

Pancreatitis aguda y base experimental en la respuesta fisiopatológica local y sistémica

M.V. DE LA TORRE PRADOS, A. GARCÍA ALCÁNTARA, A. SOLER GARCÍA,
I. FERNÁNDEZ GARCÍA, M.M. LUQUE FERNÁNDEZ, J. MERINO VEGA

Servicio de Cuidados Críticos y Urgencias. Hospital Universitario Virgen de la Victoria. Málaga. España.

Se analiza la importancia de la investigación en la patogenia de la pancreatitis aguda (PA) con estudios experimentales en animales. Cuando las investigaciones están orientadas en intervenciones terapéuticas no existe concordancia en los resultados, dado que los pacientes ingresan con varias horas de evolución. Se especifican los puntos que un modelo animal debe reunir para estudiar esta enfermedad.

Se describen las causas etiológicas más importantes y su incidencia. La cascada de acontecimientos a escala celular y sistémica es similar en todas las etiologías y se inicia por bloqueo de la secreción de proteínas en los conductos acinares del páncreas, activándose el tripsinógeno dentro de la célula acinar y dando lugar al proceso de la autodigestión.

El daño en las células acinares y en el endotelio vascular por las enzimas pancreáticas activadas conlleva la liberación de mediadores inflamatorios y trastornos en la microcirculación; según la extensión de estas lesiones se desencadena el grado de deterioro del tejido pancreático, sin estar claro los factores que pueden frenar la necrosis.

Posteriormente se extiende el daño al espacio peripancreático y pasan a la circulación sistémica enzimas pancreáticas activadas y mediadores inflamatorios (citocinas), y según la respuesta inmunológica del paciente, se condiciona el grado de afectación general y la disfunción orgánica, causa de mortalidad tanto temprana como tardía.

PALABRAS CLAVE: *modelo animal, pancreatitis aguda, mediadores, microcirculación, fisiopatología.*

ACUTE PANCREATITIS AND EXPERIMENTAL MODELS IN LOCAL AND SYSTEMIC PHYSIOPATHOLOGICAL RESPONSE

The importance of research into the pathogenesis of acute pancreatitis (AP) using animal models is analyzed. Nevertheless, when investigations are directed towards therapeutic interventions, agreement on the results is lacking, since patients are hospitalized several hours after onset. The requirements that animal models should meet in the study of AP are specified.

The most important causes of AP and its incidence are described.

The cellular and systemic cascade of events is similar in all the etiologies. Intraacinar activation triggers pancreatic enzyme secretion blockade in the conduits, which activates the trypsinogen within the acinar cell and gives rise to autodigestive injury.

Damage to the acinar cells and vascular endothelium by activated pancreatic enzymes leads to the release of inflammatory mediators and to microcirculation disorders; the degree of pancreatic damage depends on the extension of these injuries, although the factors that can restrain necrosis have not been clearly identified.

Subsequently, activated pancreatic enzymes and cytokines are released into the peripancreatic space and circulation and, depending on the patient's immunological response, determine the degree of general involvement and organ failure, which is a cause of both early and delayed mortality.

KEY WORDS: *animal models, acute pancreatitis, mediators, microcirculation, pathophysiology.*

Correspondencia: Dra. M.V. de la Torre Prados.
P.º de Sancha, 18, 2.º bloque, 1.º B. 29016 Málaga. España.
Correo electrónico: med009666@nacom.es

Manuscrito aceptado el 11-X-2002.

INTRODUCCIÓN

La pancreatitis aguda (PA) es una enfermedad inflamatoria, en la que las formas de presentación grave cursan con necrosis digestiva del páncreas. Diferentes estudios realizados han investigado los estadios tempranos intracelulares que conducen a daño celular y a pancreatitis. La posibilidad de estudiar estas fases en el hombre es difícil, a la mayoría de los estudios están realizados experimentalmente con diferentes modelos animales, dado las dificultades que encierra investigar clínicamente la PA¹.

Existen aspectos de esta enfermedad que están pendientes de ser aclarados, y aunque se ha avanzado en áreas, como los factores predisponentes, enfermedad y eventos bioquímicos dentro del páncreas, por el enorme número de estudios experimentales y clínicos, queda por conocer de forma más profunda los mecanismos de la puesta en marcha de la cascada de acontecimientos celulares.

La complejidad de la PA no se debe sólo a la variedad en las diferentes etiologías que se relacionan con la enfermedad, sino también al grado de gravedad, a la diferente forma de evolución y a otros factores, como:

1. La incidencia baja de formas graves que conlleva dificultad en el diseño de estudios aleatorizados en un centro regional en un período determinado.
2. Las diferencias entre los centros hospitalarios en relación al diagnóstico inicial, los conceptos terapéuticos y los intereses en la investigación, hacen difícil el diseño de un estudio en común.
3. La indicación de la cirugía temprana en la PA se ha hecho más restrictiva, y en consecuencia pocos pacientes con PA se trasladan a centros especia-

lizados; así los derivados son pacientes con PA muy grave que no pueden aleatorizarse en estudios con intervenciones terapéuticas tempranas.

4. El inicio de la enfermedad no puede determinarse con exactitud (habitualmente nos estamos refiriendo al inicio del dolor abdominal).

5. La localización del páncreas en el retroperitoneo hace inaccesible investigaciones detalladas (fig. 1).

6. Las PA graves requieren ingreso en unidades de cuidados intensivos (UCI) donde la coordinación de los recursos disponibles se realiza por el intensivista de forma interdisciplinaria; por ello la implicación de este especialista es imprescindible en España para la organización y la planificación en el diseño de estudios multicéntricos².

LOS MODELOS ANIMALES EN LAS PANCREATITIS AGUDAS Y SU RELEVANCIA EN LA CLÍNICA

La investigación experimental con animales ha ayudado a comprender la fisiopatología de la PA; sin embargo, no ocurre lo mismo cuando se aplica el modelo animal en las investigaciones orientadas a las intervenciones terapéuticas. Un ejemplo sería la eficacia demostrada en modelos animales del antagonista de la colecistocinina y de los inhibidores de la proteasa, y el fracaso en su aplicación clínica³⁻⁵. Estas discrepancias pueden explicarse por las diferencias metodológicas. Si en el modelo animal las sustancias terapéuticas se aplicaron antes del desarrollo de la propia enfermedad, en la clínica se hizo pasadas 24-36 h del inicio de los síntomas; el número de pacientes incluidos en los ensayos clínicos era pequeño para obtener poder estadístico suficiente; finalmente, el modelo de reproducción de la PA no era similar al desarrollo de la PA a escala humana.

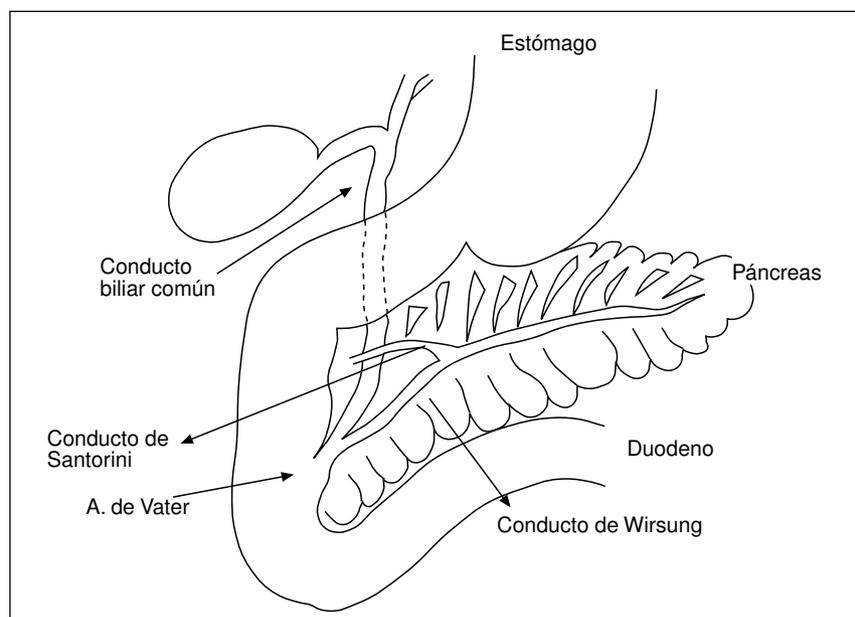


Figura 1. Páncreas situado en el marco duodenal.

Foitzik T et al han especificado los puntos que cualquier modelo animal debe considerar para estudiar la PA²:

1. Pancreatitis necrótica grave.
 - a) Necrosis intra y extraparenquimatosa.
 - b) Signos de inflamación sistémica y disfunción orgánica (FMO).
 - c) Mortalidad reproducible (no tratados del 30 al 50%).
2. La fase del curso de la enfermedad.
 - a) Desde el inicio de la respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) al daño pancreático con disfunción orgánica temprana (FMO).
 - b) Respuesta inflamatoria secundaria o exacerbación asociada a la infección pancreática con FMO tardía o séptica.
3. Respuesta a la terapia
 - a) Mejoría de la FMO temprana y reducción de la mortalidad temprana con la reposición hídrica y las medidas de soporte intensivo.
 - b) Reducción de las complicaciones infecciosas y de la mortalidad tardía con varias medidas (tratamiento antibiótico y estabilización de la barrera de la mucosa gastrointestinal).
4. Monitorización de parámetros fundamentales.
 - a) Protocolos que reproduzcan y verifiquen la gravedad de la pancreatitis.
 - b) Posibilidad de continuar o de repetir el registro de la funcionalidad de los órganos vitales durante la terapia y después de la terapia.

En los estudios terapéuticos más que la etiología tiene más valor la posibilidad de relacionar los pro-

blemas morfológicos con los síntomas sistémicos y la fase de la enfermedad. Por ello deben ser animales que permitan valorar la funcionalidad de los órganos vitales, el daño local o necrosis del páncreas y la mortalidad. Los estudios realizados en animales que correlacionaban en el pasado los parámetros analíticos (amilasa, lipasa, citocinas) con la gravedad de la enfermedad están hoy, en parte, en controversia.

La rata es, quizá, el animal más utilizado en los modelos experimentales de la PA; los ratones por su pequeño peso y por la dificultad para monitorizar la función orgánica no reúnen las condiciones ideales para las investigaciones terapéuticas. En estos casos serían ideales animales de mayor tamaño como cerdos, gatos, ovejas o perros, si bien las limitaciones éticas y el alto coste han dificultado en Europa el desarrollo de estudios con monitorización de parámetros orgánicos durante varios días.

En la tabla 1 se exponen de forma resumida los diferentes modelos experimentales de la PA. Estos modelos se diferencian según a) la técnica de inducción de invasivos, no invasivos o *ex vivo*; b) la causa (biliar, obstructiva, alcohólica, tóxica o traumática, isquémica, etc.), o c) grado de gravedad (media/edematosa frente a grave/necrótica). Los modelos más ampliamente usados han sido revisados por diferentes autores en los últimos 10 años^{3,4,6-12}.

En el modelo no invasivo de secretagogos todas las sustancias utilizadas (colecistocinina; el análogo de la colecistocinina, como la ceruleína; agonistas colinérgicos, como la carbamicolina; el veneno del escorpión, y agentes anticolinesterasa) inducen PA por la excesiva estimulación del páncreas¹³⁻¹⁹. El mo-

TABLA 1. Modelos experimentales en la pancreatitis aguda edematosa y necrótica

Modelo	Método	Animal	Morfología	
Modelos no invasivos	Secretagogo	Colecistocinina	Rata	Edema
		Ceruleína	Ratón	Necrosis
			Perro, hámster	Edema
		Carbamilcolina	Ratas	Edema
		Toxina escorpión	Perro	Edema/necrosis
	Dieta	Anticolinesterasa	Perro	Edema
		Colina-deficiencia/ etionina-suplemento	Ratones femeninos	Necrosis
		Etionina-suplemento	Rata, ratón, hámster, perro	Necrosis
	Inmunológicos	Toxinas	Conejo, cabra	Necrosis
		Suero	Ratón, rata, perro, cerdo	Necrosis
Modelos invasivos	Ligadura conducto pancreático (CP)	Lazo duodenal cerrado	Perro, rata, mono	Necrosis
		CP con conducto biliar	Oposum	Edema
		CP sin conducto biliar	Conejo, rata, perro, cerdo	Necrosis
	Inyección en CP	Perfusión del CP	Gato, rata	Edema/necrosis
		Taurocolato	Rata, perro	Necrosis
		Bilis	Rata	Edema
			Perro	Necrosis
	Vascular	Oclusión arterial	Perro	Necrosis
		Oclusión venosa	Rata	Necrosis
		Microesferas	Rata, perro	Edema/necrosis
Modelos <i>ex vivo</i>	Perfusión aislado páncreas	Perro	Edema/necrosis	
	Cultivo páncreas	Conejo	Edema/necrosis	

delo de la ceruleína se ha utilizado ampliamente para el análisis de los episodios intracelulares en la fase temprana de la PA, para relacionar el grado de lesión según la dosis utilizada y para el análisis de las lesiones pulmonares provocadas por la PA. Con 5-10 µg/kg/h en la rata se induce un incremento de enzimas en sangre asociado con edema intersticial pancreático, y el grado máximo de lesión a las 6-12 h tras la infusión de la ceruleína, con recuperación íntegra de la estructura pancreática. Sin embargo, este modelo tiene limitación de la no reproducción de formas más graves necróticas de PA.

En el modelo no invasivo de PA inducida por dieta por deficiencia de colina y/o suplemento de etionina se reproduce un modelo con cierta similitud al humano por el desarrollo hacia la necrosis de forma progresiva (la mortalidad puede variar desde el 0 al 100% según la cantidad de dieta administrada), la respuesta bioquímica y los cambios histológicos. Sin embargo el modelo experimental al ser con animales de pequeño tamaño conlleva dificultades para la investigación de sustancias terapéuticas en la PA²⁰⁻²².

El modelo inducido por la respuesta inmunológica a toxinas o sueros en la PA se basa en la inyección de toxinas de meningococo o *Escherichia coli* en el conducto pancreático del conejo, seguido de la misma sustancia diluida al 1/40 por vía intravenosa. En un período variable de 4-24 h se desarrolla una PA necrótica con una mortalidad del 100%. La sensibilización inmunológica se ha reproducido también con 1 g de ovalbúmina intravenosa seguido de 200 mg subcutáneos al quinto día. A las 4 semanas una inyección intraductal de ovalbúmina induce una PA intersticial o edematosa y a las 8 semanas otra favorece el desarrollo hacia la forma necrótica. Este modelo se ha desarrollado escasamente por la dificultad de regular la graduación de las lesiones y por la alta mortalidad que impide estudiar de forma más detenida la patogenia^{23,24}.

El modelo invasivo del lazo cerrado del duodeno fue de los primeros modelos experimentales en PA descritos por Pfeffer et al en 1957. Se ligan los primeros 10 cm del duodeno, por debajo del píloro, y el conducto común biliar. El conducto pancreático se comunica con el duodeno ligado. Una gastroduodenostomía restablece el flujo gástrico. A las 4 h aparece edema de la cabeza y cuerpo del páncreas. Entre las 9 y 12 h se aprecia una PA hemorrágica sin necrosis grasa. El modelo de PA incluye distensión del duodeno ligado con reflujo de las enzimas activadas. A este modelo se le han añadido modificaciones como la ligadura del conducto pancreático y la inyección de bilis infectada en el duodeno ligado, junto con otras más. Se ha utilizado para el estudio etiológico de la PA, por la graduación de la gravedad en el estudio de diferentes sustancias terapéuticas y ha ayudado a profundizar en los factores patogénicos responsables del inicio de la PA, principalmente el papel del reflujo duodenal²⁵⁻²⁷.

La ligadura del conducto pancreático fue descrita por Opie et al en 1901 al describir dos pacientes que fallecieron por pancreatitis necrótica y el hallazgo

de dos piedras impactadas en la papila de Vater, sugiriendo que este acontecimiento favorecería el paso de bilis al conducto pancreático con el inicio de PA. Esta teoría del canal común ha sido estudiada en diferentes modelos animales sobre todo en aquellos cuya anatomía del conducto pancreático y biliar era similar al humano, como es el *oposum*, provocando la ligadura del conducto común una PA con una mortalidad del 100% en el día 14. Este modelo se relaciona con la PA desarrollada con presencia de litiasis biliar en el canal común al provocar una obstrucción transitoria y un reflujo biliar al conducto pancreático. Sin embargo, Lerch et al demostraron que el grado de necrosis no se modificaba en diferentes variantes de este modelo: obstrucción del canal común, obstrucción por separado del conducto biliar y del pancreático y sólo del conducto pancreático²⁸⁻³⁰.

El modelo a baja presión de perfusión o de inyección de sustancias en el conducto pancreático reproduce la hipótesis del factor del reflujo biliar en la PA desencadenada por litiasis biliar. Este modelo permite modular la inducción de las lesiones inflamatorias a través del grado de presión en el líquido a perfundir, la concentración de las sustancias inyectadas y del tiempo de exposición. La PA edematosa puede ser inducida en gatos con diferentes sustancias ajustándose a diferentes modelos, en todos se perfunde en segundo lugar secreción pancreática activada; en el modelo biliar en primer lugar es una sal biliar (ácido glucodeoxicólico); en el modelo alcohólico se inyecta alcohol; en el modelo por hipercalcemia se perfunde por vía intravenosa gluconato cálcico, y por último, en el modelo de obstrucción-secreción tras obstruir el conducto principal pancreático en un 50% se perfunden sustancias como secretina y colecistocinina intravenosas que estimulan el páncreas. Cualquiera de los cuatro modelos anteriores se convierte en forma necrótica al añadir una perfusión de 16-dimetilprostaglandina E₂. Este modelo en general es valorado para la patogenia de la PA y las diferentes modalidades terapéuticas, así como para la infección de la necrosis pancreática. Schmidt et al reproducen la PA necrótica con diferentes grados de gravedad, añadiendo a la infusión de ceruleína, con una presión y tiempo determinados, una inyección de ácido glucodeoxicólico, a diferente concentración y tiempo de infusión, dentro del conducto pancreático de las ratas. Las ventajas de este modelo de baja presión de perfusión son su similitud con las PA en el hombre con baja morbilidad y mortalidad, con un importante paralelismo en las etiologías, el tiempo de evolución y en los cambios histológicos³¹⁻³⁵.

Ya Panum en 1986 informó de la PA hemorrágica focal por compromiso en la circulación del páncreas. Desde entonces, el modelo de PA inducida por cambios vasculares se ha usado de forma específica para estudiar los cambios fisiopatológicos, bien por problemas en la entrada o en la salida del flujo circulatorio, o por problemas en la microcirculación del páncreas. En este modelo se incluyen las PA de-

sarrolladas en el contexto de un shock hipovolémico. Para que se produzcan cambios significativos histológicos en forma de necrosis es necesaria la obstrucción permanente de la arteria duodenopancreática superior. A escala venosa es necesaria la ligadura de la vena esplénica y de la pancreaticoduodenal superior para que se produzcan cambios significativos en el páncreas. El modelo de la microcirculación se reproduce por la inyección de microesferas de poliestireno de 10 a 40 µm en la arteria pancreaticoduodenal superior de la rata favoreciendo la aparición de edema, infiltración inflamatoria celular, hemorragia y necrosis del páncreas. El modelo de la microcirculación tiene vigencia hoy por su similitud con situaciones de deplección de volumen, vasoconstricción química provocada por fármacos, coagulación intravascular y aumento de la permeabilidad endotelial. El modelo vascular de acceso o de salida de los vasos principales pancreáticos tiene su correspondencia sólo con casos de arteritis, esclerosis arteriolar o trombosis de venas como la porta y/o esplénica, a esto se le añade la necesidad de realizarlo con animales de tamaño grande lo que encarece la experiencia³⁶⁻⁴².

El modelo *ex vivo* tiene aún escasa relevancia para la implicación clínica en el hombre^{43,44}.

FACTORES ASOCIADOS A LA PANCREATITIS AGUDA. INCIDENCIA

Aunque los acontecimientos celulares son la base del desarrollo de la PA están descritos varios factores y enfermedades asociados al desarrollo de la pancreatitis aguda (tabla 2)⁴⁵. De los modelos descritos experimentales, los más usados, para inducir la PA en modelos animales, tales como la perfusión de ceruleína o la dieta con deficiencia de colina y/o suplemento de etionina, no son reconocidos como causas de PA humana. Los cálculos biliares y el abuso del etanol que juntos explican cerca del 80% de los casos⁴⁶, en ninguno de los modelos animales descritos anteriormente se duplican estas situaciones; sin embargo, la estructura y los cambios bioquímicos observados en la fase temprana de las PA, son constantes en los diferentes modelos animales, y cambios similares se han observado en la PA humana. La frecuencia relativa con la que cada una de estas etiologías descritas se encuentra depende en gran parte de la población que es evaluada. En Inglaterra algunos investigadores han publicado que dos tercios de sus pacientes tienen la litiasis biliar como causa, sobre todo entre mujeres y en el ámbito rural⁴⁷. En los EE.UU. la principal causa es el alcohol, sobre todo entre varones y grandes ciudades⁴⁸. Un 10% está causado por diversas causas, como hiperlipemia, la infección viral, diferentes fármacos, hipercalcemia, la obstrucción ductal y la perfusión pancreática deteriorada. Finalmente, aproximadamente el 10% de los casos son por causas idiopáticas⁴⁹.

En España la incidencia se sitúa entre 30 y 50 casos por 100.000 habitantes/año y afecta especialmente a mujeres de mediana edad (alrededor de 55

TABLA 2. Factores asociados con la pancreatitis

Obstrucción	
Colelitiasis	
Anomalías anatómicas	
Páncreas <i>divisum</i>	
Divertículo duodenal	
Quiste colédoco	
Carcinoma de páncreas	
Fibrosis o hipertensión esfínter de Oddi	
Cuerpo extraño en la papila	
Alcohol	
Fármacos	
Ácido valproico	Estrógenos
Tetraciclinas	Diuréticos tiazidas
Furosemida	Citarabina
L-asparginasa	Pentamidina
Sulfonamidas	Eritromicina
Alfametilodopa	Nitrofurantoina
Sobredosis acetaminofeno	Ácido aminosalicílico
Cimetidina	Ranitidina
Esteroides	Sulfasalazina
Procainamid	Metronidazol
AINE	Azatiopirina
6-mercaptopurina	
Metabolopatías	
Hipertrigliceridemia	
Hipercalcemia	
Traumatismo	
Accidental	
Iatrogénico	
Postoperatorio	
Digestivo	
Bypass aortocoronario	
Tras ERCP o esfinterostomía endoscópica	
Manometría esfínter de Oddi	
Aortografía translumbar	
Enfermedad vascular o isquemia	
Infección	
Parásitos	
Virus (incluyendo VIH)	
Bacterias	
Embarazo	
Pancreatitis aguda familiar	
Enfermedad autoinmune	
Asociada con enfermedad digestiva	
Úlcera péptica penetrante	
Enfermedad de Crohn	
Toxinas/tóxicos	
Veneno de escorpión	
Alcohol metílico	
Insecticidas organofosforados	
Idiopáticas	

AINE: antiinflamatorios no esteroideos.

años) en una proporción doble que a varones y relacionado con litiasis biliar. En los varones, además se relaciona con el abuso de alcohol⁵⁰.

En la tabla 3 está desarrollada la incidencia de la PA en diferentes partes del mundo, apreciándose una tendencia al ascenso y en probable relación con los hábitos alimentarios⁵¹. Estudios realizados en la misma área geográfica muestran un cambio en la etiología, reduciéndose la causa biliar y ascendiendo la etílica, este ascenso en las cifras de incidencia puede estar relacionado con los hábitos alimentarios (tabla 4)⁵²⁻⁵³.

En relación con el género, Lankish et al⁵¹ estudian 18 publicaciones en el período de 1949 a 1994 con más de 100 pacientes, valorando el género y la etio-

TABLA 3. Incidencia de pancreatitis aguda en diferentes partes del mundo

Localización geográfica	Período	Incidencia habitantes/año
Inglaterra: Bristol	1961-1967	5,4
Bristol	1968-1979	7,3
Nottingham	1977-1983	11,7
Escocia	1983-1985	9,4
	1983-1985	24,2
Países Bajos	1971	6,5
	1990	10,2
Alemania: Lüneburg	1989-1994	15,6
Dinamarca	1981	26,8
	1990	35,4
EE.UU.	1987	49,5
		79,8
Finlandia	1970	46,6
	1989	73,4

logía de la primera crisis de PA. De los 6.749 pacientes estudiados el 57,4% eran varones y el 42,6% mujeres; en el 38,1% la etiología era biliar y en el 35,4% alcohólica. La mayor incidencia global en el varón puede explicarse por la suma de las dos etiologías principales de la PA: la biliar y la etílica.

La colangiopancreatografía retrógrada (CPRE) desempeña un papel fundamental en la evaluación de pacientes con PA idiopática y se debe realizar después de la recuperación del paciente del episodio agudo⁵⁴. Aunque la ecografía abdominal es muy sensible en la detección de litiasis en la vesícula biliar, un 4-7% de los casos pueden ser no detectados⁵⁵, y en la litiasis del conducto biliar común la ecografía sólo es sensible en el 50-75% de los pacientes^{56,57}. Además, la PA se asocia normalmente con piedras pequeñas (< 3 mm), siendo más difícil el diagnóstico por ultrasonografía⁵⁸. Recientemente, dos estudios prospectivos de pacientes consecutivos con PA idiopática, entre dos tercios y un 75% de los casos, tras estudios iniciales, encontraron microlitiasis mediante el examen microscópico de la bilis, en forma de cristales de monohidrato de colesterol o gránulos de bilirrubinato cálcico^{59,60}.

LA PANCREATITIS EMPIEZA EN LAS CÉLULAS ACINARES

A pesar de las limitaciones del modelo animal, los datos sugieren que, con independencia del episodio o mecanismo inicial, una cascada similar de acontecimientos ocurre una vez que la pancreatitis se inicia. Los mecanismos moleculares a escala celular que envuelven la patogenia de la PA están escasamente cla-

TABLA 4. Etiología de la pancreatitis aguda en diferentes periodos, Universidad Göttingen

Etiología	1953-1970 (n = 110)		1980-1985 (n = 174)		1985-1993 (n = 243)		Todos (n = 527)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Biliar	69	62,7	56	32,2	97	39,9	222	42,1
Alcoholismo	12	10,9	59	33,9	63	25,9	134	25,4
Otras causas	11	10	21	12,1	32	13,2	64	12,1
Idiopáticas	18	16,4	38	21,8	51	21	107	20,3

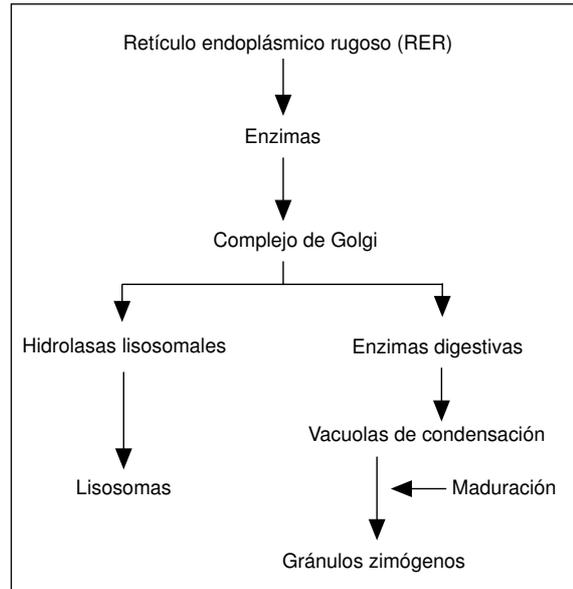


Figura 2. La fisiología secretora de la célula acinar pancreática empieza con la síntesis de las enzimas en el retículo endoplásmico. Las enzimas son transportadas al aparato de Golgi. Las hidrolasas lisosomales son segregadas dentro de los lisosomas y las enzimas digestivas en unas vacuolas de condensación, madurando en gránulos de zimógenos, que son descargados dentro de la luz acinar fusionándose con la membrana celular.

rificados. Diversas situaciones pueden precipitar la PA en humanos, aunque solamente una pequeña proporción de pacientes con estos factores precipitantes desarrolla la enfermedad: en un 3 a un 7% de los casos de litiasis biliar, en un 10% de los alcohólicos y en unos pocos casos con hipercalcemia^{61,62}.

El mecanismo exacto de inducción de la PA por estos agentes no es conocido, aunque ya se ha descrito que el modelo animal a baja presión de perfusión o de inyección de sustancias en el conducto pancreático, junto con el lazo del duodeno, reproducen la hipótesis del factor del reflujo biliar en la PA desencadenada por litiasis biliar, y la ligadura del conducto pancreático o la teoría del canal común a

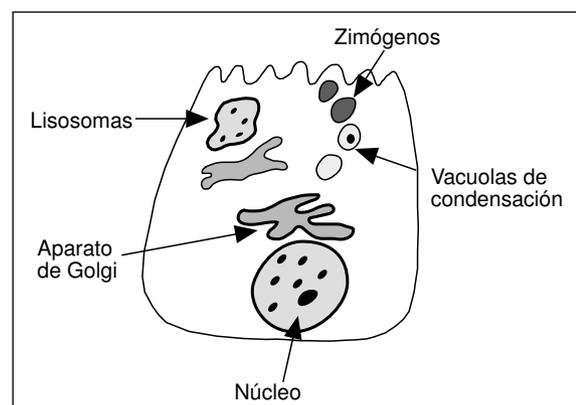


Figura 3. Ilustración de la estructura de la célula acinar del páncreas.

la PA con presencia de litiasis biliar en dicho canal^{28,30}. En la hiperlipemia, la concentración tóxica de ácidos grasos libres liberados desde los triglicéridos por la acción de la lipasa pancreática en los capilares pancreáticos⁶³. Sin embargo, no está claro por qué la pancreatitis inducida por alcohol ocurre sólo después de algunos años y no después de una gran ingestión tóxica.

Un importante número de investigadores han intentado definir los episodios celulares que están en el desarrollo de la PA. En condiciones normales, diferentes mecanismos naturales protegen al páncreas de la autodigestión por las proteasas pancreáticas. Estos mecanismos son⁴⁶:

1. Las enzimas pancreáticas se sintetizan en el retículo endoplásmico de la célula acinar, se almacenan en vacuolas que al madurar se transforman en zimógenos, los cuales cuando se fusionan en la membrana celular se liberan en la luz acinar (fig. 2). La activación de estas proenzimas (p.ej., tripsinógeno, proelastasa) normalmente ocurre en el duodeno, donde la enteropeptidasa secretada por la mucosa duodenal activa el tripsinógeno a tripsina, que activa las proenzimas restantes.

2. La presencia de inhibidores de la tripsina del páncreas puede inactivar el 20% de la actividad de la tripsina; una segunda línea de defensa es la mesotripsina, la enzima de: la tripsina en sí misma, lisa e inactiva la tripsina, y las antiproteasas circulantes no específicas (α 1-antitripsina y α -2-macroglobulina) previenen la activación de proenzimas pancreáticas dentro del tejido pancreático o de sus conductos. Cantidades más grandes liberadas de tripsina, sin embargo, conllevan insuficiencia de los mecanismos de defensa del páncreas y del sistema en su conjunto, activando otras enzimas.

3. En el retículo endoplásmico de la célula acinar se segregan las enzimas digestivas, posteriormente son transportadas al aparato de Golgi, de donde son liberadas en unas vacuolas condensativas que al madurar se convierten en zimógenos, liberándose posteriormente en la luz acinar (figs. 2 y 3). En la célula normal los zimógenos y las enzimas lisosomales o hidrolasas, como la catpesina B, se segregan de forma separada de la red del aparato de Golgi impidiendo su contacto.

Los estudios más recientes sugieren que una anomalía en el transporte y secreción en la célula acinar de las proteínas enzimáticas juegan un importante papel en la evolución de la PA^{64,65}. Modelos experimentales de PA demostraron unión de gránulos de zimógeno con vacuolas del lisosoma, fenómeno denominado "colocalización" o "crinofagia" (fig. 4). La activación prematura del tripsinógeno por la catpesina, enzima lisosomal, es el primer acontecimiento^{66,67}; posteriormente estas vacuolas del citoplasma se vuelven más inestables, favoreciéndose la liberación de enzimas, proteolíticas y lipolíticas, en el citoplasma de la célula y la cascada de activaciones enzimáticas (fig. 5).

Esto va acompañado por un aumento de la concentración de calcio intracelular, que se libera del retículo endoplásmico rugoso. Este incremento de (Ca⁺) va seguido de deshidratación de la célula y bloqueo en la secreción de proteínas en los conductos acinares⁶⁸. El desarrollo de estos tres factores da por resultado la activación del tripsinógeno dentro de la célula acinar⁶⁴, dando lugar al proceso de la autodigestión⁶⁹.

El calcio liberado intracelular no sólo es mediador del daño acinar, sino que también regula las actividades de numerosas enzimas, hormonas y factores de crecimiento, participando directamente en la patogenia de la PA^{70,71}.

La activación del tripsinógeno está considerada como un escalón fundamental en la evolución de la activación de la PA. Una vez la tripsina se ha activado por el tripsinógeno, su inhibición no altera el curso de la pancreatitis, ya que otras proteasas continúan con el daño celular. Esto explica por qué los inhibidores de la tripsina no alteran el curso de la PA. La activación de las enzimas pancreáticas en la célula acinar antes de ser secretadas en la luz acinar es una de las teorías de la patogenia de la PA⁷².

El potencial nocivo de las enzimas digestivas en las células acinares del páncreas es notablemente diferente⁷³. La elastasa, la lipasa, la quimotripsina y la fosfolipasa-A2 son más potentes al dañar las células acinares cuando se comparan con la tripsina molecular (fig. 5). Aunque la activación del tripsinógeno comienza la activación y desarrolla la respuesta en cascada inflamatoria, esta enzima es la que menor daño directo realiza al páncreas.

PATOGENIA DE LA PANCREATITIS HEREDITARIA

La prematura activación de los zimógenos pancreáticos se ha propuesto como mecanismo patogé-

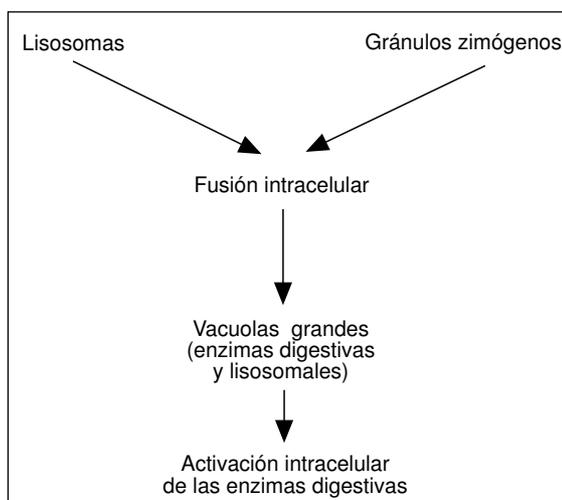


Figura 4. Fusión intracelular de los gránulos de zimógenos con lisosomas (colocalización o crinofagia) permitiendo la posible activación de los zimógenos por las hidrolasas. Estas organelas conteniendo los zimógenos digestivos y las hidrolasas lisosomales se debilitan y pueden liberar las enzimas en el citoplasma.

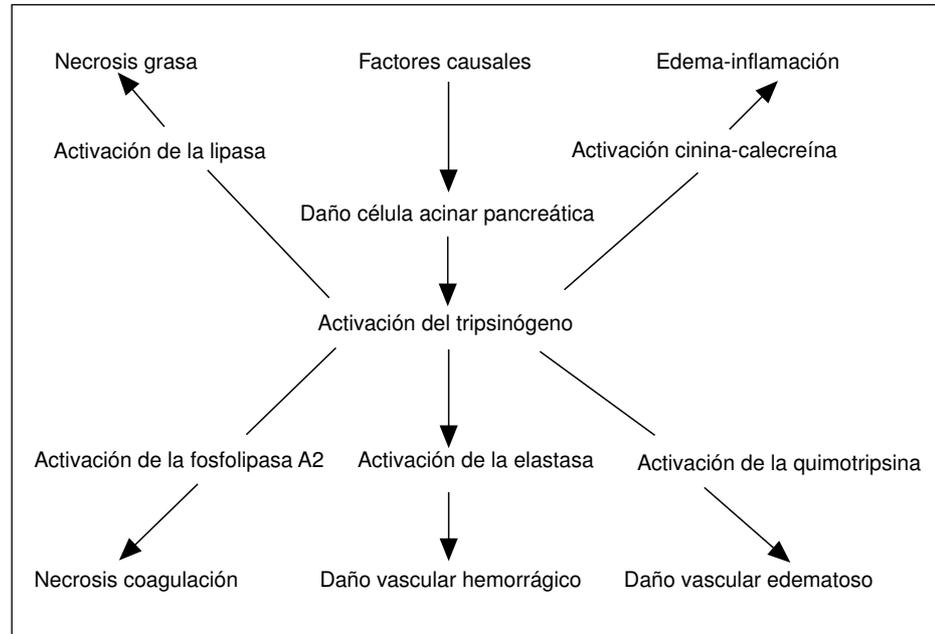


Figura 5. La activación del tripsinógeno en la patogenia de la pancreatitis aguda.

netico en las crisis de PA con base hereditaria con mutación en el brazo largo del cromosoma 7(7q35) y en el gen del tripsinógeno catiónico en el residuo R117, resultando un fallo del mecanismo de seguridad de la célula acinar y activándose la tripsina⁷⁴⁻⁷⁶. Sin embargo, no todos los pacientes con pancreatitis hereditaria tienen una mutación a nivel del R117, y no todos los pacientes con la mutación en el gen del tripsinógeno desarrollan la enfermedad, un 20% no la padecen.

Por otro lado se ha demostrado en pacientes con brotes de PA recurrente, con páncreas *divisum* o fibrosis quística, una mutación en al menos un alelo de la fibrosis quística conductasa transmembrana reguladora (FQCTR). Esta mutación está asociada a la mayor producción y concentración de la secreción pancreática y conlleva una obstrucción ductal y una alteración de la célula acinar, reduciéndose el pH y provocando un transporte anómalo intracelular^{77,78}.

LA MICROCIRCULACIÓN EN LA PANCREATITIS AGUDA

La liberación de las enzimas pancreáticas daña el endotelio vascular así como las células acinares⁷⁹⁻⁸¹. Los cambios en la microcirculación en una fase temprana de las PA pueden favorecer el desarrollo de la enfermedad. Posibles mecanismos como el aumento de la permeabilidad capilar, la reducción del flujo sanguíneo, la interacción de los leucocitos del endotelio vascular, la formación de trombos, la vasoconstricción, la estasis capilar, el descenso de la saturación de oxígeno y la progresiva isquemia, ocurren de forma temprana en los modelos animales de PA. Estos cambios conllevan la extravasación de

líquido en el espacio perilobular y la inflamación de la glándula (pancreatitis edematosa e intersticial).

Existe especulación sobre el papel de la isquemia-reperusión en el daño del páncreas⁸¹, aunque cada vez se reconoce más en la patogenia el mecanismo de isquemia/reperusión, sobre todo cuando nos referimos al paso de pancreatitis edematosa a necrótica. El mecanismo de este daño está bien establecido en el corazón, músculo esquelético e intestinos. El daño tisular secundario a la reperusión conlleva liberación de radicales libres de citocinas inflamatorias en la circulación.

Estudios con leucocitos marcados con radionucleótidos como el indio-111 han demostrado invasión del páncreas por macrófagos y leucocitos polimorfonucleares en los estadios iniciales de la PA experimental y en humanos⁸²⁻⁸⁴. La activación del complemento y la liberación del C5a demuestra un papel significativo en la respuesta de estas células inflamatorias. Los granulocitos y los macrófagos activados causan liberación de citoquinas proinflamatorias (factor de necrosis tumoral, interleucinas 1, 6 y 8), los metabolitos del ácido araquidónico (prostaglandinas, factor de activador de plaquetas y leucotrienos), enzimas lipolíticas y proteolíticas, de radicales libres de oxígeno, siendo sobrepasada la capacidad antioxidante del sistema endógeno, y aumento de la concentración de calcio intracelular. Estas sustancias también interactúan con la microcirculación pancreática aumentando la permeabilidad e induciendo trombosis y hemorragia; así la PA evoluciona hacia la necrosis, resultando un círculo vicioso en el que se liberan más enzimas pancreáticas y ocurre más daño pancreático, propiamente dicho⁸⁵⁻⁸⁹. Los radicales libres de oxígeno son unos potentes agentes oxidantes que a través de la peroxi-

dación lesionan los componentes lipídicos mitocondriales y de la membrana celular, lesionando el endotelio y favoreciendo la permeabilidad capilar⁸⁷. La administración de catalasa y de dismutasa experimental antes de la inducción de PA, disminuye el daño del tejido pancreático⁹⁰; no obstante, la administración tras estar establecida la PA evidencia sólo un limitado beneficio⁹¹.

La adhesión de los leucocitos a los vasos en la microcirculación es un episodio secundario a los cambios de la permeabilidad capilar de la PA.

Las enzimas pancreáticas activadas, la disfunción de la microcirculación y la liberación de mediadores inflamatorios conlleva un rápido deterioro del tejido pancreático y necrosis. La interacción entre estos factores hace difícil valorar el papel desempeñado individualmente por ellos para inducir la lesión pancreática. Los factores que inciden en limitar el daño pancreático no se comprenden bien, haciendo que la pancreatitis aguda no evolucione hacia necrótica en un 80%.

LA RESPUESTA SISTÉMICA EN LA PANCREATITIS AGUDA

Una vez que se activa la célula acinar sigue una cascada imprevisible de episodios que puede llevar localmente a la inflamación del intersticio o a necrosis grave, extendiéndose a los espacios peripancreáticos y a la secreción de factores tóxicos en la circulación sistémica o espacio peritoneal, induciendo manifestaciones sistémicas o fracaso de los diferentes órganos secundarios a la PA (fig. 6).

La secreción de tripsina activa el complemento y el sistema de cinina-calectreína^{92,93}. Los productos

del sistema calectreína-cinina causan vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular y acumulación de leucocitos, favoreciendo la inestabilidad hemodinámica⁹³. Concentraciones elevadas sistémicas de estos péptidos vasoactivos pueden contribuir a trastornos hemodinámicos, a cuagulación intravascular diseminada, al shock, insuficiencia renal y al síndrome de fallo multiorgánico⁹².

La tripsina activa la fosfolipasa-A₂, esta enzima en presencia de los ácidos biliares destruye las membranas celulares, causando necrosis del parénquima pancreático. Si bien hay inhibidores para la tripsina y otras enzimas proteolíticas, no existe para la fosfolipasa-A₂; ésta y otros tóxicos de la membrana lisofosfolípida celular alcanzan la circulación y causan daño al surfactante pulmonar, y son responsables del síndrome de distrés respiratorio⁹⁴.

En las pancreatitis clínicas y experimentales, la fosfolipasa-A₂ sérica se correlaciona con la gravedad de la enfermedad^{95,96}.

La elastasa es bastante perjudicial por su efecto directo celular, lesiona la elastina de los vasos, produciendo complicaciones hemorrágicas siendo su espectro de acción amplio, en numerosas proteínas⁷³. Estudios recientes sugieren que la liberación de la elastasa conlleva la activación de las células inflamatorias o neutrófilos 37 con un importante papel citotóxico a nivel de órganos distantes del páncreas.

La lipasa, sintetizada en las células acinares en forma activa, necesita de la presencia de ácidos biliares para su actividad biológica, su liberación en el espacio peripancreático induce necrosis de la grasa. Otros sistemas en cascada activados en la PA son la cuagulación-fibrinólisis y el sistema del complemento^{97,98}. Estas dos activaciones junto con la cascada de la calectreína-cinina tienen importancia en la fisiopatología de la PA, contribuyendo a las complicaciones por la toxicidad sistémica⁹⁸. La respuesta inflamatoria que se extiende de forma generalizada es responsable de la morbilidad y mortalidad en la PA⁹⁹.

La mayoría de las investigaciones en la actualidad están centradas en identificar los inductores de esta enfermedad sistémica, destacando diferentes citocinas (IL) como IL-1, IL-6, IL-8, factor de necrosis tumoral (TNF) y factor activador plaquetario. Estas citocinas se consideran los principales mediadores en la transformación de la PA de un proceso local inflamatorio a una enfermedad multiorgánica.

Además de la hipercitocinemia resultante del proceso inflamatorio local pancreático y de los tejidos peripancreáticos, existe evidencia de que son liberadas también por los macrófagos hiperactivados cuando la pancreatitis se complica con infección; estas citocinas activan los neutrófilos que han infiltrado órganos vitales, como el pulmón, el hígado y los órganos digestivos, y se realiza un "segundo ataque"^{100,101}. Los neutrófilos a través de las enzimas proteolíticas y oxidantes lesionan los órganos vitales infiltrados, causando daño celular y disfunción de los órganos distales al páncreas.

Una explicación en la patogenia de la PA con estos mediadores inflamatorios ha llevado a plantear

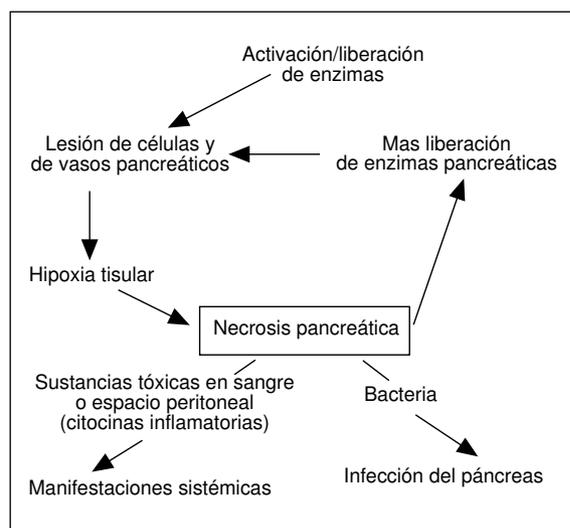


Figura 6. Durante la pancreatitis aguda, junto con los episodios incipientes, varias citocinas inflamatorias son producidas, tanto a escala local como sistémica. La cascada se desarrolla y se amplía rápidamente envolviendo varios mediadores; cada uno de éstos tiene un papel en el desarrollo de las manifestaciones sistémicas. El desarrollo de la necrosis pancreática infectada tiene un factor pronóstico adverso.

diferentes preguntas en relación al tratamiento de esta enfermedad. Aunque a escala experimental han sido relevantes los resultados usando antagonistas de las citocinas, la estrecha ventana terapéutica en pacientes sépticos con los antagonistas específicos de las citocinas hace enormemente complejo su uso en la práctica clínica, incluso con el antagonista del factor activador plaquetario, lexipafant¹⁰². En el futuro las líneas de investigación desarrollaran terapias específicas para inhibir la progresión destructiva de la glándula y el desarrollo de complicaciones sistémicas.

LA LESIÓN PULMONAR EN LA PANCREATITIS AGUDA

Aproximadamente un tercio de los pacientes con PA desarrollarán lesión aguda pulmonar (LAP) y síndrome del distrés respiratorio del adulto (SDRA)¹⁰³, con una mortalidad del 60% en la primera semana¹⁰³. La excesiva citotoxicidad de los neutrófilos parece estar implicada en el desarrollo del daño pulmonar¹⁰⁴. El aumento de la permeabilidad microvascular conlleva liberación al espacio alveolar de un trasudado rico en proteínas con una disminución de la distensibilidad pulmonar. La activación de la fosfolipasa A favorece la digestión de la lecitina, el mayor componente del surfactante pulmonar. Clínicamente aparece una hipoxemia con los síntomas acompañantes de infiltrado bilateral difuso. En modelos de LAP experimental se induce edema intraalveolar, reducción de la vía aérea distal¹⁰⁵, daño en las células endoteliales, y secuestro de los leucocitos¹⁰⁶ evidenciándose la actividad de la mieloperoxidasa^{107, 108}.

El papel de los neutrófilos (reclutamiento, adhesión y activación) y la circulación de los mismos, la activación de las vías de señales de transducción y las deficiencias en la producción de surfactante pulmonar por los neumocitos tipo II¹⁰⁹ son claves en las complicaciones a distancia del páncreas no sólo en el pulmón sino también en el colon, el hígado y los riñones, al provocar trastornos en la microcirculación en estos órganos.

La activación de los neutrófilos conlleva una respuesta del sistema inmunológico del huésped, que si es inadecuada puede amortiguarse con intervenciones que modulen esta citotoxicidad de los neutrófilos, como se ha demostrado con diferentes estudios^{110,111}. Esta activación se induce por la activación del complemento, la producción de las citocinas y la estimulación de la expresión de la molécula de adherencia y de los macrófagos alveolares¹¹². La secreción de sustancias quimioatrayentes como la IL-8, el TNF, la β IL-1, fMet-Leu-Phe (un producto de la pared bacteriana) y el factor del complemento C5_a, da como resultado la concentración de neutrófilos en la microcirculación pulmonar. La exposición de los neutrófilos a los mediadores inflamatorios endógenos conlleva una disregulación de la expresión de la β 2 integrina y a reforzar el potencial adhesivo.

Se ha encontrado correlación entre la gravedad de la PA y la activación¹¹³, y la concentración del TNF,

y la IL-8 tanto en suero¹¹⁴ como en el líquido ascítico¹¹⁵ y en el líquido alveolar¹¹⁶. La IL-8 es quimioatrayente y activadora de los leucocitos T¹¹⁴; la IL-8 se encontró en los espacios aéreos de pacientes con SDRA y se asocia con mortalidad elevada¹¹⁷. Otro estudio reciente ha encontrado en una serie de 11 pacientes con PA una elevación de IL-8, interleucina-6 y expresión neutrófila CD11b significativamente más elevada en pacientes que desarrollaron ALI¹¹⁸.

Hartwing et al han desarrollado nuevas técnicas con análogos de la glucosa, fluordioxiglucosa (FDG), en un modelo experimental con ratas, permitiendo medir la actividad de los neutrófilos en el pulmón en las PA y favoreciendo el conocimiento de la compleja fisiopatología de la LAP y la PA¹¹⁹. Los futuros estudios deberán confirmar en seres humanos la sensibilidad, la especificidad y el valor predictivo de esta técnica en el diagnóstico y valoración de la gravedad de la respuesta inflamatoria de la PA en el pulmón¹²⁰.

CONCLUSIÓN

La investigación en la PA experimental nos ha permitido conocer el inicio y el desarrollo de la enfermedad en la célula acinar, en el tejido pancreático, peripancreático y a escala sistémica, con la afectación de órganos que inciden en el aumento de la mortalidad como es la activación de los neutrófilos en el pulmón.

El conocimiento de la fisiopatología en la PA nos revela la importancia de un diagnóstico temprano con medidas, fáciles y en la cabecera del paciente, de marcadores biológicos que nos ayuden a detectar a pacientes potencialmente graves, indicando su ingreso en las unidades de cuidados intensivos para favorecer un soporte (hemodinámico y respiratorio) adecuado y como medidas que contrarresten la situación patológica de un páncreas con afectación celular, tisular y en su microcirculación. La modulación de la respuesta inflamatoria con medidas de intervención terapéutica específicas que impidan la disfunción orgánica, frenen el proceso de destrucción glandular y favorezcan la regeneración de la misma, son aspectos pendientes que tienen una ventana de actuación determinada y donde el retraso en dichas actuaciones hará el proceso irreversible.

BIBLIOGRAFÍA

1. Steer ML. Primary intracellular events in pancreatitis. In: Büchler MW, Uhl W, Friess H, Malfertheiner P, editors. Acute pancreatitis. Novel concepts in biology and therapy. Berlin-Viena: Blackwell Wissenschafts-Verlag, 1999; p. 3-12.
2. Foitzik T, Hotz HG, Eibl G, Buhr HJ. Experimental models of acute pancreatitis: are suitable for evaluating therapy? Int J Colorectal Dis 2000;15:127-35.
3. Steinberg WM, Schlesselman SE. Treatment of acute pancreatitis. Comparison of animal and human studies. Gastroenterology 1987;93:1420-7.
4. Büchler M, Friess H, Uhl W, Beger HG. Clinical relevance of experimental acute pancreatitis. Eur Surg Res 1992;24 (Suppl 1):85-8.

5. Niederau C. Experimentelle Therapiesätze bei akuter Pankreatitis. En: Mossner J, Adler G, Folsch UR, Singer MV, editors. *Erkrankungen des exkretorischen Pankreas*. Jena: Ediciones Fischer, 1995; p. 293-302.
6. Adler G, Kern HF, Scheele GA. Experimental models and concepts in acute pancreatitis. In: Go VLW, et al, editors. *The exocrine pancreas: biology, pathobiology and diseases*. New York: Ediciones Raven Press, 1986; p. 407-21.
7. Al-Mufti RA, Williamson RCN. Experimental models of pancreatitis. *Ann Acad Med Singapore* 1999;28:133-40.
8. Bilchik AJ, Leach SD, Zucker KA, Modlin IM. Experimental models of acute pancreatitis. *J Surg Res* 1990;48:639-47.
9. Lerch MM, Adler G. Experimental animal models of acute pancreatitis. *Int J Pancreatol* 1994;15:159-70.
10. Schmid SW, Uhl W, Kidd M, Modlin IM, Büchler MW. Experimental models of acute pancreatitis and their clinical relevance. In: Büchler MW, Uhl W, Friess H, Malfertheiner P, editors. *Acute pancreatitis. Novel concepts in biology and therapy*. Berlin-Viena: Blackwell Wissenschafts-Verlag, 1999; p. 51-62.
11. Rattner DW. Experimental models of the acute pancreatitis and their relevance to human disease. *Scand J Gastroenterol* 1996;31(Suppl 219):6-9.
12. Schiller WR, Suriyapa C, Anderson MC. A review of experimental pancreatitis. *J Surg Res* 1974;61:69-90.
13. Adler G, Gerhards G, Schick J, Rohr G, Kern HF. Effects of in vivo cholinergic stimulation of rat exocrine pancreas. *Am J Physiol* 1983;244: G623-9.
14. Lampe M, Kern HF. Acute interstitial pancreatitis in the rat induced by excessive doses of a pancreatic secretagogue. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 1977;373:97-117.
15. Niederau C, Ferrell LD, Grendell JH. Caerulein-induced acute necrotizing pancreatitis in mice: protective effects of proglumide, benztript, and secretin. *Gastroenterology* 1985;88:1192-204.
16. Saluja A, Saito I, Saluja M, Houlihan MJ, Powers RE, Meldolesi J, et al. In vivo rat pancreatic acinar cell function during supramaximal stimulation with caerulein. *Am J Physiol* 1985;249:G702-10.
17. Watanabe O, Baccino FM, Steer ML, Meldolesi J. Supramaximal cerulein stimulation and ultrastructure of rat pancreatic acinar cell: early morphological changes during development of experimental pancreatitis. *Am J Physiol* 1984;246: G457-67.
18. Pantoja JL, Renner IG, Abramson SB, Edmondson HA. Production of acute hemorrhagic pancreatitis in the dog using venom of the scorpion, *Buthus quinquestratus*. *Dig Dis Sci* 1983; 28:429-39.
19. Dressel TD, Goodale RL Jr, Zweber B, Borner JW. The effect of atropine and duct decompression on the evolution of diazepam-induced acute canine pancreatitis. *Ann Surg* 1982;195:424-34.
20. Griffith WH, Wade NJ. The occurrence and prevention of hemorrhagic degeneration in young rats on a low choline diet. *J Biol Chem* 1939;131:567-77.
21. Lombardi B, Estes LW, Longnecker DS. Acute hemorrhagic pancreatitis (massive necrosis) with fat necrosis induced in mice by DL-ethionine fed with a choline-deficient diet. *Am J Pathol* 1975;79:465-80.
22. Niederau C, Luthen R, Niederau MC, Grendell JH, Ferrell LD. Acute experimental hemorrhagic-necrotizing pancreatitis induced by feeding a choline-deficient, ethionine-supplemented diet. *Methodology and standards*. *Eur Surg Res* 1992;24:40-54.
23. Thal MB, Brackney E. Acute hemorrhagic necrosis produced by local Shwartzman reaction. *JAMA* 1954;155:569-74.
24. Thal A. Studies on pancreatitis. II. Acute pancreatic necrosis produced experimentally by the Arthus sensitisation reaction. *Surgery* 1955;37:911-7.
25. Pfeffer RB, Stasiar O, Hinten JW. The clinical picture of the sequential development of acute hemorrhagic pancreatitis in the dog. *Surg Forum* 1957;8:248-51.
26. Nevalainen TJ, Seppa A. Acute pancreatitis caused by closed duodenal loop in the rat. *Scand J Gastroenterol* 1975;10: 521-7.
27. Rosato EF, Cowan RP, Rosato FE. Duodenal pressure as a factor in the cause of pancreatitis. *Surgery* 1970;68:837-41.
28. Opie EL. The etiology of acute hemorrhagic pancreatitis. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1901;12:182-90.
29. Baxter JN, Jenkins SA, Day DW, Roberts NB, Cowell DC, Mackie CR, et al. Effects of somatostatin and a long-acting somatostatin analogue on the prevention and treatment of experimentally induced acute pancreatitis in the rat. *Br J Surg* 1985; 72:382-385.
30. Lerch MM, Saluja AK, Runzi M, Dawra R, Saluja M, Steer ML. Pancreatic duct obstruction triggers acute necrotizing pancreatitis in the opossum. *Gastroenterology* 1993;104:853-61.
31. Flexner S. The constituent of the bile causing pancreatitis and the effect of colloids upon its action. *J Exp Med* 1906; 8:167.
32. Harvey MH, Wedgwood KR, Austin JA, Reber HA. Pancreatic duct pressure, duct permeability and acute pancreatitis. *Br J Surg* 1989;76:859-62.
33. Widdison AI, Alvarez C, Reber HA. The low-pressure duct perfusion model of acute pancreatitis. *Eur Surg Res* 1992;24:55-61.
34. Wedgwood KR, Farmer RC, Reber HA. A model of hemorrhagic pancreatitis in cats - role of 16-dimethyl prostaglandin E₂. *Gastroenterology* 1986;90:32-9.
35. Panum PL. Experimentelle Beiträge zur Lehre von der Embolie. *Virchows Arch [A]* 1862;25:308.
36. Barzilai A, Ryback BJ, Medina JA, Toth L, Dreiling DA. The morphological changes of the pancreas in hypovolemic shock and the effect of pretreatment with steroids. *Int J Pancreatol* 1987;2:23-32.
37. Lefer AM, Spath JA Jr. Pancreatic hypoperfusion and the production of a myocardial depressant factor in hemorrhagic shock. *Ann Surg* 1974;179:868-76.
38. Gmaz-Nikulin E, Nikulin A, Plamenac P, Hegewald G, Gaon D. Pancreatic lesions in shock and their significance. *J Pathol* 1981;135:223-36.
39. Fleischer GM, Herden P, Spormann H. Animal experiment studies on the role of ischemia in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Z Exp Chir Transplant Künstliche Organe* 1984;17: 179-87.
40. Popper HL, Necheles H, Russel KC. Transition of pancreatic edema into pancreatic necrosis. *Surg Gynecol Obstet* 1948; 87:79-82.
41. Becker V, Stollhoff K. Shock and terminal pancreatitis. *Pathol Res Pract* 1985;179:512-6.
42. Dreiling DA, Koller M, Su CH. Vascular pancreatitis: a neglected disorder. *Mt Sinai J Med* 1986;53:482-4.
43. Saharia P, Margolis S, Zuidema GD, Cameron JL. Acute pancreatitis with hyperlipemia: studies with an isolated perfused canine pancreas. *Surgery* 1977;82: 60-7.
44. Steer ML, Glazer G, Manabe T. Direct effects of ethanol on exocrine secretion from the in vitro rabbit pancreas. *Dig Dis Sci* 1979;24:1420-7.
45. Sakorafas G, Tsiotou A. Etiology and pathogenesis of acute pancreatitis: current concepts. *J Clin Gastroenterol* 2000;30: 343-56.
46. Reber HA. Acute pancreatitis: another piece of the puzzle? *N Engl J Med* 1991;325:423-4.
47. British Society of Gastroenterology. United Kingdom guidelines for the management of acute pancreatitis. *Gut* 1998; 42(Suppl 2):S1-13.
48. Agarwal N, Pitchumoni CS. Simplified prognostic criteria in acute pancreatitis. *Pancreas* 1986;1:69-73
49. Steinberg W, Tenner S. Acute pancreatitis. *N Engl J Med* 1994;330:1198-210.
50. Carballo F. Epidemiología de la pancreatitis aguda. En: Chantar C, Rodés J, editores. *Actualizaciones en gastroenterología y hepatología*. Barcelona: JR Prous, 1993; p. 11-9.
51. Lakisch PG. Epidemiology of acute pancreatitis. En: Büchler MW, Uhl W, Friess H, Malfertheiner P, editors. *Acute pancreatitis. Novel concepts in biology and therapy*. Berlin-Viena: Blackwell Wissenschafts-Verlag, 1999; p. 145-53.
52. Lankisch PG, Schirren CA, Schmidt H, Schönfelder G, Creutzfeld W. Etiology and incidence of acute pancreatitis: a 20-year study in a single institution. *Digestion* 1989;44:20-5.
53. Lankisch PG, Burchard-Reckert S, Petersen M, Lehnick D, Schirren CA, Köhler H, et al. Morbidity and mortality in 602 patients with acute pancreatitis seen between the years 1980-1994. *Z Gastroenterol* 1996;34:371-7.
54. Grendell JH. Idiopathic acute pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am* 1990;19:843-8.
55. Cooperberg PL, Gibney RC. Imaging of the gallbladder.

Radiology 1987;163:605-14.

56. Vilgrain V. Lithiasis of the common bile duct: ultrasonography, computed tomography, and magnetic resonance cholangiopancreatography. Indications and results. *Gastroenterol Clin Biol* 1998;22:B4-6.

57. Welbourn CR, Haworth JM, Leaper DJ, Thompson MH. Prospective evaluation of ultrasonography and liver function tests for preoperative assessment of the bile duct. *Br J Surg* 1995; 82:1371-3.

58. Farinon AM, Ricci GL, Sianesi M. Physiopathologic role of microlithiasis in gallstone pancreatitis. *Surg Gynecol Obstet* 1987;164:252-6.

59. Lee SP, Nicholls JF, Park HZ. Biliary sludge as a cause of acute pancreatitis. *N Engl J Med* 1992;326:589-93.

60. Ros E, Navarro S, Bru C, García-Puges A, Valderrama R. Occult microlithiasis in "idiopathic" acute pancreatitis: prevention of relapses by cholecystectomy or ursodeoxycholic acid therapy. *Gastroenterology* 1991;101:1701-9.

61. Moreau JA, Zinsmeister AR, Melton LJ, Dimagno EP. Gallstone pancreatitis and the effect of cholecystectomy. *Mayo Clin Proc* 1988;63:466.

62. Bess MA, Edis AJ, Van Heerden JA. Hyperparathyroidism and pancreatitis: chance or causal association? *JAMA* 1980;243:246.

63. Toskes PP. Hyperlipidemic pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am* 1990;90:783.

64. Niederau C, Luthen R. Events inside the pancreatic acinar cell in acute pancreatitis: role of secretory blockade, calcium release, and dehydration in the initiation of trypsinogen activation and autodigestion. In: Lankisch PG, DiMaggio EP, editors. *Pancreatic disease: state of the art and future aspects of research*. Berlin: Springer, 1999; p.14-23.

65. Luthen R, Grendell JH, Niederau C, Haussinger D. Trypsinogen activation and glutathione content are linked to pancreatic injury in models of biliary acute pancreatitis. *Int J Pancreatol* 1998;24:193-202.

66. Klonowski-Stumpe H, Luthen R, Han B, Sata N, Haussinger D, Niederau C. Effects of cathepsin B inhibitors on trypsinogen activation in rat pancreas. *Pancreas* 1998;16:96-101.

67. Saluja A, Saluja M, Villa A, Leli U, Rutledge P, Meldolesi J, et al. Pancreatic duct obstruction in rabbits causes digestive zymogen and lysosomal enzyme colocalization. *J Clin Invest* 1989;84:1260-6.

68. Klonowski-Stumpe H, Schreiber R, Grolik M, Schulz HU, Haussinger D, Niederau C. The effect of oxidative stress on cellular functions and cytosolic calcium of rat pancreatic acinar cells. *Am J Physiol* 1997;272:G1489-98.

69. Niederau C, Schulz HU. Current conservative treatment of acute pancreatitis: evidence of animal and human studies. *Hepatogastroenterology* 1993;6:538-49.

70. Klonowski-Stumpe H, Schreiber R, Grolik M, Schulz HU, Haussinger D, Niederau G. The effect of oxidative stress on cellular functions and cytosolic calcium of rat pancreatic acinar cells. *Am J Physiol* 1997;272:G1489-98.

71. Nicotera P, Bellomo O, Orrentius S. Calcium-mediated mechanisms in chemically induced cell death. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1992;32:449-70.

72. Formela JL, Galloway SW, Kingsnorth AN. Inflammatory mediators in acute pancreatitis. *Br J Surg* 1995;82:6-13.

73. Niederau C, Frohnhoffs C, Klonowski H, Schulz HU. Active pancreatic digestive enzymes show striking differences in their potential to damage isolated pancreatic acinar cells. *J Lab Clin Invest* 1995;125:265-75.

74. Le Bodic L, Bignon JD, Raguens O, Mercier B, Georgelin T, Schnee M, et al. The hereditary pancreatitis gene maps to long arm of chromosome 7. *Hum Mol Genet* 1996;5:549.

75. Whitcomb DC, Preston RA, Aston CE, Sossenheimer MJ, Barua PS, Zhang Y, et al. A gene for hereditary pancreatitis maps to chromosome 7q35. *Gastroenterology* 1996;110:1975.

76. Gorry MC, Gabbazadeh D, Furey W, Gates LK Jr, Preston RA, Aston CE, et al. Mutations in the cationic trypsinogen gene are associated with recurrent acute and chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1997;113:1063.

77. Cohn JA, Friedman KJ, Noone PG, Knowles MR, Silverman LM, Jowell PS, et al. Relation between mutations of

the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998;339:653.

78. Sharer N, Scharz M, Malone G, Howarth A, Painter J, Super M, et al. Mutations of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998;339:645.

79. Prinz, RA. Mechanisms of acute idiopathic pancreatitis: vascular etiology. *Int J Pancreatol* 1991;9:31.

80. Klar E, Messmer K, Warshaw AL, Herfarth C. Pancreatic ischemia in experimental acute pancreatitis: Mechanism, significance, and therapy. *Br J Surg* 1990;77:1205.

81. Toyama MT, Lewis MP, Kusske AM, Reber PU, Ashley SW, Reber HA. Ischaemia-reperfusion mechanisms in acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1996;219:20-3.

82. Rinderknecht H. Fatal pancreatitis, a consequence of excessive leukocyte stimulation? *Int J Pancreatol* 1988;3:105-12.

83. Kingsnorth A. Role of cytokines and their inhibitors in acute pancreatitis. *Gut* 1997;40:1.

84. Sweiry JH, Mann GE. Role of oxidative stress in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1996;31-(Suppl 219):10.

85. Sakorafas GH, Tsiotos GG. Abdominal complications after cardiac surgery. *Eur J Surg* 1999;165:820-7.

86. Sakorafas GH, Tsiotos GG, Sarr MG. Ischemic necrotizing pancreatitis: two case reports and review of the literature. *Int J Pancreatol* 1998;24:117-21.

87. Sakorafas GH, Tsiotos GG, Sarr MG. Ischemia/reperfusion induced pancreatitis. *Dig Surg* 2000;17:3-14.

88. Braganza JM. Antioxidant therapy for pancreatitis: clinical experience. In: Braganza JM, editor. *The pathogenesis of pancreatitis*. Manchester: Ediciones Manchester University Press, 1991; p. 178-97.

89. Scott P, Bruce C, Schofield D, Shiel N, Braganza JM, McCloy RF. Vitamin C status in patients with acute pancreatitis. *Br J Surg* 1993;80:750-4.

90. Tanyalcin T, Sozmen EY, Taskiran D, Ozutemiz O, Batur Y, Kutay F. The endogenous scavengers in cerulein-induced acute pancreatitis. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995;33:195-9.

91. Brunelli A, Scutti G. An ultrastructural study to investigate the effect of allopurinol on cerulein-induced damage to pancreatic acinar cells in rat. *Int J Pancreatol* 1998;23:25-9.

92. Uehara S, Honjyo K, Furukawa S, Hirayama A, Sakamoto W. Role of the kallikrein-kinin system in human pancreatitis. *Adv Exp Med Biol* 1989;247B:643-8.

93. Balldin G. Release of vasoactive substances in ascites and blood in acute pancreatitis. In: Beger HG, Buchler M, editors. *Acute pancreatitis, research and clinical management*. Berlin: Springer-Verlag, 1987; p.63-70.

94. Buchler M, Malferteiner P, Schadlich H, Nevalainen TJ, Friess H, Beger HG. Role of phospholipase A2 in human acute pancreatitis. *Gastroenterology* 1989;97:1521-6.

95. Hietaranta A, Kempainen E, Puolakkainen P, Sainio V, Haapiainen R, Peuravuori H, et al. Extracellular phospholipase A2 in relation to SIRS and systemic complications in severe acute pancreatitis. *Pancreas* 1999;18:385-91.

96. Tsukahara Y, Morisaki T, Horita Y, Torisu M, Tanaka M. Phospholipase A2 mediates nitric oxide production by alveolar macrophages and acute lung injury in pancreatitis. *Ann Surg* 1999;229:385-92.

97. Valenzuela JE, Ribet A. Pathogenic mechanisms of pancreatitis. In: Valenzuela JE, Reber HA, Ribet A, editors. *Medical and surgical diseases of the pancreas*. New York: Igaku-Shoin Ltd, 1991; p.29-45.

98. Acioli JM, Isobe M, Kawasaki S. Early complement system activation and neutrophil priming in acute pancreatitis; participation of trypsin. *Surgery* 1997;122:909-17.

99. Norman J. The role of cytokines in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Am J Surg* 1998;175:76-83.

100. Ogawa M. Acute pancreatitis: "Second attack" by septic complication leads to organ failure. *Pancreas* 1998;16:312-5.

101. Ogawa M. Mechanisms of the development of organ failure following surgical insult: the "second attack" theory. *Clin Intens Care* 1996;7:34-8.

102. Rivera JA, Werner J, Warshaw AL, Lewandowski KB, Rattner DW, Fernández del Castillo C. Lexipafant fails to improve survival in severe necrotizing pancreatitis in rats. *Int J Pancreatol* 1998;23:101-6.

- 103.** Jacobs ML, Daggett WM, Civette JM, Vasu MA, Lawson DW, Warsaw AL, et al. Acute pancreatitis: analysis of factors influencing survival. *Ann Surg* 1977;185:43-51.
- 104.** Sookhai S, Wang JH, McCourt M, O'Connell D, Redmond HP. Dopamine induces neutrophil apoptosis through a dopamine D-1 receptor-independent mechanism. *Surgery* 1999;126:314-22.
- 105.** Milani R Jr, Pereira PM, Dolnikoff M, Saldiva PH, Martins MA. Respiratory mechanics and lung morphometry in severe pancreatitis-associated acute lung injury in rats. *Crit Care Med* 1995;23:1882-9.
- 106.** O'Donovan DA, Kelly CJ, Abdih H, Buchier-Hayes D, Watson RW, Redmond HP, et al. Role of nitric oxide in lung injury associated with experimental acute pancreatitis. *Br J Surg* 1995;82:1122-6.
- 107.** Shields CJ, Winter DC, Sookhai S, Ryan L, Kirwan WO, Redmond HP. Hypertonic saline attenuates end-organ damage in an experimental model of acute pancreatitis. *Br J Surg* 2000;87:1336-40.
- 108.** Mozo G, Del Olmo ML, Caro-Patón A, Reyes E, Manzano L, Belmonte A, et al. Afectación pulmonar y niveles de citocinas en un modelo de pancreatitis aguda experimental. *Rev Esp Enferm Dig* 2002;94:53-9.
- 109.** Simon RH, Paine R. Participation of pulmonary alveolar epithelial cells in lung inflammation. *J Lab Clin Med* 1995;126:108-18.
- 110.** Kawabata K, Hagio T, Matsumoto S, Nakao S, Orita S, Aze Y, et al. Delayed neutrophil elastase inhibition prevents subsequent progression of acute lung injury induced by endotoxin inhalation in hamsters. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:2013-18.
- 111.** Bhatia M, Saluja AK, Hofbauer B, Lee HS, Frossard JL, Steer ML. The effects of neutrophil depletion on a completely noninvasive model of acute pancreatitis-associated lung injury. *Int J Pancreatol* 1998;24:77-83.
- 112.** Closa D, Sabater L, Fernández-Cruz L, Prats N, Gelpi E, Rosello-Catafau J. Activation of alveolar macrophages in lung injury associated with experimental acute pancreatitis is mediated by the liver. *Ann Surg* 1999;229:230-6.
- 113.** Norman J. The role of cytokines in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Am J Surg* 1998;175:76-83.
- 114.** Baggolini M, Walz A, Kunkel SL. Neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8, a novel cytokine that activates neutrophils. *J Clin Invest* 1989;84:1045-9.
- 115.** Denham W, Yang J, Fink G, Denham D, Carter G, Ward K, et al. Gene targeting demonstrates additive detrimental effects of interleukin 1 and tumor necrosis factor during pancreatitis. *Gastroenterology* 1997;113:1741-6.
- 116.** Norman JG, Fink GW, Denham W, Yang J, Carter G, Sexton C, et al. Tissue-specific cytokine production during experimental acute pancreatitis: a probable mechanism for distant organ dysfunction. *Dig Dis Sci* 1997;42:1783-8.
- 117.** Miller EJ, Cohen AB, Nagao S, Prats N, Gelpi E, Rosello-Catafau J, et al. Elevated levels of NAP-1/interleukin-8 are present in the airspaces of patients with the adult respiratory distress syndrome and are associated with increased mortality. *Am Rev Respir Dis* 1992;146:427-32.
- 118.** Takala A, Jousela I, Takkunen O, Kautiainen H, Jansson SE, Orpana A, et al. A prospective study of inflammatory markers in patients at risk of indirect acute lung injury. *Shock* 2002;17:252-7.
- 119.** Hartwig W, Carter EA, Jiménez RE, Jones R, Fischman AJ, Fernández-del Castillo C, et al. Neutrophil metabolic activity but not neutrophil sequestration reflects the development of pancre-