

HORMONII GASTRO-INTESTINALI ȘI MICROCIRCULAȚIA TUMORALĂ ÎN CANCERUL PANCREATIC EXPERIMENTAL

I. ȘIMON¹, R. TOGĂNEL¹, O. CEBOTARI¹, O. FABLAN¹, E. RYSCHICH², J. SCHMIDT²

¹ Clinica Chirurgie IV, UMF Iuliu Hațieganu Cluj-Napoca, Romania

² Departamentul de Chirurgie, Universitatea Heidelberg, Germania

Rezumat

Scopul studiului de față a fost de a investiga efectul ceruleinei și al somatostatinei asupra microcirculației la nivelul carcinoamelor ductale pancreatice la șobolani.

S-au folosit 36 de șobolani la care s-a indus un cancer pancreatic prin interpoziția intrapancreatică sau intraperitoneală a unui fragment tumoral între două plăcuțe transparente de polimetilmetacrilat. După 4 săptămâni s-a practicat microscopia intravitală a microcirculației tumorale. Animalele au primit 5 micrograme/kg ceruleină sau 3 miligrame/kg somatostatina timp de o oră intravenos. S-a măsurat viteza eritrocitelor în capilarele pancreasului normal și în vasele tumorale.

În țesutul pancreatic normal, viteza eritrocitară în capilare a fost de $1,01 \pm 0,11$ mm/s în condiții de bază și a crescut la $1,64 \pm 0,09$ mm/s după 1 oră de stimulare cu ceruleină ($p < 0,01$). La nivelul vaselor tumorale nu s-a evidențiat o creștere a vitezei eritrocitare (în condiții de bază: $0,95 \pm 0,14$ mm/s, $0,86 \pm 0,13$ mm/s după o oră de stimulare cu ceruleină). Somatostatina scade viteza eritrocitară atât în pancreasul normal (bazal $0,87 \pm 0,02$ mm/s, după o oră de stimulare $0,60 \pm 0,07$ mm/s) ($p < 0,01$), cât și în cancerul pancreatic după implantarea ortotopică (bazal $0,85 \pm 0,20$ mm/s și la o oră $0,63 \pm 0,18$ mm/s). ($p = 0,01$).

Nu s-au observat efecte ale hormonilor gastrointestinali asupra microcirculației de la nivelul carcinomului pancreatic după implantarea nonortotopică.

În rezumat acest studiu a arătat că circulația locală de la nivelul carcinomului pancreatic experimental nu răspunde la stimuli fiziologici spre deosebire de pancreasul normal.

Cuvinte cheie: cancer pancreatic, microcirculație, hormoni gastrointestinali.

Summary. Gastro-intestinal hormones and tumor microcirculation in experimental pancreatic cancer

In the present study we studied the effect of cerulein and somatostatin on microcirculation at ductlike pancreatic cancer on rats.

In 36 rats induction of a ductlike pancreatic cancer was achieved by intrapancreatic or intraperitoneal tumor fragment interposition between two transparent polymethyl methacrylate plates. After 4 weeks, intravital microscopy of the tumor microcirculation was performed. The animals received 5 micrograms/kg cerulein or 3 milligrams / kg somatostatin for 1 h intravenously. The erythrocyte velocity in normal pancreatic capillaries or in tumor vessels was measured.

The erythrocyte velocity in the capillaries of the normal pancreas was $1,01 \pm 0,11$ mm/s at baseline and increased to $1,64 \pm 0,09$ mm/s after cerulein stimulation ($p < 0,01$). Pancreatic cancer vessels demonstrated no increase in erythrocytes velocity after orthotopic (baseline $0,95 \pm 0,14$ mm/s, after 1 h $0,86 \pm 0,13$ mm/s) and non-orthotopic tumor implantation (baseline $0,91 \pm 0,12$ mm/s, after 1 h $0,95 \pm 0,14$ mm/s) after cerulein stimulation. Somatostatin decreased the erythrocytes velocity both in normal pancreas (baseline $0,87 \pm 0,02$ mm/s, after 1 h $0,60 \pm 0,07$ mm/s) ($p < 0,01$), and in pancreatic cancer (baseline $0,85 \pm 0,20$ mm/s, after 1 h $0,63 \pm 0,18$ mm/s) ($p = 0,01$) after orthotopic tumor implantation.

There was no effect of gastrointestinal hormones after nonorthotopic tumor implantation.

These data suggest that pancreatic cancer microcirculation lacks physiological blood flow control by stimulatory hormones, in contrast to the normal pancreas.

Key words: pancreatic cancer, microcirculation, gastrointestinal hormones

Introducere

Fluxul sanguin regional și micro circulația locala sunt determinante asupra chimioterapiei și radioterapiei, la fel și strategiile antiangiogenetice¹⁾; de aceea este important de a clarifica potențialul rol al hormonilor pancreatici în modificarea fluxului sanguin în țesutul pancreatic neoplazic.

Scopul studiului de față a fost de a investiga efectul ceruleinei și al somatostatinei asupra microcirculației la nivelul carcinoamelor ductale pancreatice la șobolani.

Satu Mare – Studii și Comunicări Seria Științele Naturii

Vol IX (2008) pp: 74 - 81

Material și metodă

Linia celulară tumorală

A fost folosită o linie celulară de carcinom ductal pancreatic de șobolan^{2,0)}. Histologic, este un carcinom ductal desmoplazic cu o puternică asemănare cu cancerul pancreatic de la om. Sunt prezente invazia locală și metastazele. Lăsată pe loc, tumora devine letală după 3-4 luni de creștere.

Inocularea tumorii

S-au folosit 36 de șobolani masculi, aneșteziați cu fenobarbital și ketamină. După practicarea inciziei mediane, au fost aplicate 2 plăci sterile de polimetilmetacrilat prin tehnica „sandwich” de ambele părți ale capului pancreasului (implantare ortotopică) sau în peritoneu și pe suprafața exterioară a musculaturii peretelui abdominal, dar sub piele (nonortotopică).

Plăcuțele au fost conectate prin suturi fine. Materialul din plăcuțe (PMMA) este un material biocompatibil utilizat în oftalmologie⁹⁾ și urologie¹⁰⁾.

Cu ajutorul a trei tuburi fine din silicon (diametrul de 8 mm) a fost menținut un interval standard de 3 mm între plăcuțe. Tumora, de aproximativ 1 mm³, a fost recoltată dintr-o tumoră mamă subcutanată de la un șobolan singenetic anterior indusă prin injectarea subcutanată a 1 milion de celule, iar ulterior plasată intrapancreatic sau intraperitoneal între plăcuțe, după care abdomenul a fost închis. Astfel, tumorile au crescut numai într-un mod bidimensional fără a adera la țesuturile înconjurătoare și fără interpoziția de lobuli pancreatici sănătoși.

La 4 săptămâni după inoculare, s-a practicat microscopia intravitală. La acest moment tumorile de 4-6 mm aderau strâns la plăcuțe și erau accesibile observației. Atât partea periferică, cât și partea centrală a tumorii erau accesibile microscopiei și nu era prezentă necroza centrală la acel moment. Tumorile își păstrau aspectul histologic inițial (ductal desmoplazic) în toate cazurile.

Pregătirea animalelor

După 4 săptămâni toate animalele au fost reanesteziate. Un cateter de teflon a fost implantat în vena jugulară internă dreaptă pentru acces venos. Un alt cateter a fost plasat în artera carotidă stângă pentru acces arterial și monitorizarea parametrilor cardiovasculari. Abdomenul a fost deschis prin incizie mediană.

Animalul a fost plasat pe un suport menținut la 37°C. Tumora a fost identificată macroscopic după ce marginile ei au fost marcate sub microscop.

Aria tumorală a fost imobilizată într-o cameră de imersie cu temperatură controlată(37°C) conținând soluție Ringer.

Microscopia intravitală

Pentru a aprecia diferențele locale de flux vascular prin microscopie intravitală, întregul dispozitiv a fost plasat sub un microscop cu fluorescență.

După ce s-au efectuat pregătirile, animalele au primit intravenos injecții de 1 ml/kg de eritrocite autologe (hematocrit 50%) pentru a se măsura

viteza eritocitară⁷⁾. S-au respectat 30 min pentru stabilizarea microcirculației.

Animalele au fost apoi împărțite în 6 grupe:

1. implantare ortotopică: soluție salină 8 ml/kg/oră
2. implantare ortotopică: ceruleină 5 micrograme/kg/oră
3. implantare ortotopică: somatostatină 3 mg/kg/oră
4. implantare nonortotopică: soluție salină
5. implantare nonortotopică: ceruleină
6. implantare nonortotopică: somatostatină

Imaginile de la nivelul microcirculației au fost transmise de o videocameră la un monitor și înregistrate.

Au fost alese aleator 4 câmpuri microscopice din microcirculația de la nivel tumoral și 4 câmpuri cu microcirculația de țesut pancreatic normal și înregistrate timp de 10 secunde. Prin metoda cadru cu cadru au fost măsurate între 3-5 eritrocite /vas. A fost evaluat numărul de vase /câmp microscopic și s-a calculat media. A doua măsurătoare ale acelorași câmpuri microscopice s-a realizat la o oră după injectarea de variații hormoni gastrointestinali. La sfârșitul experimentului animalele au fost omorâte cu o supradoză de fenobarbital.

Analiza statistică

Viteza eritocitară a fost clasificată în următoarele categorii:

- 0-0,5;
- 0,5-1,0;
- 1,0-1,5;
- 1,5-2,0;
- 2,0-2,5;
- >2,5.

S-a folosit testul de interpretare Smirnov cu $p < 0,05$ considerat semnificativ

Rezultate

Parametri hidrodinamici și de laborator

Tensiunea arterială medie s-a menținut stabilă la toate grupurile în timpul microscopiei intravitale și a fost de peste 90 mmHg la fiecare animal, în orice moment.

La fel, pulsul a rămas în limite normale (240-280 bătăi /minut) la toate grupurile din studiu.

Oxygenarea sângelui arterial a fost normală la toate animalele din studiu (PaO₂ mai mare de 90 mmHg, PaCo₂ mai mare de 30 și mai mică de 50 mmHg, pH =7,35-7,40).

Diametrul vascular și densitatea funcțională vasculară

Diametrul vaselor din tumoră a rămas constant la toate animalele pe parcursul studiului. De

asemenea, densitatea funcțională vasculară a fost tot timpul de 100%.

Nu s-au obținut vase cu staza completă. Deci, fluxul vascular al tumorii a fost determinat doar de viteza eritrocitară.

Implantarea ortotopică

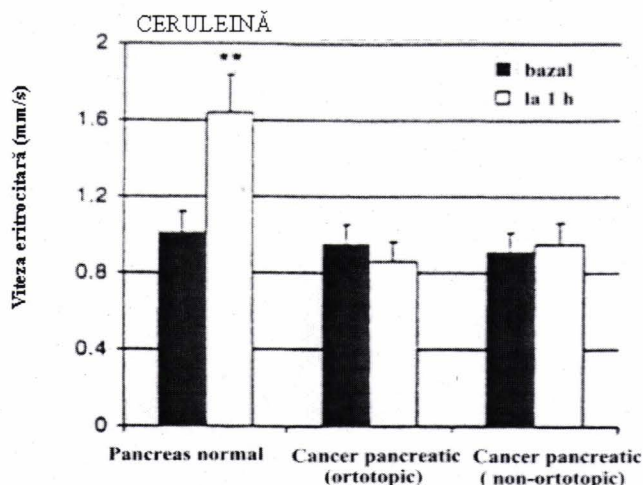
În țesutul pancreatic normal, viteza eritrocitară în capilare a fost de $1,01 \pm 0,11$ mm/s în condiții de bază și a crescut la $1,64 \pm 0,09$ mm/s după 1 oră de stimulare cu ceruleină ($p < 0,01$) (Figura 1, Figura 2).

La nivelul vaselor tumorale nu s-a evidențiat o creștere a vitezei eritrocitare (în condiții de bază:

$0,95 \pm 0,14$ mm/s, $0,86 \pm 0,13$ mm/s după o oră de stimulare cu ceruleină) (Figura 1, Figura 3).

Somatostatina scade viteza eritrocitară atât în pancreasul normal (bazal $0,87 \pm 0,02$ mm/s, după o oră de stimulare $0,60 \pm 0,07$ mm/s) ($p < 0,01$) (Figura 4, Figura 5), cât și în cancerul pancreatic după implantarea ortotopică (bazal $0,85 \pm 0,20$ mm/s și la o oră $0,63 \pm 0,18$ mm/s). ($p = 0,01$) (Figura 4, Figura 6).

Nu s-au evidențiat modificări ale vitezei eritrocitare în pancreasul normal sau umoral după injectarea de soluție salină.



(i)

(ii)

Figura 1: Viteza eritrocitară în vasele din pancreasul normal și în vasele din cancerul pancreatic în implantarea tumorală ortotopică și nonortotopică și după stimularea cu ceruleină. În timp ce vasele pancreasului sănătos arată o creștere semnificativă ($p < 0,01$), viteza eritrocitară în vasele maligne rămâne constantă după ambele tipuri de implantare tumorală (** diferențe semnificative la o oră).

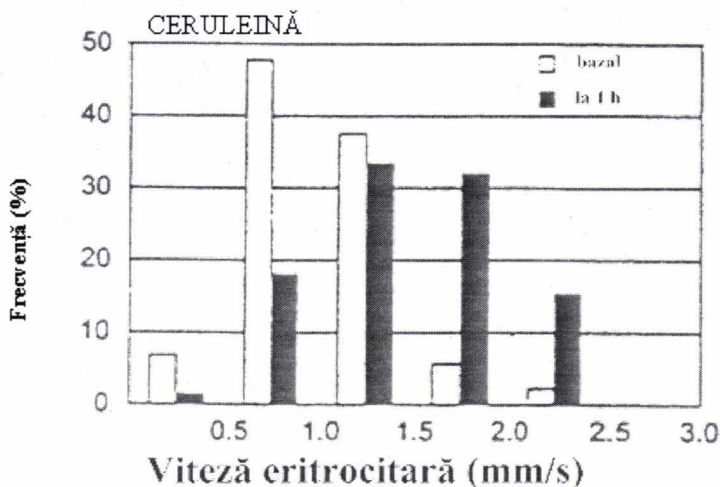


Figura 2: Frecvența vitezei eritrocitare în capilarele pancreasului normal după stimulare cu ceruleină: viteza eritrocitară în capilarele pancreasului normal a fost semnificativ crescută la o oră după administrarea ceruleinei ($p < 0,01$).

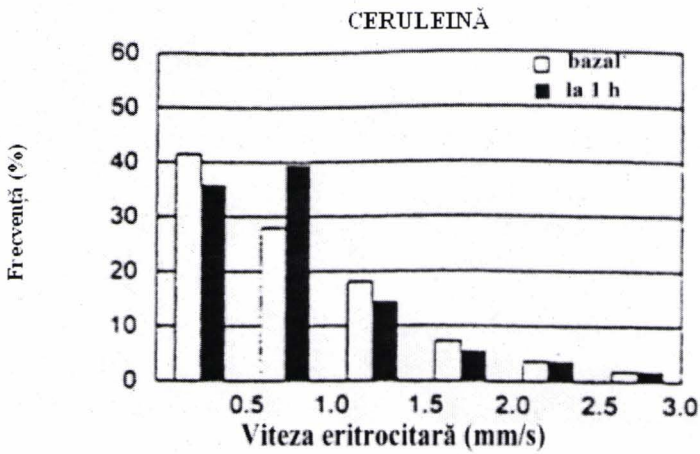


Figura 3: Frecvența vitezei eritrocitare în vasele din cancerul pancreatic după implantarea tumorală ortotopică și după stimularea cu ceruleină: nu s-a demonstrat nici o creștere a vitezei eritrocitare.

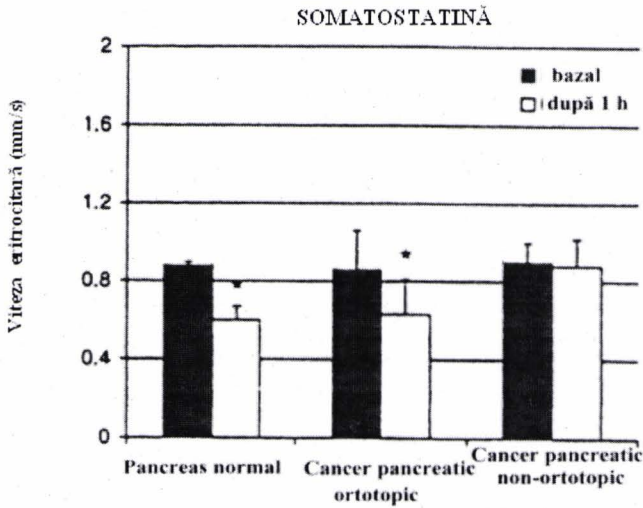


Figura 4: Viteza eritrocitară în vasele pancreasului normal și cancerului pancreatic după implantarea tumorală ortotopică și non-ortotopică și după inhibarea ulterioară cu somatostatina. Atât vasele pancreasului normal cât și ale cancerului pancreatic după implantarea ortotopică arată o scădere semnificativă ($p < 0.01$) (* diferențe semnificative la o oră)

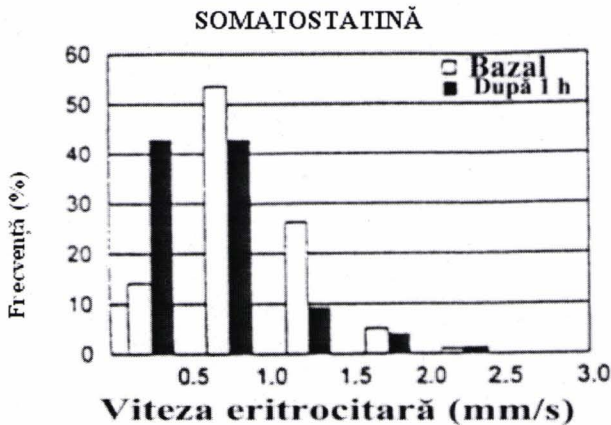


Figura 5: Frecvența vitezei eritrocitare în capilarele pancreasului normal după administrarea de

somatostatină: somatostatina scade semnificativ viteza eritrocitară în pancreasul normal ($p < 0.01$).

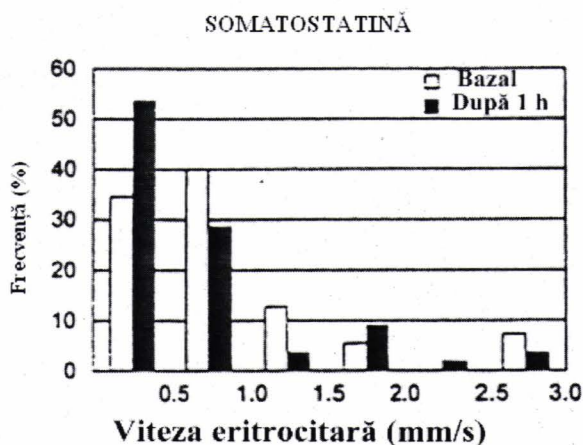


Figura 6: Frecvența vitezei eritrocitare în vasele cancerului pancreatic după administrarea de somatostatină și după implantarea tumorală ortotopică: s-a observat o scădere semnificativă a vitezei eritrocitare la o oră după administrarea de somatostatină ($p = 0.01$).

Implantarea non ortotopică

Nu s-au observat efecte ale hormonilor gastrointestinali asupra microcirculației de la nivelul carcinomului pancreatic după implantarea nonortotopică. Viteza eritrocitară nu a fost semnificativ modificată în microcirculația tumorală la o oră după injectarea de ceruleină (Figura 7) sau somatostatină (Figura 8). Viteza eritrocitară a rămas constantă după injectarea de soluție salină.

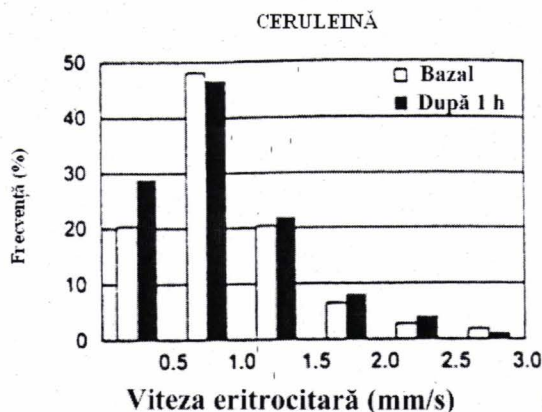


Figura 7: Frecvența vitezei eritrocitare în vasele cancerului pancreatic după stimularea cu ceruleină și după implantare tumorală non-ortotopică: viteza eritrocitară nu a fost semnificativ schimbată la o oră după administrare de ceruleină.

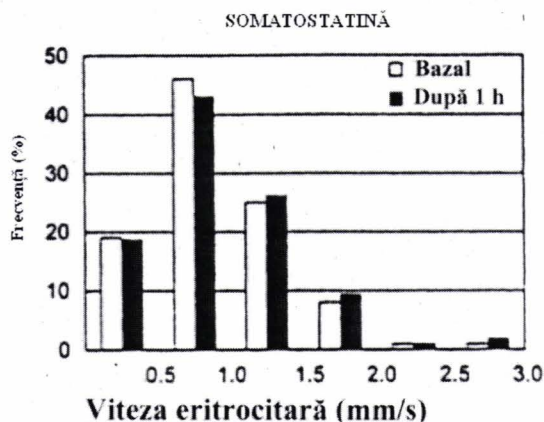


Figura 8: Frecvența vitezei eritrocitare în vasele cancerului pancreatic după administrarea de somatostatină și după implantarea tumorală non-ortotopică: nu s-a observat o diferență semnificativă a

vitezei eritrocitare la o oră după administrarea de somatostatina.

Concluzii și discuții

Vasele tumorale cresc dezorganizat din punct de vedere structural și funcțional, deși provin din vase bazale bine organizate⁸⁾. Fluxul sanguin la nivelul tumorii este heterogen și în consecință mediul microscopic tumoral este compromis metabolic. Aceasta limitează posibilitățile de acțiune ale chimio-, radio-, sau imunoterapiei^{1,10)}.

În ultimii ani s-a acordat mare atenție dependenței celulelor tumorale de suportul vascular și posibilității ca atacul asupra microcirculației tumorale și neovascularizației tumorale să fie o cauză directă a producerii ischemiei și decesului celulelor tumorale apoptotice^{9,10)}.

Astfel se pune problema dacă există diferențe în aportul vascular care să poată fi folosită în scopul obținerii unor efecte diferite asupra tumorii și țesuturilor sănătoase.

Pancreasul aparține organelor viscerale a căror aport vascular depinde semnificativ de activitatea lor. Stimularea funcțională conduce la modificări de perfuzie a pancreasului.

Fluxul sanguin pancreatic poate fi rapid modificat sub acțiunea factorilor patologici (traumatisme, inflamații) prin creșterea densității capilarelor funcționale a diametrelor vaselor și a vitezei de circulație a eritrocitelor (factori determinanți ai circulației nutritive)^{7,11)}.

Comportamentul funcțional al microcirculației în țesutul pancreatic malign nu este cunoscut, dar observațiile autorilor au arătat că densitatea vasculară funcțională este întotdeauna 100% și diametrul vaselor nu se modifică deloc lăsând ca viteza eritocitară să fie factorul determinant al circulației nutritive la nivel tumoral.

Studiul de față demonstrează în plus că efectul stimulator specific al colecistokininei asupra circulației în pancreasul normal nu poate fi aplicat și în pancreasul tumoral.

Creșterea la nivelul țesutului pancreatic normal și la nivelul pancreasului tumoral este controlată prin intermediul a variați hormonii gastrointestinali. Colecistokinina, bombesina, factorul epidermal de creștere și secretina stimulează proliferarea celulară în timp ce somatostatina exercită un efect inhibitor^{12,13)} prin interacțiunea directă cu receptorii săi^{14,15,16)}.

Este bine cunoscut că hormonii gastrointestinali influențează de asemenea microcirculația pancreatică¹⁶⁾.

A fost demonstrată o relație directă între gradul de perfuzare a pancreasului și stimularea sa fiziologică^{17,9)}. Colecistokininele stimulează secreția enzimatică de la nivelul acinilor pancreatici.

Astfel, orice creștere a ratei de secreție a celulelor acinare se asociază cu o creștere dramatică a țesutului pancreatic necesitând hiperemie funcțională.

Faptul că secretina și colecistokininele produc hiperperfuzie a fost demonstrat pe pancreas normal de câine și șobolan^{17,9,18)}.

În acest studiu pancreasul exocrin a fost stimulat cu ceruleină un analog puternic al colecistokininei care produce o stimulare exocrină supramaximală¹⁹⁾ având ca rezultat un efect stimulator asupra circulației sanguine în capilarele sănătoase.

Spre deosebire de efectul asupra pancreasului normal ceruleina nu exercită un efect asupra microcirculației tumorale din cancerul pancreatic experimental.

La fel ca alte linii celulare cea de cancer pancreatic ductal folosită în acest studiu are receptori cu afinitate scăzută pentru colecistokinine⁶⁾. De aceea nu s-a așteptat un efect metabolic direct asupra celulelor tumorale sau o posibilă stimulare paracrină a circulației locale.

Carcinomul implantat ortotopic este înconjurat de țesut pancreatic normal care a fost intens perfuzat timp de 1 oră după stimularea cu ceruleină.

Teoretic este posibil un efect de șunt asupra circulației tumorale. Cu toate acestea creșterea perfuziei în țesutul pancreatic din jurul tumorii nu a afectat circulația la nivel tumoral. De aceea aportul sanguin la nivelul pancreasului tumoral pare să fie independent de statusul circulației funcționale care a fost stimulată în țesutul pancreatic exocrin din jur.

Somatostatina inhibă secreția pancreatică prin interacțiunea cu receptorii săi specifici și afectează microcirculația din întregul sistem splanhnic^{18,20)} fără a avea efecte majore asupra circulației sistemice.

Scopul majorității studiilor efectuate pe animale și oameni a fost să demonstreze un potențial efect benefic al tratamentului cu somatostatina, atât prin testarea pancreasului în diferite condiții patologice cât și pentru tratarea hemoragiei de la nivelul tractului digestiv superior prin reducerea circulației splanhnice^{21,22,23)}.

În experimentele din acest studiu, perfuzia continuă cu somatostatina produce o scădere a vitezei eritrocitelor atât în țesutul normal cât și în țesutul malign. Se pare că responsabilă de acest efect este o scădere generală a perfuziei la nivelul întregului sistem splanhnic.

Consecutiv nu s-au observat nici un efect al somatostatinei asupra locului de implantare nonortotopic unde inervația splanhnică nu acționează.

În rezumat acest studiu a arătat că circulația locală de la nivelul carcinomului pancreatic experimental nu răspunde la stimuli fiziologici spre deosebire de pancreasul normal.

De aceea, nu ne putem aștepta ca circulația de la nivelul pancreasului neoplazic să fie semnificativ diminuată de analogii de colecistochinine, în timp ce somatostatina poate fi folosită pentru reducerea nespecifică a fluxului sanguin.

Lipsa unui control prin hormoni stimulanți ai circulației trebuie considerată un important defect funcțional al microcirculației de la nivelul cancerului pancreatic.

Bibliografie

1. Denekamp J.: Inadequate vasculature in solid tumours: Consequences for cancer research strategies. *BJR suppl.* 1992;24:111-117.
2. Longnecker D.S., Roebuck B.D., Yager J.D.J., Lilja H.S., Siegmund B.: Pancreatic carcinoma in azaserine-treated rats: Induction, classification and dietary modulation of incidence. *Cancer* 1981; 47:1562-1572.
3. Pettengill O.S., Faris L.A., Bell R.H.J., Kuhlmann E.T., Longnecker D.S. – derivation of duct-like cells lines from a transplantable acinar cell carcinoma of the rat pancreas. *Am. J. Pathol.* 1993, 143:292-303
4. Schmidt J., Ryschich E., Daniel V., Herzog L., Werner J., Herfarth C., Longnecker D.S., Gebhard M.M., Klar E.: Vascular structure of experimental pancreatic carcinoma. *Eur. J. Surg.* 2000;166:328-335.
5. Shah S.M., Spalton D.J. – Comparison of the postoperative inflammatory response in the normal eye with heparin-surface-modified and polymethylmethacrylate intraocular lenses. *J. Cataract. Refract. Surg.* 1995;21:579-85
6. Jain R.K. – The next frontier of molecular medicine: delivery of therapeutics. *Nat.* 1998; 4:655-7
7. Schmidt J., Hotz H.G., Foitzik T., Ryschich E., Buhr H.J., Warshaw A.L., Herfarth C., Klar E.: Intravenous contrast medium aggravates the impairment of pancreatic microcirculation in necrotizing pancreatitis in the rat. *Ann. Surg.* 1995;221:257-264.
8. Folkman J.: Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat. Med.* 1995;1:27-31.
9. Plusczyk T., Bauer M., Marzi I., Harbauer G., Feifel G.: Comparative effects of secretin and cholecystokinin-octapeptide on pancreatic microcirculation. *Dig. Dis. Sci.* 1995;40:1199-1206.
10. Folkman J.: Antiangiogenic gene therapy. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1998;95:9064-9066.
11. Knoefel W.T., Kollias N., Warshaw A.L., Waldner H., Nishioka N.S., Rattner D.V.: Pancreatic microcirculation changes in experimental pancreatitis of graded severity in the rat. *Surgery* 1994;116:904-913.
12. Hajri A., Bruns C., Marbach P., Aprahamian M., Longnecker D.S., Damge C.: Inhibition of the growth of transplanted rat pancreatic acinar carcinoma with octreotide. *Eur. J. Cancer* 1991; 27:1247-1252.
13. Upp J.R.J., Olson D., Poston G.J., Alexander R.W., Townsend C.M.J., Thomposn J.K.: Inhibition of growth pancreatic adenocarcinomas in vivo by somatostatin analogue. SMS 201-995. *Am. J. Sur.* 1988;155:29-35.
14. Zhou W., Povoski S.P., Rosen N.A., Longenecker D.S., Bell R.H.J.: Characterisation of ' cholecystokinin receptor in rat pancreas: Evidence for expression of CCK-A receptors, but not CCK-B (gastrin) receptor. *Ann. NY Accad. Sci.* 1994;713:331-333.
15. von Schrenck T, Moran TH, Heinz Erian P., Gardner J.D., Jensen R.T.: Cholecystokinin receptors on gallbladder muscle and pancreatic acinar cells. A comparative study. *Am. J., Physiol.* 1988; 255:512-521.
16. Bell R.H.J., Kuhlmann E.T., Jensen R.T., Longnecker D.S.: Overexpression of cholecystokinin receptors in azaserine-induced neoplasms of the rat pancreas. *Cancer Res.* 1992;52:3295-3299.
17. Aune S., Semb L.S.: The effect of secretine and pancreozymin on pancreatic blood flow in the conscious and anesthetized dog. *Acta Physiol. Scand.* 1969;76:406-414
18. Plusczyk T., Rathgeb D., Westermann S., Feifel G.: Effects of somatostatin on pancreatic microcirculation. *Dig. Dis. Sci.* 1997;42:2254-2263.
19. Fernandez del Castillo C., Schmidt J., Warshaw A.L., Rattner D.W.: Interstitial protease activation is the central event in progression to necrotising pancreatitis. *Surgery* 1994;116:497-504.
20. Conway D.J., Djuricin G., Prinz R.A.: The effect of somatostatin analogue (SMS 201-995) on pancreatic blood flow. *Surgery* 1998;104:1024-1030.
21. Cooper A.M., Braatvedt G.D., Qamar M.I.,

- Brown M., Thomas D.M., Halliwell M., Read A.E., Corral R.J.: Fasting and postprandial splanchnic blood flow is reduced by a somatostatin analogue (octreotide) in man. *Clin. Sci.* 1991;81:168-175.
22. Berthet B., Guillou N., Brioché M.I., Choux R., Viret P., Ledoray V., Billardon M., Assadourian R.: Influence of somatostatin on acute pancreatitis in rats. *Eur. J. Sur.* 1998;164:785-790.
23. Longnecker D.S.: Hormones and receptors in gastrointestinal malignancies. *Digestion* 1990; 46 (suppl.2);92-94.