحرانی (rat) بدست آمده است. رسپتورهای سوماتوستاتینی نوع دوم را بیان می کنند)، محیط کشت RPMI1640 همراه با ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و ۲ میلی مولار ال-گلوتامین و جتامایسین (جهت رشد رده سلولی) از Gibco؛ SEPPAK-C18.

الف- سنتز ^{99m}Tc -HYNIC-Tyr³-Octreotide

این کمپلکس بر طبق روشی که قبلاً گزارش کرده ایم تهیه شد (۴). بطور خلاصه به مخلوطی از ۱/۵ میلی گرم HYNIC و ۴/۶ میلی گرم HATU در نیم میلی لیتر دی متیل فرمامید؛ ۲/۹ میکرولیتر دی ایزوپروپیل اتیل آمین اضافه کرده و بعد از انکوباسیون ۱۵ دقیقه ای ۵/۵ میلی گرم پپتید به آن اضافه گردید و بعد از گذشت ۲ ساعت به آن نیم میلی لیتر اتیل استات اضافه کرده و با کربنات هیدروژن سدیم ۰/۵٪ بافر سدیم استات ۰/۵ مولار $\text{pH}=5.2$ و NaCl اشباع فاز اتیل استات را شستشو داده و خشک کردیم. به جسم خشک شده به دست آمده ۵۰۰ میکرولیتر تری فلورواستیک اسید (۹۲٪)؛ تیوآنیزول (۴٪) و آب مقطر (۴٪) اضافه شده و بعد از ۱۵ دقیقه کثروگه پپتید با اضافه کردن دی اتیل اتر رسوب داده شد و

فاز متحرک ۰/۱ نرمال سیترات بافر با pH=5 جهت تعیین میزان Tc-Coligand متصل نشده به پپتید و TcO_4^- آزاد با $Rf=1$ استفاده گردید. فاز متحرک ۵۰٪ استونیتریل / آب جهت تعیین میزان کلونید تکسیم (TcO_2) با $Rf=0$ استفاده شد.

۲- کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC):

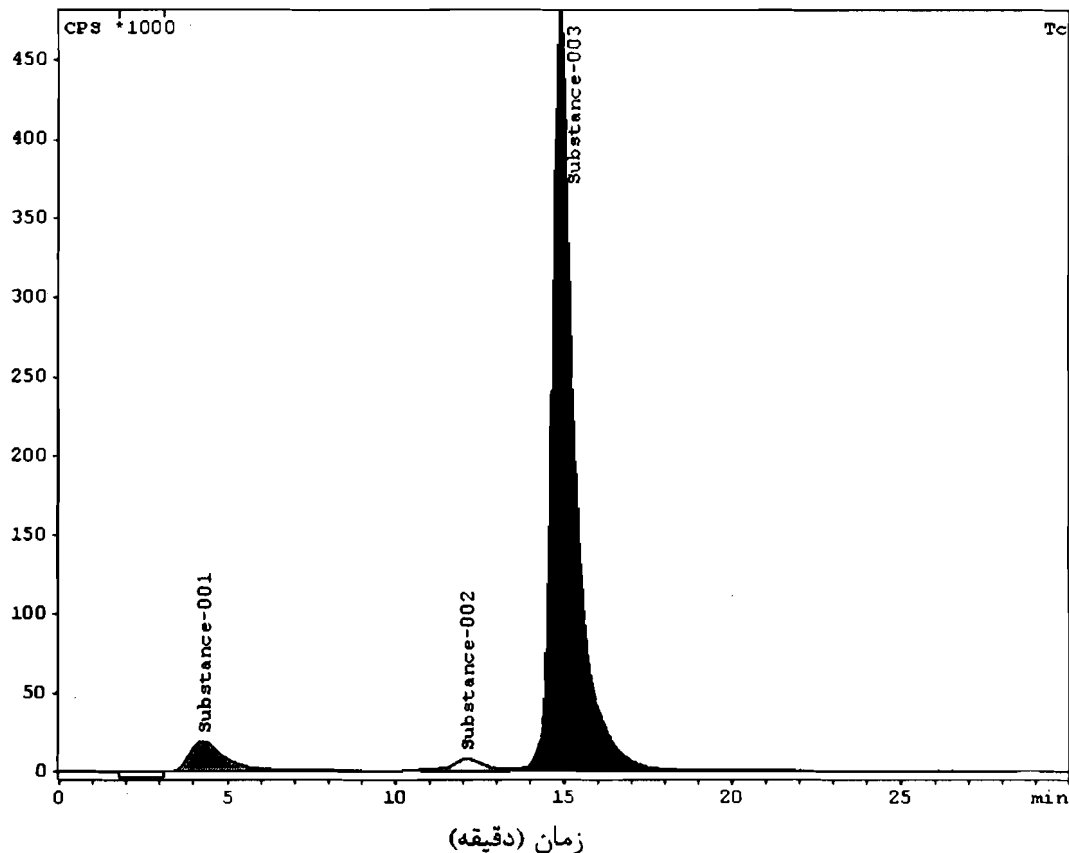
دستگاه HPLC مدل JASCO 880-PU و دتکتور UV-Vis-875 جهت تعیین جذب UV و دتکتور Raytest جهت اندازه گیری طیف رادیواکتیو و ستون تجزیه ای RP-C₁₈, 5 μ m, polygosil 250.40 mm² و سیستم حلال استونیتریل و آب در تری فلورواستیک اسید ۰/۱٪ بصورت گرادیانتهی از ۱۰۰٪ آب در تری فلورواستیک اسید به ۱۰۰٪ استونیتریل در زمان ۳۰ دقیقه استفاده شد (نمودار ۱).

گردیده و به آن ۰/۵ میلی لیتر آب مقطر قلبایی شده با NaOH اضافه گردید و حل شد. محلول ویال اول به ویال دوم اضافه گردید و سپس به محلول به دست آمده ۲۰ میکروگرم پپتید HYNIC-Tyr³-Octreotide اضافه گردید. با اضافه کردن 36 mCi/ml سدیم پرتکننتات و ۲۵ میکرولیتر از محلول SnCl₂.2H₂O, 10mg/10ml, 0.1NHCl و ۱۰ دقیقه حرارت دادن در ۱۰۰ درجه نشاندار سازی انجام شد. میزان خلوص رادیوشیمیایی و بازده نشان دار سازی بررسی گردید.

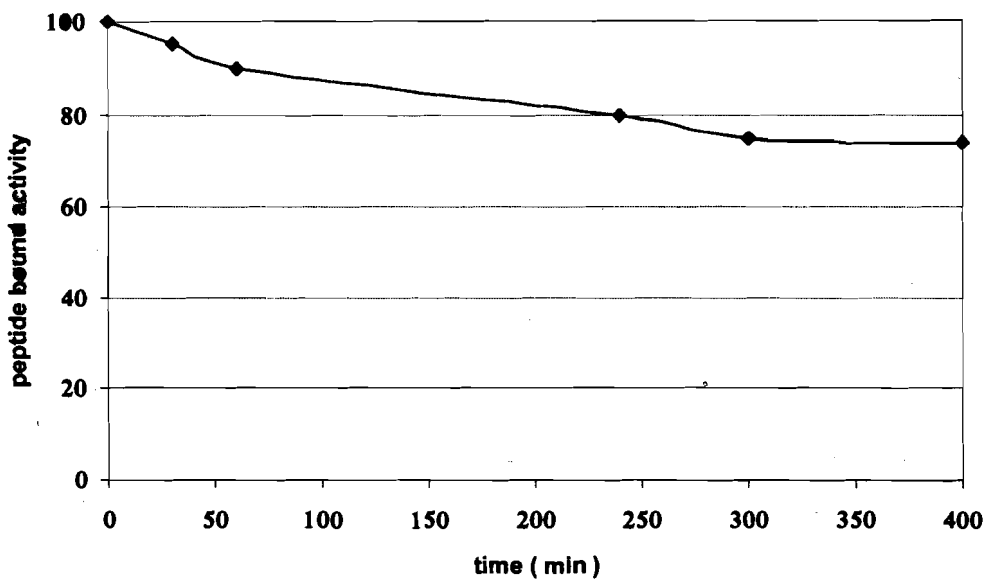
ج- روش های آنالیز

۱- کروماتوگرافی لایه نازک TLC:

برای کروماتوگرافی از ورقه های سیلیکاژل-ITLC SG کمپانی سیگما همراه با فازهای متحرک مختلف استفاده شد. جهت تعیین مقدار پرتکننتات آزاد از فاز متحرک متیل اتیل کتون استفاده گردید (TcO_4^- $Rf=1$)



نمودار ۱- رادیوکروماتوگرام ^{99m}Tc -EDDA-HYNIC-Tyr³-Octreotide یک ساعت بعد از نشاندار سازی با استفاده از کریسین و EDDA بطور همزمان و ده دقیقه حرارت دادن در صد درجه سانتی گراد. محور افقی (زمان بر حسب دقیقه) و محور عمودی میزان شمارش (در پنجاه هزار) را نشان می دهد. RT (زمان با داری) برای پرتکننتات آزاد برابر ۴ دقیقه و برای پپتید نشان دار برابر ۱۵ دقیقه می باشد.



نمودار ۲- پایداری $^{99m}\text{Tc-EDDA-HYNIC-Tyr}^3\text{-Octreotide}$ در سرم انسانی با گذشت (مان).

۳- پایداری *in vitro* :

و یک گروه با تزریق ۵۰ میکروگرم پپتید سرد اکتیوتاید رسپتورهای سوماتوستاتینی آنها اشباع گردید. به همه گروه ها ۱ میکروگرم پپتید نشان دار تزریق شده و توزیع بیولوژیکی در زمان های مختلف ۰/۵؛ ۱؛ ۴ ساعت بررسی گردید (نمودار ۳ و جدول ۱).

جهت تعیین پایداری از سرم انسانی استفاده گردید. پپتید نشاندار شده حاوی ۵۰ میکروکوری اکتیوتیبه به ۲ میلی لیتر سرم انسانی اضافه گردید و پس از عبور از ستون PD10 توسط شستن با PBS میزان اکتیوتیبه متصل شده به پروتئین های پلاسما و اکتیوتیبه متصل مانده به پپتید در زمان های مختلف آنکوباسیون اندازه گیری شد و نهایتا میزان اتصال به پروتئین های پلاسما با گذشت زمان به دست آمد. (نمودار ۲)

نتایج

۱- نشاندارسازی:

ستز $\text{HYNIC-Tyr}^3\text{-Octreotide}$ بازده ای برابر ۵۰٪ داشت و خلوص شیمیایی آن بالای ۹۵٪ بوسیله HPLC تعیین گردید. در نشاندارسازی کتزوگه ستز شده با تکنسیوم با استفاده از لیگاند همراه EDDA بدون حرارت بعد از یک ساعت آنکوباسیون نهایتا نشاندارسازی با بازده ۷۰٪ به دست آمد. در روش تهیه کمپلکس با تریسین و سپس اضافه کردن EDDA و حرارت به صورت جداگانه بازده نشاندارسازی بالای ۹۰٪ به دست آمد که نشان دهنده جایگزینی EDDA با تریسین بوسیله حرارت می باشد.

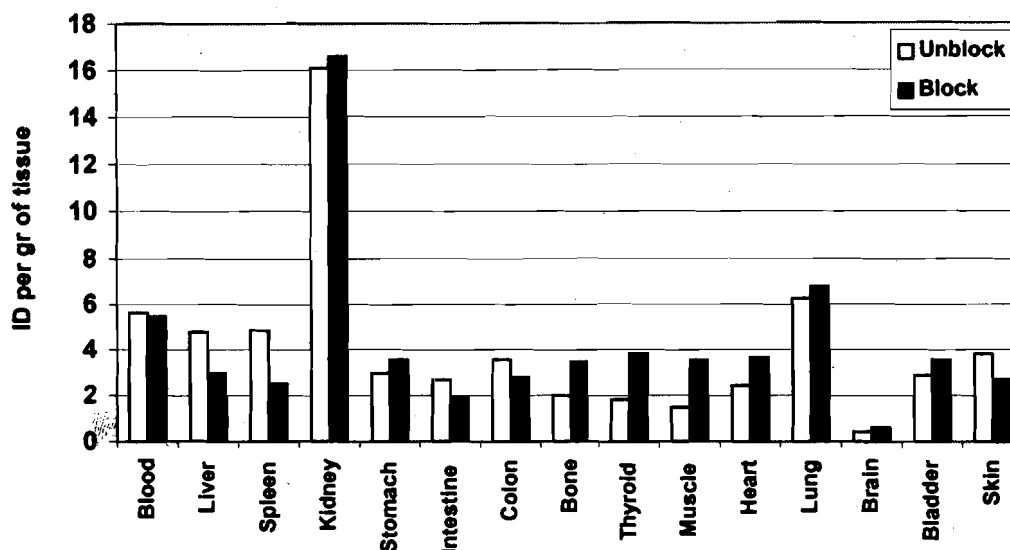
در روش استفاده از محلولی از تریسین و EDDA بصورت همزمان و حرارت دادن برای ۱۰ دقیقه بازده نشاندارسازی بالای ۹۵٪ بود یعنی همزمان با تشکیل کمپلکس Tc(Tricine)_2 با کمک حرارت EDDA جایگزین تریسین گشته و نهایتا کمپلکس پایدار به دست می آید و نشاندار کردن در یک مرحله و در زمان کوتاه انجام می گیرد.

۴- اینترنالیزه شدن رادیودارو:

برای مطالعات اینترنالیزه شدن از رده سلولی تومورهای پانکراس موش AR42J حاوی رسپتورهای سوماتوستاتینی نوع دوم استفاده شد. سلولها مطابق با روشی که قبلا ذکر شد (۲) در پلیت های مخصوص در ۴ ردیف دو تایی رشد داده شدند و بعد از آنکوبه کردن در زمان های مختلف با پپتید سرد و پپتید نشاندار؛ رسپتورهای سطحی با استفاده از سدیم استات ۰/۱ مولار با pH=3.5 برداشته شدند. میزان اینترنالیزه شدن رادیو دارو به داخل سلولها به روش بالا اندازه گیری شد.

۵- توزیع بیولوژیکی :

چهار گروه سه تایی از موش سوری انتخاب شدند



نمودار ۱- مقایسه درصد دوز تزریق شده در بافت های مختلف در موش های نرمال بلاک نشده (سفید) و بلاک شده (سیاه) نیم ساعت پس از تزریق داخل وریدی کمپلکس $^{99m}\text{Tc-EDDA-HYNIC-Tyr}^3$ Octreotide. (سپتورهای داخل بدن موش با تزریق ۱۰۰ میکروگرم اکتروتاید سرد نیم ساعت قبل از تزریق کمپلکس نشان دار بلاک شدند.

جدول ۱- توزیع میانی کمپلکس $^{99m}\text{Tc-EDDA-HYNIC-Tyr}^3$ Octreotide در موش های طبیعی سوری در ساعات مختلف (۵/۰، ۱ و ۴ ساعت) پس از تزریق وریدی. اعداد بصورت درصد دوز تزریق شده در هر گرم بافت (%ID/g tissue) همراه با المراف استاندارد (n=3) بیان شده ال (Mean ± SD).

بافت	۵/۰ ساعت پس از تزریق	۱ ساعت پس از تزریق	۴ ساعت پس از تزریق
خون	5.63 ± 2.24	3.15 ± 2.51	1.52 ± 0.37
کبد	4.77 ± 1.08	5.59 ± 3.32	8.77 ± 0.07
طحال	4.81 ± 1.98	2.25 ± 2.53	3.00 ± 0.48
کلیه	16.10 ± 4.12	13.80 ± 9.48	19.89 ± 0.3
معدة	2.97 ± 0.62	3.29 ± 2.01	3.99 ± 0.05
روده	2.71 ± 0.54	1.44 ± 0.73	9.44 ± 7.22
کولون	3.55 ± 0.53	4.73 ± 4.13	10.03 ± 10.50
مثانه	2.84 ± 1.96	35.80 ± 40.80	2.64 ± 0.30
قلب	2.46 ± 0.60	3.02 ± 0.29	3.69 ± 0.10
عضله	1.46 ± 0.31	1.13 ± 0.01	1.67 ± 0.70
ریه	6.22 ± 1.49	6.56 ± 3.60	7.62 ± 1.20
پوست	3.81 ± 1.44	1.40 ± 0.83	2.72 ± 1.13
تیروئید	1.80 ± 0.61	1.93 ± 1.09	2.76 ± 0.30
مغز	0.39 ± 0.24	0.97 ± 0.48	1.33 ± 0.05
استخوان	1.96 ± 0.47	1.54 ± 0.51	2.62 ± 0.51

۲- پایداری در سرم انسانی:

پایداری کمپلکس $^{99m}\text{Tc-EDDA-HYNIC-Tyr}^3$ Octreotide بعد از ۴ ساعت بالای ۷۰٪ بود که نشان دهنده مزیت آن نسبت به تریسین است. از آنجایی که تریسین دارای فرم های ایزومری مختلفی می باشد ناپایدار بوده و تکنسیوم سریعاً توسط عوامل SH در سرم جایگزین شده و کمپلکس آزاد می شود در حالی که EDDA به علت مسطح بودن کمپلکس محکم و پایداری را با تکنسیوم ایجاد کرده و در سرم انسانی پایداری خود را حفظ می کند.

۳- اینترنالیزه شدن:

پدیده اینترنالیزه شدن در مورد EDDA شبیه تریسین بوده و برابر ۴٪ به ازای هر میلی گرم پروتئین بعد از گذشت زمان یک ساعت بود.

۴- توزیع بیولوژیکی:

در توزیع بیولوژیکی اختلاف معنی داری، t-Test, $P < 0.05$ در جذب ترکیب بین حیوانات بلاک شده با بلاک نشده در بافت های طحال، پانکراس، کبد و پوست که سرشار از رسپتورهای سوماتوستاتینی هستند دیده می شود که نشان دهنده جذب اختصاصی ترکیب در این بافت ها است (۵). در بقیه بافت ها عدم وجود اختلاف معنی دار بین حیوانات بلاک شده و بلاک نشده نشان دهنده جذب غیر اختصاصی ترکیب در آن بافت ها می باشد. جذب بالا در کلیه نشان دهنده دفع خوب کلیوی ترکیب می باشد.

بحث

ما در مقاله قبلی خود از $^{99m}\text{Tc-Tricine-HYNIC}$ به عنوان آلترناتیو و جایگزینی برای $\text{Tyr}^3\text{-Octreotide}$ نام بردیم (۲). تریسین به خوبی و با میزان بالای ۹۵٪ با تکنسیوم کمپلکس داده و سریعاً با HYNIC کتزوگه می گردد. توزیع بیولوژیکی و پایداری کمپلکس تا ۴ ساعت بسیار خوب بوده و پایدار می باشد همچنین دفع سریع کلیوی داشته و خصوصیات ایده ال یک رادیو دارو را دارا می باشد ولیکن تریسین به علت داشتن فرم های ایزومری مختلف دائماً در بین اشکال مختلف ایزومری

جایجا شده و همین امر موجب سست بودن پیوند تشکیل شده با تکنسیوم می شود که می تواند با گروه های دارای الکترون آزاد همچون اکسیژن و گوگرد جایگزین شده و پیوند بین تکنسیوم و تریسین شکسته شود، لذا در سرم انسانی پایداری خوبی نداشته و باعث می گردد اکتیویته زمینه ای حاصل از تکنسیوم آزاد زیاد گردیده و تصویر برداری به خوبی صورت نگیرد. لذا اگرچه تریسین به تنهایی جهت نشان دارسازی کافی بوده و قابل استفاده می باشد ولیکن جهت فائق شدن بر مشکل عدم پایداری در سرم انسانی لیگاند های همراه دیگری چون EDDA مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که EDDA به خاطر اینکه مولکولی مسطح بوده و کمپلکس آن با تکنسیوم هم حالت مسطح داشته و اشکال ایزومری دیده نمی شود، بسیار پایدار بوده و قابل جایگزین شدن با عوامل اکسیژن و گوگرد و دارای الکترون آزاد در سرم خون نیست و همچنین دارای توزیع بیولوژیکی خوبی بوده و دفع کلیوی دارد. مسطح بودن مولکول EDDA باعث می گردد که به راحتی وارد واکنش با تکنسیوم نگردد و به تنهایی از درصد نشان دارسازی بالایی برخوردار نیست و نهایتاً به بازده ای برابر ۷۰ درصد می توان دست یافت. با استفاده از تکنیک تعویض لیگاند می توانیم EDDA را با حرارت جایگزین تریسین کرده و به نشان دارسازی بالای ۹۵ درصد دسترسی پیدا کنیم. در صورتیکه بطور هم زمان از تریسین و EDDA و حرارت ۱۰۰ درجه سانتی گراد استفاده کنیم می توانیم در یک مرحله هم نشان دارسازی با تریسین و هم جانشینی با EDDA را داشته باشیم که نهایتاً باعث به دست آمدن فرمولاسیون کیت یک مرحله ای، پایدار و بدون اشکال ایزومری $^{99m}\text{Tc-EDDA-HYNIC-Tyr}^3\text{-Octreotide}$ می گردد که با پایداری بالا در سرم انسانی و توزیع بیولوژیکی مناسب می تواند جایگزین بسیار مناسبی برای Octreoscan به شمار رود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاری آقایان حسین حمزه، محمد مزیدی، حسن میرفلاح و خانمها محمودخان و ذوقی در بخش رادیوایزوتوپ تشکر و قدردانی می شود.

منابع

- 1) Kwekkeboom D, Krenning EP and De Jong M; Peptide receptor imaging and therapy. *J Nucl Med* 2000; 41: 1704-1713
- 2) گندم کار، مصطفی . نجفی، رضا . سادات ابراهیمی، سیداسماعیل . شفیعی، عباس . بابائی، محمد حسین . سنتز، نشان دار کردن ، فرمولاسیون و کنترل کیفی رادیوداروی پپتیدی ^{99m}Tc -Tricine- ^3Tyr -HYNIC جهت تصویربرداری از تومورهای با رسپتور مثبت سوماتوستاتینی. *مجله پزشکی هسته‌ای ایران* : شماره ۱۹ ؛ زمستان ۸۱ ؛ صفحه ۲۸-۲۳
- 3) Decristoforo C and Mather SJ; ^{99m}Tc -somatostatin analogues effect of labeling methods and peptide sequence. *Eur J Nucl Med* 1999; 26: 869-879
- 4) Abrams MJ, Juweid M, Tenkate C, Schwartz DA, ^{99m}Tc human polyclonal IgG radiolabelled via the hydrazine nicotinamide derivative for imaging focal sites of infection in rats. *J Nucl Med* 1990; 31: 2022-2028
- 5) Patel YC, Greenwood MT, Panetta R, Demchyshyn L, Niznik H and Srikant CB; the somatostatin receptor family. *Life Sci* 1995; 57: 1249-1265