

Factori implicați în patogeneza pancreatitei acute

D. Cochior¹, S. Constantinoiu²

¹Clinica Chirurgie, Spitalul Clinic CF 2, București

²Clinica Chirurgie Generală și Esofagiană, Spitalul Clinic "Sf. Maria", Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" București

Rezumat

Cercetările fiziopatologice și moleculare au marcat înțelegerea evenimentelor primare ce au loc în declanșarea pancreatitei acute, cu toate că diagnosticul precoce în bolile pancreasului, în general, continuă să fie o sursă de frustrare în medicina modernă. Sunt prezentate noutățile legate de patogeneza (teoria colocalizării, teoria autoactivării tripsinogenului), locul de desfășurare a evenimentelor precoce (celula acinară pancreatică ce prezintă elementele "cheie" implicate: receptori muscarinici, membrana acinară, rolul calciului ionizat, fenomenul de apoptoză), evenimentele extracelulare în inițierea pancreatitei acute cu acordarea unui loc central activării enzimatice și apoi răspunsului inflamator sistemic. Aspectele legate de modificările microvasculare precoce, tulburările de tip ischemie-reperfuție și anomaliile sistemice microvasculare sunt atât de importante încât justifică conceptul terapeutic de protejare a microcirculației. Participarea sistemului monocit/macrofag, activarea excesivă a leucocitelor ce implică eliberarea și activarea enzimelor lizozomale și a radicalilor liberi de oxigen asociate mecanismului ischemie-reperfuție sunt definitorii pentru patogenia pancreatitei acute.

Cuvinte cheie: teorii patogenice, activare enzimatică, injurie locală, receptori muscarinici, membrană acinară, citokine, calciu ionizat, ischemie-reperfuție, stress oxidativ

Abstract

Factors involved in the pathogenesis of the acute pancreatitis

Pathophysiological and molecular research have marked the understanding of the primary events taking place in triggering acute pancreatitis, although the early diagnosis of pancreas diseases in general, continues to be a source of frustration in modern medicine. This presents the news about pathogenesis (co-localization theory, auto-activation theory of the tripsynogen), location of early events (acinar pancreatic cells which are the "key" involved: muscarinic receptors, acinar membrane, role of ionized calcium, the phenomenon of apoptosis), extracellular events in initiation of acute pancreatitis with the granting of a central place to enzyme activation and systemic inflammatory response. Aspects of early microvascular changes, disturbances of ischemia-reperfusion and systemic microvascular abnormalities are so important that justifies therapeutic concept of microcirculatory protection. Participation of monocyte/macrophage system, excessive activation of leukocytes that involving activation and release of lysosomal enzymes and oxygen free radicals associated with ischemia-reperfusion mechanism are defining for pathogenesis of acute pancreatitis.

Key words: pathogenic theory, enzymatic activation, local injury, muscarinic receptors, acinar membrane, cytokines, ionized calcium, ischemia-reperfusion, oxidative stress

Correspondență: Dr. Daniel Cochior
Clinica Chirurgie, Spitalul Clinic CF 2 București
Departamentul de Cercetare al Universității
"Titu Maiorescu", București
Bd. Mărăști 63, București
E-mail: daniel_cochior@yahoo.com

Introducere

Ca un rezultat al efortului interdisciplinar din ultimii 10-15 ani, a cercetărilor experimentale și clinice, s-a ajuns la o înțelegere mai aprofundată a fiziopatologiei acestei maladii, cu implicații directe în modificarea managementului terapeutic.

Cercetările fiziopatologice și moleculare au marcat înțelegerea evenimentelor primare ce au loc în declanșarea pancreatitei acute. Este bine cunoscut și studiat rolul agravant al sepsisului în necroza pancreatică. Sunt evaluate în prezent, cu rezultate încurajatoare, noi substanțe în vederea terapiei specifice. Se urmărește ca aceste medicamente să acționeze precoce, în prima fază a bolii, cu scop curativ sau de a reduce cât mai mult complicațiile fazei tardive. În descifrarea mecanismului patogenetic pancreatita acută experimentală ocupă un loc esențial.

Teorii patogenice recente

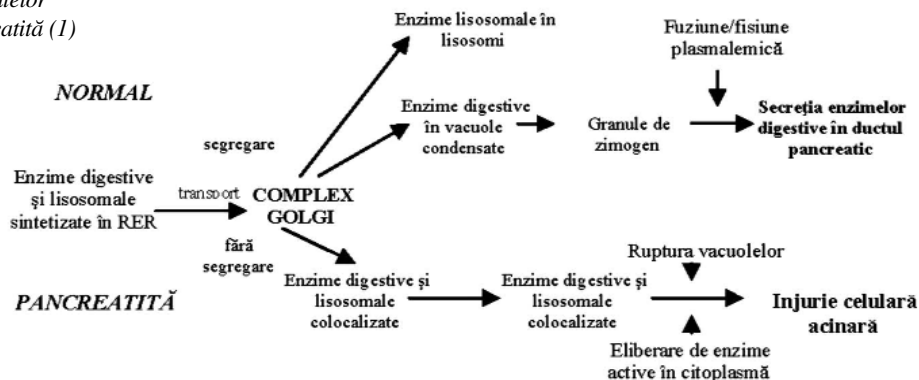
Teoria “autodigestiei” pancreatice a fost mult timp eclipsată de alte două teorii mai vechi: teoria “ductului biliar comun” (Opie), ce susține că existența unui canal comun biliar și pancreatic permite refluxul biliar în canalul pancreatic cu activarea enzimelor pancreatice și a doua teorie, a obstrucției și hipersecreției pancreatice (1). Recent, cercetările experimentale au sugerat că fragilizarea membranelor celulelor acinare sau o cale incompletă de stocare ar determina eliberarea hidrolazelor lizozomale și colocalizarea lor cu proenzimele pancreatice stocate celular (teoria colocalizării) cu eliberarea unor mici cantități de tripsină, și care, la rândul ei, declanșează cascada activărilor și autoactivărilor enzimatică (1,2). Majoritatea studiilor arată că modificările din fazele incipiente ale pancreatitei acute implică celulele acinare și toate aceste modificări au ca rezultat injuria celulară acinară (3). Celula acinară pancreatică este extrem de activă în sinteza proteică, majoritatea proteinelor sintetizate fiind enzime digestive sub formă inactivă sau zimogene ce urmează a fi activate în duoden. Enteropeptidaza activează tripsinogenul în tripsină, iar aceasta deschide cascada activărilor enzimatică. S-a demonstrat că segregarea (separarea) enzimelor zimogene digestive de hidrolazele lizozomale este perturbată, și ca atare zimogenele și hidrolazele lizozomale devin colocalizate în organellele intracelulare fragile (1,4) (Fig. 1).

Deoarece catepsina B poate activa tripsinogenul în tripsină, și aceasta la rândul său celelalte zimogene, s-a ajuns la concluzia că fenomenul colocalizării conduce la o activare enzimatică prematură, intracelulară determinând injurie celulară acinară și, în final, pancreatită. Activarea enzimelor digestive în primele

etape ale pancreatitei ar trebui să aibă loc în interiorul compartimentului acinar, mai precis într-o arie a acestuia bogată atât în zimogene cât și în hidrolaze lizozomale. Acest compartiment a putut fi izolat experimental prin centrifugare diferențiată a omogenatului de pancreas la 1200 x g. Adicional, tripsinogenul, peptidele activate, fragmente mici moleculare ce se eliberează în timpul activării tripsinogenului au fost determinate cantitativ prin ELISA. S-a descoperit că tripsina și TAP (peptida activatoare a tripsinogenului) liber apar prima dată în fracțiile de la 1200xg, fracții ce sunt în mod normal bogate în zimogene și că acesta este locul colocalizării zimogene/hidrolaze lizozomale. Mai târziu, atât tripsina liberă cât și TAP au fost foarte concentrate în fracțiile solubile, citoplasmatică. Aceste rezultate arată că activarea tripsinogenului pentru inițierea pancreatitei acute are loc în fracțiile ce au colocalizate enzimele zimogene și hidrolazele lizozomale, și, că activarea tripsinogenului împreună cu eliberarea TAP are loc în spațiul citoplasmatic.

Teoria autoactivării tripsinogenului postulează că activarea tripsinogenului se produce pe cale normală la un pH scăzut și devine patologică numai în condițiile unei blocade secretorii (3,4). În condiții normale, o fracție din tripsinogenul uman se autoactivează în tripsină. Aceasta poate cataliza cascada activării tripsinogenului precum și a altor proenzime ducând la autodigestie glandulară. Acest proces este controlat de cel puțin 2 mecanisme de apărare. Primul este secreția de inhibitor al tripsinei pancreatice (PSTI). Când nivelul activității tripsinei este mic, PSTI inhibă tripsina și previne auto-activarea acesteia și a altor proenzime (5). În timpul unei activări excesive a tripsinogenului, capacitatea PSTI este depășită și activitatea tripsinică crește. Al doilea mecanism de apărare este reprezentat de tripsină. Pentru a preveni activarea enzimatică necontrolată există un mecanism de feedback, hidrolazele legându-se la tripsină prin intermediul unui lanț proteic denumit R122H. Unele studii recente sugerează că activarea prematură a tripsinei joacă un rol esențial în patogenia pancreatitei acute la om (6). S-au descoperit mutații în structura tripsinogenului ce au ca rezultat creșterea rezistenței la inactivare la pacienți cu pancreatită ereditară. În timpul activării excesive a tripsinogenului locul R122H este mutat, și de aceea cantitatea de tripsină nu poate fi controlată conducând la autodigestia glandei pancreatice.

Figura 1. Schema teoretică a evenimentelor celulare ce conduc la pancreatită (1)



În general, trei factori principali sunt implicați în patogenie: activarea intrapancreatică a enzimelor digestive, stimularea excesivă a celulelor inflamatorii și fenomene vasculare. Fiziologic, granulele de zimogen sunt secretate prin exocitoză în canalul excretor pancreatic, și de aici în lumenul duodenal, unde enterokinaza activează tripsinogenul în tripsină și care, la rândul său, determină activarea celorlalte zimogene. Conform teoriei colocalizării se asistă la o fuziune prematură a sistemului lizozomal cu granulele zimogene, realizând fenomenul de crinofagie, prin care are loc activarea tripsinogenului (1). Tripsina fiind produsă în cantitate excesivă se constată dezechilibrul balanței proteaze-antiproteaze prin consum de inhibitori tripsinici specifici (PSTI) și nespecifici ($\alpha 1$ anti-tripsină și $\alpha 2$ macroglobulină). Aceasta va activa alte zimogene (chimotripsinogen, proelastaza, fosfolipaza) ca și diverse sisteme de proteaze (complement, kinine, factori ai coagulării și fibrinolizei) declanșând o puternică reacție inflamatorie. Eliberarea diferiților mediatori (factorul activator plachetar-PAF, citokine, prostaglandine, leucotriene) stimulează producerea de proteine de fază acută (antiproteaze endogene, proteina C reactivă-CPR) și activarea granulocitelor și macrofagelor în pancreas și peripancreatic (4). Degradarea celulară va duce la eliberarea de enzime proteo- și lipolitice (elastaza polimorfonucleară-PMN-e), IL-6 generând producerea de radicali liberi de oxigen în cantitate excesivă, peste puterea de neutralizare naturală. Aceste activări în cascadă, cu debut în celulele acinare, cuprind rapid glanda pancreatică în totalitate precum și regiunea peripancreatică. Transportul secundar în circulația sistemică a numeroase substanțe produse în cursul reacției inflamatorii va antrena complicații la distanță: insuficiență cardio-circulatorie, sindrom de detresă respiratorie acută (ARDS), coagulare intravasculară diseminată, insuficiență renală acută, disfuncție multiplă de organe (MODS) (7). Ansamblul acestor date fiziopatologice permit înțelegerea interesului acordat în dozarea markerilor biologici (CPR, interleukine, PMN-e, fosfolipaza A2). Cinetica apariției acestor markeri reprezintă, fără nici un dubiu, un progres pentru precocitatea diagnosticului de severitate, prognostic și de aplicare rapidă a măsurilor terapeutice impuse.

Conceptul permeabilității ductale. Una din teoriile ce dorește explicarea patogeniei pancreatitei acute se bazează pe o serie de observații concentrate asupra existenței permeabilității ductale pancreatice și altele care analizează alterarea acestei permeabilități. Ductul pancreatic este o membrană semipermeabilă, moderat permeabilă la ioni mici organici și anorganici (Cl^- , HCO_3^-) și esențial impermeabilă la molecule mari, ca enzime pancreatice. Modificările de permeabilitate ductală ce au loc în timpul pancreatitei acute sunt acompaniate de schimbări ale permeabilității vasculare și studii recente au analizat mai atent aceste fenomene (8). După expunerea la săruri biliare, au fost găsite prin microscopie electronică evidențe ale injuriei tisulare, ce includ: disrupții ale joncțiunilor intercelulare, umflarea spațiilor intercelulare, fragmentări și separări ale membranei bazale epiteliale și inflamație periductală. Agenții farmacologici care cresc permeabilitatea vasculară și fluxul sanguin

convertesc pancreatita edematoasă în forme severe. Este atractiv de a considera relație de cauzalitate directă cu pancreatita creșterea permeabilității ductale întâlnită frecvent într-o serie de afecțiuni umane: reflux biliar ductal, alcoolism, hipercalemie, post ERCP.

Secvențe patologice precoce intracelulare în pancreatita acută

Controlul parasimpatic al pancreasului exocrin are o importanță particulară, sistemul cholinergic fiind mediat prin activarea receptorilor muscarinici de la nivelul celulelor acinare. Stimularea cholinergică are un rol central în reglarea parasimpatică a secreției pancreatice, via nucleii vagali, ganglioni celiaci și/sau intrapancreatici, sau activarea directă a receptorilor muscarinici ai celulelor acinare pancreatice. Datele farmacologice și moleculare au demonstrat prezența subtipurilor $m1$ și $m3$ în celulele acinare pancreatice. Stimularea cholinergică poate contribui la patogenia pancreatitei cum este cea indusă de alcool, veninul de scorpion și de inhibitorii de cholinesterază. Hiperstimularea cholinergică acinară conduce la amplificarea ambelor procese asupra zimogenelor pancreatice și injurie celulară.

Lezarea ultrastructurii membranare acinare

Injecția retrogradă de taurocolat și administrarea în doză supramaximală a caeruleinei (CR-derivat de CCK) determină leziuni ale membranei celulelor acinare constatate prin penetrarea albuminei circulante în citosol. Supraviețuirea celulară este posibilă prin refacere membranară, atât fizic cât și funcțional și prin recuperarea capacității de transmisie selectivă a ionilor și moleculelor (9).

Importanța ionului de Ca^{2+} în pancreatita acută

Secreția enzimelor digestive din acinii pancreatici este un proces Ca-dependent. Secretagoge majore, Ach și CCK, induc semnale de Ca^{2+} în citoplasma acinară, semnale ce sunt polarizate. Calmodulina este unul din cei mai importanți și ubiquitari mediatori ai cascadei semnalelor de Ca^{2+} . Rolul cheie în controlul secreției normale a celulelor acinare pancreatice îi revine calciului citosolic. Restul $[\text{Ca}^{2+}]_i$ este păstrat la concentrații joase, cu oscilații locale, la polul apical, ale semnalelor de Ca^{2+} pentru o stimulare normală a secreției.

Unul din primele evenimente observate în timpul stimulării supramaximale cu secretagoge, și care induce pancreatita acută in vivo, este creșterea susținută a $[\text{Ca}^{2+}]_i$, inițiată la polul apical, apoi globală. Pare logic să se afirme că o creștere anormală a $[\text{Ca}^{2+}]_i$ determină inițierea injuriilor celulare în pancreatita acută (9). Una din ipotezele fiziopatologice ale pancreatitei acute etanolică este distrugerea legăturilor de Ca^{2+} normale la nivel celular. La cei cu coledocolitiază sau alte cauze de hipertensiune ductală, creșterea presiunii în ductul pancreatic interferă cu extruzia Ca^{2+} din regiunea apicală în lumenul ductal acinar, ce are loc în mod fiziologic ducând la creșteri ale $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Alte cauze ale pancreatitei acute cum sunt hipoxia, dislipidemiile, infecții și droguri cu efecte anti-

cholinesterazice au efecte nocive prin determinări de comportament anormal în homeostazia $[Ca^{2+}]_i$ (10).

Calciul citosolic ($[Ca^{2+}]_i$) are rolul principal în controlul funcțiilor normale acinare, și, de asemenea, în inițierea injuriei celulare acinare. Steer și colaboratorii (1,2) au lansat un concept interesant în explicarea diferențelor patogenice între forma edematoasă și cea necrotică a pancreatitei acute. Inducerea apoptozei reduce severitatea pancreatitei experimentale posibil prin îndepărtarea la timp a celulelor acinare lezate.

Factori extracelulari implicați în patogeneza pancreatitei acute

Activarea enzimatică

Tripsina este cheia enzimatică pentru activarea rapidă a tuturor proenzimelor, inclusiv cea proprie – tripsinogenul. Tripsinogenul este activat prin clivaj proteolitic sub influența peptidei activatoare tripsinogene (TAP) (11,12). Datorită acestor funcții lipolitice și proteolitice, enzimele secretate au o mare capacitate distructivă (autodigestivă). Transportul intracelular compartimentat, sinteza și secreția enzimelor sub formă de zimogen inactiv, prezența proteazelor inhibitorii intracelulare (PSTI) și în sânge (α_1 antitripsina și α_2 macroglobulina) reprezintă un important mecanism de protecție (13). Faza inițială a evenimentelor declanșatoare are, în cea mai mare parte, origine extrapancreatică. Clinic, cele mai importante par a fi, pasajul calculilor la nivelul căii biliare principale și ingestia de alcool. Deși asocierea clinică între pancreatita acută, patologia biliară și ingestia de etanol a fost bine stabilită, mecanismul intim al acestor asocieri nu este complet elucidat. Severitatea pancreatitei experimentale s-a corelat direct cu durata obstrucției realizate pe calea biliară principală (14). Activarea tripsinogenului, mediată de hidrolazele lizozomale (catepsina B) în interiorul celulelor acinare, pare a fi evenimentul precoce și critic ce conduce la injuria celulară. Distrugerea celulelor acinare după activarea prematură a proteazelor este rezultatul interacțiunii dintre enzimele digestive și cele lizozomale, proteazele activate ajungând în interstițiul pancreatic. Odată ajuns extracelular în interstițiul pancreatic, retroperitoneal, în cavitatea peritoneală și în circulație – ele determină leziuni de necroză și o varietate de evenimente, ce includ autodigestia locală prin lipaze și proteaze (15). În pancreatita acută hidrolazele lizozomale se găsesc în jurul pancreasului, spațiul retroperitoneal, peritoneal, pericard, cavitate pleurală și mediastin. În lichidul peritoneal obținut de la pacienți cu pancreatită acută etanolică s-au găsit nivele ridicate de proteine, α_1 -antitripsină, α_2 -macroglobulină, amilaza, elastaza 2 imunoreactivă și hidrolaze lizozomale. Aceste enzime activate vor digera structurile tisulare și vasculare și vor decarboxila histidina în histamină. Perturbările vasomotorii (vasodilație, creșterea permeabilității capilare) sunt întreținute și exacerbate de activarea sistemelor kalikreinogen-kalikreină și bradikininogen-bradikinină, cu rol chemotactic leucocitar (PMN și macrofage). Reacția inflamatorie nespecifică declanșată determină eliberarea de mediatori cu acțiune locală și la distanță (derivați ai acidului arahidonic din membranele celulare distruse sub acțiunea lizolecitinei mediată de PLA2) și superoxizi (din

oxidarea acizilor grași liberi sub acțiunea xantin-oxidazei stimulate), și care în combinație cu NaCl determină apariția acidului hipocloros toxic, cu rol în neutralizarea antiproteazelor tisulare și favorizează transformarea tripsinogenului în tripsină (cerc vicios) (16).

Creșterea permeabilității capilare explică fuga extravasculară a plasmiei, care împreună cu hematumul retroperitoneal sunt responsabile de reducerea volemiei și producerea stării de șoc. Difuziunea sucului pancreatic se face prin intermediul țesutului conjunctiv din aproape în aproape, pornind din țesutul periacinos al pancreasului și ajungând în regiunile cele mai îndepărtate. Enzimele pancreatice digestive explică numai parțial patogeneza pancreatitei acute complicate. Eliberarea unui set larg de mediatori ai inflamației este un alt mecanism important (17). Cascada citokinelor proinflamatorii urmează injuriei celulare acinare. Inflamația, inițial localizată la organ, ca un răspuns de protecție, devine generală și controlată de locul injuriei tisulare. Pierderea controlului local determină o activare excesivă, necontrolată a celulelor inflamatorii și mediatorilor, și care clinic este tradusă prin SIRS cu dezvoltarea disfuncțiilor de organe, inclusiv ARDS, șoc, insuficiență renală și MODS.

Injuria locală

Metaboliții rezultați de nivelul acinilor pancreatici eliberează radicali liberi ai oxigenului (OFRs) care activează direct neutrofilele și au proprietăți chemotactice pentru toate neutrofilele din zonă (1).

Activarea locală a neutrofilelor determină, prin sine, eliberarea și mai multor OFRs precum și PLA2 ce catalizează eliberarea PAF din membranele fosfolipidice. Mai mult, celulele acinare pancreatice conțin PLA2 și când membrana celulară este lezată, enzimele activate sunt capabile să elibereze local PAF. PAF are trei mari acțiuni, ceea ce îi conferă o importanță deosebită în acest context: activează neutrofilele determinând o buclă de feedback pozitiv, crește permeabilitatea endoteliului capilar, conduce la extravazarea fluidului din circulația locală producând edem și eliberare sistemică de alți mediatori ai inflamației. Ca rezultat al eliberării enzimelor activate și a PAF, dar mai ales determinată de migrarea și activarea neutrofilelor pancreatice, are loc activarea sistemică a neutrofilelor și monocitelor. Acestea contribuie la efectul sistemic ce caracterizează SIRS. Are loc o creștere generalizată a permeabilității capilare (ca efect al neutrofilelor activate) și eliberare de PAF. Acestea conduc la hipovolemie cu hipotensiune, creșterea cantității de lichid interstițial pulmonar, determină alterări ale transferurilor de gaze și hipoxemie. Consecința este reducerea perfuziei și a cantității de oxigen transportat la organele vitale traduse prin alterări ale funcției renale și ischemie intestinală. Ischemia relativă a mucoasei gastro-intestinale reduce capacitatea de apărare a barierei mucoase, cu absorbție de endotoxine și translocare a bacteriilor din lumen în lichidul interstițial, limfatic și circulator (18). Această ipoteză a patogenezei pancreatitei acute se bazează pe evidențe experimentale și constatări clinice.

Rolul activării fagocitelor

Leucocitele activate (PMN granulocitare și macrofage) duc la creșterea agregării leucocitare și infiltrare tisulară în interiorul microcirculației, unde aceste leucocite cresc producția de citokine și alți mediatori inflamatori, inclusiv prostaglandine, leukotriene, tramboxani, factorul activator plachetar (PAF), radicali liberi de oxigen (OFRs), oxid nitric și proteaze (catepsine, elastaze) (19,20). Factorii eliberați prin activarea leucocitară reflectă astfel severitatea afecțiunii (21). Activarea monocitelor și creșterea secreției citokinelor proinflamatorii sunt asociate cu dezvoltarea complicațiilor sistemice în pancreatita acută, și care se produce precoce în evoluția afecțiunii.

Această asociere sugerează că fagocitele mononucleare activate pot juca un rol important în fiziopatologia disfuncțiilor de organe la acești bolnavi. Cea mai abundentă enzimă proteolitică a neutrofilelor umane este elastaza, ce devine un marker specific al activării neutrofilelor a cărei concentrație plasmatică crește în pancreatita acută (21,22).

Selectinele

Legarea inițială și alunecarea subsecvențială la endoteliul activat, ambele procese reversibile, sunt mediate de familia selectinelor din moleculele de aderență (23). Familia selectinelor este compusă din trei receptori distincți de carbohidrat exprimați fiecare prin celule endoteliale (E-selectin), leucocite (L-selectin) sau plachete și endoteliu (P-selectin) (24). Selectina E solubilă (sE-selectin) este un marker al activării endoteliului vascular și concentrația sa plasmatică este crescută la pacienții cu SIRS și mai ales în MODS. Nivelul sE-selectin crește, de asemenea, la pacienții cu pancreatită acută severă (25).

Integrinele

După activarea leucocitară și alunecarea în lungul endoteliului ca expresie a activității selectinelor, familia integrinelor reglează fiecare etapă a aderenței la endoteliul activat. Integrinele reglează astfel migrarea leucocitară în țesuturi, degranularea lor și fagocitoza. Integrinele cuprind un grup larg de receptori ai aderenței și se găsesc în majoritatea tipurilor de celule, inclusiv leucocite. Integrinele au un heterodimer necovalent compus dintr-o familie de trei subunități (CD11a,b și c). Important, creșterea CD11b/CD18 poate preconiza dezvoltarea MODS la pacienții cu sepsis (26). ICAM-1, liantul endotelial pentru complexul CD11b/CD18, a fost crescut în serul pacienților cu pancreatită acută severă (27).

Citokinele

Din punct de vedere al citokinelor proinflamatorii, SIRS poate fi împărțit în trei stadii (28,29).

Stadiul 1 cuprinde producția de citokine ca răspuns la injurie sau infecție la locul inflamației. Stadiul 2 cuprinde eliberarea factorilor de protecție în cantitate mică, în circulație. Stadiul 3 este insuficiența homeostatică cu o masivă reacție sistemică când citokinele devin mai curând distructive decât protectoare. Toate citokinele își exercită acțiunea prin legarea la receptori specifici de suprafața celulari. În modelul experimental al pancreatitei acute, s-a demonstrat în mod concludent că

TNF- α , IL-1 și IL-6 sunt sintetizate, de asemenea, și în afara parenchimului pancreatic. Acest fenomen are loc la o oră după inducerea pancreatitei acute și se acompaniază de schimbări apreciabile în histologia pancreatică (30). IL-1 și TNF- α au ca inductori primari producția de IL-6 și IL-8 și ambele se produc sistematic în timpul pancreatitei acute. Adicional capacității citokinelor de a determina aglomerarea leucocitară la locul inflamației, citokinele proinflamatorii induc, de asemenea, aderența celulară moleculară, locală și sistemică, cresc permeabilitatea capilară, aderența leucocitară și extravazarea, conduc la secreția proteinelor de fază acută în ficat, și astfel joacă un rol important în manifestările sistemice ale pancreatitei acute și MODS (17). TNF- α poate fi unul din cei mai importanți mediatori ai inflamației în pancreatita acută, iar concentrația sa serică poate fi corelată cu severitatea bolii (29,31) și complicațiile sistemice (32). IL-6 este principalul mediator citokinic al fazei acute de răspuns (33) și este produsă de monocite, macrofage și celule endoteliale (34). IL-6 reprezintă o măsură a citokinelor proinflamatorii activate sistemic (35). Nivelul seric al IL-6 reflectă, de asemenea, severitatea pancreatitei acute, creșterea acestuia producându-se cu 24-36 de ore înaintea proteinei C reactive (36). IL-8 este mediatorul secundar al activării neutrofilelor induse de TNF- α (19). Este un agent chemotactic pentru neutrofile și joacă un rol semnificativ în dezvoltarea MODS, în special în injuria acută pulmonară, asociată cu sepsis. În pancreatita acută severă nivelul IL-8 apare corelat strâns cu producerea de IL-6 (32,34). IL-10, cea mai importantă citokină antiinflamatorie, este produsă de celulele T, B, monocite și macrofage. În contrast cu producerea unui număr mare de citokine proinflamatorii ca IL-1, TNF- α , IL-6 și IL-8, IL-10 reprezintă principalul factor al feedback-ului endogen în răspunsul imun și inflamație (37). IL-11 este rareori măsurabilă în circulație, concentrațiile sale fiind corelate cu severitatea pancreatitei acute (38). Ca și IL-10, IL-13 inhibă puternic secreția de citokine proinflamatorii a monocitelor (35,39).

Microcirculația: factor inițiator sau agravant?

În afara factorilor vasculari distincți, generatori ai pancreatitei acute (vasculite, embolii aterosclerotice) semnificația fenomenelor microcirculatorii ce determină hipoxie sau anoxie tisulară au fost reluate în considerare ca factori patogenici. Este meritul lui Warshaw și colaboratorii (40) de a demonstra evidența clinică a înaltei susceptibilități a glandei pancreatice la hipoperfuzie sau injurie ischemică, prin studii experimentale în care s-a constatat asocierea pancreatitei acute cu alterări profunde microcirculatorii. Prin injecții intra-arteriale de albastru de metilen, tuș de India sau agenți de polimerizare, vasoconstricția arteriolelor intralobulare a fost observată în regiunile tisulare pancreatice cu injurie severă (la 3 – 24 de ore după inducerea pancreatitei acute), iar vasodilatația arteriolară a fost regăsită în regiunile mai puțin afectate, ceea ce indică heterogenitatea spațială a procesului patologic cu focare ischemice și arii de răspuns hiperemic (41). Analiza optică și electron-microscopică cu rezoluție înaltă a microvascularizației pancreatice a relevat o marcată reducere a numărului capilarelor sanguine perfuzate (42). Investigații experimentale de fluxmetrie electro-magnetică și cu microsferă radioactive confirmă

dereglarea microperfuziei în pancreatita acută. Evaluarea fluxului sanguin total pancreatic nu este în măsură să elucideze patogenia pancreatitei acute, deoarece rezultatele nu reflectă anormalitățile mari în distribuția fluxului sanguin ce au loc în interiorul glandei și nu detectează potențialul funcțional al șunturilor arterio-venoase din paturile capilare nutritive (43). Disfuncționalitatea microcirculatorie în timpul inducerii pancreatitei acute, constând, în special, în insuficiența perfuziei nutritive capilare și aderență leucocitară microvasculară, este similară evenimentelor microcirculatorii din ischemie – reperfuție observate la alte organe ca ficat, intestin, mușchi striat și piele.

Evenimentele biochimice la nivel celular acinar în pancreatita acută experimentală, prin generare de radicali liberi de oxigen, se aseamănă cu mecanismul ischemiei-reperfuției având consecințe locale și sistemice.

Pancreatitele fulminante par a fi consecința unei stimulări excesive leucocitare ce implică eliberarea și acțiunea enzimelor lizozomale și a radicalilor liberi de oxigen (OFRs). Astfel ipoteza patogenică ce implică ischemia-reperfuția asociate evenimentelor inductoare de pancreatită acută, capătă noi valențe (41). Date ale studiilor viitoare privind ischemia-reperfuția în pancreatita acută și care urmăresc permeabilitatea capilară, activarea neutrofilică, hipoperfuzia tisulară din stadii incipiente, vor fi suport pentru ipoteza recent emisă de Formela și colaboratorii (44) privind rolul inițiator al acestor fenomene în patogenie. Mai mult, hipotensiunea hemoragică, ca țintă a manifestărilor în pancreatită, nu poate determina singură insuficiență microcirculatorie, ci un flux scăzut cu hipoxie, dar, așa cum s-a arătat recent, induce perfuzie tisulară intermitentă prin reflexe vasomotorii. Aceste manifestări, asociate cel puțin zonal cu ischemie-reperfuție, induc un răspuns inflamator cu potențial evolutiv al leziunilor de pancreatită acută (41). Este astfel evident, că și etanolul, cunoscut ca o cauză majoră a pancreatitei acute, poate singur contribui la dezvoltarea și întreținerea acestei boli, exercitând injurii de ischemie-reperfuție cronică asupra glandei (45). Modul precis de acțiune al acestuia asupra glandei pancreatice nu este definitiv elucidat, știindu-se că acesta determină vasoconstricție endotelin-1 dependentă în circulația splanhnică și portală (46). Insuficiența perfuziei microvasculare, activarea leucocitară și aderarea la endoteliul vascular, împreună realizând eliberarea de mediatori citotoxici, ca leucotriene și OFRs, conduc la ipoteza injuriei de reperfuție în patogenia acestei boli. O nouă concepție asupra protecției microcirculatorii pancreatice se referă la blocarea mediatorilor vasoactivi, responsabili de reducerea perfuziei locale și perturbări microcirculatorii nutriționale. Înafară de PAF (47), endotelina a fost considerată recent un candidat atractiv pentru medierea sechelelor vasculare din pancreatita acută severă (48,49). Inițial descrisă în 1988 ca vasoconstrictor, endotelina este considerată azi o citokină polifuncțională (50). Este eliberată din celulele endoteliale sub influența a numeroși factori (injurie, ischemie, catecolamine, interleukine) și poate afecta direct perfuzia regională printr-un mecanism endoluminal, parțial cunoscut, ce implică schimbări în permeabilitatea vasculară și interacțiunea leucocite-endoteliu. Investigații recente atribuie pancreasului o susceptibilitate marcată la

acțiunea endotelinei.

De exemplu, endotelina exogenă într-o anumită doză, nu afectează hemodinamica sistemică, dar la nivel pancreatic reduce perfuzia tisulară și agravează pancreatita acută experimentală (49). Deoarece studiile sugerează existența unor concentrații crescute ale acesteia la pacienții cu pancreatită acută severă, ca și la cei cu instabilitate hemodinamică și sepsis, s-a speculat ideea că endotelina este unul din factorii promotori ai injuriei tisulare locale. Dacă injuria celulară acinară nu poate fi detectată prin proceduri imagistice, sechelele eliberării și acțiunii enzimelor și mediatorilor vasoactivi sunt vizibile prin tomografie computerizată cu contrast înalt la pacienți și prin microscopie intraperitoneală la animalele de experiență cu pancreatită severă. Dovezile experimentale și clinice sugerează că leziunile microcirculatorii, cu efect negativ asupra perfuziei tisulare, preced manifestările necrozei pancreatice extensive. Pacienții care au suferit intervenții chirurgicale la 1-2 zile după declanșarea pancreatitei fulminante au țesut pancreatic viabil chiar dacă tomografia arată că pancreasul este lipsit de irigație. Reperfuzat la timp, țesutul ischemic poate fi recuperat (50,51). În studiul efectuat de Klöppel și Maillot (52) s-a constatat că necroza se dezvoltă predominant în zona periferică lobulară, în special în jurul arteriolelor nutritive, ceea ce sugerează că efectul diferiților factori cauzatori ai necrozei sunt mediați de modificări ale microcirculației, astfel că ischemia și dezechilibrul microcirculator au rol decisiv în dezvoltarea necrozei pancreatice (15,47,50). Stabilizarea circulației splanhnice și creșterea fluxului sanguin microcirculator pancreatic a fost sugerat ca un control terapeutic al leziunilor evolutive necrotice în pancreatita severă (50).

Evidențele clinice și experimentale au demonstrat eficiența corectării hematocritului și a fluxului local, precum și beneficiul substanțelor coloidale cu greutate moleculară mică, dextran și hidroxietilamidon, datorită proprietăților reologice la nivel capilar, mult mai bune decât a substanțelor cristaloidale. Acest concept nou de protejare a microcirculației pancreatice a fost adoptat recent de mai multe echipe experimentale.

Rolul stress-ului oxidativ

Stress-ul oxidativ este un factor important în patogenia pancreatitei, demonstrat atât in vivo cât și in vitro prin potențialul lezional al acestora asupra celulelor acinare. Nu este pe deplin lămurit dacă radicalii liberi de oxigen (OFRs-oxygen free radicals) acționează ca mediatori sau sunt inițiatori ai evenimentelor în pancreatită (53). În condiții normale, aproximativ 95% din oxigenul molecular al sistemului biologic suferă reducții controlate în sistemul citocrom-oxidazei mitocondriale pentru a forma apa (reducție tetravalentă). Restul, suferă reducții univalente apărând intermediari parțial reduși, cunoscuți ca tipuri de oxigen reactiv sau ROS (reactive oxygen species) ca anionul superoxid (O_2^-), hidrogen peroxid (H_2O_2) și radicalul hidroxil (OH). Înafara mitocondriilor, ce sunt cea mai importantă sursă biologică de ROS, mai sunt xantin-oxidaza, leucocitele activate, prostaglandin-sintetaza și catecolaminele auto-oxidante. Dintre acestea cea mai importantă sursă în stările patologice este xantin-oxidaza și leucocitele activate. În

procesul de peroxidare lipidică oxidările multiradicale ale catenelor lungi polinesaturate din acizii grași determină formarea de radicali lipidici peroxidați cu o intensă activitate în lezarea structurilor lipidice membranare (53). Sistemul de apărare a evoluat natural prin a contracara efectele citotoxice ale ROS (54). Primul sistem de apărare provine din enzime metabolice ca superoxid dismutaza (SOD), catalaza (CAT) și glutathion peroxidaza (GSH-peroxidase-GP). A doua linie de apărare împotriva injuriilor celulare induse de oxidanți sunt metaboliți cu greutate moleculară joasă ca thiolii, glutathion redusă (GSH), tocoferolul (vitamina E), carotenoidele, acidul ascorbic (vitamina C), acidul uric, metionina și taurina. Dacă antioxidanții celulari sunt insuficienți sau rata producției ROS depășește capacitatea mecanismelor antioxidante, se dezvoltă stress-ul oxidativ. Locul principal de producere în exces a ROS este predominant intracelular dar producția extracelulară poate deveni importantă în injurii tisulare subsecvențiale (53). Din multitudinea de surse generatoare ROS, xantin-oxidaza din celulele acinare și endoteliale, precum și leucocitele activate sunt ferm implicate în leziuni tisulare asociate ischemiei-reperfuziei și inflamației. Generarea intracelulară a ROS concomitent cu enzimele digestive crește permeabilitatea celulară, cu activare enzimatică și inducerea factorilor chemotactici în spațiile interstițiale și vasculare. Simultan secreția de PAF determină eliberarea de mediatori ai inflamației ce determină activarea neutrofilică în țesutul pancreatic cu perturbări microcirculatorii. Consecvent, invadarea endotelială de neutrofilele activate generează xantin-oxidază cu producere de ROS (cerc vicios) (54). Luate împreună, acestea sunt evidențe clare, ale participării stress-ului oxidativ în fazele incipiente ale pancreatitei induse experimental. Din această perspectivă, tratamentul cu antioxidanți și antagoniști PAF pare a fi de bun augur, chiar dacă, din nefericire, acesta este restrâns, deocamdată, numai la fazele incipiente ale pancreatitei.

Rolul oxidului nitric endogen

Oxidul nitric (NO) este unicul mediator biologic implicat în multiple procese fiziologice și fiziopatologice, cu o influență marcată asupra dezvoltării pancreatitei acute și a procesului de recuperare (55). Rezultatele obținute în studii recente ce au evaluat efectul inhibitorului sintezei de NO sau a substratului producției endogene de NO asupra ultrastructurii celulelor acinare indică cert că inhibarea sintezei NO crește alterarea degenerativă a ultrastructurii celulelor acinare în cursul pancreatitei acute induse prin caeruleină și confirmă rolul protectiv al NO endogen în această maladie (55,56). De asemenea, NO pare a fi implicat și în influențarea mecanismului translocației bacteriene atât prin acțiunea sa direct bactericidă, cât și prin îmbunătățirea fluxului sanguin pancreatic (57).

Rolul fosfolipazei A2 (PLA2)

PLA2 are un rol central în metabolismul acidului arahidonic. După activarea PLA2 prin receptori membranari diferiți, acidul arahidonic și lizofosfolipidele sunt eliberate din fosfolipide.

Acidul arahidonic este precursor al eicosanoidelor, rezultate ca metaboliți precum prostaglandinele, leucotrienele,

tromboxanii, prostacilinele, kininele, histamina și factorul activator plachetar, toate sub acțiunea lipooxigenazei și ciclooxigenazei (58). În pancreatita acută PLA2 este responsabilă de complicațiile locale și sistemice, în special leziuni pulmonare și renale. Insuficiența pulmonară dezvoltată ca ARDS în pancreatita acută are ca substrat patogenetic distrugerea surfactantului alveolar, corelații strânse fiind găsite între activitatea serică a PLA2 și severitatea insuficienței pulmonare (59,60). În plus, PLA2 ar fi responsabilă de dezvoltarea insuficienței renale la pacienții cu pancreatită acută, tubii proximali fiind degradați prin acțiune directă, fiind factor determinant și agravant (61).

Strategia tratamentului cu anticitokine

Odată cu creșterea evidentă a importanței activării cascadei citokinelor în fiziopatologia sepsisului a crescut și interesul pentru găsirea unei soluții terapeutice de a întrerupe această cascadă. În mod curent, se folosește un trial terapeutic anticitokinic, revizuit recent (7,18). Strategia terapeutică cuprinde trei principii evaluate în sepsisul uman: blocarea efectului endotoxinic cu anticorpi mono- sau policlonali; blocarea efectelor TNF α cu anticorpi anti-TNF α sau cu receptori TNF α artificiali; blocarea acțiunii IL-1 cu IL-1ra. La această dată terapia cu "trial anticitokinic" este relativ descurajatoare în privința identificării tratamentului care să crească rata supraviețuirii în sepsisul grav, declanșat.

În mod cert, aceste principii sunt valabile în primii pași ai tratamentului în sepsis, dar, odată cascada citokinelor activată, intervenția de scădere a activității citokinelor proximale este insuficientă pentru a îmbunătăți rezultatele terapeutice în mod semnificativ. Terapia descrisă de modularea a cascadei citokinelor este în mod cert atractivă și poate fi benefică în sepsis.

Regenerarea după pancreatita acută

Mecanismul ce conduce la o completă regenerare pancreatică după inflamația acută este fascinant dar greu de lămurit. Studii recente și-au îndreptat atenția către importanța factorilor de creștere peptidici în reglarea acestui mecanism. Importanța acestora în regenerare a fost studiată numai în modele experimentale ca pancreatita acută indusă prin caeruleină la cobai și experimente in vitro, pe culturi celulare. În aceste arii proliferarea fibroblaștilor și producția de collagen se poate observa, având ca rezultat o fibroză pasageră. Mai târziu, această matrice extracelulară (ECM) este degradată și după câteva săptămâni poate fi găsită o completă regenerare structurală și funcțională pancreatică (62). Aceste țesuturi de legătură ce înlocuiesc pasager zone pancreatice sunt rezultatul biosintezii și depozitării alterate precum și distrugerii matricei proteice extracelulare, a collagenului tip I, tip II, fibronectinei, collagenului inferior tip IV și lamininei. Mediatorii fibrozei din timpul regenerării în multe țesuturi, ca ficat, rinichi, piele, conțin TGF β (transforming growth factors beta). Recent, Friess și colaboratorii (63) sugerează că TGF β induce stimularea autocrină a celulelor acinare și ductale pancreatice (62). Fibroblaștii sunt posibilele celule țintă pentru TGF β și sursă de collagen în regenerare. Stimularea fibroblaștilor pancreatici in vitro cu TGF β duce la o creștere dependentă de doză a colage-

nilor tip I și II, fibronectinei mRNA și nivelului proteic.

Semnalul factorului de creștere via tyrosin-kinază reprezintă un alt grup important de regulatori (62). Factori variați au fost descriși ca fiind implicați în reglarea creșterii și diferențierii celulare în timpul dezvoltării, dar tot mai multe informații survin în legătură cu funcția acestora în regenerare. Factorul de creștere epidermală (EGF – epidermal growth factor) este cel mai bine descris factor ce mediază semnalul prin legare și activare a EGF-receptor tyrosin-kinază (EGFR). Semnalul determină o cascadă de evenimente intracelulare ce induc sinteza ADN și proliferare celulară.

Analiza receptorilor factorilor de creștere a revelat existența de receptori proteici individuali pentru toate aceste peptide în pancreas. Numeroase studii încearcă să stabilească importanța factorilor de creștere în producerea pancreatitei cronice și în special a cancerului pancreatic, precum și funcția individuală a fiecărui factor în regenerare după pancreatita acută.

Bibliografie

- Steer ML. Primary intracellular events in pancreatitis. *Novel concepts in pancreatitis*. Blackwell science; 1999. p. 3-11.
- Steer ML. The early intra-acinar cell events which occur during acute pancreatitis. *Pancreas*. 1998;17:31-37.
- Lerch M, Saluja A, Dawra R, Ramarao P, Saluja M, Steer ML. Acute necrotizing pancreatitis in the opossum: earliest morphological changes involve acinar cells. *Gastroenterology*. 1992;103:205-213.
- Marija-Leena Kylänpää-Bäck. Acute pancreatitis: diagnosis and assessment of severity with markers of inflammation. Academic Dissertation. University of Helsinki; 2001. p. 11-14.
- Karne S, Gorelick F. Etiopathogenesis of acute pancreatitis. *Surg Clin North Am*. 1999;79:699-710.
- Puolakkainen P. Early prediction of severity in acute pancreatitis by urinary trypsinogen activation peptide: a multicentre study. *Lancet*. 2000;355(9219):1924-5.
- Giroir B. Pancreatitis, cytokines, and SIRS: Déjà vu all over again? *Crit Care Med*. 1999;27(4):680-1.
- Gloor B, Reber HA. The duct permeability concept. *Novel concepts in pancreatitis*. Blackwell science; 1999. p. 45-47.
- Ward JB, Peterson OH, Sutton R. The role of acinar free ionised cytosolic calcium in acute pancreatitis. *Novel concepts in pancreatitis*. Blackwell Science 1999, pag. 35-42.
- Ward JB, Peterson OH, Jenkins SA, Sutton R. Is an elevated concentration of acinar cytosolic free ionised calcium the trigger for acute pancreatitis? *Lancet*. 1995;346:1016-9.
- Gudgeon A, Heath D, Hurley P, Jehanli A, Patel G, Wilson C, et al. Trypsinogen activation peptides assay in the early prediction of severity of acute pancreatitis. *Lancet*. 1990;335(8680):4-8.
- Neoptolemos J, Kempainen E, Mayer J, Fitzpatrick J, Raraty M, Slavin J, et al. Early prediction of severity in acute pancreatitis by urinary trypsinogen activation peptide: a multicentre study. *Lancet*. 2000;355(9219):1955-60.
- Glasbrenner B, Adler G. Pathophysiology of acute pancreatitis. *Hepato-Gastroenterol*. 1993;40:517-21.
- Runzi M, Saluja A, Lerch M, Dawra R, Nishino H, Steer ML. Early ductal decompression prevents the progression of biliary pancreatitis: an experimental study in the opossum. *Gastroenterology*. 1993;105:157-164.
- Warshaw A. Ischemia and reperfusion related injury in pancreatitis. *Dig Dis Sci*. 1996;41(5):821-2. Comment on: *Dig Dis Sci*. 1996;41(5):823-30.
- Clavè P, Guillomes S, Blanco I, Nabau N, Mercé J, Farré A, et al. Amylase, lipase, pancreatic isoamylase, and phospholipase A in diagnosis of acute pancreatitis. *Clin Chem*. 1995; 41:1129-1134.
- Osman M, Jensen S. Acute pancreatitis: The pathophysiological role of cytokines and integrins. *Dig Surg*. 1999;16:347-362.
- Johnson C. Role of cytokines and their antagonists in acute pancreatitis. *Novel concepts in pancreatitis*. Blackwell science; 1999. p. 71-74.
- McKay C, Imrie CW, Baxter JN. Mononuclear phagocyte activation and acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 1996; 219:32-6.
- Davies M, Hagen P. Systemic inflammatory response syndrome. *Br J Surg*. 1997;84:920-935.
- Beger H, Gansauge F, Mayer J. The role of immunocytes in acute and chronic pancreatitis: When friends turn into enemies. *Gastroenterology*. 2000;118:626-629.
- Ikei S, Ogawa M, Yamaguchi Y. Blood concentrations of polymorphonuclear leucocyte elastase and interleukin-6 are indicators for the occurrence of multiple organ failures at the early stage of acute pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol*. 1998; 13:1274-1283.
- Bevilaqua M, Nelson M. Selectins. *J Clin Invest*. 1993;91(2):379-387.
- Donnelly S, Haslett C, Dransfield I, Robertson C, Carter D, Ross J, et al. Role of selectins in development of adult respiratory distress syndrome. *Lancet*. 1994;344:215-9.
- Inagaki T, Hoshino M, Hayakawa T, Ohara H, Yamada T, Yamada H, et al. Interleukin-6 is a useful marker for early prediction of the severity of acute pancreatitis. *Pancreas*. 1997; 14:1-107.
- Takala A, Jousela I, Jansson SE, Olkkola K, Takkunen O, Orpana A. Markers of systemic inflammation predicting organ failure in community-acquired septic shock. *Clin Sci*. 1999; 97:529-538.
- Werner J, Z'graggen K, Fernández-del Castillo C, Lewandrowski KB, Compton CC, Warshaw AL. Specific therapy for local and systemic complications of acute pancreatitis with monoclonal antibodies against ICAM-1. *Ann Surg*. 1999;229(6):834-40; discussion 841-2.
- Balakrishnan V, Philip M. Cytokines as predictors of severity in acute pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol*. 1998;13(12):1177-9.
- Bone R. Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: What we do and do not know about cytokine regulation. *Crit Care Med*. 1996; 24(1):163-172.
- Norman J, Franz M, Riker A, Fabri P, Gower W. Rapid elevation of systemic cytokines during acute pancreatitis and their origination within the pancreas. *Surg Forum*. 1994;45:148-150.
- Exley A, Leese T, Holliday M, Swann R, Cohen J. Endotoxaemia and serum tumor necrosis factor as prognostic markers in severe acute pancreatitis. *Gut* 1992, 33(8): 1126-8.
- McKay C, Gallagher G, Brooks B, Imrie C, Baxter J. Increased monocyte cytokine production in association with systemic complications in acute pancreatitis. *Br J Surg*. 1996;83:919-923.
- Schölmerich J. Interleukins in acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol*. 1996;31:37-42.
- Norman J. The role of cytokines in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Am J Surg*. 1998;175(1):76-83.
- Opal S, DePalo V. Anti-inflammatory cytokines. *Chest*. 2000; 117;1162-1172.
- Ikei S, Ogawa M, Yamaguchi Y. Blood concentrations of poly-

- morphonuclear leucocyte elastase and interleukin-6 are indicators for the occurrence of multiple organ failures at the early stage of acute pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol.* 1998;13: 1274-1283.
37. Osman M, Lausten S, Jakobsen N, Kristensen J, Deleuran B, Larsen C, Jensen S. Graded experimental acute pancreatitis: monitoring of a renewed rabbit model focusing on the production of interleukin-8 (IL-8) and CD11b/CD18. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1999;11:137-149.
 38. Chen C-C, Wang S-S, Lu R-H, Chang F-Y, Lee S-D. Serum interleukin 10 and interleukin 11 in patients with acute pancreatitis. *Gut.* 1999;45:895-9.
 39. Van der Poll T, de Waal Malefyt R, Coyle S, Lowry S. Anti-inflammatory cytokine responses during clinical sepsis and experimental endotoxemia: Sequential measurements of plasma soluble interleukin (IL)-1 receptor typeII, IL-10, and IL-13. *J Inf Dis.* 1997;175:118-122.
 40. Warshaw A. Ischemia and reperfusion related injury in pancreatitis. *Dig Dis Sci.* 1996;41:821-822.
 41. Menger MD, Vollmar B. Microcirculation: initiating or aggravating factor. *Novel concepts in pancreatitis.* Blackwell science; 1999. p. 63-67.
 42. Kelly DM, McEntee GP, McGeeney KF, Fitzpatrick JM. Microvasculature of the pancreas, liver and kidney in caerulein-induced pancreatitis. *Arh Surg.* 1993;28:293.
 43. Menger MD, Vollmar B. In vivo documentation of an arteriovenous shunt in rat pancreatic acinar tissue. *Pancreas.* 1996; 13:225.
 44. Formela L, Galloway S, Kingsnorth A. Inflammatory mediators in acute pancreatitis. *Br J Surg.* 1995;82:6.
 45. Toyama MT, Lewis MPN, Kusske AM, Reber PU, Ashley SW, Reber HA. Ischemia-reperfusion mechanisms in acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol.* 1996;31 (supl. 219):20.
 46. Kawano S, Masuda E, Tsuji S, Nagano K, Fusamoto H, Kamada T. Ethanol causes vasoconstriction due to endothelin-1 release in rabbit gastric vessels. *Microvasc Res.* 1991;41:408.
 47. Kingsnorth A. Platelet-activating factor *Scand J gastroenterol.* 1996;31 (supl. 219):28.
 48. Foitzik T, Faulhaber J, Hotz HG, Kirchengast M, Buhr HJ. Endothelin mediates local and systemic disease sequelae in severe experimental pancreatitis. *Pancreas.* 2001;22(3):248-54.
 49. Liu XH, Kimura T, Ishikawa H, Yamaguchi H, Furukawa M, Nakano I, Kinjoh M, Nawata H. Effect of endothelin-1 on the development of hemorrhagic pancreatitis in rats. *Scand J Gastroenterol.* 1995;30(3):276-82.
 50. Foitzik T. What factors trigger pancreatic necrosis: contrast medium, endothelin? *Blackwell science;* 1999. p. 101-106.
 51. Rau B, Seiffert T, Schoenberg MH, Beger HG. Contrast-enhanced CT: Does it accentuate severity of necrotizing pancreatitis in humans. *Pancreas.* 1995;34:215-9.
 52. Kloppel G, Maillet B. Pathology of acute and chronic pancreatitis. *Pancreas.* 1993;8(6):659-670.
 53. Dabrowski A, Konturek PC, Konturek SJ, Gabryelewicz A. Role of reactive oxygen species in pathogenesis of caerulein-induced acute pancreatitis. *Novel concepts in pancreatitis.* Blackwell science; 1999. p. 77-85.
 54. Haliwell B. Reactives oxygen species in living system: source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med.* 1991; 91(3C): 14S-22S.
 55. Czakó L, Takács T, Morschll E, László F, Tiszlavicz L, Rakonczay Jr Z, Lonovics J. Nitric Oxide is Involved in the Edema Formation in L-Arginine (ARG)-Induced Acute Pancreatitis. *Pancreatology.* 2002;2:217-361.
 56. Werner J, Fernández-del Castillo C, Rivera JA, Kollias N, Lewandrowski KB, Rattner DW, et al. On the protective mechanisms of nitric oxide in acute pancreatitis. *Gut.* 1998; 43(3):401-7.
 57. Cevikel MH, Ozgün H, Boylu S, Demirkiran AE, Sakarya S, Culhaci N. Nitric oxide regulates bacterial translocation in experimental acute edematous pancreatitis. *Pancreatology.* 2003; 3(4):329-35.
 58. Hietaranta A, Kempainen E, Puolakkainen P, Sainio V, Haapiainen R, Peuravuori H, et al. Extracellular phospholipases A2 in relation to systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and systemic complications in severe acute pancreatitis. *Pancreas.* 1999;18(4):385-91.
 59. Arbibe L, Vial D, Tonqui L. Phospholipase A2 and Acute respiratory distress syndrome. *Karger.* 1997;24:79-87.
 60. Büchler M, Malfertheiner P, Schädlich H, Nevalainen TJ, Friess H, Beger HG. Role of phospholipase A2 in human acute pancreatitis. *Gastroenterology.* 1989;97(6):1521-6.
 61. Grönroos JM, Nevalainen TJ. Increased concentrations of synovial-type phospholipase A2 in serum and pulmonary and renal complications in acute pancreatitis. *Digestion.* 1992;52 (3-4):232-6.
 62. Menke A, Lutz MP, Ludwig CU, Gress TM, Adler G. Regeneration after acute pancreatitis. *Novel concepts in pancreatitis.* Blackwell science; 1999. p. 129-138.
 63. Friess H, Lu Z, Riesle E, Uhl W, Bründler AM, Horvath L, et al. Enhanced expression of TGF-beta and their receptors in human acute pancreatitis. *Ann Surg.* 1998;227(1):95-104.