

Nuevos horizontes en los mecanismos de la lesión aguda y crónica del páncreas

X. Molero, E. Vaquero, J.A. Gómez, A. Alonso y L. Guarner

Servei d'Aparell Digestiu. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. España.

INTRODUCCIÓN

Nuestro entendimiento de los mecanismos que intervienen en el desarrollo de la pancreatitis aguda y crónica ha mejorado considerablemente en los últimos años. Sin embargo, existen todavía muchos puntos confusos que esperan aclaración. De todos los fenómenos que se han descrito es necesario saber cuáles y en qué grado participan en el desarrollo de lesiones, cuáles se activan formando parte de estrategias defensivas y, aun más, cuáles no son relevantes.

Las nuevas aportaciones son tan numerosas que es imposible su análisis detallado en esta revisión, por lo que aconsejamos al lector interesado en ampliar información que utilice las referencias bibliográficas de este artículo como un punto de partida.

Cuando hablamos de mecanismos de lesión en el páncreas, nuestra comprensión actualizada de la fisiopatología de la pancreatitis hace que establezcamos la línea de separación entre la lesión aguda y crónica cada vez más imprecisa. Así, los mismos elementos considerados esenciales para la reparación pancreática tras una lesión aguda los encontraremos desempeñando funciones centrales en el desarrollo de la pancreatitis crónica, si bien en cantidad y cualidad diferentes.

Desde el punto de vista morfológico, la pancreatitis crónica se caracteriza por la presencia de atrofia acinar, infiltración leucocitaria, proliferación de fibroblastos y exceso de matriz extracelular (fibrosis). La participación de ciertos mediadores puede ser clave en el desarrollo de cronicidad (*transforming growth factor β* [TGF- β], *connective tissue growth factor* [CTGF], interleucina (IL)-10, factor de necrosis tumoral α [TNF- α], especies reactivas de oxí-

geno [ROS], óxido nítrico [NO], *matrix metalloproteinase* [MMP], inhibidores tisulares de metaloproteinasas [TIMP]). Del mismo modo, en la pancreatitis aguda (y formando parte del proceso de reparación normal) se produce una atrofia acinar de intensidad variable, una infiltración leucocitaria y la proliferación de fibroblastos, que se encargan de sintetizar matriz extracelular, al tiempo que se identifican variaciones de los mismos mediadores antes descritos. Una vez activados, todos estos procesos deben «desactivarse» y seguir el camino inverso para poder completar una reparación tisular óptima. Es decir, los fibroblastos y leucocitos deben desaparecer del escenario, la matriz extracelular depositada en exceso debe ser reabsorbida y remodelada, y las células acinares deben proliferar y migrar para compensar las pérdidas previas.

Si los cambios morfológicos que ocurren en una pancreatitis aguda son similares en naturaleza (que no idénticos) a los de una pancreatitis crónica, es de suponer que las señales que rigen estos procesos deben ser también parecidas, y que su mal funcionamiento puede ser causa de patología. Es aquí donde adquiere importancia el conocimiento de los mecanismos de defensa y de los procesos de reparación. Una falta de regulación de estos mecanismos puede acabar provocando una mayor lesión tisular que el propio factor desencadenante inicial.

En el fondo estamos delineando el proceso genérico de curación de las heridas o de reparación tisular ya descrito en otros tejidos, pero aplicado al páncreas (fig. 1)^{1,2}. Parece cada vez más claro que la falta de optimización de los complejos mecanismos integrados en la curación-reparación son origen frecuente de lesiones, y están en la base de la modulación de la gravedad de una afección aguda, de la evolución a cronicidad (fibrosis), de la perpetuación de la lesión tisular con independencia del factor desencadenante inicial, y de las repercusiones del envejecimiento.

Correspondencia: Dr. X. Molero.
Servei d'Aparell Digestiu.
Hospital Universitari Vall d'Hebron.
Pg. Vall d'Hebron, 119-129. 08035 Barcelona. España.
Correo electrónico: xmolero@hg.vhebron.es

Recibido el 17-12-2002; aceptado para su publicación el 21-12-2002.

LECCIONES DESDE EL CÓDIGO GENÉTICO

Cuando nos referimos a los mecanismos de lesión tisular, este desafío a la clásica separación entre pancreatitis agu-

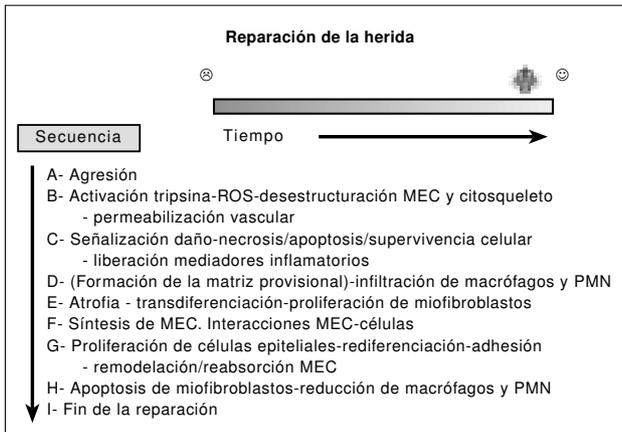


Fig. 1. Esquema de la reparación de una herida, aplicado a páncreas. MEC: matriz extracelular; PMN: leucocitos polimorfonucleares. Está representada la secuencia de acontecimientos que se producen desde una agresión inicial única hasta la finalización de la reparación. Si la agresión inicial tiene carácter continuo o repetido la secuencia de respuesta es más compleja. El grado de lesión inicial depende de la intensidad de la agresión y de los mecanismos de defensa celular. Fallos en los mecanismos de reparación o en la coordinación de sus acciones pueden conducir a una lesión tisular grave o crónica. Siempre que se produzca una solución de continuidad en los vasos sanguíneos, como ocurre en los modelos de herida cutáneos, adquieren protagonismo importante dos elementos: a) la adhesión plaquetaria en las zonas de ruptura, y b) la formación de una matriz provisional a base del concurso de moléculas de la coagulación que acaban con el depósito de fibrina. En el páncreas este aspecto no está estudiado con detalle. El término transdiferenciación se suele aplicar al cambio fenotípico y funcional de las células estrelladas hacia miofibroblastos. Del mismo modo, se podría utilizar para describir los cambios fenotípicos y funcionales de las células acinares hacia formas ductales. En las fases finales de la reparación los fenómenos de adhesión intercelular de las células parenquimatosas y los fenómenos de anclaje de éstas a la MEC están muy relacionados con los de remodelación de la MEC y la inducción de apoptosis de miofibroblastos.

da y crónica puede parecer una aberración, pero está basada en datos obtenidos en modelos de experimentación animal³⁻⁶ y avalada por observaciones clínicas. Un ejemplo especialmente adecuado nos lo ofrece el conocimiento reciente de la historia natural de la pancreatitis hereditaria asociada a mutaciones del tripsinógeno. La mutación R122H del gen del tripsinógeno catiónico proporciona a la tripsina una anormal resistencia a la inactivación, es decir, es una mutación cuya consecuencia hace ganar actividad a la tripsina^{7,8}. Los individuos afectados pueden manifestar síntomas en forma de pancreatitis aguda, pancreatitis recurrente, pancreatitis crónica, e incluso cáncer de páncreas. Un mismo paciente puede llegar a desarrollar todas las formas de la enfermedad o sólo alguna de ellas.

El simple reconocimiento de que una alteración molecular tan específica es capaz de inducir un espectro de manifestaciones clínicas tan amplio hace plantear cuestiones en otro tiempo poco aceptadas, como son: ¿los brotes repetidos de pancreatitis (aun subclínicos) pueden llevar a pancreatitis crónica, o es que realmente son la causa fundamental de pancreatitis crónica?; ¿qué factores personales o ambientales son los moduladores de la expresión de los síntomas?

Si una alteración funcional de base genética en una proteína es capaz de inducir pancreatitis, ¿puede una alteración funcional adquirida tener las mismas consecuencias? ¿Cómo encajan en estas consideraciones fisiopatológicas el abuso de alcohol y tabaco? ¿La pancreatitis crónica es una entidad causal del cáncer de páncreas? O mejor aún, ¿el cáncer de páncreas se desarrolla con preferencia sobre un órgano con inflamación crónica?

El descubrimiento de la mutación R122H del tripsinógeno catiónico y de sus consecuencias ha estimulado la búsqueda de otras alteraciones genéticas que explicaran la pancreatitis de etiología incierta. Se han encontrado mutaciones en el tripsinógeno distintas de R122H también relacionadas con la pancreatitis⁹⁻¹¹. Además, las mutaciones en otros dos genes (inhibidor de tripsina [*serine protease inhibitor, Kazal type 1, SPINK1*] y fibrosis quística [*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR*]) han sido implicadas en el desarrollo de la pancreatitis, aunque con protagonismo variable y, a veces, en asociación poligénica¹²⁻¹⁶.

En poblaciones seleccionadas se han encontrado mutaciones del *SPINK1* en hasta el 55% de los individuos (1-2% en controles sanos)¹⁷⁻¹⁹. Sin embargo, el hallazgo de mutaciones de este gen en pacientes con pancreatitis idiopáticas en nuestro país es mucho menor²⁰.

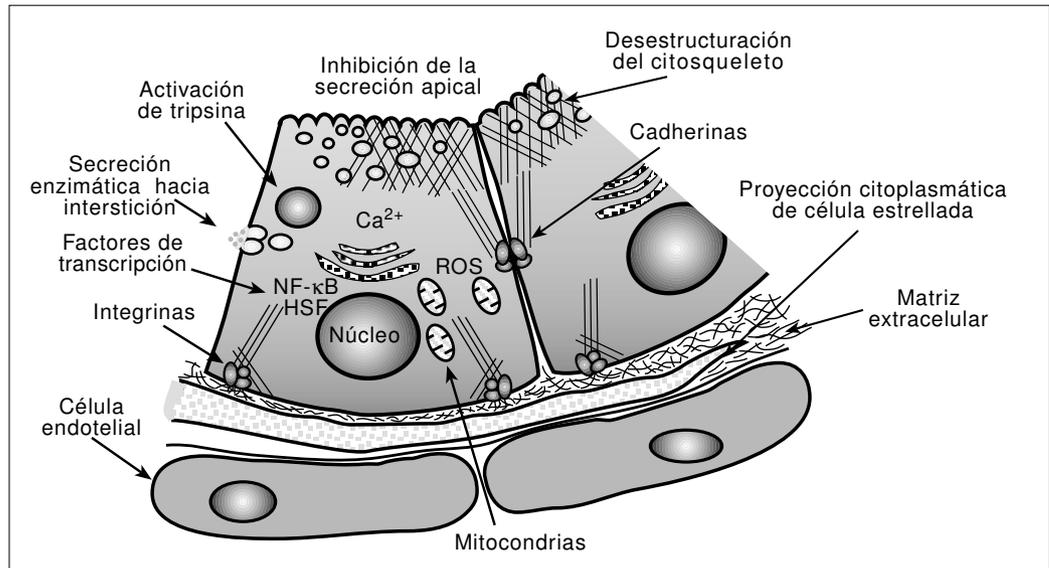
La constatación de que las mutaciones en el gen del *CFTR* distintas de las que provocan fibrosis quística están relacionadas con el desarrollo de enfermedades independientes (agenesia del conducto deferente, bronquiectasias, sinusitis, pancreatitis) nos ha obligado a revisar el espectro de una entidad que creíamos limitada a la fibrosis quística, y a la que ahora se le busca un nombre (¿«*CFTR*patías»?)²¹. Con todo, estas mutaciones sólo explicarían un porcentaje limitado de pancreatitis «idiopáticas», pero el camino conceptual está ya abierto para la incorporación de nuevos candidatos a iniciar una lesión pancreática.

Para repasar los mecanismos de lesión pancreática podemos atender a los cambios moleculares sospechosos de originar una pancreatitis, al concurso diferencial de los diferentes tipos celulares y al papel modulador de la matriz extracelular.

MECANISMOS MOLECULARES IMPLICADOS EN EL INICIO DE LA LESIÓN CELULAR

De lo que se trata es de dar una explicación a los fenómenos responsables de convertir una célula quiescente dedicada intensamente a la síntesis y la secreción de enzimas digestivas (célula acinar) en una verdadera bomba proinflamatoria. En estas condiciones esta célula es capaz de inducir la liberación de una serie de factores potencialmente lesivos de alcance local y sistémico (*platelet activating factor* [PAF], ROS, TGF- β , NO, TNF- α , IL-6, *monocyte chemoattractant protein* [MCP-1]), asumiendo que la célula acinar es la célula diana de todas las agresiones que inician una pancreatitis. La lesión pancreática es el resultado de un desequilibrio entre la intensidad de la

Fig. 2. Representación gráfica de las zonas donde se pueden producir cambios moleculares importantes responsables de producir una lesión en el inicio de una pancreatitis. Las integrinas y moléculas de adhesión intercelular también son expresadas en células endoteliales, centroacinares, ductales y células estrelladas, al igual que gran número de receptores, pero no están representados para facilitar la comprensión del dibujo. Los detalles son sólo esquemáticos y no están reproducidos a escala.



agresión y la eficacia de los factores defensivos diseñados para evitar la lesión. Pues bien, hay que decir que todavía no se conoce con precisión el «gatillo» que desencadena la cascada de reacciones lesivas; ni tan siquiera se sabe si es uno o son varios los caminos que llevan al desarrollo de la lesión (fig. 2).

Dentro de este escenario podemos individualizar cuatro situaciones:

Tripsina o la historia de la activación prematura de cimógenos

La idea no es nueva y es equivalente a la antigua teoría de la autodigestión del páncreas. Surge de la comprobación de que en fases tempranas de la inducción de pancreatitis (en menos de 10 min) se produce un bloqueo de la secreción enzimática apical en la célula acinar y una colocalización de enzimas lisosomales (p. ej., catepsina B) y cimógenos (p. ej., tripsinógeno) en las mismas organelas. En esta colocalización se dan las condiciones adecuadas para que las enzimas lisosomales activen las proenzimas de los gránulos de cimógeno, iniciando de esta forma la lisis de membranas y proteínas celulares.

Numerosos trabajos experimentales²²⁻²⁵ han intentado convencernos de que, en una pancreatitis, la colocalización existe, la tripsina se activa y todo ello es dañino para la célula acinar. Una nociva activación intracelular de la tripsina es el concepto en que se apoya la teoría etiopatogénica de la mutación R122H del tripsinógeno catiónico²⁶.

Pero, aunque la tripsina se active, ¿qué es lo que la activa, y cómo se desarrolla la pancreatitis a partir de este punto? Éste es un campo todavía no aclarado. Se supone que la tripsina activa a su vez a un buen número de enzimas digestivas, y que esta cascada de proteasas activadas lleva a la muerte celular. Sin embargo, quedan muchos puntos por explicar:

– ¿Cómo saltamos desde la activación de tripsinógeno a las alteraciones vasculares que se caracterizan por aumen-

to de la permeabilidad (edema) y por la disminución global del flujo sanguíneo, fenómenos también muy precoces en la pancreatitis? De hecho, ¿qué es anterior, la activación del tripsinógeno o la disregulación vascular?

– ¿Cómo y en qué punto se favorece la liberación de citoquinas, quemocinas y otros mediadores inflamatorios?

– ¿Qué es lo que dirige la invasión leucocitaria?

– ¿Cómo, a partir del tripsinógeno activado, reciben las órdenes las células periacinares para transformarse en miofibroblastos?

– ¿Cómo se puede relacionar la activación de la tripsina con la afección multisistémica, en especial la pulmonar y renal?

En contra de la activación de tripsina como elemento común de lesión en todos los tipos de pancreatitis se han esgrimido varios argumentos. Siempre existe un cierto grado de colocalización de enzimas lisosomales y cimógenas, y hasta un cierto grado de activación de tripsina en condiciones fisiológicas. En algunas circunstancias se produce un aumento de la colocalización enzimática sin que se desencadene pancreatitis. Algunos brillantes estudios demuestran que una reducción en la actividad de tripsina se asocia con una mayor necrosis acinar²⁷, algunas pancreatitis experimentales no requieren la participación de catepsina B y su gravedad es independiente de la activación de tripsina²⁸; asimismo, algunas mutaciones en el tripsinógeno catiónico que condicionan una menor actividad de tripsina se relacionan con pancreatitis hereditarias⁹. Finalmente, los ratones deficientes en la proteína del gránulo de cimógeno *Itmap1* padecen pancreatitis más graves, lo cual se asocia con una activación de tripsina deficiente²⁹.

Sobreprducción de especies reactivas de oxígeno

En condiciones normales, las especies reactivas de oxígeno se producen en todas las células, donde participan en la compleja maquinaria de señalización intracelular e in-

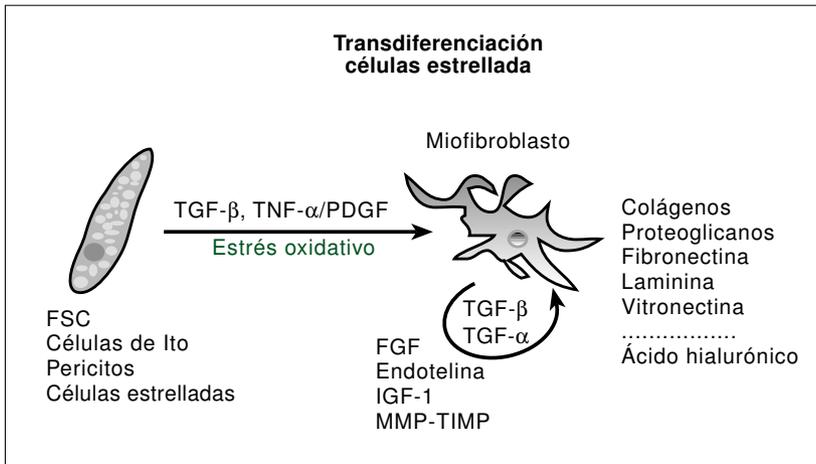


Fig. 3. Representación esquemática del cambio estructural y funcional de una célula estrellada. FSC: fat storing cells. Resto de abreviaciones como en el texto.

tercelular³⁰. Ante situaciones de demanda metabólica o frente a factores agresivos, es característico que se produzca un claro aumento en la producción de ROS, cuyo origen puede ser diverso, desde la cadena respiratoria mitocondrial hasta complejos enzimáticos localizados en el citosol o en las membranas celulares.

Utilizamos el término «antioxidantes endógenos» para designar elementos cuya función es prevenir que las ROS sean lesivas para la célula y que a menudo actúan en cooperación³¹. Estrés oxidativo es la lesión molecular o celular provocada por una excesiva producción de ROS o por una deficiente capacidad antioxidante endógena.

Un problema fundamental para comprender la responsabilidad de las ROS en la lesión producida en la pancreatitis es conseguir medidas cuantificables fiables. Las ROS son moléculas altamente reactivas y, por tanto, tienen una vida media muy corta. En condiciones patológicas pueden producirse en exceso de forma mantenida, o a modo de pulsos intensos de poca duración (que incluso pueden aparecer sólo en regiones subcelulares). Ambas situaciones sólo producirán una lesión cuando la capacidad antioxidante endógena se vea superada, y en ese momento pueden llegar a activar reacciones lesivas en cadena. Para analizar la lesión dependiente del estrés oxidativo se parte de moléculas modificadas por ROS que sean más estables que éstas, y que pueden ser lípidos (malondialdehído, lipoperóxidos, isoprostanos), proteínas (carboniladas o nitrosiladas) o ácidos nucleicos (deoxiguanosina). Aun así, estas moléculas también tienden a ser metabolizadas, con lo que se puede perder el poder de reconocimiento del estrés oxidativo.

A pesar de estas dificultades técnicas, se ha comprobado que en muchas pancreatitis existe una producción excesiva de ROS en fases muy tempranas³², que se relaciona con la lesión acinar³³. Esta producción puede iniciar reacciones redox-dependientes que activen la transcripción génica (c-fos, factor nuclear [NF]-κB, activador de la proteína [AP]-1, HSF-1, hemoxigenasa [HO]-1, metalotioneína [MT]-1)³⁴⁻³⁷ y acaben con la liberación de mediadores inflamatorios (IL-1, IL-6, TGF-β, NO, TNF-α, CO, PAF, quemocinas) y la simultánea puesta en marcha de la expresión de proteínas implicadas en la defensa celular (proteínas de choque térmico HSP 90, 70, 60 y 27, pan-

creatic stone protein [PSP/reg], proteína asociada a pancreatitis [PAP], metalotioneína)^{38,39}.

Tanto las ROS formadas en esta fase inicial como las que se pueden formar más tarde (por necrosis celular, lesión endotelial o por actividad de PMN infiltrantes) pueden inducir la muerte celular. También pueden activar células del entorno próximo, como las estrelladas o periacinares, las cuales se transdiferencian en miofibroblastos bajo estímulo oxidativo⁴⁰.

Los miofibroblastos transdiferenciados y activados bajo la acción de ROS, TGF-β, TNF-α o PDGF asumen funciones clave en la reparación del tejido dañado, como la síntesis de nueva matriz extracelular y su posterior remodelación. Éstos se convierten a su vez en productores de citocinas⁴¹, conformando un círculo autocrino que tiende a perpetuar la actividad de estas células estrelladas transformadas (fig. 3).

Por otro lado, es conocido que las ROS y el estrés oxidativo, en general, aumentan la permeabilidad vascular endotelial y favorecen la adhesión leucocitaria a través de la inducción de la expresión de moléculas de adhesión, como la molécula de adhesión intercelular (ICAM)-1 o P-selectina⁴². Con ello participan en las alteraciones vasculares observadas en la pancreatitis y en el proceso de infiltración leucocitaria.

Ya hemos mencionado que el estrés oxidativo causa modificaciones en las moléculas que pueden ser reconocidas y medidas. Algunas son inertes, pero otras son biológicamente activas (8-isoprostanos), pueden entrar en la circulación sanguínea y afectar a otros órganos (p. ej., corazón, pulmón y riñón)^{43,44}. Al parecer, las ROS también pueden lesionar los tejidos alejados del páncreas directamente a través de la liberación y la difusión sanguínea de xantina oxidasa, cuya actividad genera superóxido⁴⁵.

Así pues, encontramos ROS implicadas en las fases iniciales del desarrollo de una pancreatitis, en la inducción de muerte celular, en la expresión de los factores de transcripción NF-κB, AP-1 y *heat shock factor 1* (HSF-1) y de citocinas y quemocinas, en la activación de miofibroblastos necesarios para la reparación del tejido, en la perpetuación de la actividad de estos miofibroblastos y en la disfunción endotelial asociada a pancreatitis. También encontramos

estrés oxidativo o sus consecuencias (xantina oxidasa, TNF- α , 8-isoprostanos) en el posible origen de lesiones a distancia. Con todos estos argumentos, parece aventurado considerar las ROS como simples «observadores», sin protagonismo en la lesión producida en la pancreatitis.

Por otro lado, sabemos que el alcohol y sus derivados afectan a la capacidad antioxidante celular, en parte reduciendo la disponibilidad de glutatión mitocondrial⁴⁶ y en parte induciendo la sobreexpresión del citocromo P450 2E1, cuya actividad genera superóxido⁴⁷. La persistencia de estas alteraciones puede condicionar a la célula acinar a responder de forma deficiente frente a agresiones leves. Además, los miofibroblastos en cultivo enfrentados a alcohol o sus derivados expresan moléculas que indican una activación (alfa-actina del músculo liso), que es frenada por la vitamina E, el antioxidante liposoluble más abundante⁴⁰.

Existen más datos que apoyan la relación entre la lesión pancreática y el estrés oxidativo; por ejemplo, la inhibición persistente de la actividad superóxido dismutasa (SOD), enzima que se encarga de iniciar la eliminación de superóxido, acaba induciendo el desarrollo de lesiones de pancreatitis crónica⁴⁸.

En el ámbito clínico, la participación de ROS en el inicio o la gravedad de una pancreatitis no es muy bien conocida, pero algunos datos indirectos sugieren que las ROS están implicadas en la génesis de la lesión pancreática⁴⁹⁻⁵².

Fallo funcional de los sistemas de defensa

Al igual que otras células del organismo, la célula acinar cuenta con la colaboración de una serie de sistemas moleculares que le ayudan a hacer frente a agresiones externas y a adaptarse a un entorno hostil. La claudicación de estos sistemas es causa de lesión celular.

Aquí podemos encuadrar a todos los antioxidantes endógenos y sus respectivas maquinarias de regeneración (vitamina E, coenzima Q, vitamina C, glutatión/glutatión peroxidasa, ácido lipoico, catalasa, superóxido dismutasa), cuya insuficiencia nos llevará a considerar nuevamente el estrés oxidativo.

Aquí queremos llamar la atención sobre un grupo de moléculas que son sobreexpresadas en respuesta a factores agresivos externos, y cuya función está orientada a reforzar la integridad celular o a favorecer su recuperación tras la lesión. Es el caso de la expresión de proteínas dependientes de la actividad de factores de transcripción nuclear HSF-1 y NF- κ B como, por ejemplo, *inducible nitric oxide synthase* (iNOS), hemoxigenasa 1, metalotioneína 1 y las proteínas de choque térmico.

En respuesta a varias formas de agresión pancreática se produce un aumento de la expresión acinar de *heat shock protein* [HSP]^{53,54}, mientras que la inducción previa de su expresión protege de lesiones de pancreatitis⁵⁵⁻⁵⁷.

Las proteínas de choque térmico (HSP 90, 70, 60 y 27), así como otras proteínas de respuesta a estrés (PAP, PSP/reg), forman parte de un sistema molecular altamente conservado en las especies animales, cuya misión es aumentar la resistencia de la célula, confiriendo una citoprotección al limitar la extensión de la lesión en curso y fortalecer la

célula frente a agresiones posteriores (adaptación). Reducen la respuesta inflamatoria y favorecen la supervivencia celular, frente a la vía de la inducción de muerte celular^{37,58,59}. Por tanto, su mal funcionamiento tendría efectos perjudiciales inmediatos al permitir la amplificación de fenómenos inflamatorios, de lesión celular y el desarrollo de apoptosis y/o necrosis. Su expresión se activa (mediante HSF-1) tras el reconocimiento de proteínas lesionadas (p. ej., tras la carbonilación o la nitrosilación secundarias a un ataque oxidativo no contenido por los antioxidantes celulares). No se conoce bien la repercusión que su expresión mantenida pueda tener en el funcionalismo celular.

En relación con la génesis de lesión pancreática, caben dos posibilidades: *a*) la célula puede ser incapaz de sobreexpresar proteínas defensivas funcionalmente activas, y *b*) su presencia persistente puede distorsionar el correcto funcionamiento celular.

Otras alteraciones moleculares asociadas a la lesión celular

La célula acinar utiliza variaciones en la concentración intracelular de calcio para activar vías de secreción enzimática. Una excesiva liberación de calcio intracelular está relacionada directamente con la producción de daño. Entre otras cosas, favorece la activación de tripsinógeno, se relaciona con el bloqueo de la secreción enzimática y con la formación de vacuolas citoplasmáticas^{60,61}.

La célula acinar es una superestructura molecular compleja dedicada a la secreción enzimática, anclada en la matriz extracelular y compactada entre elementos celulares (otras células acinares, centroacinares, periacinares, vasculares), con los que mantiene estrechas relaciones. Y lo hace, en parte, gracias a un entramado de microfilamentos, microtúbulos y agrupaciones moleculares específicas (integrinas, adhesiones focales, cadherinas-cateninas), cuyo papel en la fisiopatología de la pancreatitis no se conoce con precisión.

Lo que sí se sabe es que la desestructuración del citoesqueleto ocurre en fases iniciales de la pancreatitis, y que los factores que inducen una lesión celular distorsionan gravemente esta organizada trama estructural, al afectar desde las proteínas de fusión de gránulos de cimógeno a componentes esenciales del citoesqueleto, pasando por las uniones intercelulares y las conexiones con la matriz extracelular^{53,62,63}.

Por último, en este apartado tenemos que mencionar la necesaria participación de ciertas moléculas en la organización de la reparación tisular tras una agresión. Son muchos los mediadores implicados en este complejo proceso multicelular que denominamos «reparación» (*epidermal growth factor* [EGF], *fibroblastic growth factor* [FGF], *insulin-like growth factor* [IGF]-1, CTGF o TIMP, por citar unos cuantos), cuyo mal funcionamiento puede ser el origen de lesiones permanentes.

A modo de ejemplo, algunos datos obtenidos sobre la participación de TGF- β nos ilustran el requerimiento que los procesos de reparación pancreáticos imponen sobre el fino control de las señales intercelulares. Se libera TGF- β

en el páncreas lesionado formando parte de los cambios moleculares que llevan a la reparación total de su arquitectura⁶⁴. Sin embargo, un exceso de TGF- β se relaciona con una evolución a la cronicidad^{4,65}, pero el fallo de la transmisión de la señal de TGF- β al interior de la célula (por un mal funcionamiento de su receptor de membrana) tiene efectos nocivos⁶⁶.

También a modo de ejemplo, tras una lesión pancreática, la IL-10 es liberada en fases tempranas. Tiene capacidad para modular la actividad de leucocitos polimorfonucleares y de limitar la extensión del proceso inflamatorio. Su ausencia conduce a lesiones propias de pancreatitis crónica⁶⁷.

En el hígado, la ausencia de IL-6, TNF- α o de la activación de iNOS imposibilita la correcta curación de una lesión hepática leve (que de otro modo hubiera sido reparada sin secuelas) y puede llegar a conducir a la completa destrucción de todo el órgano⁶⁸. Se supone que IL-6, TNF- α y/o NO marcan el camino, señalizan el final de los procesos reparativos. La ausencia de estas señales de finalización perpetúan los mecanismos de destrucción/reparación iniciados tras la agresión. Éste es un mecanismo de lesión tisular de reciente consideración que ha llamado poderosamente la atención ante las posibilidades de intervención que ofrece.

RESPUESTA CELULAR A LA AGRESIÓN. UNA VISIÓN DE LA REPARACIÓN TISULAR EFECTIVA

Con el fin de mantener la homeostasis tisular todos los órganos disponen de sistemas de reparación más o menos optimizados que se encargan de reconocer, eliminar y restituir en lo posible el tejido lesionado. Los sistemas de reparación están altamente organizados y sujetos a regulación. Precisan la fina coordinación de elementos moleculares (como moléculas de señalización y factores de crecimiento) y efectores celulares (células parenquimatosas, intersticiales, inmunocitos)¹.

Poco o nada activos en reposo, los sistemas de reparación se ponen en marcha una vez se ha detectado una lesión tisular. De hecho, la existencia y la función de un buen número de células (células estrelladas) y moléculas (proteínas matricelulares) sólo han podido ponerse de manifiesto al reconocer su participación en mecanismos de reparación-curación⁶⁹⁻⁷¹.

Las fases de reconocimiento y eliminación de elementos lesionados son bastante genéricas y se dan con pocas variaciones en la mayoría de los órganos. En la tercera fase (restitución del tejido lesionado) se combinan elementos de síntesis-remodelación de matriz extracelular, proliferación y migración epitelial, y presencia-eliminación de células intersticiales (miofibroblastos y leucocitos), pero es aquí donde aparecen claras diferencias específicas de órgano. En esta fase se produce la progresiva reducción de la matriz extracelular, fibroblastos y leucocitos, y debe regenerarse la arquitectura propia del órgano. La fisiopatología de la reparación se encuentra aquí con elementos propios de embriogénesis y morfogénesis. Es necesario el concurso de factores de transcripción nuclear específicos que controlen el proceso de replicación de las diferentes

células parenquimatosas y les confieran su posterior diferenciación terminal⁷².

Hacemos este comentario genérico sobre los sistemas de reparación para insistir en que cualquier fallo en su función, si no es compensado, puede llevar a la perpetuación de las consecuencias de la lesión inicial y la cronificación de las lesiones.

Miofibroblastos. ¿Guardianes de la homeostasis celular?

Una de las novedades «estrella» de estos últimos años ha sido el descubrimiento de la existencia en el páncreas de una estirpe celular equivalente a las células de Ito hepáticas^{40,69,70}. Como ellas, son células residentes intersticiales que se localizan en reposo en situación periácinar o perivascular. Contienen acumulaciones reconocibles de vitamina A y poseen proyecciones en forma de estrella (células estrelladas) mediante las que establecen contactos entre ellas mismas y con células del entorno próximo (acinares, ductales, endoteliales). A pesar de su posición estratégica, actualmente no se considera que las células estrelladas participen en la génesis de la lesión inicial. Sin embargo, su correcta función es esencial para conseguir la reparación del tejido lesionado.

Una característica llamativa de estas células es su capacidad de transformación fenotípica y funcional. En respuesta a estímulos como TGF- β , TNF- α o ROS, probablemente procedentes de células próximas lesionadas, las células estrelladas pierden sus depósitos de vitamina A, expresan proteínas contráctiles (alfa-actina del músculo liso), proliferan (bajo señalización por *platelet derived growth factor* [PDGF] y otros mediadores) y adquieren la capacidad de sintetizar todos los componentes moleculares de la matriz extracelular, metaloproteinasas (MMP: collagenasas, gelatinasas) y sus inhibidores (TIMP)^{40,70,73} (fig. 3).

En esta fase ellas mismas expresan y liberan mediadores⁴¹ que les sirven para mantener su estado de activación^{69,70,74} y enviar señales a otras células próximas.

Pueden segregar gran cantidad de moléculas bioactivas, desde factores de crecimiento hasta metaloproteinasas y sus inhibidores, pasando por mediadores inflamatorios, citocinas y quemocinas^{41,74}. Su actividad fuera de control puede llevar a la destrucción del tejido que intentan reparar. No se sabe con precisión qué células y en qué momento ejercen un control sobre la actividad de los miofibroblastos, pero éstos expresan en la membrana plasmática un buen número de receptores que les hace sensibles a la acción de leucocitos polimorfonucleares (PMN), mastocitos, linfocitos, macrófagos y células parenquimatosas⁴¹.

En un proceso de curación normal los miofibroblastos deben participar en la reabsorción y la remodelación final de la matriz extracelular, para después desaparecer del tejido regenerado⁷⁵⁻⁷⁸. Ante fallos en las señales que indiquen una finalización de su actividad tienden a perpetuar la formación de matriz extracelular y la destrucción de la arquitectura del órgano inicialmente dañado. En este sentido, se ha observado que favorecer la eliminación de los miofibroblastos y provocar su apoptosis conlleva una reducción de la fibrosis establecida⁷⁹.

Células acinares

Ya hemos comentado que, después de una agresión, la célula acinar puede ser el origen de numerosas señales proinflamatorias cuya consecuencia será la activación de los miofibroblastos y el reclutamiento de células inmuno-competentes, como macrófagos y polimorfonucleares.

Dependiendo de la intensidad de la agresión inicial y de la operatividad de los propios mecanismos defensivos, la célula acinar puede necrosarse (con lo que se liberará un mayor número de factores proinflamatorios) o puede ser señalizada para entrar en un proceso de muerte celular programada (apoptosis). En ambos casos se produce una pérdida acinar global.

Una agresión de consecuencias no tan lesivas estimularía los mecanismos de supervivencia celular, en parte mediante la sobreexpresión de HSP. Estas células supervivientes pueden iniciar un camino hacia la «diferenciación» ductal, adoptando un fenotipo más resistente, menos proinflamatorio y dotado de una mayor capacidad de proliferación en caso de ser necesaria la reposición de las células acinares muertas. Esta última vía no está del todo demostrada, pero se dispone de datos morfológicos experimentales que apoyarían su existencia⁸⁰.

La necrosis, la apoptosis y la transformación ductal acinar justificarían el elevado grado de atrofia glandular que ocurre tras una pancreatitis y la posibilidad de su rápida regeneración, así como la existencia de los denominados complejos tubulares.

Nuevamente, cabe destacar los posibles puntos de lesión: una mayor necrosis respecto a la apoptosis (p. ej., por una menor dotación defensiva celular) implicaría una reacción inflamatoria mayor y, quizás, una regeneración peor. Una deficiente reposición acinar a partir de células «ductales» transformadas implicaría un mayor grado de atrofia glandular permanente. Ninguno de estos mecanismos de lesión han sido estudiados en profundidad en el páncreas. Las células acinares tienen dos hipotéticas misiones más para cubrir: ayudar a la confección de matriz extracelular propia del páncreas y contribuir en la reducción de miofibroblastos, una vez que la reparación se aproxima a su finalización.

Células inmunocompetentes: macrófagos, polimorfonucleares, linfocitos y mastocitos

Es evidente que, salvo excepciones, los macrófagos y polimorfonucleares (PMN) no son los responsables del inicio de la lesión. Acuden al territorio lesionado con misiones específicas, posiblemente no todas bien comprendidas. Fagocitan células inviables y detritus, y su actividad tiende a potenciar los fenómenos inflamatorios con la participación de ROS, NO y proteasas. Se ha sugerido que podrían delimitar la extensión de la lesión tisular y ayudar en su reparación, ya que se ha observado que los animales sin macrófagos reparan sus heridas de forma defectuosa⁸¹. Los macrófagos y PMN activados son fuente de numerosas citocinas (PDGF, VEGF, TNF- α , TGF- β , IGF1, interleucinas) y de MMP. Participan en la reparación estimulando la proliferación de células parenquima-

tosas⁸². Controlan la actividad de células estrelladas, ya sea mediante la secreción de citocinas o de autacoides (NO), pero además, al ser una fuente importante de MMP, degradan fibras de colágeno I, las cuales estimulan la supervivencia de miofibroblastos activados⁷⁷. La acción proteolítica de los MMP modifica las interacciones intercelulares y las de la matriz con las células, al tiempo que participa en la activación de factores de crecimiento, como IGF1, TGF- β o TNF- α ².

La presencia de linfocitos marca una tendencia hacia la cronicidad. Se desconocen los mecanismos que regulan su participación en el tejido dañado. Se cree que una alteración antigénica en la célula ductal o acinar (p. ej., una expresión aberrante de HLADR) podría activar linfocitos CD4+ o CD8+ e inducir una degranulación de mastocitos. Posteriormente se producirían fenómenos de citotoxicidad y la aparición de autoanticuerpos⁸³. En el infiltrado que rodea a ductos y acinis en la pancreatitis crónica humana se detectan linfocitos HLA-DR+/CD4+ y CD8+⁸⁴. En un subgrupo de pacientes con pancreatitis idiopática se ha observado la presencia de autoanticuerpos y la elevación sérica de IgG IV^{83,85}. Igualmente, las pancreatitis crónicas de posible origen autoinmune contienen linfocitos T CD8+ que infiltran los islotes pancreáticos y destruyen las células β ⁸⁶. Todos estos datos llevan a considerar que los linfocitos infiltrantes son los responsables directos de la lesión pancreática.

El papel de los mastocitos en el origen de las lesiones en una pancreatitis no está bien precisado. Son células residentes del intersticio de un páncreas normal, que se degranulan ante agresiones (en especial en respuesta a ROS) liberando al intersticio mediadores preformados, como heparina, tripsina, histamina, serotonina, quimasa, MMP, VEGF y TNF- α . Una vez activados pueden liberar otros mediadores inflamatorios (PAF, C3a, C5a, leucotrienos, interleucinas, TGF- β , *nerve growth factor* [NGF], *stem cell factor* [SCF], etc.)⁸⁷. Su potencial lesivo es, pues, evidente.

Otras células residentes: células ductales, endoteliales y endocrinas

Existen pocos datos experimentales que permitan responsabilizar a la célula ductal en la génesis de la lesión pancreática. En el ámbito clínico destacan dos situaciones que implican directamente a la célula ductal. En primer lugar, en algunos pacientes con pancreatitis crónica idiopática se detectan anticuerpos contra anhidrasa carbónica, proteína típicamente ductal⁸³. Además, ciertas mutaciones del gen de la fibrosis quística (que afecta predominantemente la función de las células ductales) se han relacionado con el desarrollo de pancreatitis crónica^{12,15}.

El árbol vascular pancreático está muy ramificado y se extiende entre los grupos acinares. Se describen formaciones vasculares propias (sistema portal insuloacinar) y sus capilares están altamente fenestrados. Es comprensible, pues, que la célula endotelial pancreática sea el blanco de factores agresivos, incluso antes de que puedan alcanzar la célula acinar. Las células endoteliales lesiona-

das pueden generar una serie de sustancias con capacidad lesiva (p. ej., ROS, NO, endotelina, etc.), y además activar miofibroblastos (también llamados pericitos por su localización perivascular), incrementar la permeabilidad a macromoléculas y expresar moléculas de adhesión que faciliten la infiltración leucocitaria⁴². A pesar de ello, no se ha considerado seriamente la disfunción del endotelio como punto de origen de la lesión inicial en el páncreas. Tampoco se tiene demasiado en cuenta su participación en los procesos de reparación, sino en el contexto de la neoformación vascular del nuevo tejido.

Las células de los islotes no parecen ser causa de lesión en la pancreatitis. Sin embargo, y aún sin poseer datos experimentales concretos, se sospecha que estas células pueden desempeñar papeles importantes en el proceso de reparación pancreática tras una agresión.

LA MATRIZ EXTRACELULAR: ¿UN ESQUELETO INERTE?

Por último, no podemos olvidar la función y la composición de la matriz extracelular. Su relación con el desarrollo o el mantenimiento de la lesión pancreática está poco estudiada y, sin embargo, sus componentes desempeñan importantes funciones en la respuesta a agresiones y en la reparación integral del tejido. Las interacciones de las proteínas de la matriz con los diferentes tipos celulares que intervienen en fenómenos de lesión-reparación pueden condicionar la función, migración, proliferación y diferenciación de estas células, pasos que son clave para conseguir la reparación adecuada del tejido lesionado.

La matriz extracelular es un complejo macromolecular heterogéneo cuya composición es específica del tipo celular al que da soporte. Está formada por elementos colágenos (que se organizan en estructuras poliméricas fibrilares) y no colágenos. Son elementos no colágenos las glucoproteínas estructurales, como fibronectina, laminina, vitronectina o undulina, y los proteoglicanos, como la decorina. El ácido hialurónico es un carbohidrato típico de la matriz extracelular^{75,88}.

La matriz sirve de soporte estructural a las células, con las que establece contactos de forma prioritaria, pero no exclusiva, a través de las integrinas, nombre que reciben los receptores celulares que se unen a las proteínas de la matriz extracelular. Las integrinas unidas a sus proteínas de la matriz establecen relaciones con componentes del citosqueleto y mantienen activas las vías de señalización intracelular⁸⁹. Las comunicaciones célula-matriz tienen la capacidad de modificarse, separarse e influir en procesos de migración, diferenciación y remodelación tisular.

Una buena estructura molecular de la matriz ha de permitir tanto los contactos intercelulares y la difusión de moléculas como el movimiento de células en el intersticio (células estrelladas, mastocitos, macrófagos). Por ello, la matriz extracelular posee lugares de unión para las moléculas de señalización y los factores de crecimiento que facilitan la migración celular.

Además, la matriz contiene proteínas de naturaleza heterogénea que son segregadas por las propias células paren-

quimatosas o por células intersticiales, y que no son esenciales en su función de soporte estructural⁹⁰. Estas proteínas, denominadas matricelulares, interactúan con receptores de membrana, matriz extracelular, factores de crecimiento y/o proteasas. Es decir, tienen la capacidad de modular las interacciones celulares con la matriz, y se encuentran implicadas en el mantenimiento de la integridad celular, en procesos de reparación-remodelación, morfogénesis, migración, diferenciación y fenotipo celular, apoptosis y angiogénesis⁷¹. Pueden incluso sufrir el ataque de proteasas y generar fragmentos proteolíticos con una actividad biológica diferente. Pertenecen a este grupo de proteínas las siguientes: SPARC (*secreted protein, acidic and rich in cysteine*), trombospondina 1 y 2, tenascina C y X, osteopontina y sindecanos. Por ejemplo, trombospondina 1 es un importante activador de TGF- β -1 *in vivo*⁹¹, mientras que la SPARC regula la expresión de TGF- β y la de colágeno I, dos moléculas necesarias para la reparación tisular⁹².

Pues bien, la organización aparentemente caótica, pero muy regulada, de la matriz extracelular puede quedar gravemente distorsionada tras una pancreatitis. Necesitará ser posteriormente reparada (por miofibroblastos, inmunocitos y células parenquimatosas) en estrecha coordinación con la regeneración de los componentes celulares del tejido. Las alteraciones en la síntesis de colágenos, glucoproteínas estructurales, proteoglicanos, en la función de MMP (colagenasas, gelatinasas), inhibidores de metaloproteinasas (TIMP), proteínas matricelulares, etc., puede dar lugar a alteraciones graves en los procesos de reparación y ser causa de lesión permanente.

En el páncreas se ha estudiado algo los efectos específicos de las proteínas de la matriz extracelular en relación con la proliferación, la migración o la muerte de células neoplásicas, pero no existen muchos trabajos que investiguen sus efectos en miofibroblastos o células parenquimatosas en procesos de lesión y reparación tisular.

BIBLIOGRAFÍA

1. Singer AJ, Clark RAF. Mechanisms of disease: cutaneous wound healing. *N Engl J Med* 1999;341:738-46.
2. Winkler MK, Fowlkes JL. Metalloproteinase and growth factor interactions: do they play a role in pulmonary fibrosis? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002;283:1L-11L.
3. Yamaguchi Y, Matsuno K, Goto M, Ogawa M. *In situ* kinetics of acinar, duct and inflammatory cells in duct ligation-induced pancreatitis in rats. *Gastroenterology* 1993;104:1498-506.
4. Vaquero E, Molero X, Tian X, Salas A, Malagelada JR. Myofibroblast proliferation, fibrosis and defective pancreatic repair induced by cyclosporin in rats. *Gut* 1999;45:269-77.
5. Takano S, Kimura T, Yamaguchi H, Linjo M, Nawata H. Effects of stress on the development of chronic pancreatitis. *Pancreas* 1992;7:548-55.
6. Inoue M, Ino Y, Gibo J, Ito T, Hisano T, Arita Y, et al. The role of monocyte chemoattractant protein-1 in experimental chronic pancreatitis model induced by dibutyltin dichloride in rats. *Pancreas* 2002;25:64E-70E.
7. Whitcomb DC. Hereditary pancreatitis. New insights into acute and chronic pancreatitis. *Gut* 1999;45:317-22.
8. Etemad B, Whitcomb DC. Chronic pancreatitis: diagnosis, classification, and new genetic developments. *Gastroenterology* 2001;120:682-707.

9. Simon P, Weiss FU, Sahin-Toth M, Parry M, Nayler O, Lenfers B, et al. Hereditary pancreatitis caused by a novel PRSS1 mutation (Arg-122 -> Cys) that alters autoactivation and autodegradation of cationic trypsinogen. *J Biol Chem* 2002;277:5404-10.
10. Pfitzer R, Myers E, Applebaum-Shapiro S, Finch R, Ellis I, Neoptolemos J, et al. Novel cationic trypsinogen (PRSS1) N29T and R122C mutations cause autosomal dominant hereditary pancreatitis. *Gut* 2002;50:271-2.
11. Teich N, Bauer N, Mossner J, Keim V. Mutational screening of patients with nonalcoholic chronic pancreatitis: identification of further trypsinogen variants. *Am J Gastroenterol* 2002;97:341-6.
12. Cohn JA, Friedman KJ, Noone PG, Knowles MR, Silverman LM, Jowell PS. Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998;339:653-8.
13. Noone PG, Zhou Z, Silverman LM, Jowell PS, Knowles MR, Cohn JA. Cystic fibrosis gene mutations and pancreatitis risk: relation to epithelial ion transport and trypsin inhibitor gene mutations. *Gastroenterology*. 2001;121:1310-9.
14. Pfitzer RH, Whitcomb DC. SPINK1 mutations are associated with multiple phenotypes. *Pancreatol* 2001;1:457-60.
15. Sharer N, Schwarz 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;339:645-52.
16. Witt H, Luck W, Hennies HC, Classen M, Kage A, Lass U, et al. Mutations in the gene encoding the serine protease inhibitor, Kazal type 1 are associated with chronic pancreatitis. *Nat Genet* 2000;25:213-6.
17. Schneider A, Suman A, Rossi L, Barmada MM, Beglinger C, Parvin S, et al. SPINK1/PSTI mutations are associated with tropical pancreatitis and type II diabetes mellitus in Bangladesh. *Gastroenterology* 2002;123:1026-30.
18. Bhatia E, Choudhuri G, Sikora SS, Landt O, Kage A, Becker M, et al. Tropical calcific pancreatitis: strong association with SPINK1 trypsin inhibitor mutations. *Gastroenterology* 2002;123:1020-5.
19. Truninger K, Witt H, Kock J, Kage A, Seifert B, Ammann RW, et al. Mutations of the serine protease inhibitor, Kazal type 1 gene, in patients with idiopathic chronic pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2002;97:1133-7.
20. Guarner L, Molero X, Malats N, Nogués N, Subirana L, Alonso A, et al. Study of genetic mutations associated with chronic pancreatitis in our population. *Pancreatol* 2002;2:181.
21. Noone PG, Knowles MR. 'CFTR-opathies': disease phenotypes associated with cystic fibrosis transmembrane regulator gene mutations. *Resp Res* 2001;2:328-32.
22. Saluja AK, Donovan EA, Yamanaka K, Yamaguchi Y, Hofbauer B, Steer ML. Cerulein-induced in vitro activation of trypsinogen in rat pancreatic acini is mediated by cathepsin B. *Gastroenterology* 1997;113:304-10.
23. Van Acker GJ, Saluja AK, Bhagat L, Singh VP, Song AM, Steer ML. Cathepsin B inhibition prevents trypsinogen activation and reduces pancreatitis severity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002;283:794G-800G.
24. Lerch MM, Gorelich FS. Early trypsinogen activation in acute pancreatitis. *Med Clin North Am* 2000;84:549-63.
25. Grady T, Mah'Moud M, Otani T, Rhee S, Lerch MM, Gorelich FS. Zymogen proteolysis within the pancreatic acinar cell is associated with cellular injury. *Am J Physiol* 1998;275:1010G-7G.
26. Whitcomb DC. Early trypsinogen activation in acute pancreatitis. *Gastroenterology* 1999;116:770-2.
27. Ruthenburger M, Kruger B, Halangk W, Lerch MM. Intracellular pro-elastase but not trypsinogen activation is associated with acinar cell injury. *Int J Pancreatol* 2000;28:148.
28. Brandt-Nedelev B, Peters C, Halangk W, Lerch MM. Trypsinogen activation and severity of CDE diet-induced pancreatitis in cathepsin B deficient mice [abstract]. *Gastroenterology* 2002;122:284A.
29. Imamura T, Asada M, Vogt SK, Rudnick DA, Lowe ME, Muglia LJ. Protection from pancreatitis by the zymogen granule membrane protein integral membrane-associated protein-1 [en prensa]. *J Biol Chem* 2002.
30. Hoidal JR. Reactive oxygen species and cell signaling. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001;25:661-3.
31. Parcker L, Weber SU, Rimbach G. Molecular aspects of -tocotrienol antioxidant action and cell signaling. *J Nutr* 2001;131:369S-73S.
32. Gough DB, Boyle B, Joyce WP, Delaney CP, McGeeney KF, Gorey TF, et al. Free radical inhibition and serial chemiluminescence in evolving experimental pancreatitis. *Br J Surg* 1990;77:1256-9.
33. Rau B, Poch B, Gansauge F, Bauer A, Nussler AK, Nevalainen T, et al. Pathophysiological role of oxygen free radicals in acute pancreatitis: initiating event or mediator of tissue damage? *Ann Surg* 2000;231:352-60.
34. Fu K, Sarras MP Jr, De Lisle RC, Andrews GK. Expression of oxidative stress-responsive genes and cytokine genes during cerulein-induced acute pancreatitis. *Am J Physiol* 1997;273:696G-705G.
35. Sato H, Siow RC, Bartlett S, Taketani S, Ishii T, Bannai S, et al. Expression of stress proteins heme oxygenase-1 and -2 in acute pancreatitis and pancreatic islet betaTC3 and acinar AR42J cells. *FEBS Lett* 1997;405:219-23.
36. Ethridge RT, Ehlers RA, Hellmich MR, Rajaraman S, Evers BM. Acute pancreatitis results in induction of heat shock proteins 70 and 27 and heat shock factor-1. *Pancreas* 2000;21:248-56.
37. Christians ES, Yan LJ, Benjamin IJ. Heat shock factor 1 and heat shock proteins: critical partners in protection against acute cell injury. *Crit Care Med* 2002;30:43S-50S.
38. Ortiz EM, Dusetti NJ, Vasseur S, Malka D, Bodeker H, Dagorn JC, et al. The pancreatitis-associated protein is induced by free radicals in AR4-2J cells and confers cell resistance to apoptosis. *Gastroenterology* 1998;114:808-16.
39. Graf R, Schiesser M, Scheele GA, Marquardt K, Frick TW, Ammann RW, et al. A family of 16-kDa pancreatic secretory stress proteins form highly organized fibrillar structures upon tryptic activation. *J Biol Chem* 2001;276:21028-38.
40. Apte MV, Phillips PA, Fahmy RG, Darby SJ, Rodgers SC, McCaughan GW, et al. Does alcohol directly stimulate pancreatic fibrogenesis? Studies with rat pancreatic stellate cells. *Gastroenterology* 2000;118:780-94.
41. Powell DW, Mifflin RC, Valentich JD, Crowe SE, Saada JI, West AB. Myofibroblasts (I). Paracrine cells important in health and disease. *Am J Physiol* 1999;277:1C-9C.
42. Lum H, Roebuck KA. Oxidant stress and endothelial cell dysfunction. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;280:719C-41C.
43. Lawson JA, Rokach J, FitzGerald GA. Isoprostanes: formation, analysis and use as indices of lipid peroxidation in vivo. *J Biol Chem* 1999;274:24441-4.
44. Roberts LJ 2nd, Brame CJ, Chen Y, Morrow JD. Novel eicosanoids. Isoprostanes and related compounds. *Methods Mol Biol* 1999;120:257-85.
45. Folch E, Salas A, Panes J, Gelpi E, Roselló-Catafau J, Anderson DC, et al. Role of P-selectin and ICAM-1 in pancreatitis-induced lung inflammation in rats: significance of oxidative stress. *Ann Surg* 1999;230:792-9.
46. Colell A, García-Ruiz C, Miranda M, Ardite E, Mari M, Morales A, et al. Selective glutathione depletion of mitochondria by ethanol sensitizes hepatocytes to tumor necrosis factor. *Gastroenterology* 1998;115:1541-51.
47. Norton ID, Apte MV, Haber PS, McCaughan GW, Pirola RC, Wilson JS. Cytochrome P4502E1 is present in rat pancreas and is induced by chronic ethanol administration. *Gut* 1998;42:426-30.
48. Matsumura M, Ochi K, Ichimura M, Mizushima T, Harada H, Harada M. Study on free radicals and pancreatic fibrosis-pancreatic fibrosis induced by repeated injections of superoxide dismutase inhibitor. *Pancreas* 2001;22:53-7.
49. Mathew P, Wyllie R, Van Lente F, Steffen RM, Kay MH. Antioxidants in hereditary pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1996;9:1558-62.
50. Van Gossum A, Closset P, Noel E, Cremer M, Neve J. Deficiency in antioxidant factors in patients with alcohol-related chronic pancreatitis. *Dig Dis Sci* 1996;41:1225-31.
51. Szuster-Ciesielska A, Daniluk J, Kandefers-Szerszen M. Oxidative stress in blood of patients with alcohol-related pancreatitis. *Pancreas* 2001;22:261-6.
52. Tsai K, Wang SS, Chen TS, Kong CW, Chang FY, Lee SD, et al. Oxidative stress: an important phenomenon with pathogenic significance in the progression of acute pancreatitis. *Gut* 1998;42:850-5.
53. Tashiro M, Schafer C, Yao H, Ernst SA, Williams JA. Arginine induced acute pancreatitis alters the actin cytoskeleton and increases heat shock protein expression in rat pancreatic acinar

- cells. *Gut* 2001;49:241-50.
54. Groblewski GE, Grady T, Mehta N, Lambert H, Logsdon CD, Landry J, et al. Cholecystokinin stimulates heat shock protein 27 phosphorylation in rat pancreas both in vivo and in vitro. *Gastroenterology* 1997;112:1354-61.
 55. Frossard JL, Bhagat L, Lee HS, Hietaranta AJ, Singh VP, Song AM, et al. Both thermal and non-thermal stress protect against caerulein induced pancreatitis and prevent trypsinogen activation in the pancreas. *Gut* 2002;50:78-83.
 56. Lee HS, Bhagat L, Frossard JL, Hietaranta A, Singh VP, Steer ML, et al. Water immersion stress induces heat shock protein 60 expression and protects against pancreatitis in rats. *Gastroenterology* 2000;119:220-9.
 57. Grise K, Kim F, McFadden D. Hyperthermia induces heat-shock protein expression, reduces pancreatic injury, and improves survival in necrotizing pancreatitis. *Pancreas* 2000;21:120-5.
 58. Pockley AG. Heat shock proteins, inflammation, and cardiovascular disease. *Circulation* 2002;105:1012-7.
 59. Malhotra V, Wong HR. Interactions between the heat shock response and the nuclear factor-KB signaling pathway. *Crit Care Med* 2002;30:89S-95S.
 60. Kruger B, Albrecht E, Lerch MM. The role of intracellular calcium signaling in premature protease activation and the onset of pancreatitis. *Am J Pathol* 2000;157:43-50.
 61. Raraty M, Ward J, Erdemli G, Vaillant C, Neoptolemos JP, Sutton R, et al. Calcium-dependent enzyme activation and vacuole formation in the apical granular region of pancreatic acinar cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:13126-31.
 62. Lerch MM, Lutz MP, Weidenbach H, Muller-Pillasch F, Gress TM, Leser J, et al. Dissociation and reassembly of adherens junctions during experimental acute pancreatitis. *Gastroenterology* 1997;113:1355-66.
 63. Leser J, Beil MF, Musa OA, Adler G, Lutz MP. Regulation of adherens junction protein p120(ctn) by 10 nM CCK precedes actin breakdown in rat pancreatic acini. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000;278:486G-91G.
 64. Riesle E, Friess H, Zhao L, Wagner M, Uhl W, Baczako K, et al. Increased expression of transforming growth factor beta after acute oedematous pancreatitis in rats suggests a role in pancreatic repair. *Gut* 1997;40:73-9.
 65. Van Laethem JL, Robberecht P, Resibois A, Deviere J. Transforming growth factor beta promotes development of fibrosis after repeated courses of acute pancreatitis in mice. *Gastroenterology* 1996;110:576-82.
 66. Hahm KB, Im YH, Lee C, Parks WT, Bang YJ, Green JE, et al. Loss of TGF-beta signaling contributes to autoimmune pancreatitis. *J Clin Invest* 2000;105:1057-65.
 67. Demols A, Van Laethem JL, Quertinmont E, Degraef C, Delhaye M, Geerts A, et al. Endogenous interleukin-10 modulates fibrosis and regeneration in experimental chronic pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002;282:1105G-12G.
 68. Rai RM, Lee FY, Rosen A, Yang SQ, Lin HZ, Koteish A, et al. Impaired liver regeneration in inducible nitric oxide synthase-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:13829-34.
 69. Apte MV, Haber PS, Applegate TL, Norton ID, McCaughan GW, Korsten MA, et al. Periacinar stellate shaped cells in rat pancreas: identification, isolation, and culture. *Gut* 1998;43:128-33.
 70. Bachem MG, Schneider E, Gross H, Weidenbach H, Schmid RM, Menke A, et al. Identification, culture, and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans. *Gastroenterology* 1998;115:421-32.
 71. Sage EH. Regulation of interactions between cells and extracellular matrix: a command performance on several stages. *J Clin Invest* 2001;107:781-3.
 72. Demayo F, Minoo P, Plopper CG, Schuger L, Shannon J, Torday JS. Mesenchymal-epithelial interactions in lung development and repair: are modeling and remodeling the same process? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002;283: L510L-7L.
 73. Apte MV, Haber PS, Darby SJ, Rodgers SC, McCaughan GW, Korsten MA, et al. Pancreatic stellate cells are activated by proinflammatory cytokines: implications for pancreatic fibrogenesis. *Gut* 1999;44:534-41.
 74. Shek FW, Benyon RC, Walker FM, McCrudden PR, Pender SL, Williams EJ, et al. Expression of transforming growth factor-beta 1 by pancreatic stellate cells and its implications for matrix secretion and turnover in chronic pancreatitis. *Am J Pathol* 2002;160:1787-98.
 75. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000;275:2247-50.
 76. Iredale JP, Benyon RC, Pickering J, McCullen M, Northrop M, Pawley S, et al. Mechanisms of spontaneous resolution of rat liver fibrosis. Hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors. *J Clin Invest* 1998;102:538-49.
 77. Iredale JP. Hepatic stellate cell behavior during resolution of liver injury. *Semin Liver Dis* 2001;21:427-36.
 78. Gressner AM. The cell biology of liver fibrogenesis. An imbalance of proliferation, growth arrest and apoptosis of myofibroblasts. *Cell Tissue Res* 1998;292:447-52.
 79. Wright MC, Issa R, Smart DE, Trim N, Murray GI, Primrose JN, et al. Gliotoxin stimulates the apoptosis of human and rat hepatic stellate cells and enhances the resolution of liver fibrosis in rats. *Gastroenterology* 2001;121:685-98.
 80. Padilla MA, Molero X, Skoudy A, Adell T, Vaquero E, Gómez-Valero JA, et al. The exocrine pancreas-specific factor p48: role in experimental pancreatitis [abstract]. *Pancreatology* 2001;1:144.
 81. Leibovich SJ, Ross R. The role of macrophage in wound repair: a study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *Am J Pathol* 1975;78:71-100.
 82. Mutsaers SE, Whitaker D, Papadimitriou JM. Stimulation of mesothelial cell proliferation by exudate macrophages enhances serosal wound healing in a murine model. *Am J Pathol* 2002;160:681-92.
 83. Okazaki K, Uchida K, Ohana M, Nakase H, Uose S, Inai M, et al. Autoimmune-related pancreatitis is associated with autoantibodies and a Th1/Th2-type cellular immune response. *Gastroenterology* 2000;118:573-81.
 84. Ebert MP, Ademmer K, Muller-Ostermeyer F, Friess H, Buchler MW, Schubert W, et al. CD8+ CD103+ T cells analogous to intestinal intraepithelial lymphocytes infiltrate the pancreas in chronic pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1998;93:2141-7.
 85. Aithal GP, Breslin NP, Gumustop B. High serum IgG4 concentrations in patients with sclerosing pancreatitis. *N Engl J Med* 2001;345:147-8.
 86. Tanaka S, Kobayashi T, Nakanishi K, Okubo M, Murase T, Hashimoto M, et al. Evidence of primary beta-cell destruction by T-cells and beta-cell differentiation from pancreatic ductal cells in diabetes associated with active autoimmune chronic pancreatitis. *Diabetes Care* 2001;24:1661-7.
 87. Artuc M, Hermes B, Steckelings UM, Grutzkau A, Henz BM. Mast cells and their mediators in cutaneous wound healing—active participants or innocent bystanders? *Exp Dermatol* 1999; 8:1-16.
 88. Gressner AM, Bachem MG. Molecular mechanisms of liver fibrogenesis—a homage to the role of activated fat-storing cells. *Digestion* 1995;56:335-46.
 89. Wu C, Dedhar S. Integrin-linked kinase (ILK) and its interactors: a new paradigm for the coupling of extracellular matrix to actin cytoskeleton and signaling complexes. *J Cell Biol* 2001;155:505-10.
 90. Bornstein P. Diversity of function is inherent in matricellular proteins: an appraisal of thrombospondin 1. *J Cell Biol* 1995;130:503-6.
 91. Crawford SE, Stellmach V, Murphy-Ullrich JE, Ribeiro SM, Lawler J, Hynes RO, B et al. Thrombospondin-1 is a major activator of TGF-beta1 *in vivo*. *Cell* 1998;93:1159-70.
 92. Francki A, Bradshaw AD, Bassuk JA, Howe CC, Couser WG, Sage EH. SPARC regulates the expression of collagen type I and transforming growth factor-beta1 in mesangial cells. *J Cell Biol* 1999;274:32145-52.