

DEPARTAMENT DE BIOQUÍMICA I BIOLOGIA
MOLECULAR. SECCIÓ DEPARTAMENTAL DE MEDICINA

ACTIVACIÓN DEL EOSINÓFILO EN LA PANCREATITIS
AGUDA

CONSUELO CONCEPCIÓN MONTAÑANA LLORENS

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA
Servei de Publicacions
2008

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a València el dia 13 de març de 2008 davant un tribunal format per:

- D. Juan Viña Ribes
- D. Salvador Navarro Colas
- D^a. M^a Dolores Planelles Silvestre
- D. Francisco Bosch Morell
- D. José Enrique O'Connor Blasco

Va ser dirigida per:

D. Adolfo Benages Martínez

D. Amparo Mir Gisbert

©Copyright: Servei de Publicacions
Consuelo Concepción Montañana Llorens

Depòsit legal:

I.S.B.N.:978-84-370-7120-6

Edita: Universitat de València
Servei de Publicacions
C/ Artes Gráficas, 13 bajo
46010 València
Spain
Telèfon: 963864115



VNIVERSITATĪ VALÈNCIA

Facultat de **C**iències **B**iològiques

Departament de Bioquímica i Biologia Molecular
Secció Departamental de Medicina i Odontologia

ACTIVACIÓN del EOSINÓFILO en la PANCREATITIS AGUDA

Tesis doctoral

Presentada por: Consuelo C. Montañana Llorens
Dirigida por: Dr. Adolfo Benages Martínez
Dra. Amparo Mir Gisbert

Valencia, 2007



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

**Departament de Bioquímica i Biologia Molecular
Secció Departamental de Medicina i Odontologia**

Dr. D. Adolfo Benages Martínez, Catedrático de Medicina del Departament de Medicina de la Universitat de València.

Dra. D^a. Amparo Mir Gisbert, Profesora Titular de Medicina del Departament de Medicina de la Universitat de València.

CERTIFICAN:

Que D^a. Consuelo Concepción Montañana Llorens, Licenciada en Ciencias Biológicas por la Universitat de València, ha realizado bajo su dirección la presente tesis titulada:

“ACTIVACIÓN DEL EOSINÓFILO EN LA PANCREATITIS AGUDA”

para la obtención del Título de Doctor.

Y para que conste a los efectos oportunos, firman la presente certificación.

Valencia, a 14 de diciembre de 2007.

Fdo.: Dr. D. Adolfo Benages Martínez

Fdo.: Dra. D^a. Amparo Mir Gisbert

Agraïments

Moltíssimes gràcies a totes aquelles persones que han fet que açò siga possible: David i família pel vostre suport i per cuidar-me tant, amics i amigues per fer-me passar tants bons sopars i viatges, companys dels laboratoris (en especial a Quique, i a Pili, Rosa i Ursula) per fer el treball més agradable, al Dr. Vicent Hernández i l'equip de Motilitat Digestiva per estar pendents del seropan, als companys del treball (sobretot Juan i Luís) per estar ahí aguantant-me el rotllo, i a tots els que m'agradaria donar un bes i no caben en aquest full.

Als Directors de la Tesi: Dr. Adolfo Benages i Dra. Amparo Mir per donar-me l'oportunitat de treballar junts i per fer que, amb tots els meus "agobios", les coses vagen endavant i de segur que s'en riurem prou junts.

A Empar Montañana, per ser un referent sempre present i un exemple a seguir.

A la Dra. M^a Carmen Llena per la seva confiança incondicional i al Dr. Salvador Guillén per la seva ajuda inestimable en tot el que li he demanat.

Part d'aquesta Tesi ha comptat amb el suport econòmic de la Fundación para la Innovación Sanitaria mitjançant el Projecte de col·laboració "Estudio de la respuesta celular en pacientes con pancreatitis alcohólica". El meu agraïment al Patronat de la Fundació per permetre'm fer els canvis d'horari i de vacances necessaris per portar a terme aquest treball.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	8
INTRODUCCIÓN	11
1. ESQUEMA ANATOMOFUNCIONAL DEL PÁNCREAS	12
2. PANCREATITIS AGUDA	16
2.1. Manifestaciones clínicas y diagnóstico	16
2.2. Patogenia y fisiopatología	22
2.3. Tratamiento de la pancreatitis aguda	27
3. CONSIDERACIONES SOBRE EL PROCESO INFLAMATORIO	31
3.1. Mecanismos de inflamación	34
3.2. Las citocinas en el proceso inflamatorio	36
3.2.1. Citocinas proinflamatorias	38
3.2.2. Citocinas antiinflamatorias	41
3.3. Las quimiocinas en el proceso inflamatorio	43
3.3.1. Estructura general y clasificación	44
3.3.2. Funciones de las quimiocinas	49
3.4. Proceso inflamatorio en la pancreatitis aguda	56
4. FISIOPATOLOGÍA DEL EOSINÓFILO	62
4.1. Características generales del eosinófilo	62
4.2. Mediadores del eosinófilo	65
4.3. Activación del eosinófilo	67
4.4. Relación con procesos patológicos	69
4.4.1 Eosinopoyesis y eosinofilia tisular	70
4.4.2. Regulación de la actividad del eosinófilo	75
4.5. Eosinófilo en la pancreatitis aguda como modelo de inflamación	76
5. INTERLEUCINA- 5 Y EOTAXINA	79
5.1. Interleucina-5: factor de diferenciación del eosinófilo	79
5.1.1. Funciones	79
5.1.2. Expresión	81
5.1.3. Producción y modulación	81
5.1.4. Relación con la patología	82
5.2. Eotaxina: quimiocina selectiva del eosinófilo	83
5.2.1. Funciones	84
5.2.2. Expresión	86
5.2.3. Producción y modulación	87
5.2.4. Relación con la patología	89
JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	93
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO	96
MATERIAL Y MÉTODOS	98
1. TIPO DE ESTUDIO	100
2. PACIENTES	100
2.1. Criterios de selección	100
2.2. Protocolo estandarizado de pancreatitis aguda (aspectos etiológicos, pronósticos y de gravedad)	102
2.3. Estudio clínico-analítico de los pacientes	116
2.3.1. Valoración clínica de los pacientes	105

2.3.2. Estudio analítico	106
2.3.3. Estudio radiológico	107
2.4. Grupos de estudio	107
3. MÉTODOS	108
3.1. Obtención de la muestra sanguínea	108
3.2. Obtención de las muestras de suero para determinación de eotaxina e IL-5	109
3.3. Determinación de eotaxina en suero	109
3.4. Determinación de IL-5 en suero	110
3.5. Material	111
3.6. Expresión de los resultados y tratamiento estadístico	112
3.6.1. Determinación del tamaño muestral	112
3.6.2. Métodos estadísticos	113
RESULTADOS	116
1. CARACTERÍSTICAS DEL GRUPO DE ESTUDIO	117
1.1. Características clínicas de los pacientes incluidos en el estudio	121
1.2. Características clínicas de los pacientes con PA leve y con PA grave	121
1.3. Parámetros analíticos de los pacientes incluidos en el estudio	122
2. ESTUDIO CUANTITATIVO DEL EOSINÓFILO EN PACIENTES CON PANCREATITIS AGUDA	135
2.1. Cuantificación de eosinófilos en pacientes con PA	135
2.2. Determinación del número de eosinófilos en pacientes con PA en relación con la etiología	138
2.3. Determinación del número de eosinófilos en pacientes con PA leve y PA grave	141
2.4. Determinación del número de eosinófilos en pacientes con PA en relación con la aparición de complicaciones locales y complicaciones sistémicas	144
2.5. Correlación del número de eosinófilos con parámetros de inflamación en los pacientes con PA	147
2.6. Correlación del número de eosinófilos con parámetros de inflamación en los pacientes con PA clasificados según la etiología	149
2.7. Correlación del número de eosinófilos con parámetros de inflamación en los pacientes con PA acompañada de complicaciones	151
3. EXPRESIÓN DE EOTAXINA EN PACIENTES CON PANCREATITIS AGUDA	153
3.1. Expresión de eotaxina en pacientes con pancreatitis aguda	153
3.1.1. Concentración de eotaxina en el grupo control y en pacientes PA	153
3.1.2. Concentración de eotaxina durante la evolución de la PA	155
3.2. Expresión de eotaxina en pacientes PA en relación con la etiología	157
3.2.1. Concentración de eotaxina en sujetos control y en pacientes con PA de diferente etiología	169
3.2.2. Concentración de eotaxina durante la evolución de la PA en relación con la etiología	159
3.2.3. Comparación de la concentración de eotaxina entre pacientes con PA de diferente etiología	161

3.3. Expresión de eotaxina en los pacientes PA en relación con la gravedad del episodio	162
3.3.1. Niveles de eotaxina en controles y en pacientes con PA leve y PA grave	162
3.3.2. Concentración de eotaxina durante la evolución de los pacientes con PA leve y pacientes con PA grave	164
3.3.3. Comparación de la concentración de eotaxina entre pacientes con PA leve y pacientes con PA grave	165
3.4. Expresión de eotaxina en los pacientes PA con complicaciones	167
3.4.1. Concentración de eotaxina en sujetos control y en pacientes con complicaciones locales o complicaciones sistémicas	170
3.4.2. Concentración de eotaxina durante la evolución de la PA con complicaciones locales o complicaciones sistémicas	174
3.5. Correlación de la concentración de eotaxina con parámetros inflamatorios en pacientes PA	176
3.6. Correlación de la concentración de eotaxina con parámetros inflamatorios en los pacientes PA clasificados según la etiología	178
3.7. Correlación de la concentración de eotaxina con parámetros inflamatorios en los pacientes PA con complicaciones	179
4. EXPRESION DE IL-5 EN PACIENTES CON PANCREATITIS AGUDA	181
4.1. Evolución de la concentración de IL-5 en pacientes con PA	181
4.2. Concentración de IL-5 en suero a lo largo de la evolución de la PA en relación con la etiología	183
4.3. Concentración de IL-5 en suero a lo largo de la evolución de la PA leve y la PA grave	186
4.4. Comportamiento de la concentración de IL-5 en los pacientes con PA acompañada de complicaciones locales o sistémicas	188
4.5. Correlación de la concentración de IL-5 con parámetros de inflamación en los pacientes con PA	191
4.6. Correlación de la concentración de IL-5 con los parámetros de inflamación en función de la etiología	192
4.7. Correlación de la concentración de IL-5 con los parámetros de inflamación en los pacientes PA en función del tipo de complicación	192
5. CORRELACIÓN ENTRE LOS PARAMETROS DE ESTUDIO EN LOS PACIENTES CON PANCREATITIS AGUDA	193
DISCUSIÓN	195
1. Interés del estudio del eosinófilo en la pancreatitis aguda	196
2. Valoración del grupo de estudio	199
3. Variación del número de eosinófilos en la pancreatitis aguda	200
4. Expresión de eotaxina en pacientes con pancreatitis aguda	203
5. Expresión de IL-5 en pacientes con pancreatitis aguda	206
6. Estudio conjunto de los parámetros de estudio	208
CONCLUSIONES	210
BIBLIOGRAFÍA	213

ABREVIATURAS

APACHE:	<i>Acute Physiology and Chronic Health Evaluation</i>
APC:	Células presentadoras de antígeno
BLR:	Receptor de linfocito B
BSA:	Seroalbúmina bovina
CCR:	Receptores de las quimiocinas CC
CD:	Antígeno de diferenciación linfocitaria
Células NK:	Células T asesinas (<i>natural killer</i>)
CID:	Coagulación intravascular diseminada
CLC-P:	Proteína cristalina Charcot-Leyden
CMH:	Complejo mayor de histocompatibilidad
CCR:	Receptor de quimiocinas CC
CX ₃ CR:	Receptor de quimiocinas CX ₃ C
CXCR:	Receptor de quimiocinas CXC
DAC:	Citotoxicidad mediada por anticuerpos
DARC:	Receptor del antígeno Duffy para quimiocinas
D.E:	Desviación estándar
EBV:	Virus Epstein-Barr
ECP:	Proteína catiónica del eosinófilo
EDN:	Neurotoxina derivada del eosinófilo
ELISA:	Inmunoensayo enzimático (<i>enzyme linked immunosorbent assay</i>)
EO:	Estrés oxidativo
ENA-78:	<i>Epithelial cell derived neutrophil-activating</i>
EPO:	Enzima peroxidasa del eosinófilo
FcR:	Receptor celular para el fragmento Fc de inmunoglobulinas
fMLP:	Formil metionil leucilfenilalanina (producto bacteriano)
FMO:	Fallo múltiple orgánico
GM-CSF:	Factor estimulante de colonias granulocito-macrófago
GPCR:	Receptor acoplado a la proteína G
GPx:	Glutation peroxidasa
HLA-DR	Antígeno del monocito leucocito humano
IBD:	Enfermedad inflamatoria intestinal (<i>inflammatory bowel disease</i>)
ICAM-1:	Molécula de adhesión intercelular 1
IDO:	Indoleamina 2,3-dioxigenasa
IFN- $\alpha/\beta/\gamma$:	Interferon-alfa/ interferon-beta/ interferon-gamma
Ig:	Inmunoglobulina
IL:	Interleucina
IP-10:	<i>Interferon-gamma-inducible protein-10</i>
LTA ₄ :	Leucotrieno A ₄ (precursor de la LTB ₄)
LTB ₄ :	Leucotrieno B ₄
LTC ₄ :	Leucotrieno C ₄
LTC:	Linfocitos T activados por citocinas
MBP:	Proteína mayor básica del eosinófilo
MCP:	Proteína quimiotrayente del monocito
MDC:	<i>Macrophage derived chemokine</i>
MHC:	Complejo mayor de histocompatibilidad
MIP 1 α :	Proteína inflamatoria de macrófago 1 α
NGF:	Factor de crecimiento nervioso
PA:	Pancreatitis aguda
PAF	Factor de activación plaquetaria
PAMPs:	Modelos moleculares asociados a patógenos
PBS:	Tampón fosfato salino
PF-4:	Factor plaquetario 4
PMN:	Leucocitos polimorfonucleados

PSCs:	Células pancreáticas estrelladas
RANTES:	<i>Regulated upon activation, Normal T cell expressed and secreted</i>
sCD23:	Receptor soluble de baja afinidad para IgE
SCF:	Factor de las células madre (<i>Stem cell factor</i>)
SDRA:	Síndrome de distrés respiratorio del adulto
SIRS:	Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica
STAT6:	Factor transductor de señales y activador de la transcripción-6
TARC:	<i>T-cell-directed chemokine thymus and activation-regulated chemokine</i>
TC:	Tomografía computadorizada
TGF- β :	Factor transformador de crecimiento
Th1:	Células linfocitarias T colaboradoras tipo 1
Th2:	Células linfocitarias T colaboradoras tipo 2
TLR:	Receptores tipo Toll
TNF- α / β :	Factor de necrosis tumoral α / Factor de necrosis tumoral β
UPA:	Uroquinasa activadora del plasminógeno
UPAR:	Receptor de la uroquinasa activadora del plasminógeno
VCAM-1:	Molécula de adhesión vascular-celular 1
VIH:	Virus de inmunodeficiencia humana

INTRODUCCIÓN

1. ESQUEMA ANATOMOFUNCIONAL DEL PÁNCREAS

El páncreas humano es una glándula que reúne simultáneamente funciones secretoras exocrina y endocrina, es alargada y de localización retroperitoneal, se extiende oblicuamente por encima del duodeno, por detrás del estómago y a lo largo de la pared abdominal posterior hasta el bazo, a la altura de la segunda vértebra lumbar (entre LI y LII). La función exocrina es la encargada de segregar los enzimas digestivos y la función endocrina de segregar hormonas que incrementan o disminuyen los procesos de metabolismo del alimento ingerido. La regulación de la secreción pancreática tiene un control nervioso: esquemáticamente es inhibida por el sistema simpático y es activada por el parasimpático; y un control hormonal dependiente de la acción de secretina y de colecistoquinina segregadas bajo la acción alimentaria en momentos puntuales.

La figura 1 muestra una representación del páncreas en la que se integra la histología con la funcionalidad de la glándula, mostrando las porciones glandulares en un tamaño aumentado.

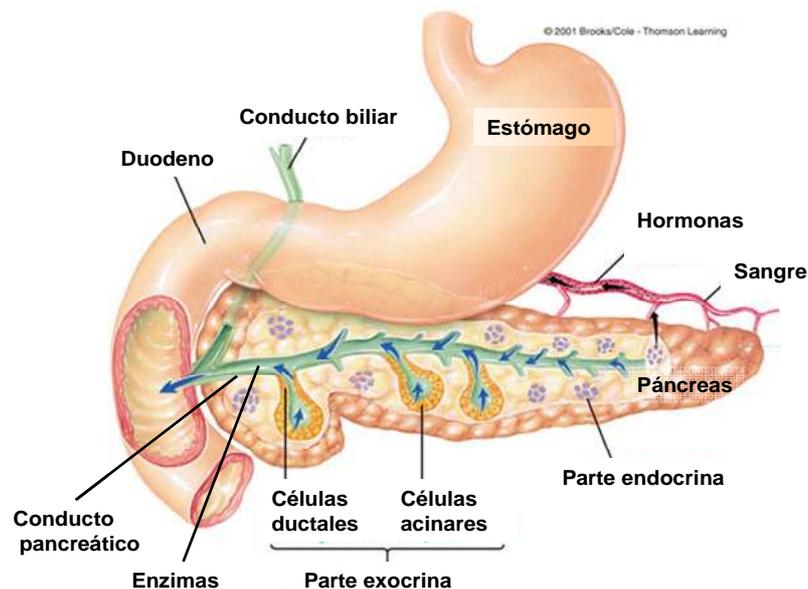


Figura 1: Histología y funciones del páncreas en condiciones normales.
Fuente: Brooks/Cole – Thomson Learning, 2001.

El tejido exocrino constituye la mayor parte de la masa glandular, supone un 98% del peso del páncreas, y es el encargado de secretar diariamente de 1,5 a 3 litros de un líquido incoloro, de pH alcalino e isosmótico con el plasma, constituido por entre 15 y 30 gramos de proenzimas y enzimas digestivos, electrolitos y agua (Go VLW, 1988). La función principal del jugo pancreático consiste en crear un pH alcalino en la sección

duodenal del intestino, para que los enzimas digestivos puedan actuar en condiciones óptimas sobre las proteínas, los lípidos y los polisacáridos de la comida ingerida.

El páncreas exocrino está constituido por racimos de acini que constituyen los lobulillos, separados entre sí por tejido conectivo. El acino, que es la unidad funcional del páncreas exocrino, se compone de un estrato único de células piramidales, cuya base se apoya sobre una fina membrana basal mientras que el vértice asoma a la luz de los conductillos mediante los microvilli. El citoplasma de una célula acinar posee grandes gránulos de zimógeno acidófilo, cuyo número es variable y que se localizan en el vértice de la célula.

El zimógeno esta compuesto por proenzimas inactivos, principalmente tripsinógeno, quimotripsinógeno, proelastasa, procarboxipeptidasa A y B, α -amilasa, fosfolipasa A, prolipasa y colesterolesterasa, junto con inhibidores de tripsinas sintetizados por el propio páncreas y todo ello dentro de gránulos rodeados por una membrana lipoproteica. Los proenzimas son activados por desdoblamiento enzimático del péptido de activación, un residuo amino terminal de la cadena polipeptídica que además es detectado en el suero de pacientes con pancreatitis aguda y correlaciona con la presencia de necrosis (Mayer J et al, 1999; Mayer J et al, 2000). En condiciones normales la activación de los enzimas no sucede hasta que son secretados al intestino delgado, pero también pueden ser activados por las proteasas lisosómicas de las propias células acinares, provocando entonces la lesión celular.

Cada acino es drenado por un conductillo que drena en otro mayor, que a su vez drena en el conducto extralobulillar, que desemboca en el conducto principal de Wirsung, en el cual también desembocan pequeñas glándulas mucoides. El conducto excretor de Wirsung finalmente desemboca en la segunda porción duodenal (duodeno descendente), en la llamada ampolla de Váter, junto con el colédoco proveniente del hígado y en el que también desemboca la vesícula biliar. Rodeando la ampolla de Váter encontramos el esfínter de Oddi que es un anillo muscular capaz de regular la salida del líquido hacia el intestino. Existe otro conducto secundario excretor del páncreas llamado conducto de Santorini que desemboca en la carúncula menor del duodeno.

El páncreas está protegido de la acción de dichos enzimas mediante diferentes estrategias como la síntesis de éstos en forma de proenzimas inactivos, incluidos en el interior de los gránulos. Además, la tripsina es bastante efectiva en autohidrolizarse

en cantidades reducidas y, aún más, las propias células acinares sintetizan, almacenan y secretan, junto con los proenzimas, una sustancia inhibidora de la tripsina, de bajo peso molecular, diferente a los inhibidores de proteasas de las globulinas plasmáticas (α 1-antitripsina y α 2-macroglobulina), que atacaría a los enzimas inactivos y bloquearían su acción catalítica.

Cuando los gránulos se vierten en el duodeno, la enteropeptidasa (enteroquinasa), sintetizada por los enterocitos de la mucosa duodenal, que es particularmente eficaz en el desdoblamiento de los péptidos de activación del tripsinógeno, actúa sobre éstos y los convierte en tripsina, y la propia tripsina activa el resto de proenzimas en su forma activa, así como la fosfolipasa A.

Las tripsinas, quimotripsinas y elastasas son endopeptidasas que desdoblan las uniones peptídicas en sitios específicos dentro de las cadenas polipeptídicas, mientras que las carboxipeptidasas son exopeptidasas que fragmentan residuos carboxi-terminal específicos. La α -amilasa hidroliza los enlaces α 1-4-glicosídicos en los polisacáridos; la fosfolipasa A hidroliza los ésteres de ácidos grasos en la posición 2 de algunos fosfolípidos de membrana; la lipasa, en presencia de la coenzima colipasa, hidroliza las uniones éster en las posiciones 1 y 3 de los triglicéridos. Con todo ello, se pueden llegar a metabolizar los alimentos ingeridos cuando llegan al intestino procedentes del estómago.

En la zona periacinar y periductal se encuentran unas células especiales denominadas células pancreáticas estrelladas (PSC) que suponen el 4% de las células pancreáticas. En condiciones normales almacenan vitamina A en unos cuerpos lipídicos localizados en el citoplasma, pero si se activan por unos determinados estímulos se convierten en células capaces de producir, en exceso, las proteínas de la matriz extracelular: α -actina del músculo liso, colágeno tipo I, colágeno tipo III, fibronectina y laminina. Estas células han sido implicadas en la fibrosis pancreática (Apte MV et al, 1999).

El tejido endocrino supone menos del 2% del peso de la glándula y está constituido por pequeños islotes, entre 0,5 y 2 millones de islotes de Langerhans, situados en el interior de los lobulillos de las células acinares. Existe una mayor concentración de islotes en la cola del páncreas. En función de la secreción se diferencian varios tipos celulares:

- Células Tipo A, con gránulos alfa, que sintetizan glucagón y suponen un 20% del total celular. El glucagón promueve la liberación de glucógeno mediante glucogenolisis, aumenta la secreción de insulina y aumenta la lipólisis.
- Células Tipo B, con gránulos beta, que contienen el precursor de la insulina en un complejo de zinc y suponen un 30% del total celular. La insulina promueve la síntesis de glucógeno en el hígado que disminuye la concentración de glucosa dado que disminuye la gluconeogénesis, aumenta la síntesis proteica y favorece el transporte de glucosa al tejido adiposo y de los aminoácidos a las células musculares y al tejido adiposo.
- Células Tipo D, con gránulos delta, que sintetizan gastrina y somatostatina. La gastrina aumenta la secreción gástrica; su hipofunción provoca diabetes y su hiperfunción provoca la hipoglucemia. La somatostatina en el páncreas inhibe la secreción de insulina y glucagón así como la secreción de agua y electrolitos de las células ductales.
- Células argentafinas insulares aisladas que sintetizan serotonina, la cual dirige el ciclo circadiano y con ello la producción de insulina en el páncreas.

Estas células, en conjunto, segregan principalmente insulina y glucagón directamente a la circulación sanguínea, siendo las citadas hormonas las encargadas de regular el metabolismo de los elementos nutritivos absorbidos.

2. PANCREATITIS AGUDA

La Pancreatitis Aguda (PA) es un proceso inflamatorio agudo de la glándula pancreática, que puede implicar de forma variable a otros tejidos circundantes o a determinados órganos distantes. Pero esta definición de pancreatitis y de las complicaciones que presenta no ha sido fácil de elaborar y ha sido necesaria la celebración de varios simposios internacionales para llegar a un consenso aceptado por los gastroenterólogos. En el Simposio de Cambridge (Reino Unido) celebrado en 1983, la PA fue definida como una "afección que típicamente presenta dolor abdominal y habitualmente se asocia a un aumento de enzimas pancreáticos en sangre u orina, debido a la inflamación del páncreas" (Sarner M et al, 1984), breve definición para un proceso inflamatorio tan complejo. Posteriormente, en el simposio celebrado en Atlanta (Estados Unidos) en 1992, se definieron los criterios para clasificar la gravedad de la pancreatitis aguda junto con la importancia de los criterios de Ranson (Ranson JHC et al, 1974) y el sistema de evaluación de la gravedad APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) (Knaus WA et al, 1985), siendo actualmente las conclusiones de este simposio aceptadas por la mayoría de gastroenterólogos internacionales (Bradley EL, 1993). Posteriormente, en 1999 se aportaron ciertas modificaciones en la Conferencia de Santorini (Grecia) en el que se puntualizaron diferentes aspectos según las evidencias médicas, señalando que todavía era difícil llegar a un diagnóstico exacto en diferentes circunstancias, evaluando los medios diagnósticos que habitualmente eran utilizados (Dervenis C et al, 1999).

2.1. Manifestaciones clínicas y diagnóstico

La pancreatitis aguda es un proceso caracterizado clínicamente por un profundo dolor abdominal, irradiado a ambos hipocondrios y/o espalda. En el 90% de los casos se presentan náuseas y vómitos (DiMagno EP y Chari S, 2002) y va acompañado de un aumento de los enzimas pancreáticos en sangre, orina u otros líquidos orgánicos. El proceso cursa con lesión inflamatoria aguda y generalmente difusa del páncreas, de diferente gravedad, por lo que se puede hablar de pancreatitis aguda leve (PA leve) o pancreatitis aguda grave (PA grave).

Los dos signos más frecuentes en la exploración abdominal son el incremento de la sensibilidad a la palpación, con o sin signos de rebote, y la presencia de distensión

abdominal debido a un íleo paralítico (Hernández V et al, 2004). En el 1% de los casos, asociándose a mal pronóstico, se observa la presencia de equimosis en los flancos (signo de Grey-Turner) o periumbilical (signo de Cullen) por extravasación de exudado pancreático hemorrágico. Mediante palpación puede detectarse la presencia de una masa, debida a un pseudoquiste o a una masa inflamatoria pancreática.

Por otro lado, en la exploración física general inicial se observan algunos síntomas como taquicardia, taquipnea o fiebre, como manifestaciones propias del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS). Puede apreciarse disnea por presencia de derrame pleural o por desarrollo del síndrome de distrés respiratorio del adulto (SDRA). El paciente puede presentar ictericia debida a obstrucción biliar por coledocolitiasis o por edema de la cabeza del páncreas (DiMagno EP y Chari S, 2002).

Se clasifica como PA leve aquella que cursa sin complicaciones y como PA grave aquella que va acompañada de complicaciones sistémicas y/o complicaciones locales. De acuerdo con la clasificación de Atlanta, se acepta que cualquier episodio de pancreatitis debe clasificarse como agudo, salvo que previamente o en ese momento quede establecido claramente el diagnóstico de pancreatitis crónica (Bradley EL, 1993).

La PA leve suele desarrollarse sin presencia de complicaciones, provoca una mínima o nula afectación orgánica y permite una recuperación relativamente sencilla del paciente; el proceso de inflamación pancreática suele estar limitado al páncreas aunque pueden observarse otras alteraciones en las zonas peripancreáticas (aparición de colecciones líquidas o alteración de la grasa peripancreática), aunque no se puede descartar la aparición de ciertas alteraciones sistémicas como leucocitosis, fiebre, taquicardia, hipoxia.

La PA grave suele ir asociada a la aparición de complicaciones sistémicas y en muchas ocasiones al SIRS que puede ser considerado como una consecuencia de la anormal regulación de las citocinas y que pueden conducir a un fallo orgánico múltiple (FMO) especialmente en la función renal y respiratoria (Beger HG et al, 1986), así como a la presencia simultánea o no de complicaciones locales. En las PA graves la activación de la cascada inflamatoria no se limita a nivel pancreático, sino que genera fenómenos de isquemia que pueden provocar del desarrollo de necrosis pancreática (Braganza JM, 2001). Además, la mucosa intestinal puede quedar alterada,

permitiendo así el paso de las bacterias intestinales al páncreas, lo que puede dar lugar a la infección de la necrosis pancreática o de las colecciones líquidas peripancreáticas (DiMugno EP y Chari S, 2002).

El diagnóstico de PA, en función de lo descrito en 2005 en la "United Kingdom Guidelines for the management of acute pancreatitis", se basa en la presencia del mencionado dolor abdominal junto con elevación de los enzimas pancreáticos en suero y/o la presencia de alteraciones radiológicas compatibles (Ranson JHC, 1997). Son de muchísima utilidad los métodos que ofrecen imágenes, como la radiología convencional, la ecografía o la tomografía computadorizada.

En cuanto a los enzimas pancreáticos es muy habitual el aumento de la concentración de amilasa, tres veces superior a los límites normales, en las 6-12 primeras horas del episodio y permanece alta durante 3-5 días en las PA leves. Pero este signo no es suficiente para diagnosticar PA dado que la amilasa puede elevarse en otras condiciones y no siempre aparece elevada en todos los pacientes. Aún con estas limitaciones se considera la elevación de los niveles de amilasemia por encima de 3 veces del límite superior de la normalidad como indicativa de la PA (DiMugno EP y Chari S, 2002). Otro de los enzimas pancreáticos que se usan para confirmar el diagnóstico de PA es la lipasa en suero, más específica del páncreas y permanece elevada más tiempo que la amilasa, pero con la desventaja de que su ascenso es más lento tras el inicio del proceso inflamatorio.

Las técnicas de diagnóstico por imagen son poco eficaces en el diagnóstico *a priori*, pero son útiles para el diagnóstico diferencial de otras causas de dolor abdominal. La excepción es la tomografía computadorizada (TC) que permite valorar la presencia de alteraciones en el páncreas en los casos en los que los datos clínicos y analíticos no son concluyentes, estableciendo así el diagnóstico diferencial con otras causas de dolor abdominal, entre las que cabe destacar el cólico biliar, la obstrucción o perforación intestinal, el infarto de miocardio, isquemia o infarto mesentérico, el embarazo ectópico (United Kingdom Guidelines for the management of acute pancreatitis, 2005). Los criterios tomográficos según Balthazar incluyen diferentes grados en función de la presencia de inflamación peripancreática y colecciones líquidas, de la magnitud de la necrosis y del índice de gravedad por TC, que combina los dos indicadores anteriores (Balthazar EJ et al, 1990). (Tabla 1).

Tabla 1: Grados de pancreatitis aguda por TC según la estadificación de Balthazar

GRADOS Y DEFINICIÓN	PUNTOS
A: Páncreas normal	0
B: Agrandamiento focal o difuso del páncreas	1
C: Anomalía pancreática e inflamación peripancreática	2
D: Presencia de una colección líquida mal definida	3
E: Más 2 colecciones líquidas y/o gas en o adyacentes al páncreas	4

En los casos de PA grave, los criterios para el diagnóstico se basan en diferentes factores que se presentan en las complicaciones locales y en las complicaciones sistémicas:

- para las complicaciones locales se definen la aparición de necrosis pancreática, el desarrollo de pseudoquistes y abscesos pancreáticos.
- para las complicaciones sistémicas el FMO se define con la aparición de una situación de shock (con presión arterial sistólica <90 mmHg), insuficiencia respiratoria (con presión arterial de oxígeno $pO_2 \leq 60$ mmHg), insuficiencia renal (creatinina en plasma >2 mg/dl tras rehidratación), hemorragia digestiva gastrointestinal mayor de 500 ml en 24 horas, presencia de coagulación intravascular diseminada (número de plaquetas $\leq 100 \cdot 10^3/mm^3$, fibrinógeno <1 g/l, productos de degradación de fibrinógeno >80 $\mu g/ml$) y alteraciones metabólicas graves como la hipocalcemia ($Ca^{++} < 7.5$ mg/dl). Además la pancreatitis aguda grave se caracteriza por tres o más criterios de Ranson o por ocho o más puntos en el test de evaluación APACHE II.

Se define la necrosis pancreática como áreas localizadas o difusas de parénquima pancreático no viable, típicamente asociado con necrosis de la grasa peripancreática.

Se define un pseudoquiste pancreático como una colección de jugo pancreático encapsulada por una pared fibrosa o por tejido de granulación, formada como consecuencia de pancreatitis aguda, trauma pancreático o pancreatitis crónica.

Se define un absceso pancreático como una colección intraabdominal circunscrita de pus, en el propio parénquima pancreático o en la proximidad del páncreas, que cursa con un cuadro grave infeccioso abdominal y es la causa principal de muerte de la PA a partir de la segunda semana.

Dado que en algunos casos, el episodio de pancreatitis aguda puede llevar a la muerte del paciente, muchos estudios se han dirigido a estudiar factores que pudieran resultar predictivos de la gravedad, con el fin de prevenir la aparición de las complicaciones que llevan a la muerte. Los resultados no han sido capaces de encontrar un único factor que permita definir la probabilidad de que un episodio de PA se convierta en un episodio grave, por lo que se han establecido por parte de la Sociedad Británica de Gastroenterología los factores más útiles para predecir el curso del episodio.

En la tabla 2 se definen los diferentes criterios que podrían predecir un episodio grave en las primeras 48 horas de ingreso del paciente en el hospital englobados principalmente en:

- Impresión clínica de gravedad con presencia de peritonitis, shock, complicaciones, con presencia de signos de Cullen o Grey-Turner, o con derrame pleural en las primeras 72 horas
- Características del paciente: índice de masa corporal superior a 30 kg/m²
- Sistemas de puntuación que valoran la presencia de signos clínicos y analíticos: criterios de Ranson propuestos por Ranson JHC et al, 1974 (tabla 3), criterios de Glasgow propuestos por Blamey SL et al, 1984 (tabla 4) y Sistema APACHE-II propuesto por Knaus WA et al, 1985.
- Marcadores séricos o marcadores en otros líquidos biológicos, entre los que se analizan la proteína C reactiva, la elastasa de los leucocitos polimorfonucleados PMN, los péptidos de activación del tripsinógeno y las citocinas, especialmente las interleucinas 6 y 8 (IL-6, IL-8) y el factor de necrosis tumoral (TNF- α).

Tabla 2: Factores predictores de un episodio grave de PA en las primeras 48 horas del ingreso.

Valoración al ingreso	Impresión clínica: peritonitis, shok, derrame pleural Índice de masa corporal > 30 Puntuación APACHE-II > 8
Valoración a las 24 horas	Impresión clínica: peritonitis, shok, derrame pleural Puntuación APACHE-II > 8 Criterios Glasgow \geq 3 Fallo orgánico persistente Proteína C reactiva > 150 mg/l
Valoración a las 48 horas	Impresión clínica: peritonitis, shok, derrame pleural Criterios Glasgow \geq 3 Fallo orgánico persistente durante las 48 horas Fallo orgánico múltiple

Tabla 3: Criterios de Ranson. Se diferencia etiología etílica del resto.

Al ingreso	PA etílica	Otras PA
Edad	> 55 años	> 70 años
Leucocitos	> 16000 cél/ml	> 18000 cél/ml
Glucosa	> 200 mg/dl	> 220 mg/dl
LDH	> 350 U/l	> 400 U/l
GOT	> 250 U/l	> 250 U/l
Durante las 48 horas primeras	PA etílica	Otras PA
Descenso del hematocrito	> 10%	> 10%
Calcio	< 8 mg/dl	< 8 mg/dl
Déficit de bases	> 4 mEq/l	> 5 mEq/l
Urea	> 10 mg/dl	> 5 mg/dl
Secuestro de líquido	> 6 l	> 6 l
Presión de O ₂ arterial	< 60 mmHg	< 60 mmHg

GOT:transaminasa glutámico oxalacética; LDH: lactato deshidrogenasa

Tabla 4: Criterios de Glasgow. No se diferencian etiologías de la PA.

Edad	> 55 años
Leucocitos	> 15000 cél/ml
Glucosa	> 180 mg/dl
LDH	> 600 U/l
GOT	> 200 U/l
Calcio	< 8 mg/dl
Urea	> 90 mg/dl
Presión de O ₂ arterial	< 60 mmHg
Albúmina	< 3.2 g/dl

GOT:transaminasa glutámico oxalacética; LDH: lactato deshidrogenasa

El Sistema APACHE-II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) consiste en asignar un punto a 12 variables fisiológicas, a la edad y al estado de salud del paciente, de manera que una puntuación superior a 9 indica un episodio grave. APACHE-II se correlaciona con los criterios de Ranson y Glasgow a las 48 horas, pero es poco preciso al ingreso. A las 48 horas presenta una sensibilidad del 50% y una especificidad del 100% por lo que fue recomendado en el Consenso de Santorini.

2.2. Patogenia y fisiopatología

La patogénesis de la pancreatitis aguda no está, aún hoy, demasiado clara, aunque es una evidencia irrefutable que la inflamación del páncreas se debe a una apoplejía autodigestiva del páncreas con formación de jabones cálcicos en el tejido adiposo, hemorragias rodeadas de leucocitos (excepto en la autólisis) y puede observarse incluso necrosis del tejido, que puede llevar a la destrucción del parénquima. La activación intraglandular de los enzimas en el páncreas, que ocurre por la fusión anormal de los lisosomas y los gránulos de zimógeno dentro de las células, provoca la autólisis por penetración de dichos enzimas en los intersticios pancreáticos provocando edemas y hemorragia intersticial y en sangre, pudiendo llegar a provocar incluso accidentes vasculares. A pesar de todo lo expuesto, la mayoría de los episodios se mantienen en una PA leve, debido a la rápida respuesta de reconstrucción del páncreas que implica una importante reorientación de la expresión génica que disminuye la síntesis de los enzimas pancreáticos (Vasseur S et al, 2004).

La fusión de los lisosomas y los gránulos de zimógeno se produce por la “colocalización” de ambos formando vacuolas que contienen las proteasas que activan el tripsinógeno en tripsina, más concretamente, por la colocalización errónea en las vacuolas del citoplasma del tripsinógeno con la hidrolasa cathepsina B (Saluja AK et al, 1999). Esta colocalización es provocada, según lo observado en modelos experimentales, por la alteración en la secreción de las células acinares que provoca un cambio de polaridad de dicha secreción, fenómeno conocido como “pancreatitis”. Es conocido también el hecho de que en la pancreatitis no se ve afectado, en modelos experimentales, la síntesis o el transporte, sólo se altera la secreción, que se ve profundamente reducida (Saluja AK et al, 1985). Dicha alteración también provocaría la liberación de tripsinógeno y tripsina al espacio intersticial, junto con sustancias proinflamatorias que desencadenarían la evolución de la “pancreatitis” en pancreatitis.

Parece claro que los iones de calcio intracelular son un mensajero clave en la estimulación de la secreción pancreática y que la modificación de la concentración normal de calcio interfiere con los procesos normales de las señales de transducción y de la liberación de las enzimas del zimógeno. Las concentraciones anormales de calcio pueden inducir cambios morfológicos similares a los producidos en la pancreatitis aguda, aunque no se ha comprobado todavía la relación directa entre los

cambios en la concentración de calcio y las complicaciones locales o sistémicas (Ward JB et al, 1996).

Además de la activación del zimógeno, en la patogenia de la PA los leucocitos polimorfonucleados (PMN) se encuentran en el centro del proceso: la alteración del metabolismo celular pancreático provoca la lesión de las células acinares, con la consiguiente liberación de citocinas proinflamatorias que son capaces de activar a los PMN. Inicialmente se activan los monocitos circulantes, los cuales liberan citocinas proinflamatorias, especialmente IL-1 y TNF- α . Estas citocinas activan la síntesis de más citocinas en los neutrófilos y en las células endoteliales, así como en los propios monocitos, y activan también a los linfocitos y al resto de granulocitos, de manera que se multiplica la respuesta inflamatoria. El daño tisular y la activación de los neutrófilos induce la liberación de radicales libres del oxígeno amplificando la respuesta inflamatoria. En dicha respuesta participan diferentes agentes inflamatorios como las citocinas, el óxido nítrico, los radicales superóxido, el complejo cinina-kallicreina, en el conocido proceso de "cascada inflamatoria" (Braganza JM, 2001; Norman J, 1999) esquematizado en la figura 2.

Finalmente, se ha observado que el mediador lipídico PAF, junto con otros mediadores vasoactivos como la bradicinina, la endotelina, el óxido nítrico y las moléculas de adhesión de los leucocitos, son capaces de regular el proceso de microcirculación pancreática. La isquemia es uno de los factores iniciales y perpetuantes de la alteración de la microcirculación y se observa en el desarrollo de algunas PA graves. El primer cambio que se presentan es la vasoconstricción de los vasos interlobulares seguido del aumento en la permeabilidad vascular, la alteración de la perfusión tisular debida a reducción de los capilares, los fenómenos de isquemia-reperfusión que además conlleva el aumento de adherencia leucocitaria al endotelio vascular, las alteraciones hemorreológicas por hemoconcentración y coagulación intravascular y la alteración del drenaje linfático (Zhou ZG y Chen YD, 2002). Todo ello conduce a la presencia de edema pancreático y un drenaje anormal de las venas y capilares, con lo consiguiente necrosis pancreática hemorrágica.

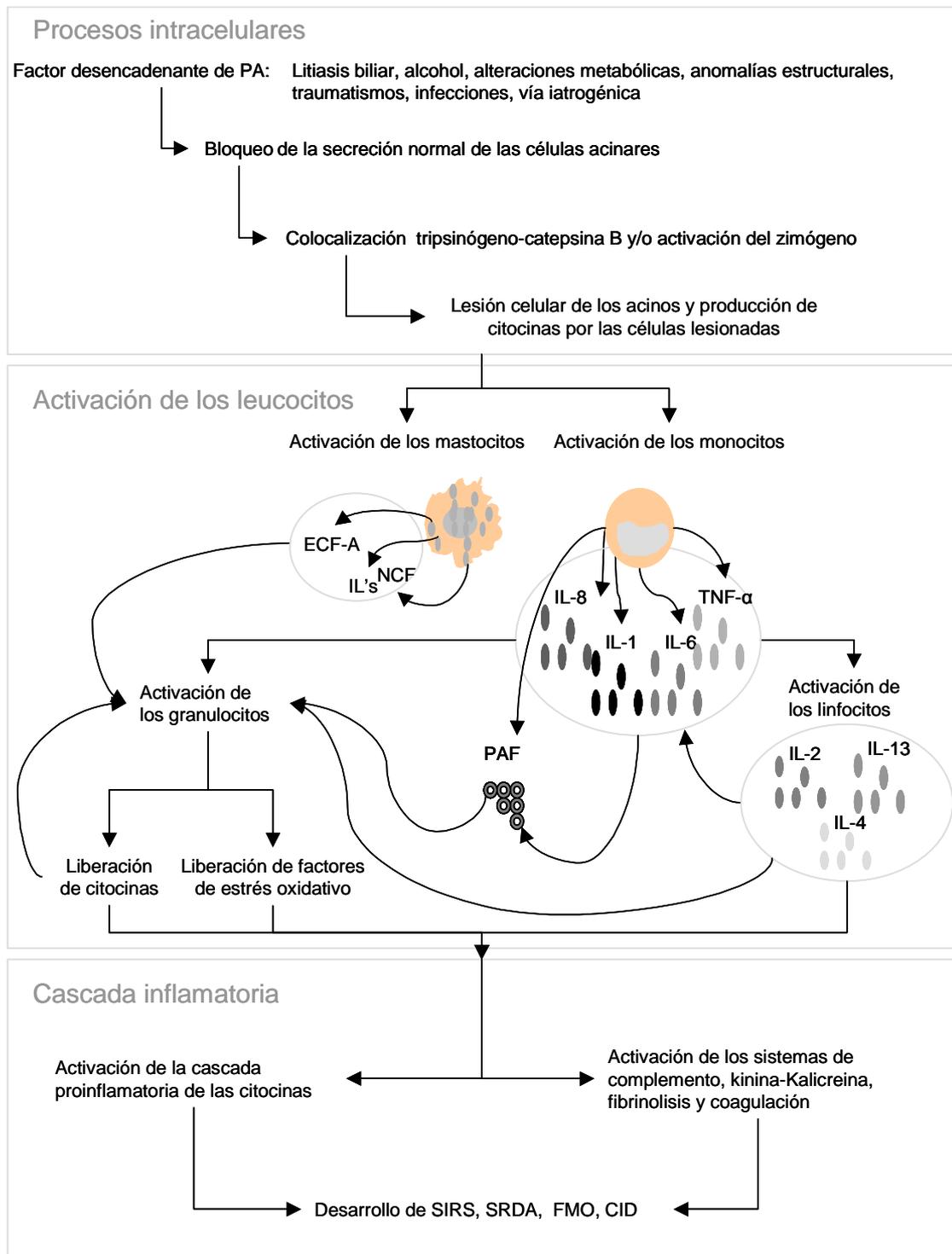


Figura 2: Mecanismos fisiopatológicos en el desarrollo de la pancreatitis aguda severa. Fuentes: Schölmerich J, 1996; Saluja Ak et al, 1999; Hernández Ramírez V, 2007.

IL: interleucinas, TNF α : factor de necrosis tumoral, PAF: factor de activación plaquetaria, SIRS: síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, SRDA: síndrome de distrés respiratorio del adulto, CID: coagulación intrvascular diseminada, FMO: fallo múltiple orgánico, ECF-A: factor quimiotrayente del eosinófilo, NCF: factor quimiotrayente del neutrófilo.

La etiología de la pancreatitis aguda es variada siendo las causas más frecuentes la litiasis biliar, el consumo de alcohol, ciertas alteraciones endocrino-metabólicas (hiperlipemia e hipercalcemia), anomalías estructurales del páncreas, el hiperparatiroidismo, los traumatismos abdominales, las infecciones y la vía iatrogénica (medicamentosa, postCPRE o intervenciones quirúrgicas abdominales). Son mucho menos frecuentes, pero también se conocen casos de pancreatitis aguda durante el embarazo, en el periodo de puerperio, pancreatitis hereditaria o por insuficiencia renal crónica (Miño Fugarolas G et al, 1988). La PA de origen biliar presenta una incidencia entre un 30% en hombres y 50% en mujeres, la de origen etílico presenta una incidencia entre el 10% en mujeres y el 50% en hombres. Aproximadamente en el 20% de la PA no es posible objetivar ninguna causa desencadenante y se clasifican como PA idiopática (United Kingdom Guidelines for the management of acute pancreatitis, 2005)

El páncreas está protegido de la acción de sus propios enzimas, ya que los sintetiza en forma inactiva y porque sintetiza también un inhibidor de la tripsina que es la que inicia la cadena de activación del resto de pro-enzimas. En los episodios de pancreatitis aguda y, con independencia de la etiología antes expuesta, se desarrollan una serie de procesos, no del todo conocidos, que conllevan en última instancia, la activación de la tripsina, el daño tisular y la liberación de los mediadores de inflamación, que incluso puede llevar a desencadenar una respuesta inflamatoria sistémica en la PA grave (Braganza JM, 2001; Norman JG, 1999).

Existen desde inicios del siglo pasado diferentes hipótesis que intentan definir la causa última de esta activación aunque se solapan muchos aspectos entre ellas y presentan objeciones serias. La hipótesis hoy vigente (una vez rechazadas la hipótesis del reflujo biliar por la presencia de cálculos en la ampolla de Váter y la hipótesis del reflujo de los enzimas por un mal funcionamiento del esfínter de Oddi) postula que la obstrucción del conducto distal o incluso de los canalículos pancreáticos provoca, debido a la continua secreción de esta glándula, un aumento de presión en los conductos y a causa de la hipertensión creada, un trasvase del jugo pancreático dentro del parénquima pancreático. Ha quedado demostrado que la obstrucción del sistema ductal interfiere con la función de las células acinares y permite la colocalización en el citoplasma de los proenzimas y los lisosomas. Las hidrolasas activarían los proenzimas, siendo la cathepsina B la principal activadora del tripsinógeno que se transformaría en tripsina y ésta activaría al resto de proenzimas.

Todo ello provoca la lesión de la propia glándula y el vertido en sangre de sustancias nocivas.

Existe además otra causa de fisiopatología de la pancreatitis aguda y se debe a la rotura del sistema ductal del páncreas o desgarro de los lóbulos pancreáticos que claramente provoca la salida de las secreciones y su posible activación por los enzimas liberados por los lisosomas rotos. Esta rotura está provocada por las enfermedades autoinmunes y, en general, por traumatismos abdominales y similares.

La hipótesis de la “hipertensión ductal” intenta explicar las diferentes etiologías de PA, siempre a excepción de las provocadas por rotura del conducto excretor o de los lóbulos por traumatismo abdominal y por enfermedades autoinmunes:

- En el caso de la litiasis biliar el enclavamiento de un cálculo en la ampolla de Vater sería suficiente para provocar la hipertensión en los canalículos pancreáticos y desencadenar la lisis del páncreas.
- En el caso del alcohol, la hipersecreción proteica que provoca la ingesta de grandes cantidades de alcohol, formaría tapones mucoproteicos que obstruirían los canalículos pancreáticos y aumentaría la presión en ellos con las consecuencias ya comentadas.
- Cuando se trata de pancreatitis por hiperlipoproteinemia I, VI ó V, acompañada en la mayoría de los casos por hipertrigliceridemia, se cree que es debida al efecto de los ácidos grasos en la circulación del páncreas o de la lipasa en el parénquima que activan los enzimas pancreáticos.
- Existen también casos de pancreatitis aguda debidas a anomalías estructurales, tanto anomalías congénitas, como el “páncreas divisum” o adquiridas, como la fibrosis del esfínter de Oddi o la obstrucción duodenal debida a tumores o estenosis, que son explicables por la alta presión que soportan los canalículos pancreáticos y por tanto el trasvase de la secreción hacia el parénquima.
- La pancreatitis aguda por hiperparatiroidismo es realmente poco frecuente y podría causar la hipertensión en los canalículos por la hipercalcemia que provoca la formación de cálculos cálcicos en el sistema de conductos.

Siguen siendo poco claras las causas finales que desencadenan la pancreatitis de etiología infecciosa (debida probablemente a la alta presión que provocan los microorganismos al adherirse a las paredes de los conductos excretores), de etiología autoinmune o iatrogénica, especialmente la postoperatoria por procedimiento extraperitoneal y la debida a medicamentos. Es más clara la provocada tras una endoscopia retrógrada colangiopancreatográfica (ERCP, con un 2% de incidencia), pues la técnica utilizada provoca gran presión en el sistema de canalículos pancreáticos debido a la inserción de la cánula de endoscopia.

Cualquiera que sea la causa o el proceso que inicia la activación enzimática, una variedad de mediadores inflamatorios (liberados principalmente por los neutrófilos y macrófagos e incluso por las propias células del tejido lesionado) y de radicales libres están presentes en el proceso y son importantes en la progresión de la PA. Estos últimos pueden causar daño directo en las membranas celulares mediante la peroxidación de los lípidos locales y como consecuencia del daño de la membrana celular endotelial se incrementa la hiperpermeabilidad capilar con el resultante edema pancreático. La activación de cantidades progresivamente más grandes de proteasa y fosfolipasa intraglandulares se asocia con la afectación multisistémica y consumo de los inhibidores de proteasa plasmáticos (sobre todo α 2-macroglobulinas) que son de suma importancia en la protección del espacio vascular. Cuando estas proteínas se agotan puede ocurrir la coagulación intravascular diseminada (CID) y estado de choque agudos, dado que las proteasas libres activan la cinina, la coagulación, la fibrinólisis y la cascada del complemento. La captura de las proteasas por las α 2-macroglobulinas crea un complejo, que es rápidamente eliminado del plasma por el sistema monocito-macrófago.

2.3. Tratamiento de la pancreatitis aguda

Dentro de un tratamiento general básico, la atención del paciente está condicionada por la gravedad del proceso y en ella pueden separarse dos etapas. En la fase inicial los objetivos terapéuticos están dirigidos a mantener el equilibrio hidroelectrolítico y la función respiratoria, así como a prevenir las complicaciones sistémicas, la necrosis y la infección pancreática. En la segunda, y sólo en las pancreatitis graves, las medidas están encaminadas a detectar y tratar las complicaciones locales, como el absceso o el pseudoquiste.

En cualquier caso, el paciente con pancreatitis aguda requiere una valoración constante de su estado de hidratación y de su situación hemodinámica. Las pancreatitis leves pueden ser tratadas en una sala de hospitalización general, con monitorización básica de frecuencia cardíaca, presión arterial, temperatura y diuresis, aconsejándose que las formas graves sean atendidas en una unidad de cuidados intensivos.

Por supuesto, una vez superado el episodio de PA deben realizarse los esfuerzos necesarios para tratar la causa que lo originó: en las PA de origen etílico debe lograrse la abstinencia alcohólica y en las PA debidas a hipertrigliceridemias y en las asociadas a hipercalcemia deben corregirse estos trastornos metabólicos. En las de origen biliar se recomienda practicar CPRE urgente (en las primeras 72 horas) a pacientes con PA biliar grave o cuando haya evidencia de colangitis, ictericia o dilatación del colédoco y una vez superado el episodio de PA debe practicarse colecistectomía a todos aquellos pacientes sin riesgo quirúrgico (United Kingdom guidelines for the management of acute pancreatitis, 2005; Hernández V et al, 2004).

a) Pancreatitis aguda leve

El tratamiento consiste en la administración de analgésicos, la reposición hidroelectrolítica y el mantenimiento en dieta absoluta (Di Magno EP y Chari S, 2002; United Kingdom guidelines for the management of acute pancreatitis, 1998). Con estas medidas terapéuticas los pacientes suelen recuperarse y en una semana es posible firmar el alta hospitalaria.

En los casos leves pueden utilizarse analgésicos, pero a veces es necesario recurrir a los derivados opiáceos administrados por vía parenteral, salvo la morfina que puede provocar espasmos en el esfínter de Oddi y alterar el flujo de las secreciones biliar y pancreática.

La reposición de líquidos y electrolitos es fundamental tanto en las pancreatitis leves como en las graves, ya que una situación de hipovolemia puede condicionar una isquemia pancreática por problemas en la microcirculación que convierta una forma leve en grave. En las pancreatitis graves, que pueden tener pérdidas superiores a 6 litros en 24 horas, un buen mantenimiento de volumen sanguíneo es el mejor modo de prevenir el shock y la insuficiencia renal (DiMagno EP y Chari S, 2002).

Debe mantenerse al paciente en dieta absoluta mientras no se recupere el funcionalismo intestinal, es decir la desaparición del íleo paralítico. En los casos de íleo persistente, distensión abdominal importante o vómitos intratables, es recomendable la sonda para aspiración nasogástrica.

El uso de antibióticos en estos pacientes debe limitarse al tratamiento de infecciones específicas, si aparecen.

b) Pancreatitis aguda grave

El tratamiento básico es similar al descrito para la pancreatitis leve y consiste en la administración de analgésicos y la reposición hidroelectrolítica, diferenciándose de la PA leve en la toma de medidas para la correcta nutrición del paciente, pues presenta unas necesidades energéticas mayores debido al proceso inflamatorio sistémico. Ha sido descrito que es más aconsejable la administración de nutrición enteral mediante sonda gastroeyunal frente a la nutrición parenteral porque elimina muchos de las complicaciones que presenta esta última y no se observan diferencias en cuanto a la efectividad de ambos tipos de alimentación.

Al tratarse de un proceso que desarrolla complicaciones sistémicas y/o locales y que presenta una mortalidad de 5-15%, parte del tratamiento está dirigido al mantenimiento de la función respiratoria, al mantenimiento de la función cardiovascular y a la prevención de la infección pancreática y la necrosis, así como el tratamiento específico de las complicaciones sistémicas o locales

Las medidas de reposición hidroelectrolítica son similares a las de la PA leve, sólo que debe realizarse con control estricto de diuresis (debe ser superior a 0.5 ml por kg) y un control de la presión venosa central en pacientes con riesgo de insuficiencia cardiaca (DiMagno EP y Chari S, 2002).

El correcto mantenimiento de la función respiratoria, la oxigenación debe ser superior al 95%, puede realizarse mediante oxigenoterapia no invasiva inicialmente y, en caso necesario, mediante intubación endotraqueal y ventilación mecánica (DiMagno EP y Chari S, 2002; United Kingdom guidelines for the management of acute pancreatitis, 2005).

El mantenimiento de la función cardiovascular para evitar la insuficiencia cardiaca congestiva, infarto de miocardio, arritmias cardíacas y shock suele mejorar al realizar

la reposición electrolítica pues con ello se recupera la hipotensión. De no ser así, es necesario administrar drogas vasoactivas (DiMugno EP y Chari S, 2002).

En los casos de PA grave es aconsejable prevenir la infección pancreática que suele estar provocada por la translocación bacteriana intestinal o por contaminación a través de una puerta de entrada externa como puede ser un catéter venoso central. Se recomienda administrar antibióticos de amplio espectro exclusivamente a los pacientes con PA grave que presenten necrosis pancreática superior al 30% (United Kingdom guidelines for the management of acute pancreatitis, 2005), aunque últimamente se duda de la eficacia de esta medida profiláctica (Dellinger EP et al, 2007).

Se aconseja reanudar la alimentación oral una vez remitido el dolor y la sensibilidad abdominal, reanudado el tránsito intestinal y normalizada la amilasemia, lo cual suele suceder entre el cuarto y séptimo día. La realimentación oral debe hacerse siempre de forma progresiva, empezando con comidas líquidas, reducidas y frecuentes, para pasar después a dietas ricas en carbohidratos (al menos 50%) y pobres en grasas y proteínas para disminuir la secreción pancreática (Di Magno EP y Chari S, 2002). Si al introducir la alimentación oral se presenta de nuevo el dolor abdominal, es aconsejable retirarla.

Las complicaciones locales, especialmente el absceso pancreático, puede exigir el tratamiento quirúrgico o, en algunas ocasiones, el drenaje percutáneo mediante punción con aguja fina y cobertura antibiótica. La presencia de pseudoquistes pancreáticos no son *per se* motivo de actuación quirúrgica, ya que debe esperarse a su evolución y actuar sólo cuando causen sintomatología; en estos casos pueden utilizarse la cirugía o métodos endoscópicos.

Las distintas complicaciones sistémicas deben tratarse específicamente de forma precoz para impedir la aparición de fallo multiorgánico; en este sentido, el ingreso de los pacientes en las Unidades de Cuidado Intensivo ha mejorado sensiblemente su mortalidad.

3. CONSIDERACIONES SOBRE EL PROCESO INFLAMATORIO

La principal protección del organismo frente a la exposición a otros organismos es llevada a cabo por el sistema inmunitario, que con su estrategia de barreras de defensa sucesivas e interconectadas, cada una más específica que la anterior, nos protege de posibles infecciones provocadas por el contacto con organismos patógenos.

El sistema inmunitario de los mamíferos se caracteriza por la diversidad de mecanismos efectores de que dispone y es un complejo sistema de protección capaz de diferenciar las células propias de las células u organismos extraños que pueden resultar patógenos y además, conservar la información de la respuesta incluso después de la eliminación del patógeno. La “especificidad” y la “memoria” son dos de las características más relevantes de la respuesta inmune adaptativa humana, ya que el organismo es capaz de responder de forma más específica y más potente tras contactos reiterados del antígeno con el sistema. La respuesta inmunitaria no adaptativa o innata no varía por la exposición reiterada a un agente infeccioso: no es específica ni tiene memoria.

La respuesta inmunitaria humana está mediada por una estirpe de células derivadas de las células pluripotenciales de la médula ósea, conocidas como leucocitos de los que, a su vez, se diferencian linfocitos, mastocitos, basófilos, eosinófilos y plaquetas, y por varias moléculas que segregan dichas células y que son conocidas como mediadores solubles. Las células de los tejidos también son capaces de segregar mediadores de inflamación cuando son invadidas por organismos extraños o lesionadas por cualquier otro agente físico-químico. Cada uno de los diferentes tipos leucocitarios es capaz de sintetizar y segregar un conjunto específico de mediadores y entre ellos, los más destacables, son los mediadores de inflamación.

El Sistema Inmune Adaptativo está mediado principalmente por los linfocitos T y los linfocitos B, ya que ambas células reconocen al antígeno e inician el proceso de su erradicación, y de la fuente que lo produce, a través de diversos mecanismos efectores. El antígeno se define clásicamente como una molécula capaz de provocar, en los linfocitos B, la síntesis y secreción de una molécula específica contra el “cuerpo extraño” a la que se denomina anticuerpo. Actualmente se ha ampliado esta definición a una molécula que es reconocida por receptores específicos presentes en la superficie de las células T y de las células B, siendo ambos tipos de linfocitos los

responsables del reconocimiento específico de dicho antígeno. Los linfocitos T y los linfocitos B se encuentran mayoritariamente en órganos y tejidos especializados como el timo y la médula ósea, donde se diferencian los linfocitos T y B respectivamente, y actúan en los órganos linfoides secundarios como el bazo, los ganglios linfáticos y los tejidos linfoides asociados a las mucosas.

El linfocito B cuando reconoce al antígeno tras su unión al receptor BLR (receptor de linfocito B) se activa, se diferencia y se multiplica dando lugar a células plasmáticas que generan y segregan anticuerpos, los cuales, uniéndose al patógeno, lo “opsonizan” para que de este modo sea reconocido por los fagocitos a través de los receptores para el fragmento Fc (FcR) de las inmunoglobulinas. Estas células sintetizan citocinas que son capaces de atraer a otros tipos celulares implicados en la respuesta inmunitaria hacia el foco de la inflamación. Los linfocitos B son los responsables de la respuesta inmune humoral ya que el linfocito B identifica a los patógenos extracelulares cuando los BLR de su membrana se unen al antígeno, lo engloba y descompone, y lo vuelve a presentar en su superficie asociados al complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) clase II. Esta asociación de moléculas atrae al linfocito T colaborador que libera citocinas que activan al linfocito B, el cual se multiplica segregando gran cantidad de anticuerpos que se unen al antígeno marcándolo para su destrucción por el complemento o para su fagocitosis.

El linfocito T reconoce los péptidos antigénicos que son expresados en la membrana de determinadas células tras la endocitosis y procesamiento del antígeno. Algunas células, como los macrófagos, células B y células dendríticas, están especializadas en esta función y son las llamadas células presentadoras de antígenos (APC). Los péptidos antigénicos se transportan a la superficie de las APC donde son reconocidos junto a las moléculas de histocompatibilidad por el receptor del linfocito T. Este reconocimiento activa a las células T que se diferencian para llevar a cabo funciones efectoras. Se diferencian 3 linajes de linfocitos T: las células T asesinas (Células NK) llamadas también CD8+ que son citotóxicas, las células T colaboradoras (Células Th), llamadas también CD4+ que colaboran con las células B y las células T $\gamma\delta$ que no requieren necesariamente la asociación del anticuerpo con las moléculas de histocompatibilidad. Hace más de 20 años que fue mostrada la evidencia de la existencia de subpoblaciones T CD4+ distintas con actividades funcionales diferentes productoras, *in vitro*, de perfiles de citocinas específicos y antagónicos. A estas subpoblaciones se les denomina Th1 y Th2 (Mosmann TR et al, 1986).

El Sistema Inmune Innato está constituido por las barreras externas del cuerpo humano y por mecanismos de fagocitosis y de activación del complemento. Los fagocitos son los monocitos-macrófagos, las células polimorfonucleadas, las células NK, los mastocitos y las plaquetas que, localizadas en el torrente sanguíneo y en los tejidos, se encargan de detectar e ingerir las sustancias extrañas. El sistema de complemento está formado por un conjunto de aproximadamente 20 moléculas que interactúan entre sí y con otros elementos del sistema inmunitario cuya activación genera moléculas peptídicas que atraen a los fagocitos, favorecen la fagocitosis por opsonización de los microorganismos e inducen la liberación de los mediadores inflamatorios de los mastocitos. El sistema inmune innato es la primera barrera de defensa contra las infecciones ya que es capaz de reconocer los agentes infecciosos y concretamente modelos moleculares asociados a determinados patógenos (PAMPs) a través de unos receptores específicos que se encuentran en las células fagocitarias, los mastocitos, las células dendríticas, los eosinófilos y las células NK. La familia de receptores tipo Toll (TLR), así como los receptores depuradores y los receptores de hidratos de carbono, todos ellos presentes en los macrófagos, reconocen varios de estos modelos PAMP y provocan la activación celular liberando así quimiocinas y leucotrienos. Por tanto, este reconocimiento es capaz de activar las rutas de síntesis de citocinas proinflamatorias y la maduración de las células dendríticas, que son las principales células presentadoras de antígenos para los linfocitos T, con el objetivo de hacer frente a la infección (Revisado por Janeway CA y Medzhitov R, 2002).

La respuesta innata y la respuesta adaptativa del sistema inmunitario interactúan y colaboran a diferentes niveles: los fagocitos regulan la expresión de moléculas coestimuladoras de las APC, activando de este modo la respuesta de las células T al antígeno; las células T activadas liberan citocinas que a su vez activan a los fagocitos; los anticuerpos generados en la respuesta adaptativa se unen a su antígeno y el inmunocomplejo formado activa el sistema de complemento.

3.1. Mecanismos de inflamación

La inflamación es la primera respuesta del tejido a una infección o lesión en sus células, que provoca que tanto los anticuerpos como las moléculas del sistema de complemento y, especialmente, los leucocitos con sus mediadores solubles migren al tejido dañado y destruyan a los patógenos y a las células infectadas o dañadas. La inflamación está mediada principalmente por neutrófilos, basófilos, mastocitos y plaquetas. A principios de la década se puso de manifiesto, también, el papel de los eosinófilos en el proceso inflamatorio en determinadas enfermedades humanas, como la atopia y los tumores (Assa'ad AH et al, 2000).

Durante los procesos inflamatorios se elevan en sangre el número de leucocitos así como la concentración de los mediadores solubles y de otras moléculas que normalmente están presentes en el suero, como es el caso de la proteína C reactiva y el fibrinógeno. Este aumento de determinadas proteínas en suero durante la primera fase del proceso inflamatorio propicia el nombre de proteínas de fase aguda.

En los procesos inflamatorios, determinadas células presentes en la zona de inflamación, como las células tisulares, los leucocitos residentes y las células endoteliales activadas, sintetizan determinadas moléculas que atraen a los leucocitos mediante el proceso de quimiotaxis o migración de las células hacia las concentraciones más altas del factor atrayente. Son las moléculas eicosanoides, las citocinas, las quimiocinas y los fragmentos de factores del complemento activado. Las enfermedades inflamatorias se caracterizan por una acumulación selectiva de subgrupos de leucocitos de modo que cada una muestra un infiltrado característico y un patrón específico de moléculas mediadoras con una concentración elevada.

Los eicosanoides incluyen las prostaglandinas que provocan fiebre y dilatación de los vasos sanguíneos, y los leucotrienos (LTB_4 , LTD_4 , LTE_4) que son capaces de atraer a determinadas poblaciones de leucocitos de forma inespecífica y aumentan la permeabilidad vascular.

Las citocinas son moléculas liberadas por células activadas que actúan sobre otras células induciendo en éstas determinadas respuestas efectoras y son las responsables de la comunicación celular y de la atracción de células defensivas al foco de la inflamación, a la vez que pueden inducir la expresión de otros mediadores, tanto proinflamatorios como antiinflamatorios que, convenientemente regulados, dirigen y

modulan el proceso inflamatorio. Linfocitos, monocitos y macrófagos producen grandes cantidades de citocinas que actúan sobre las células diana a través de los receptores que se expresan en ellas. También producen citocinas los fibroblastos, las células endoteliales y determinadas células titulares como células del músculo liso (Hillyer P y Male D, 2007) y células acinares pancreáticas (Ramudo L et al, 2005)

Los fragmentos de moléculas del complemento son fragmentos de dichas proteínas, especialmente del complemento C3 y C5 que colaboran en la degranulación de los mastocitos, en la quimiotaxis de los macrófagos y PMN y en el aumento de la permeabilidad vascular.

En los procesos clásicos inflamatorios la respuesta inmunitaria frente a la lesión tisular depende de que factores han causado el daño, donde se localizan y que afectación existe sobre el tejido. En cualquier caso, se produce un aumento del aporte sanguíneo al área afectada, una mayor permeabilidad vascular y una acusada migración de los leucocitos desde las vénulas hacia el tejido, todo ello favorecido por las moléculas mediadoras de inflamación. Todos los tejidos, al verse lesionados por el agente agresivo sea físico, químico o infeccioso, ó como en el caso de la pancreatitis aguda por la activación de los enzimas proteolíticos de su zimógeno, provocan que sus células liberen los mediadores de inflamación. En el caso de las células acinares pancreáticas las citocinas parecen ser los primeros mediadores (Ramudo L et al, 2005), que junto con los factores activados del complemento, el C3a y el C5a, activan al mastocito siendo ésta la célula del sistema inmune que liberan inicialmente la mayor concentración de mediadores de inflamación. Otro mecanismo de activación del sistema inmune se desarrolla mediante la IgE que es captada en la membrana del mastocito, ya que éste presenta receptores para la porción Fc de la inmunoglobulina (FcR). El antígeno activa al mastocito cuando conecta específicamente con dos IgE contiguas sobre la membrana, lo cual provoca mecanismos bioquímicos que incluyen la activación de la adenilato-ciclase y de las fosfolipasa A que determinan la formación de microtúbulos en el mastocito, así como el movimiento de los gránulos citoplasmáticos hacia la membrana celular, produciéndose posteriormente la fusión de los gránulos con ésta y la liberación de mediadores, tanto preformados como sintetizados *de novo*, al espacio extracelular.

En la fase inicial llegan al tejido, gracias a las alteraciones vasculares que facilitan el trasvase de moléculas desde la sangre al foco inflamatorio, las siguientes moléculas: inmunoglobulinas, factores de complemento, proteínas de fase aguda y factores de

coagulación. Y en la fase posterior llegan al tejido las células inmunes atraídas por los mediadores sintetizados por las células tisulares, los macrófagos o las células inmunes residentes que se localizan de forma constitutiva en el tejido. La llegada escalonada de los diferentes tipos celulares al sitio de inflamación depende de las citocinas, concretamente de las quimiocinas, y de las moléculas de adhesión expresadas por el endotelio.

3.2. Las citocinas en el proceso inflamatorio

Las citocinas son proteínas de bajo peso molecular, entre 15-30 kDa, formadas por entre 120 y 180 aminoácidos, que son capaces de modular la actividad funcional de un amplio espectro de células diana, uniéndose a receptores específicos que estas células tienen en su membrana celular. Estos receptores son proteínas con dominios transmembrana, la mayoría de ellos acoplados a la proteína G, con una porción extracelular N-terminal, que se une a la citocina, y una porción intracelular C-terminal, que participa en la transducción de señales. En general, no se detecta una síntesis constitutiva significativa de citocinas pues sólo se producen tras la activación celular. Pueden actuar sobre la propia célula productora o sobre células diferentes cercanas, aunque en determinadas circunstancias pueden verse en la circulación sanguínea o linfática y actuar sobre otros órganos o tejidos más distantes. Las citocinas se liberan en la matriz extracelular desde donde juegan su papel, pudiendo quedar ancladas a esta matriz durante un tiempo o pueden quedar unidas a la propia membrana celular. Su vida media es de muy pocas horas y actúan a bajas concentraciones (Revisado por Janeway CA Jr. et al, 2003).

La principal función de las citocinas es la mediación de la comunicación intercelular y la activación de las células del sistema inmunitario, tienen un importante papel en la inflamación donde regulan el movimiento de los leucocitos a los tejidos lesionados. Otras funciones están relacionadas con la regulación de la embriogénesis, de la angiogénesis y de procesos neuroendocrinos. Determinadas citocinas son importantes factores reguladores de la mitosis, la diferenciación celular, la supervivencia de las células e incluso los desórdenes celulares que llevan a la transformación de células normales en células malignas.

Las dos características más importantes de estas moléculas son a) su pleiotropismo, ya que una misma citocina puede actuar sobre diferentes tipos celulares y una misma

célula puede responder a más de una citocina y b) su redundancia, dado que diferentes citocinas pueden provocar la misma respuesta en un determinado tipo celular. Debido a estas características es complejo clasificar a las citocinas según su actividad funcional aunque se puede realizar una clasificación de acuerdo con su función más relevante:

- Citocinas implicadas en el crecimiento y diferenciación hematopoyética, producidas principalmente por los linfocitos activados y por las células pluripotenciales de la médula ósea: IL-3, IL-5, IL-7, IL-9, IL-11, GM-CSF, G-CSF.
- Citocinas implicadas en la respuesta inmune que actúan como mediadores proinflamatorios, producidas principalmente por los monocitos y los macrófagos activados durante la respuesta inmune innata como IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8, IL-12, IL-18, quimiocinas inflamatorias con capacidad de atraer leucocitos al foco de inflamación como IL-8, eotaxina, RANTES, MIP, MCP; o por los linfocitos durante la respuesta inmune adaptativa como IL-2, IL-15, IL-16, IFN- γ .
- Citocinas implicadas en la respuesta inmune que actúan como factores antiinflamatorios e inmunosupresores, producidas principalmente en la respuesta inmune adaptativa por los linfocitos Th2 como IL-4, IL-6, IL-10 y TGF- β . También pueden ser sintetizadas por otros tipos leucocitarios activados durante la respuesta inmune innata como la IL-10.

El efecto de las citocinas sobre las células diana se ejerce a través de la unión de estas moléculas a los receptores de dichas células diana, unión que provoca la transducción de señales al interior celular, lo cual activa la transcripción génica y por tanto la respuesta biológica de la célula. Una de las primeras rutas de señalización activada por las citocinas es la ruta JAK/STATS (en inglés: *janus kinase/signal transducer and activator of transcription*) a través de la cual las citocinas provocan cambios en la morfología celular, conocidos como polarización, y que son requeridos para el proceso de quimiotaxis de las células hacia los gradientes mayores de quimiocinas. Esta polarización conlleva que las células polarizadas expresen los receptores en el lado de la célula que está dirigido hacia el gradiente de citocinas, favoreciendo así el movimiento de los leucocitos hacia el tejido donde han de migrar, sea en condiciones normales o en condiciones patológicas (Revisado por Mellado M et al, 2001).

El sistema inmune ha desarrollado también varios mecanismos que previenen la excesiva respuesta de las citocinas, como son las moléculas supresoras de las señales de las citocinas (moléculas SOCS) que permite controlar la transducción de la ruta

JAK/STAT y la regulación neuroendocrina de la expresión de las citocinas mediante la expresión de glucocorticoides.

Está bien definido el papel de regulación negativa por feed-back de la señalización de los receptores de las citocinas hematopoyéticas, siendo más reciente el descubrimiento de esta misma regulación sobre los receptores de las quimiocinas y los receptores tipo Toll. Datos tan interesantes como la inducción de determinadas proteínas SOCS cuando se expresan en exceso IL-6 e IFN- γ o la expresión preferencial de SOCS5 en las células tipo Th2 y de SOCS3 en las células Th1 han abierto nuevas líneas de trabajo dirigidas a limitar el efecto de las citocinas sobre el proceso inflamatorio (revisado por Alexander WS y Hilton DJ, 2004).

Por lo que respecta a la regulación de las citocinas por los glucocorticoides, es un hecho probado que estas moléculas regulan la expresión de las citocinas, reducen la expresión de otros mediadores inflamatorios como las prostaglandinas y el ácido nítrico, reducen la expresión de las moléculas de adhesión celular y suprimen la maduración y diferenciación de las células inmunitarias. Los glucocorticoides regulan negativamente la transcripción de IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α , IFN- γ y GM-CSF, mientras que aumentan la expresión de las citocinas antiinflamatorias IL-4 e IL-10 (revisado por Webster JI et al, 2002).

3.2.1. Citocinas proinflamatorias

Las citocinas proinflamatorias favorecen el desarrollo del proceso inflamatorio dado que estimulan el crecimiento y diferenciación de las células del sistema inmunitario y/o activan la secreción de otras citocinas en el mismo o en diferentes tipos celulares. Existe un amplio número de citocinas descritas como proinflamatorias sintetizadas principalmente por los monocitos y macrófagos, activados durante la respuesta inmune innata, o por los linfocitos Th1, activados durante la respuesta inmune adaptativa. Los linfocitos NK, las células endoteliales, las células dendríticas, los fibroblastos, las células tisulares del músculo esquelético, del hígado y del pulmón también producen citocinas inflamatorias. De todas las citocinas mencionadas, las que tienen un mayor papel, o al menos el papel más conocido, en los procesos inflamatorios son IL-1, IL-6, TNF- α y las quimiocinas inflamatorias: IL-8, RANTES y MCP-1. La quimiocina eotaxina y la citocina IL-5 están descritas con más profundidad en el apartado 5 dedicado a los mediadores de inflamación relacionados con el eosinófilo.

- Interleucina-1 (IL-1): Es sintetizada fundamentalmente por monocitos y macrófagos pero también por células dendríticas, células endoteliales y linfocitos NK. Su efecto proinflamatorio es debido a que induce la liberación de histamina en los mastocitos, generando vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular en el sitio de la inflamación. Además induce la proliferación de los linfocitos B y de los linfocitos T, y la activación de macrófagos y granulocitos. También activa la diferenciación de las células hematopoyéticas y la síntesis de colágeno en los fibroblastos (Schölmerich J, 1996). IL-1 β activa a neutrófilos, induce la regulación positiva de las moléculas de adhesión de los leucocitos y células endoteliales, promueve la síntesis de prostaglandinas, así como la de proteínas de fase aguda por los hepatocitos, especialmente de la proteína C reactiva.
- Interleucina-6 (IL-6): Es sintetizada fundamentalmente por monocitos y macrófagos pero también por fibroblastos, células endoteliales, linfocitos T y células hematopoyéticas. También es producida por las células del músculo liso en respuesta a una estimulación por IL-1 β y TNF- α . Induce la síntesis de las proteínas de fase aguda, en especial de fibrinógeno. Aumenta la síntesis de IL-2, activa el desarrollo de las células hematopoyéticas y la diferenciación de linfocitos B para producir inmunoglobulinas.
- *Tumor necrosis factor- α* (TNF- α): Es producido fundamentalmente por monocitos y macrófagos en respuesta a antígenos bacterianos, siendo el principal mediador de shock séptico en las infecciones bacterianas y en otros tipos de shock en variadas patologías (Norman JG et al, 1995). Induce la expresión de moléculas de adhesión celular y estimula la producción de IL-8 por células del endotelio y de otras quimiocinas junto con la IL-1 (Cano NF y Montoya CJ, 2001). Los leucocitos circulantes y las células acinares también producen esta citocina. (Ramudo L et al, 2005).
- Interleucina-8 (IL-8): Es una quimiocina producida fundamentalmente por linfocitos B, monocitos y macrófagos, pero también por neutrófilos, fibroblastos, células endoteliales y células epiteliales. Como primera función de IL-8 se describió la activación de neutrófilos, por lo que también es conocida como proteína activadora del neutrófilo 1 (NAP-1), y más tarde fue descrita la quimiotracción para eosinófilos y basófilos. Posteriormente se demostró que la IL-8 no activa a los eosinófilos, a pesar de algunos estudios previos al respecto, que fueron rebatidos por los trabajos de Elsner y Kapp (Elsner J y Kapp A, 2000). Esta citocina tiene un efecto autocrino sobre el neutrófilo, muestra actividad angiogénica, induce la liberación de

metabolitos derivados del oxígeno y la liberación de histamina del basófilo y estimula la síntesis de IL-1 (Rollins BJ, 1997).

- *Regulated upon activation, Normal T cell expressed and secreted* (RANTES): Es una quimiocina producida por los linfocitos T estimulados por un mitógeno o un antígeno. *In vitro* es un potente atrayente de los monocitos y es la quimiocina con mayor poder de atracción sobre las células T CD8+. También atrae y activa a células NK, a eosinófilos y a basófilos en los que induce la liberación de histamina (Rollins BJ, 1997).
- *Monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1): Es una quimiocina producida por los linfocitos T, aunque fue purificada por primera vez del músculo liso de aorta y posteriormente de células tumorales humanas (Ernst CA et al, 1994). *In vitro* es un potente atrayente de monocitos en los que induce la expresión de las integrinas necesarias para la quimiotaxis; atrae también a linfocitos T CD4+ y CD8+ pero no a linfocitos B. Igual que RANTES, induce la liberación de histamina por los basófilos.

En la tabla 5 se resumen las principales citocinas con la referencia de sus fuentes celulares y sus principales funciones proinflamatorias:

Tabla 5: Citocinas inflamatorias, sus fuentes celulares y su función principal. NK: Células T asesinas; LTC: Células T activadas por citocinas; QC ERL-: quimiocinas sin el motivo ERL. PMN: leucocitos polimorfonucleados

Citocina	Fuentes celulares	Funciones principales
Eotaxina	Células epiteliales y endoteliales, eosinófilo	Atracción y activación del eosinófilo y basófilo, células dendríticas
IFN- γ	Linfocitos Th1, LTC y NK	Diferenciación en Th1, estimula células NK Estimula producción QC ERL- Inhibe IL-4 e inhibe síntesis de citocinas
IL-1	Monocitos/macrófagos	Proliferación de linfocitos, aumenta adherencia linfocitos, activación de macrófagos y PMN
IL-2	Linfocitos T CD4+ y CD8+ activados	Crecimiento células T y B. Promueve citotoxicidad de NK
IL-5	Células T Mastocitos	Crecimiento y diferenciación células B Proliferación y activación eosinófilos
IL-6	Macrófagos, leucocitos, células acinares	Diferenciación de linfocitos B Síntesis IL-2
IL-8	Monocitos/macrófagos, linfocitos B	Atracción granulocitos, liberación de gránulos, Síntesis IL-1
IL-12	Monocitos, linfocitos B, células dendríticas	Diferenciación de Th en Th1
IL-15	Monocitos, músculo esquelético	Crecimiento células T y B Promueve citotoxicidad de NK
IL-16	Linfocitos T CD8+	Atracción linfocitos T CD4+
MCP-1	Linfocitos T	Atrae monocitos y células T
MIP-1 MIP-3	Monocitos	Atracción y activación del monocito y del neutrófilo
RANTES	Linfocitos T estimulados	Atrae granulocitos y células T
TNF- α	Monocitos/macrófagos, mastocitos, células acinares	Activación de macrófagos y PMN, adherencia leucocitos, síntesis IL-8 y otras QC
GM-CSF	Células T, macrófagos, fibroblastos	Proliferación y activación de leucocitos PMN y macrófagos

Fuente: Janeway CA Jr. et al, 2003.

3.2.2. Citocinas antiinflamatorias

Las citocinas antiinflamatorias e inmunosupresoras regulan negativamente el desarrollo del proceso inflamatorio porque inhiben el crecimiento y la diferenciación de las células del sistema inmunitario y/o reducen la secreción de otras citocinas en diferentes tipos celulares. Estas citocinas, a la vez que inhiben la respuesta inflamatoria activan las funciones de los linfocitos B. Las interleucinas IL-4 e IL-10 se consideran las principales citocinas antiinflamatorias porque regulan negativamente los

mecanismos efectores celulares. Son también antiinflamatorias las moléculas IL-13, TGF- β , IFN- α , IFN- β y otras IL de función similar a la IL-10 descritas más recientemente y por ello menos conocidas como IL-19, IL-20 e IL-22.

- Interleucina-4 (IL-4): Es producida principalmente por linfocitos Th2, pero también por mastocitos, basófilos y células de la médula ósea. Es una citocina muy pleiotrópica porque modula a través de diferentes acciones la respuesta mediada por Th2: por una parte estimula la diferenciación de linfocitos T en linfocitos Th2 (Abehsira-Amar O et al, 1992) y por otra parte inhibe la producción de las citocinas proinflamatorias IFN- γ o IL-2 de las células Th1. Posee una acción inmunosupresora ya que inhibe la actividad de los linfocitos NK y los macrófagos (Swain SL et al, 1990; Oswald IP et al, 1992). Induce la producción de IL-1Ra con lo que inactiva a la IL-1 y finalmente induce el crecimiento y proliferación de los linfocitos B.
- Interleucina-10 (IL-10): Es producida principalmente por linfocitos Th2, así como por monocitos, macrófagos y linfocitos B. Es también una citocina pleiotrópica: actúa inhibiendo la síntesis de muchas otras citocinas como IL-1, IL-6, TNF- α , IFN- γ (Fiorentino DF et al, 1991), inhibe la expresión de moléculas MHC clase II en la superficie de las células presentadoras de antígeno (de Waal Malefyt R et al, 1991) y posee funciones inmunomoduladoras ya que inhibe la proliferación de linfocitos T e induce la síntesis de IgE en los linfocitos B. Además ejerce también un efecto regulador sobre la angiogénesis (Huang S et al, 1996).
- Interleucina 13 (IL-13): Es producida principalmente por los linfocitos Th2 activados y sus funciones son similares a las de la citocina IL-4. Inhibe la producción de citocinas inflamatorias por los monocitos e induce la síntesis de IgE en los linfocitos B (D'Andrea A et al, 1995).
- *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β): Es sintetizado por linfocitos T, plaquetas y otros tipos celulares. Incrementa la proliferación de fibroblastos, osteoblastos y células del músculo liso, además de activar la síntesis de proteínas de la matriz extracelular. Inhibe la síntesis y la actividad de las citocinas proinflamatorias IFN- γ , IL-1, IL-2 y TNF- α (Taylor A et al, 2006). La citocina TGF- β es una molécula con un papel regulador central en la función del páncreas, así como en su desarrollo y sus enfermedades (Rane SG et al, 2006).

En la tabla 6 se resumen las principales citocinas antiinflamatorias con referencias a sus fuentes celulares y principales funciones inhibitoras del proceso inflamatorio:

Tabla 6: Citocinas antiinflamatorias, sus fuentes celulares y su función principal.
Th: Células T colaboradoras; Ig; Inmunoglobulina. PMN: leucocitos polimorfonucleados

Citocina	Células diana	Funciones principales
IL-4	Linfocitos Th2	Diferenciación de Th en Th2 Inhibe síntesis de citocinas inflamatorias
IL-10	Linfocitos Th2	Inhibe síntesis de citocinas inflamatorias
IL-13	Linfocitos Th2 activados	Inhibe síntesis de citocinas inflamatorias Induce síntesis Ig
TGF- β	Linfocitos T y plaquetas	Inhibe síntesis de citocinas inflamatorias
IFN- α IFN- β	Fibroblastos Células epiteliales	Inhibe proliferación celular Inhibe síntesis citocinas inflamatorias
IL-11	Médula ósea Fibroblastos	Inhibe síntesis citocinas inflamatorias Induce síntesis de Ig

Fuentes: Janeway CA Jr. et al, 2003.

3.3. Las quimiocinas en el proceso inflamatorio

Las quimiocinas son una familia de citocinas quimiotácticas de bajo peso molecular que intervienen de manera fundamental en la respuesta inflamatoria ya que regulan el reclutamiento selectivo de leucocitos a los tejidos afectados, y su posterior activación (Rollins BJ, 1997; Luster AD, 1998). Desde su identificación, hace aproximadamente veinte años, se relacionaron con las enfermedades inflamatorias aunque no se les asignó este papel biológico hasta varios años después. Durante las dos últimas décadas han sido numerosos los estudios realizados enfocados a definir el papel de la quimiocinas, y actualmente se dispone de abundante información sobre su estructura y su función. Estas moléculas son secretadas por células activadas y actúan uniéndose a receptores específicos de membrana en las células diana. Esta unión produce una señal bioquímica que es transmitida al núcleo de la célula, que de esta forma inicia sus efectos biológicos. Hasta el año 2001 se habían caracterizado más de 40 quimiocinas humanas y su número ha continuado incrementándose, por lo que actualmente la lista de quimiocinas supera las 50, aunque no todas ellas están caracterizadas completamente (tabla 7 y tabla 8).

Las quimiocinas, como el resto de citocinas, tienen un amplio espectro de funciones sobre diferentes tipos celulares, y además de su papel durante la respuesta

inflamatoria, se ha descrito su participación en la regulación de la angiogénesis (Luster AD, 1998), la regulación de las células neuronales (Albrigh AV et al, 1999), la morfogénesis tisular, el crecimiento celular y los procesos de apoptosis (Cano NF y Montoya CJ, 2001).

3.3.1. Estructura general y clasificación

Las quimiocinas son proteínas de 8 a 15 kD de peso molecular caracterizadas por tener una estructura funcional característica que da nombre a este grupo de moléculas: el dominio quimiocina. Este dominio tiene una función quimiotáctica y está definido por la presencia de cuatro cisteínas en posiciones muy conservadas. La posición de los dos aminoácidos cisteína más próximos al extremo NH₂ determina la existencia de dos subgrupos: las quimiocinas llamadas CXC, debido a que las dos cisteínas N-terminales están separadas por un único aminoácido, y las quimiocinas CC en las que estos dos aminoácidos son adyacentes (Ernst CA et al, 1994). Posteriormente se ha sugerido la existencia de dos subfamilias más, la subfamilia C, debido a la caracterización de linfotactina, una potente molécula quimioatrayente para linfocitos que tiene una única cisteína en el dominio N-terminal (Kelner GS et al, 1994) y la subfamilia CX₃C, representada por la molécula fractalcina (o neurotactina) que es una proteína de membrana con un dominio quimiocina en su porción N-terminal que se caracteriza por la presencia de tres aminoácidos entre las dos cisteínas (Bazan JF et al, 1997). La mayoría de los genes que codifican para las quimiocinas de la familia CC y la familia CXC han sido identificados y localizados respectivamente en el cromosoma 17q11.2-12 y 14q12-21. Las quimiocinas C y CX₃C se localizan en el cromosoma 1q23 y 16 respectivamente.

La **subfamilia de las quimiocinas CXC**, también llamadas quimiocinas α , se subdivide a su vez en 2 grupos, aquellas que contienen inmediatamente antes del primer residuo de cisteína la secuencia ácido glutámico-leucina-arginina (ELR) que son quimiotácticas para los PMN, principalmente para el neutrófilo, y participan en la inflamación y aquellas que no contienen la secuencia ELR, que atraen a las células mononucleares, fundamentalmente a monocitos y linfocitos. Esta secuencia ELR parece ser necesaria, aunque no suficiente, para la unión de las quimiocinas con sus receptores (Baggiolini M et al, 1997).

El prototipo de quimiocinas CXC es la IL-8, que fue purificada en ensayos de quimiotaxis como un factor derivado de monocitos que atrae neutrófilos (Schröder JM

et al, 1987). Desde entonces se han identificado otras moléculas de este grupo que también son quimiotácticas para los neutrófilos (tabla 7).

Las fuentes celulares de las quimiocinas CXC son principalmente células NK, monocitos-macrófagos, eosinófilos así como células epiteliales, células endoteliales, fibroblastos, hepatocitos y células del músculo liso. Las células diana sobre las que actúan son principalmente células leucocitarias, en particular neutrófilos, basófilos, monocitos y linfocitos T; y también fibroblastos, células endoteliales y células hematopoyéticas. Los efectos biológicos que ejercen sobre dichas células son numerosos y cabe destacar, además de la quimiotaxis, la activación y proliferación celular, la regulación del crecimiento de células hematopoyéticas, la liberación de histamina en mastocitos, la inducción de síntesis de colágeno en fibroblastos, entre otras. (Revisado por Cano NF y Montoya CJ, 2001).

En los procesos inflamatorios la síntesis de las quimiocinas se induce fundamentalmente por citocinas, de modo que IL-1 y TNF- α estimulan principalmente la producción de quimiocinas CXC ELR+ y en cambio IFN- γ estimula la secreción de las CXC ELR-. En la tabla 7 se presentan las quimiocinas CXC más estudiadas, junto con la nomenclatura actual y los principales receptores sobre los que actúa cada quimiocina, así como la presencia o ausencia del motivo ELR.

Tabla 7: Quimiocinas α y receptores. ELR indica presencia (+) o ausencia (-) del motivo Glu-Leu-Arg antes del primer residuo de cisteína. R1-R6: Receptores CXCR1-CXCR6.

CXC	Nombre	ELR	R1	R2	R3	R4	R5	R6
CXCL1	GRO α	+						
CXCL2	GRO β	+						
CXCL3	GRO γ	+						
CXCL4	PF4	-						
CXCL5	ENA-78	+						
CXCL6	GCP-2	+						
CXCL7	NAP-2	+						
CXCL8	IL-8	+						
CXCL9	MIG	-						
CXCL10	IP-10	-						
CXCL11	ITAC	-						
CXCL12	SDF-1	-						
CXCL13	BCA-1	-						

BCA: *B cell-attracting chemokine*; ENA-78: *epithelial cell derived neutrophil-activating*; GCP: *granulocyte chemotactic protein*; GRO: *growth regulated oncogene*; IL-8: *interleukin-8*; IP-10: *interferon inducible protein 10*; ITAC: *interferon inducible T cells α chemoattractant*; MIG: *monokine induced by IFN- α* ; PF-4: *platelet factor*; SDF-1: *stromal cell derived factor*.

La **subfamilia de las quimiocinas CC**, también conocida como β , no actúa generalmente sobre neutrófilos y atrae principalmente a monocitos y a linfocitos T, y también a eosinófilos, basófilos, linfocitos B, células NK y células dendríticas, con diferente grado de selectividad. Esta subfamilia puede ser a la vez dividida en tres grupos: moléculas quimiotácticas para el monocito, moléculas quimiotácticas de la familia eotaxina y quimiocinas que no pertenecen a ninguno de los dos grupos anteriores. También en este caso es fundamental el papel de los 2 residuos aminoacídicos presentes en la zona N-terminal, en el reconocimiento del receptor y en la activación de los linfocitos, aunque a diferencia de las quimiocinas CXC, la secuencia que ha de conservarse para la total activación del neutrófilo es de 10 residuos que preceden al dominio CC. La subfamilia de quimiocinas CC es también

variada, con moléculas que tienen diversas propiedades funcionales, como la MCP-1 (del inglés: *Monocyte Chemoattractant Protein-1*) caracterizada por su propiedad de atraer, *in vitro*, monocitos pero no neutrófilos (Valente AJ et al, 1988), la MIP-1 α y MIP-1 β (del inglés: *Macrophages Inflammatory Proteins*) purificadas a partir de líneas monocitarias estimuladas con lipopolisacáridos (Wolpe SD et al, 1988) entre otras (tabla 8).

Las quimiocinas CC que atraen y activan a los eosinófilos son las quimiocinas de la familia eotaxina, RANTES, MCP-2, MCP-3, MCP-4 y MIP-1 α .

Las fuentes celulares de estas quimiocinas son principalmente los monocitos, las células endoteliales y las células epiteliales, así como los linfocitos T activados, eosinófilos, fibroblastos, células NK y células del músculo liso. Las células diana sobre las que actúan son fundamentalmente eosinófilos, basófilos, linfocitos T, monocitos, células dendríticas y células hematopoyéticas. Los efectos biológicos que ejercen sobre dichas células son numerosos: quimiotaxis de eosinófilos, basófilos, monocitos, linfocitos T, células dendríticas; activación y proliferación de células endoteliales; regulación del crecimiento de células hematopoyéticas; degranulación y liberación de enzimas de células NK; diferenciación Th1/Th2; modulación de la apoptosis; inducción de la síntesis de IgE e IgG4 (revisado por Cano NF y Montoya CJ, 2001). Las citocinas inducidas en los procesos inflamatorios regulan la síntesis de las quimiocinas, de modo que, por ejemplo IL-4 e IL-13 estimulan principalmente la producción de eotaxina y en cambio IFN- γ estimula la secreción de RANTES, MCP-4 y eotaxina. Las citocinas IL-10 y TGF- β disminuyen, generalmente, la producción de quimiocinas (Nickel R et al, 1999).

En la tabla 8 se presentan las quimiocinas CC más estudiadas, junto con la nomenclatura actual y los principales receptores sobre los que actúa cada quimiocina.

Tabla 8: Quimiocinas β y receptores. R1-R10: Receptores CCR1 a CCR10.

CC ó β	Nombre	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10
CCL1	I-309								■		
CCL2	MCP-1	■	■								
CCL3	MIP-1 α	■			■	■					
CCL4	MIP-1 β	■				■			■		
CCL5	RANTES	■		■	■	■					
CCL7	MCP-3	■	■	■							
CCL8	MCP-2	■	■	■		■					
CCL11	EOTAXINA		■	■		■					
CCL13	MCP-4	■	■	■							
CCL14	HCC-1	■				■					
CCL15	MIP-1 δ	■		■							
CCL16	HCC-4	■				■					
CCL17	TARC				■						
CCL18	PARC			■					■		
CCL19	MIP-3 β							■			
CCL20	MIP-3 α						■				
CCL21	6Ccina							■			
CCL22	MDC				■						
CCL23	MPIF-1	■									
CCL24	EOTAXINA-2			■							
CCL25	TECK									■	
CCL26	EOTAXINA-3		■	■							■
CCL27	CTACK										■
CCL28	MEC			■							■

CTACK: *cutaneous T-cell attracting chemokine*; HCC: *hemofiltrate CC chemokine*; MCP: *monocyte chemoattractant protein*; MDC: *macrophage derived chemokine*; MIP: *macrophage inflammatory protein*; MPIF: *myeloid progenitor inhibitory factor*; RANTES: *regulated upon activation Normal T cell expressed and secreted*; TARC: *thymus and activation regulated chemokine*; PARC: *pulmonary and activation regulated chemokine*; TECK: *thymus expressed chemokine*; MEC: *mammary enriched chemokine*; 6CKine: *6 cysteine chemokine*.

La **subfamilia de las quimiocinas C**, también llamadas quimiocinas γ , incluyen la linfotactina ó XCL1 y la SCM-1 (motivo C solitario) ó XCL2, son sintetizadas por linfocitos T CD8+, timocitos, células NK y mastocitos. Sus células diana son linfocitos T, linfocitos B y células NK, induciendo su activación y la quimiotaxis. También inducen la activación de las células endoteliales. El receptor para ambas quimiocinas recibe el nombre de XCR1.

La **subfamilia de las quimiocinas CX₃C**, o quimiocina δ , constituida sólo por la fractalcina (también llamada neurotactina), es producida por las células endoteliales y actúa sobre los monocitos y los linfocitos T, favoreciendo la adherencia al endotelio y la quimiotaxis. Su receptor es conocido con el nombre CXR.

3.3.2. Funciones de las quimiocinas

Las funciones de las quimiocinas son diversas y entre ellas destacan: a) regulación de la movilidad de los leucocitos; b) angiogénesis y c) intervención en la hematopoyesis y en la formación de los órganos linfoides. En nuestro estudio nos interesa especialmente el papel de las quimiocinas en la regulación de la movilidad de los leucocitos y su intervención en los procesos infecciosos e inflamatorios.

Regulación de la movilidad de los leucocitos:

La movilidad de los leucocitos desde la médula ósea, donde se generan, hasta los tejidos donde actúan es un componente crítico en la respuesta del sistema inmunitario tanto en situaciones de normalidad como en condiciones patológicas. Este movimiento incluye la extravasación de los leucocitos a los tejidos, donde realizan sus acciones biológicas, y el tráfico fisiológico de linfocitos entre los órganos de producción, los de maduración y los de interacción. Los linfocitos migran desde la médula ósea al timo, donde maduran y se diferencian. Desde aquí vuelven a la sangre y llevan a cabo ciclos continuos de recirculación, yendo desde la corriente sanguínea a los ganglios linfáticos, donde van a tener la posibilidad de interactuar con los antígenos específicos, desde aquí a la linfa y de nuevo a la sangre. En la inflamación, los vasos cercanos al foco inflamatorio se hacen más permeables y se extravasan selectivamente granulocitos, monocitos y linfocitos.

Los leucocitos migran en un proceso conocido como quimiotaxis siguiendo un gradiente químico hacia las concentraciones más altas de un agente quimiotáctico (MacKay CR, 1996). La migración de los leucocitos desde el torrente sanguíneo hasta

los tejidos implica la interacción de los leucocitos con las células endoteliales y con las proteínas de la matriz extracelular. Este proceso está mediado por determinadas moléculas como las moléculas de adhesión y las quimiocinas.

Las moléculas de adhesión, como las integrinas y las selectinas, son proteínas de membrana que se expresan en la superficie de los leucocitos y de las células endoteliales y permiten la interacción de las células entre sí y con proteínas de la matriz extracelular mediante la unión a ligandos específicos. Estas moléculas regulan la adhesión, extravasación y migración a lo largo de la matriz extracelular de los leucocitos.

Las quimiocinas son moléculas producidas por el endotelio o por los tejidos, desde donde son transportadas a la parte intraluminal del endotelio, y allí activan a aquellas poblaciones de leucocitos que expresan los receptores de quimiocinas adecuados. La activación aumenta la afinidad de las moléculas de adhesión de los leucocitos activados que se unen entonces a sus ligandos en el endotelio con una alta afinidad. Por tanto, convierten la interacción de baja afinidad mediada por moléculas de adhesión en una interacción de alta afinidad, favoreciendo de esta forma la adhesión y diapedesis. En general las quimiocinas poseen dos sitios de unión, uno para sus receptores específicos y otro para los grupos carbohidrato de los proteoglicanos, como heparina y heparansulfato, lo que les permite adherirse a la superficie intraluminal del endotelio. Este hecho juega un papel muy importante ya que protege a las quimiocinas de la proteólisis y permite la formación de gradientes estables dentro del endotelio desde donde dirigen la migración de los leucocitos (Ellyard JI et al, 2007).

Las quimiocinas homeostáticas se sintetizan de forma constitutiva y son las que regulan la migración de los precursores de los linfocitos hasta los órganos linfoides y la migración desde los órganos linfoides primarios a los secundarios y terciarios. La expresión de estas citocinas se ve incrementada en los procesos inflamatorios, especialmente en las lesiones crónicas, en las que pueden llegar a formar estructuras linfoides ectópicas (Grant AJ et al, 2004). Estas quimiocinas suelen tener la característica de ser muy específicas para determinados receptores, de manera que una quimiocina sólo se une a un receptor ó un receptor sólo se une a 2 ligandos, como por ejemplo el receptor CCR7 al que sólo se unen los ligandos CCL21 y CCL19.

Las quimiocinas inflamatorias son las que regulan la migración de las células inflamatorias hacia los tejidos donde se localiza el foco de inflamación y están

ampliamente expresadas en procesos patológicos infecciosos, aunque puede existir expresión constitutiva de estas quimiocinas en condiciones de normalidad. Por ejemplo, RNAm para eotaxina se expresa de forma constitutiva en el intestino delgado, el MCP-4 se ha localizado en el pulmón y corazón, MDC en el timo, sugiriendo que en estos casos su expresión no se debe a condiciones patológicas, sino a funciones básicas de los leucocitos en estos tejidos.

Papel en las enfermedades inflamatorias e infecciosas:

Aunque el proceso de migración en estado fisiológico normal descrito anteriormente es aplicable a la migración de leucocitos durante la inflamación, determinados factores van a determinar el patrón de acumulación celular que se produce en un foco inflamatorio. Entre ellos destacan el estado de activación de los leucocitos, el tipo de moléculas de adhesión expresado por el endotelio vascular, que a su vez depende de la situación anatómica del vaso y de su activación, y por último de las quimiocinas presentes. Teniendo en cuenta que los receptores para quimiocinas varían según el tipo de leucocito, las quimiocinas van a actuar selectivamente sobre estas células.

Las quimiocinas tienen la capacidad de dirigir la migración de los leucocitos ante un agente patógeno o ante la lesión de un tejido durante la respuesta inmune innata, ya que los microorganismos pueden estimular directamente su producción en las células dendríticas y en los macrófagos. Determinadas moléculas endógenas asociadas con la infección o la lesión, como fibrinógeno, elastasa y defensinas, pueden también inducir la producción de quimiocinas. Sin embargo, la mayor vía de activación de la síntesis de quimiocinas es la presencia de citocinas inflamatorias que han sido inducidas por el proceso inflamatorio en los tejidos infectados o lesionados. La mayoría de las quimiocinas producidas en respuesta a patógenos son los ligandos de los receptores CCR1, entre los que se encuentran quimiocinas de la *familia* MCP, *familia* MIP y RANTES; ligandos del receptor CCR2, entre los que destacan las quimiocinas de la *familia* MCP; los ligandos del receptor CCR3, fundamentalmente las quimiocinas de la *familia* eotaxina y RANTES; ligandos del receptor CCR5, principalmente MIP-1 α , RANTES y MCP-2; ligandos del receptor CXCR2, que son las quimiocinas de la *familia* Gro, ENA-78 e IL-8; y ligandos del receptor CXCR3, principalmente PF-4 e IP-10. La respuesta de movilización de los leucocitos frente a los patógenos se puede clasificar en respuesta tipo 1 y respuesta tipo 2 en función de las citocinas y quimiocinas producidas y de las células implicadas: la respuesta tipo 2 se asocia con los ligandos de los receptores CCR1, CCR5, CCR3 y CXCR6, y con las citocinas de los linfocitos Th2; y la respuesta tipo 1 se asocia con los ligandos de las quimiocinas

CCR3, CCR4 y CCR8, y con las citocinas de los linfocitos Th1 (revisado por Rot A y von Adrian UH, 2004).

En los procesos inflamatorios, determinadas células presentes en la zona de inflamación, como son las células tisulares, los leucocitos residentes y las células endoteliales activadas, sintetizan quimiocinas que atraen a los leucocitos mediante el proceso de quimiotaxis. Las quimiocinas, retenidas en la matriz extracelular o unidas a las células endoteliales aumentan la afinidad de la unión de los leucocitos a las células endoteliales, facilitando así el paso del leucocito a través del endotelio hasta el tejido lesionado. De esta forma los leucocitos infiltrados ejercen su papel biológico y perpetúan el círculo del proceso inflamatorio.

Existen numerosas referencias que documentan una sobreexpresión de quimiocinas en el foco de inflamación en determinadas situaciones patológicas, como las enfermedades asmáticas (Revisiones de Lukacs NW, 2001; Teran LM, 2000; Zimmermann N et al, 2003) y las enfermedades intestinales inflamatorias (Revisiones de McCormack G et al, 2001; Banks C et al, 2003; Danese S y Gasbarrini A, 2005). Las enfermedades inflamatorias se caracterizan por una acumulación selectiva de subgrupos de leucocitos de modo que cada una muestra un infiltrado característico y un patrón específico de quimiocinas con una concentración elevada. En la extravasación de los leucocitos hacia los tejidos, los neutrófilos son activados por quimiocinas como la CXCL8, también conocida como IL-8, que actúa sobre dos receptores de quimiocina diferentes, CXCR1 y CXCR2, para iniciar la migración de los neutrófilos. En algunos tejidos, por ejemplo en los bronquios de pacientes asmáticos, se detectan infiltrados principalmente de eosinófilos, células T, monocitos y basófilos, con una concentración elevada de las quimiocinas MCP-1, MIP-1, eotaxina y RANTES (Teran LM et al, 1996), mientras que en enfermedades inflamatorias del intestino delgado como la colitis ulcerosa o la enfermedad de Crohn, en la fase aguda los neutrófilos y los eosinófilos salen de la circulación sanguínea y pasan a la mucosa intestinal, mientras que en la fase crónica son los macrófagos y los linfocitos los que se infiltran en el tejido (García-Zepeda EA et al, 1996). Las quimiocinas que se encuentran en el tejido en estos procesos son MCP-1, MIP-1 α , eotaxina, IP-10 e IL-8 (Grimm MC et al, 1996).

En determinadas enfermedades provocadas por patógenos, como la infección por *Plasmodium vivax* y por el VIH, los receptores de quimiocinas son utilizados también

como coreceptores de dichos patógenos que facilitan su entrada a las células humanas y con ello el proceso infeccioso (Feng Y et al, 1996; Horuk R, 1999). En otros casos, como en la infección por el virus del herpes, el genoma del virus codifica receptores de quimiocinas que son expresados por las células infectadas lo que permite a estas células migrar hacia zonas “remotas” para continuar con sus ciclos de replicación. Además, los receptores de quimiocinas inducidos por virus pueden producir una proliferación descontrolada de las células infectadas con los consiguientes efectos dañinos y compiten por las quimiocinas, restando eficacia a la comunicación celular y a la respuesta inmunitaria (Revisado por Alcami A, 2003).

Las quimiocinas no sólo cumplen un papel fundamental en la respuesta inmune innata sino también en la respuesta inmune adaptativa, ya que se ha demostrado la acción que ejercen sobre la migración de las células T hacia los órganos linfoides y su implicación en la migración de las células dendríticas maduras presentadoras de antígeno hasta la areas linfoides donde se encuentran las células T. La maduración de estas células dendríticas provoca cambios en el modelo de expresión de los receptores de quimiocinas, incrementando la expresión del CCR7 y facilitando la llegada a los órganos linfáticos. Los linfocitos T circulantes también presentan receptores CCR7 y CCR4 que son fundamentales para el movimiento de los leucocitos (revisado por Rot A y von Adrian UH, 2004).

Papel de las quimiocinas en la angiogénesis

Las quimiocinas de la familia α tienen efectos variados sobre la angiogénesis. Las quimiocinas CXC que expresan la secuencia ERL, como IL-8, GRO- α y GRO- β activan la angiogénesis y el crecimiento de los tumores. Sin embargo, las quimiocinas CXC que no expresan la secuencia ERL no sólo no son angiogénicas sino que inhiben la angiogénesis, el crecimiento de los tumores y la metástasis, así como la proliferación de las células madre (Graham GJ et al, 1990). Estas quimiocinas inhibitoras del crecimiento celular, entre las que se encuentra PF-4 e IP-10 tienen la capacidad de desplazar a otros factores de crecimiento de los sitios de unión de estos últimos a las células endoteliales con la consiguiente inhibición de su proliferación y crecimiento (Luster AD, 1998).

Papel de las quimiocinas en la hematopoyesis y en la formación de los órganos linfoides

El efecto de las quimiocinas sobre el proceso de la hematopoyesis es variable, ya que depende, en gran medida, de la presencia de otras citocinas que sinérgicamente

provocan la inhibición o la activación de la proliferación y diferenciación de las células sanguíneas. Por ejemplo, las quimiocinas de la *familia* MIP o de la *familia* GRO pueden activar la hematopoyesis de las unidades formadoras de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CFU) pero sólo en presencia del factor estimulador de dichas colonias (Broxmeyer HE et al, 1990).

Las quimiocinas homeostáticas también se han relacionado con el desarrollo de los órganos linfoides y con la creación del entorno necesario para la función de éstos (Ansel KM y Cyster JG, 2001) observándose que los ligandos del CCR7 y de CXCR5 cooperan en el desarrollo y organización de estos órganos linfoides secundarios (Ohl L et al, 2003).

Todas estas funciones son mediadas por la unión de las quimiocinas a los leucocitos a través de diversos receptores de membrana, al menos existen 18 receptores distintos que se nombran de la misma forma que las moléculas que reciben: receptores CCR (para las quimiocinas CC), receptores CXCR (para las quimiocinas CXC), receptor CX₃CR (para la quimiocina CX₃C) y receptores CR (para las quimiocinas C). Como en el caso de las citocinas, estos receptores son proteínas con 7 dominios transmembrana, la mayoría de ellos acoplados a la proteína G (GPCR), con una porción extracelular N-terminal, que se une a la quimiocina, y una porción intracelular C-terminal, que participa en la transducción de señales. Los receptores de las quimiocinas presentan 4 características importantes: cada uno de los receptores es expresado preferentemente por determinados tipos celulares; son de alta afinidad por sus ligandos, por lo que con concentraciones bajas de quimiocinas es suficiente para ejercer el efecto biológico; pueden ser específicas o no para sus ligandos, es decir, un receptor puede unir un solo tipo de ligando o un receptor puede unir varios ligandos; y algunos receptores se expresan de forma constitutiva en algunas células y son inducibles en otras células.

En cualquier caso, durante el proceso de quimiotaxis, una de las primeras rutas que son activadas por las quimiocinas es la ruta JAK/STAT, a través de la cual las quimiocinas provocan cambios en la morfología celular, observándose una redistribución de los receptores en la zona de la membrana plasmática de las células diana (polarización de las células) hacía la dirección del gradiente de quimiocinas, quedando todavía sin identificar como se consigue esta distribución asimétrica que no se presenta en la superficie de las células no polarizadas (revisado por Mellado M et al, 2001).

En general las quimiocinas poseen dos sitios de unión, uno para sus receptores específicos y otro para los grupos carbohidrato de los proteoglicanos, pero es importante considerar que también pueden unirse a receptores DARC, conocido como antígeno Duffy, que tiene la capacidad de unirse a ligandos CXC y CC. Esta unión no conlleva la trasducción de señales y parece que al unirse a las quimiocinas impide la acción biológica de éstas y el daño que puedan causar, resultando también útil en el transporte y depuración de estas moléculas en la circulación (Luster AD, 1998).

3.4. Proceso inflamatorio en la pancreatitis aguda

Las enfermedades inflamatorias están caracterizadas por una acumulación selectiva de los distintos subgrupos de leucocitos. Esta acumulación celular está controlada por la expresión de ciertas moléculas que se comportan como factores con capacidad de modular la actividad funcional de estas células. La migración de los leucocitos desde la sangre periférica al tejido es un punto clave en la respuesta inflamatoria, ya que en el tejido lesionado, los leucocitos amplifican el proceso inflamatorio que inicia la respuesta inmunitaria.

Entre estas moléculas, las citocinas son más específicas de determinados grupos celulares. Son sintetizadas y secretadas por los leucocitos principalmente y por una amplia variedad de tipos celulares. Algunas citocinas tienen la capacidad de atraer químicamente a las células en un proceso denominado quimiotaxis o migración de los leucocitos hacia la concentración más alta del factor quimiotrayente, por los que se les denomina quimiocinas. Estas quimiocinas se caracterizan por su selectividad para activar y dirigir el tráfico de diferentes subpoblaciones de leucocitos, aunque algunas quimiocinas pueden ser muy selectivas y otras muestran un espectro de atracción más amplio.

El primer autor que propuso la hipótesis de que la respuesta inflamatoria juega un papel importante en la fisiopatología de la pancreatitis aguda fue H. Rinderknecht, quien en 1988 sugirió que las complicaciones sistémicas que acompañan ocasionalmente a la PA podrían ser debidas a una excesiva estimulación de los neutrófilos por las materias de desecho de las células fagocitadas, de forma que los leucocitos produjeran cantidades importantes de radicales libres de oxígeno, leucotrienos y TNF- α , de forma similar a lo que sucede en el shock séptico. En 1997 fue descrita la activación de la respuesta inmune celular durante el proceso de pancreatitis aguda (Mora A et al, 1998) y posteriormente numerosos estudios han intentado conocer cual es el verdadero papel que juegan las citocinas en la patogenia de la pancreatitis aguda, y en todos ellos se llega a la conclusión de que el proceso de interacción entre las citocinas y las células diana, e incluso entre las propias citocinas, es demasiado complejo para explicar el proceso inflamatorio de la pancreatitis aguda por la presencia o ausencia de determinadas citocinas en el foco inflamatorio (Norman J, 1998; Brivet FG et al, 1999; Chen CC et al, 1999; Schmid RM y Adler G, 1999; Bathia M et al, 2000).

Lo que no suscita hoy en día ninguna duda es que en la pancreatitis aguda se incrementa significativamente la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales en el foco de inflamación y la expresión de citocinas en las células del tejido lesionado y de los monocitos infiltrados (Bhatnagar A et al, 2001).

Se considera que en el centro de la fisiopatología de la PA se sitúan los leucocitos PMN. La lesión de las células acinares conlleva la liberación de citocinas capaces de activar a los PMN, que a su vez liberan citocinas proinflamatorias (IL-1, TNF- α) y radicales libres del oxígeno, que desencadenan la activación de la cascada inflamatoria. Así, en el desarrollo de la PA grave y de sus complicaciones participan de forma sinérgica varios mediadores y sistemas proinflamatorios como bradicinina, cinina-kalikreina, sistema del complemento, cascada de la coagulación y de la fibrinólisis, factor de activación plaquetaria (PAF), óxido nítrico, radicales libres del oxígeno (Braganza JM, 2001; Norman J, 1999). Las citocinas antiinflamatorias, así como los receptores solubles de TNF- α o el antagonista de IL-1 también tienen han mostrado estar implicados en la respuesta inflamatoria de la pancreatitis aguda (Revisado por Granjer J y Remick D, 2005).

Desde principios de los años 90 del pasado siglo se conoce que la PA se asocia a presencia de citocinas inflamatorias circulantes. Las citocinas IL-1 y TNF- α son los miembros primarios de la familia de las citocinas, inducen la producción de IL-6 e IL-8, y se considera que son las responsables de la destrucción tisular pancreática y sistémica y de las manifestaciones del SIRS (fiebre, hipoperfusión, shock, acidosis metabólica, disfunción cardíaca y SDRA). A partir de estudios experimentales se ha comprobado que IL-1, TNF- α e IL-6 se producen en la glándula pancreática en los treinta minutos iniciales desde la inducción de la PA, fundamentalmente a partir de leucocitos que invaden la glándula durante el proceso inflamatorio. En la porta se pueden detectar niveles elevados de TNF- α , mayores que los niveles detectados en la circulación sistémica, lo que hace suponer que el hígado actúa como filtro intentado evitar el paso de citocinas a la circulación sistémica. Finalmente, la producción de citocinas en el páncreas, es seguida por la producción de éstas en bazo, pulmón e hígado, horas o días después del desarrollo de pancreatitis (la producción de IL-1 y TNF- α en pulmón es capaz de desencadenar el SDRA). Frente a esto, se ha observado que las citocinas no son capaces de desencadenar la PA. En estudios en humanos se ha observado una correlación entre los niveles de IL-6 e IL-8 y la gravedad de la pancreatitis y que los niveles de estas citocinas pueden predecir el desenlace de la pancreatitis (gravedad, fallo orgánico, mortalidad, estancia

hospitalaria). Se ha estudiado la evolución temporal de los niveles de citocinas durante la PA, observándose un pico máximo alrededor de las 36 horas del inicio de los síntomas. Por último, los leucocitos aislados en sangre periférica de pacientes con PA producen mayores cantidades de IL-1, TNF- α , IL-6 e IL-8 que en voluntarios sanos y, paralelamente, los leucocitos de pacientes con PA grave se encuentra hiperestimulados en comparación con los de pacientes con PA leve. Con todo lo anterior, puede establecerse que las citocinas juegan un papel fundamental en la progresión de la enfermedad. Sin embargo, no se conoce el mecanismo responsable de la extensión de la respuesta inflamatoria a tejidos distantes al páncreas (Norman J, 1998).

En la siguiente tabla se muestran los diferentes factores pro y antiinflamatorios que juegan un papel importante en la pancreatitis aguda.

Tabla 9: Mediadores pro y antiinflamatorios (y su naturaleza) en la Pancreatitis Aguda.

Proinflamatorios	Antiinflamatorios
IL-1 β (citocina)	IL-10 (citocina)
IL-5 (citocina)	IL-11 (citocina)
IL-6 (citocina)	IL-1ra (receptor de citocina)
IL-8 (quimiocina)	IL-4 (citocina)
TNF $-\alpha$ (citocina)	IL-13 (citocina)
PAF (mediador lipídico)	MCP-1 (quimiocina)
MIP 1- α (quimiocina)	TGF- β (citocina)
Sustancia P (neuropeptido)	IL-6 (citocina) en la fase aguda
ICAM-I (molécula de adhesión)	C5a (fragmento factor 5 complemento)
Bradicinina (peptido activo de cininas)	
C3a (fragmento factor 3 complemento)	

Fuentes: Brivet FG et al, 1999, Bathia M et al, 2000,

La figura 3 esquematiza los diferentes efectos provocados por las citocinas que se liberan de las células acinares lesionadas. El equilibrio establecido entre las citocinas pro y antiinflamatorias es el responsable de la naturaleza de la respuesta inmune, a la vez que actúa sobre la regulación de la muerte celular y de la activación de las células pancreáticas estrelladas (PSC).

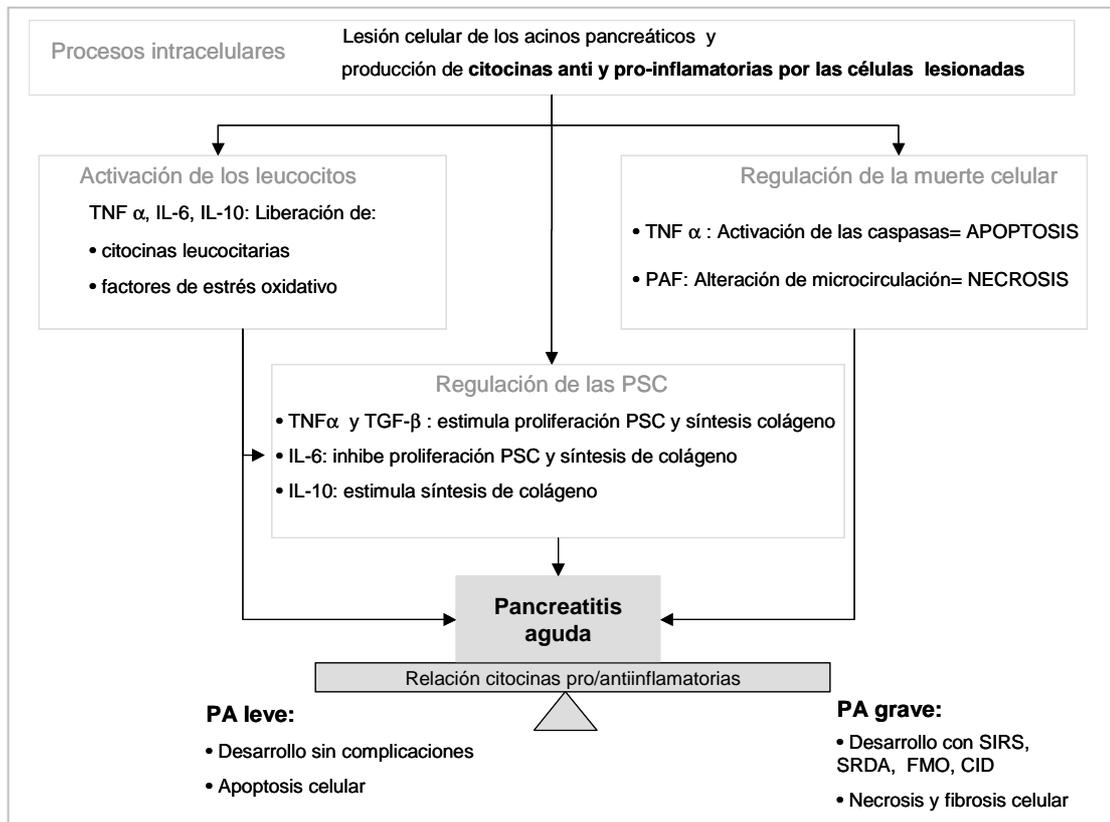


Figura 3: Efectos de las citocinas pro y antiinflamatorias liberadas por las células acinares lesionadas, y balance de los factores que provocan PA leve o PA grave. Fuentes: Bathia M, 2004; Jaster R, 2004; Granger J y Remick D, 2005; Hernández Ramírez V, 2006.

IL: interleucinas, TNF- α : factor de necrosis tumoral alpha, PAF: factor de activación plaquetaria, TGF- β : factor de transformación y crecimiento beta, SIRS: síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, SRDA: síndrome de distrés respiratorio del adulto, CID: coagulación intravascular diseminada, FMO: fallo múltiple orgánico,

En cuanto a los factores de la respuesta inmunitaria adaptativa humoral, existen pocos estudios que analicen la presencia de las inmunoglobulinas en la pancreatitis aguda. Entre ellos, Schultz HU et al, 1997, muestran que no existen diferencias en cuanto al nivel de las inmunoglobulinas IgA, IgM e IgG, así como de los factores de complemento C3 y C4 en los pacientes con pancreatitis aguda. Sin embargo, en pacientes con pancreatitis crónica se ha detectado que la producción de IgE en suero está elevada durante la fase inflamatoria del episodio (González-Quintela A et al, 2003) o cuando se ha consumido alcohol (Raithel M et al, 2004) lo que lleva a estos autores a especular que además de la inflamación pancreática, la unión de la IgE a antígenos presentes puede estar implicada en la fisiopatología de la pancreatitis crónica. En la llamada pancreatitis autoinmune (tipo de pancreatitis crónica) caracterizada por un aumento de los niveles séricos de IgG, presencia de autoanticuerpos, fibrosis pancreática difusa con infiltración linfoplasmocitaria y estenosis irregular del conducto pancreático, se ha demostrado recientemente la utilidad clínica de la elevación sérica de la IgG4 y de los anticuerpos frente a la anhidrasa carbónica II que se utilizan como marcadores diagnósticos frente a otras afecciones crónicas pancreáticas (Aparisi L et al, 2005).

La migración de los leucocitos al páncreas es un hecho que ocurre de forma rápida, aunque los eosinófilos migren de forma más tardía, durante el curso de un episodio de pancreatitis aguda grave, lo cual va acompañado de un aumento de la concentración de la elastasa del granulocito en suero (que ha sido usado como marcador del pronóstico de la pancreatitis), un aumento en el nivel de proteína C reactiva y también de IL-6, descrito por el grupo de Viedma JA et al, en 1992, que encontraron una correlación entre el aumento de la PCR y de IL-6 en suero durante los primeros días en los que cursa el episodio de pancreatitis aguda y además demostraron que los pacientes con pancreatitis aguda grave tienen concentraciones mucho más elevadas de dicha interleucina que los pacientes con PA leve. A partir de estudios experimentales se ha comprobado que IL-1, TNF- α e IL-6 se producen en la glándula pancreática en los treinta minutos iniciales después de la inducción de la PA.

A partir de 1992 han sido numerosos las publicaciones en las que se intenta describir el papel de las citocinas en la reacción inflamatoria de la pancreatitis aguda, y el valor predictivo del análisis de estas citocinas, especialmente en las formas graves que además van acompañadas de disfunción orgánica (Heth DI et al, 1993; Schölmerich J, 1996; Norman J, 1998; Chun-Chia C et al, 1999; Brivet FG et al, 1999; Mentula P et al, 2004; Wereszczynska-Siemiatkowska U et al, 2004; Ramudo L et al, 2005).

Junto al papel de las citocinas en el proceso inflamatorio de la PA, hay que considerar también la acción del estrés oxidativo (EO). En 1984, Sanfey H et al, demostraron experimentalmente la intervención del estrés oxidativo en la patogenia de la PA. A partir de este estudio se han sucedido múltiples trabajos en los que se ha subrayado la importancia del EO en la patogenia y fisiopatología de la PA, tanto en animales de experimentación como en humanos. La importancia del EO queda patente al observarse que la administración de antioxidantes previa a la inducción de la PA experimental es capaz de prevenir la lesión pancreática o reducir su gravedad (Sanfey H et al, 1984; Sarr MG et al, 1987; Sweiry JH y Mann GE, 1996; Rau B et al, 2000).

Este aumento de EO es precoz, puede apreciarse ya a los 5 minutos de la inducción de la PA, y antecede a las alteraciones estructurales o funcionales (Schoenberg MH et al, 1990; Braganza JM, 2001) y, consecuentemente, a los cambios morfológicos pancreáticos como edema, necrosis e infiltración leucocitaria (Vaquero-Raya EC y Molero-Richard X, 2005). La presencia de EO puede provocar rigidez de membrana, dificultar el emparejamiento receptor-agonista, puede alterar la homeostasis del calcio intracelular, altera el citoesqueleto y es capaz de inducir vacuolización celular. Todas estas alteraciones ultraestructurales están presentes en la "pancreastasis", por lo que se postula que el EO podría jugar un papel importante en el desarrollo de ésta (Braganza JM, 2001). Nuestro grupo de trabajo ha comprobado en una serie muy amplia de pacientes con PA, la importancia del estrés oxidativo que influye en la gravedad de la inflamación pancreática y se relaciona con los marcadores inflamatorios en los estadios iniciales de la enfermedad (Hernández Ramírez V, 2006).

En el último escalón de la patogénesis de la PA, hay que tener en cuenta que un EO aumentado tiene la capacidad de inducir la transcripción de genes de respuesta al estrés, entre ellos NF- κ B. Esto también ocurre en las células acinares pancreáticas (se ha observado que acontece en etapas muy precoces de la PA), con lo que estas células se transforman en una fuente de citocinas proinflamatorias (Braganza JM, 2001; Vaquero-Raya EC y Molero-Richard X, 2005).

En las fases iniciales del desarrollo de la PA se ha observado un aumento brusco y exagerado de radicales libres en el tejido pancreático, que pueden proceder de diversos tipos celulares. El EO puede inducir alteraciones ultraestructurales observadas en la "pancreastasis" y puede inducir la expresión de genes relacionados con la progresión de la respuesta inflamatoria y en concreto genes que expresan citocinas.

4. FISIOPATOLOGÍA DEL EOSINÓFILO

El eosinófilo humano fue identificado hace aproximadamente un siglo como un tipo de leucocito presente en sangre periférica cuyo citoplasma se tiñe con un colorante ácido llamado eosina que se une a las proteínas catiónicas presentes en los gránulos celulares citoplasmáticos. Aunque históricamente se ha considerado que la función principal del eosinófilo es la defensa frente a los parásitos actualmente se conocen otras funciones de esta célula, como su papel en la respuesta inmune innata y adaptativa y en el proceso inflamatorio ya sea directamente (Kapp A, 1993; Leiferman KM, 1989; Haslett C, 1999) o a través de mediadores químicos (Revisado por Simon D y Simon HU, 2007). Los mediadores que sintetiza el propio eosinófilo, principalmente quimiocinas y citocinas, son capaces de activar a otros tipos celulares, estableciéndose de esta manera relaciones complejas que regulan el proceso inflamatorio.

4.1. Características generales del eosinófilo

El eosinófilo se diferencia a partir de las células hematopoyéticas de la médula ósea estando este proceso mediado por tres citocinas principalmente: IL-5, IL-3 y GM-CSF (Ver figura 4 y figura 5). Algunos autores han sugerido que la diferenciación de las células pluripotenciales es un proceso programado genéticamente (Hu M et al, 1997) aunque otras hipótesis sugieren que la diferenciación de dichas células depende de estímulos externos a ellas que afectan a la transcripción génica (VanZant G et al, 1979). Lo más probable es que el proceso de diferenciación sea debido a una combinación de ambos hechos, dado que ensayos *in vitro* en los que se cultivan células pluripotenciales en medios semisólidos como el agar, se diferencian espontáneamente varios tipos de unidades formadoras de colonias (CFU) que además pueden ser inducidas por diferentes citocinas. De la célula madre hematopoyética (HSC) se diferencian las unidades formadoras de colonias de blastocitos (Blasto-CFU) y de ellas las CFU de granulocitos-eritrocitos-macrófagos-megacariocitos (GEMM-CFU) y las CFU de linfocitos (Linfo-CFU), tal y como se muestra esquemáticamente en la figura 4.

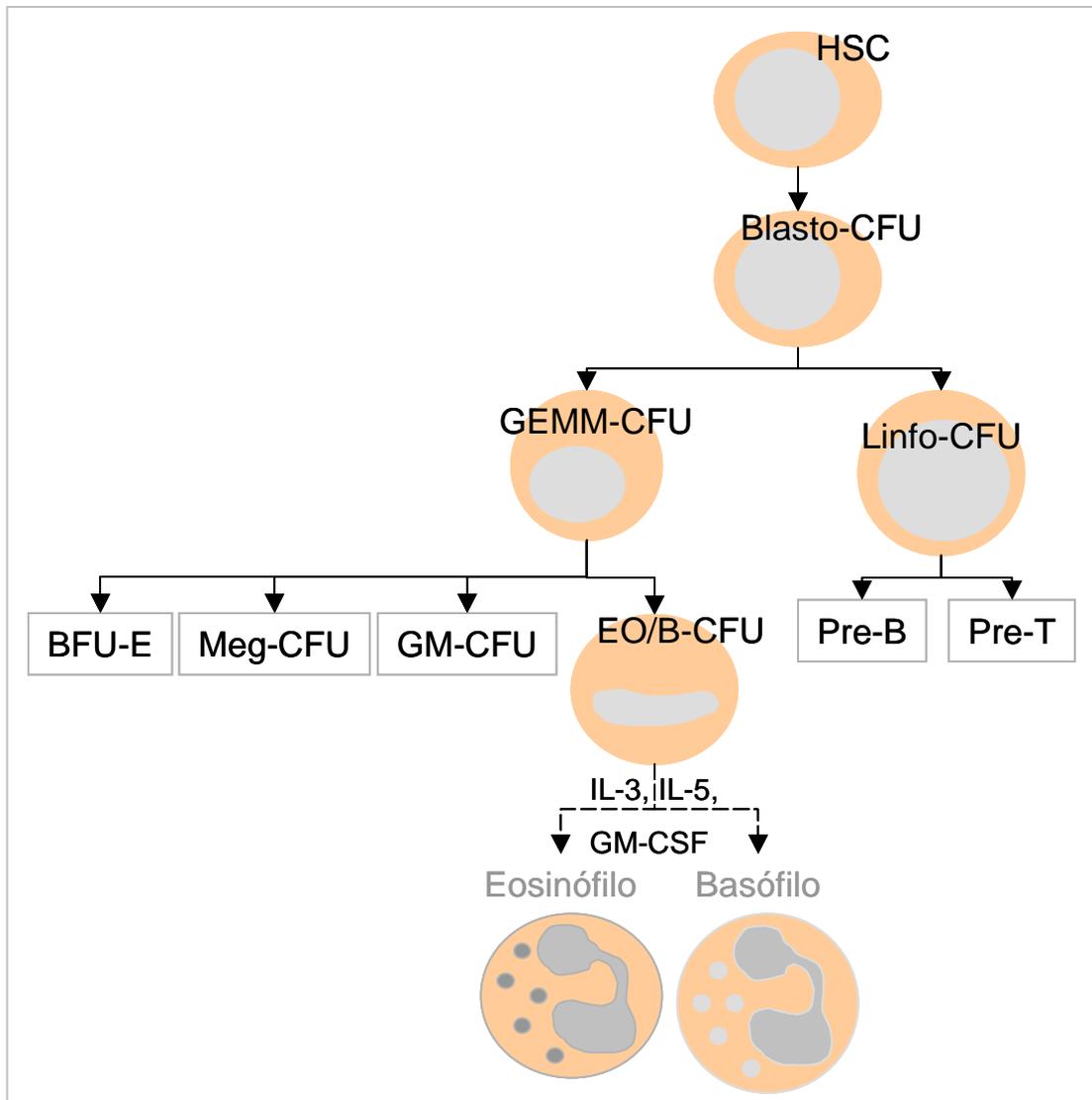


Figura 4: Hematopoyesis del eosinófilo.

HSC: Células madre hematopoyéticas; GEMM-CFU: Unidades formadoras de colonias de granulocitos-eritrocitos-macrófagos-megacariocitos; Linfo-CFU: Unidades formadoras de colonias de linfocitos; BFU-E: precursor de eritrocito; Meg-CFU: precursor de megacariocito; GM-CFU: precursor de neutrófilo y macrófago; EO/B-CFU: precursor de eosinófilo y basófilo; Pre-B: precursor de linfocito B; Pre-T: precursor de linfocito T; IL-3: interleucina 3; IL-5: interleucina 5; GM-CSF: factor estimulante de colonias granulocito-macrófago.

Fuente: Sehmi R y Denburg JA, 2000.

El eosinófilo es un leucocito polimorfonucleado (PMN), considerado clásicamente como una célula citotóxica, cuya característica morfológica más evidente es la presencia en el citoplasma de numerosos gránulos que se tiñen con colorantes ácidos. En su estado inmaduro es estructuralmente similar al basófilo, neutrófilo, mastocito y macrófago, presentando un núcleo alargado lateral, con un gran nucleolo y la cromatina dispersa. En el citoplasma se evidencian numerosas cisternas de retículo endoplásmico rugoso y grandes mitocondrias. En el proceso de maduración sufre un gran número de cambios que le confieren su estructura final con la inconfundible presencia de un núcleo multilobulado (que muchas veces parece bilobulado) y tres subpoblaciones de gránulos: gránulos primarios unicompartimentados que contienen una proteína cristalina, la llamada proteína de Charcot-Leyden (CLC-P), y un enzima, la mieloperoxidasa (EPO); gránulos secundarios bicompartimentados, también llamados gránulos específicos, que contienen un núcleo de cristales que constituye la proteína mayor básica (MBP) rodeado de una matriz compuesta por otras proteínas, como la EPO, la proteína catiónica del eosinófilo (ECP), la neurotoxina del eosinófilo (EDN) y el enzima histaminasa, todas ellas citotóxicas; y una tercera subpoblación de gránulos pequeños unicompartimentados que aumentan en número en los eosinófilos activados, similares a los lisosomas de otras células y que podrían ser el resultado del vaciamiento de las proteínas de los gránulos específicos, ya que no muestran CLC-P ni MBP y pueden mostrar, o no, tinción específica para EPO (Revisado por Dvorak AM y Weller PF, 2000).

Además se observan, en este estado maduro, partículas de glucógeno, cuerpos lipídicos compuesto principalmente por fosfolípidos y microtúbulos alargados citoplasmáticos (Dvorak AM, 1994). Los cuerpos lipídicos han sido implicados en la biología de las moléculas eicosanoides mediadoras de inflamación y de las citocinas, demostrándose la presencia de determinadas oxigenasas, el enzima LTC₄ sintasa y la citocina TNF- α en el interior de estos cuerpos (Weller PF et al, 1999).

Al microscopio, el eosinófilo activado se muestra con un característico núcleo polimorfonucleado y gran número de cuerpos lipídicos, vesículas, microtúbulos y glucógeno en el citoplasma y los gránulos específicos están parcial o completamente vacíos. El eosinófilo activado se puede localizar en los tejidos en diferentes procesos patológicos, como el tracto respiratorio, digestivo y genitourinario. En determinadas patologías infecciosas, respiratorias, gastrointestinales y alérgicas, entre otras, también se observa un aumento importante de eosinófilos activados en sangre periférica (Tabla 10).

La liberación del contenido de los gránulos citoplasmáticos del eosinófilo se produce principalmente mediante el proceso de “degranulación fragmentada” que supone la liberación de la matriz proteica de los gránulos a la matriz extracelular, manteniéndose en el interior de la célula la estructura de los gránulos parcial o totalmente vacíos. No obstante, el mayor daño celular que puede causar el eosinófilo a los tejidos no se debe fundamentalmente al proceso de secreción, sino al proceso de necrosis (Desreumaux P et al, 1993), y en menor medida, al proceso de apoptosis (Stern M et al, 1992) del propio eosinófilo. Ambos procesos dispersan los gránulos por la matriz extracelular liberándose el contenido al exterior de la célula y provocando el daño tisular.

4.2. Mediadores del eosinófilo

Las funciones del eosinófilo no sólo implican al contenido de los gránulos. Esta célula sintetiza también mediadores lipídicos, como los leucotrienos (específicamente LTC₄) y el factor de activación de las plaquetas (PAF), y neuropéptidos, como la Sustancia P y el factor de crecimiento nervioso (NGF), que son generados tras la activación celular y cumplen su papel como mediadores proinflamatorios. Además, el eosinófilo sintetiza un enzima implicado en la ruta de catabolización del triptófano, llamado indoleamina 2,3-dioxigenasa (IDO) que reduce la proliferación de las células inmunes (Revisado por Rothenberg ME y Hogan SP, 2006). Este enzima es inducido por la citocina IFN- γ y juega un papel importante en la inflamación debido a sus propiedades inmunosupresoras ya que puede inhibir la respuesta inmune adaptativa de las células Th (Sarkhosh K et al, 2003).

El eosinófilo sintetiza más de 23 citocinas, que participan en la cascada de la respuesta inflamatoria (Elsner J y Kapp A, 2000) y que en procesos patológicos se pueden detectar en sangre periférica, entre las que destacan TNF- α y GM-CSF, así como IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, TGF- β , IFN- γ (Revisado por Rothenberg ME y Hogan SP, 2006). La mayoría de estas citocinas se ha comprobado que están almacenadas en los gránulos específicos del eosinófilo, lo cual permite a esta célula liberarlas muy rápidamente en los tejidos tras el reclutamiento y la activación celular (Lacy P y Moqbel R, 2000). Las citocinas encontradas en la matriz cristalóide son IL-5, IL-6, TGF α , TNF- α , RANTES y eotaxina (Nakajima T et al, 1998) y las detectadas en el núcleo del gránulo son IL-2, IL-4 y GM-CSF. Otros estudios muestran que además RANTES se localiza en las vesículas de almacenamiento fuera

de los gránulos específicos del eosinófilo (Lacy P et al, 1999), así como $TGF\alpha$ (Egsten A et al, 1996), por lo que se especula que puede permitir aún una respuesta más rápida por parte de la célula.

El otro proceso, además de la degranulación fragmentada, mediante el cual el eosinófilo segrega todas estas moléculas es la exocitosis regulada, que junto con el proceso de degranulación, produce una liberación selectiva de moléculas en función de la/s citocina/s que hayan activado el eosinófilo. Esta exocitosis regulada se produce mediante la formación de un complejo en el que una molécula estimuladora del eosinófilo se asocia a un receptor llamado SNARE (*soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor*) localizado en la membrana plasmática del eosinófilo y a su vez, en las vesículas, de manera que la activación del receptor de membrana activa una rápida movilización de las vesículas hacia la membrana y la liberación de los mediadores. Este es, por ejemplo, el proceso mediante el cual el eosinófilo, activado por la citocina IFN- γ , libera RANTES a la periferia celular sin liberar las proteínas catiónicas (Revisado por Logan MR et al, 2003).

Además de todo lo expuesto anteriormente, el eosinófilo expresa proteínas de la matriz extracelular y del suero como albúmina, fibrina, fibrinógeno, fibronectina y laminina, las cuales, en estudios *in vivo*, parecen ser necesarias para inducir la adherencia del eosinófilo a la matriz extracelular o a las células tisulares, como paso previo a su activación y a la liberación de mediadores (Wardlaw AJ, 2000).

La membrana plasmática del eosinófilo expresa un amplio número de marcadores, alrededor de 75 había descritos a principios de la década actual (Tachimoto H y Bochner BS, 2000) entre los que cabe destacar receptores de citocinas (IL-9R, IL-13R α 1, TGF- β R), receptores de quimiocinas (CCR3 y CXCR3), receptores de factores quimiotácticos (PAFR, fMLPR, LTB $_4$ R, Histamina 4R), receptores de factores de complemento (C3aR), moléculas de adhesión celular (α -integrina y β -integrinas), receptores de inmunoglobulinas (como HLA-DR y Fc ϵ R), enzimas (como la aminopeptidasa N que actúa sobre la fMLP) y otros marcadores que están implicados en la apoptosis y en la señalización intracelular (Rothenberg ME y Hogan SP, 2006). Sin embargo no se ha encontrado ningún marcador exclusivo del eosinófilo hasta la fecha, aunque sí existe un patrón específico de expresión de marcadores, más similar al monocito o al basófilo, que al neutrófilo. El papel de muchos de estos marcadores no se conoce todavía.

4.3. Activación del eosinófilo

El eosinófilo, atraído hacia el foco de inflamación por diversos mediadores proinflamatorios liberados mayoritariamente por fibroblastos, por el tejido lesionado o por algunas de las células inmunitarias activadas en primera instancia, tiene determinados efectos proinflamatorios y citotóxicos sobre el tejido donde se encuentra infiltrado, ya que, tras su activación, libera especies reactivas del oxígeno y proteínas tóxicas de sus gránulos específicos, además de diferentes quimiocinas y citocinas. Todas estas moléculas provocan lesiones en dicho tejido y la propagación de la respuesta inflamatoria (Elsner J y Kapp A, 1999).

Una vez el eosinófilo ha llegado al foco de inflamación, su activación es regulada principalmente por mediadores liberados por mastocitos y células Th2 CD4+: IL-3, IL-5, GM-CSF e IL-13 (Mould AW et al, 2000) así como por las Células Presentadoras de Antígeno (APC) en los casos de procesos inflamatorios causados por infección (Gleich GJ et al, 1993). También pueden activar al eosinófilo mediadores derivados de monocitos, macrófagos y células dendríticas, así como ellos mismos, que en un proceso autocrino liberan citocinas como eotaxina, RANTES e IL-8, lo que contribuye a su acumulación. Las quimiocinas CC, tales como RANTES, la *familia* MCP y la *familia* eotaxina, no sólo son potentes quimiotrayentes de los eosinófilos sino también potentes activadores de éstos (Revisado por Elsner J y Kapp A, 2000).

Los eosinófilos activados presentan cambios en los gránulos específicos, así como un aumento de los cuerpos lipídicos y una activación del proceso de degranulación. Se observa además, una mayor expresión de los receptores para las citocinas y las inmunoglobulinas. Las citocinas IL-3, IL-5, GM-CSF y eotaxina, entre otras, provocan la activación de la NADPH oxidasa que aumenta las especies reactivas del oxígeno (Elsner J et al, 1996), a la vez que atraen a nuevas células implicadas en la respuesta inmunitaria y en la propia supervivencia del eosinófilo.

Esta activación supone la liberación del contenido de los gránulos del eosinófilo y la secreción del contenido de las vesículas mediante los procesos de degranulación y exocitosis dirigida por las citocinas presentes en el foco de inflamación. Ha sido descrito que, en experimentos con ratones deficientes en el gen de la IL-5 y expuestos a un alérgeno, la presencia de IL-5 inyectada induce la degranulación de los eosinófilos, lo cual puede provocar los daños tisulares en el epitelio del tracto respiratorio (Lee JJ et al, 1997).

La liberación de las proteínas citotóxicas de sus gránulos citoplasmáticos y del núcleo cristaloide tienen los siguientes efectos sobre el tejido inflamado:

- La neurotoxina derivada del eosinófilo (END) y la proteína catiónica del eosinófilo (ECP) son ribonucleasas con una marcada función antiviral, y la ECP además provoca cambios en el potencial de membrana y permite la apertura de poros en la membrana de las células diana que abren el camino para el resto de citotóxicos (Young JD et al, 1986). A nivel del sistema inmunitario la ECP inhibe la proliferación de linfocitos T y la síntesis de inmunoglobulinas por los linfocitos B, a la vez que induce la degranulación de los mastocitos (Venge P et al, 1999).
- La proteína mayor básica (MBP) induce la degranulación de los mastocitos y de los basófilos (Zheultin LM et al, 1984) e inhibe la función de los receptores M2 y M3 vagales, con lo que provoca la alteración en el proceso de contracción del músculo liso (Jacoby DB et al, 2001)
- El enzima peroxidasa del eosinófilo (EPO) cataliza la oxidación de los hialuros y del óxido nítrico formando especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno que provocan el estrés oxidativo y la muerte celular por apoptosis o necrosis (Wu W et al, 1999).

Las citocinas y quimiocinas liberadas por parte del eosinófilo como moléculas mediadoras de inflamación, ejercen su acción de atracción y activación de otras células leucocitarias, principalmente las células T, monocitos, neutrófilos y basófilos, hacia el lugar de inflamación regulando el complejo proceso inflamatorio (Rothenberg ME, 1999).

4.4. Relación con procesos patológicos

En muchas enfermedades con una alta incidencia en la población mundial en la actualidad, tales como el cáncer, las infecciones parasitarias y las enfermedades alérgicas, existe una importante acumulación de eosinófilos en sangre periférica y en los tejidos afectados. Esta acumulación de eosinófilos tiene efectos deletéreos por el efecto proinflamatorio de dichas células y de los mediadores solubles que libera (Elsner J y Kapp A, 1999) pero también puede resultar beneficiosa en algunos casos como las infecciones parasitarias donde el eosinófilo actúa como mecanismo de defensa frente al parásito (Wardlaw AJ, 2000).

En condiciones normales, los eosinófilos se localizan en sangre periférica y en determinados tejidos del tracto digestivo, del tracto respiratorio y del tracto urinario. El porcentaje normal de eosinófilos en sangre periférica oscila entre el 1 y 3% de los leucocitos, considerándose su rango normal entre 150-275 células por microlitro (cél/ μ l). La presencia anormalmente baja de eosinófilos en sangre, ó eosinopenia, supone un número de eosinófilos inferior al 0,5% de los leucocitos totales. Suele estar causada por aumento en la producción de corticoides debida a medicamentos, infecciones bacterianas agudas y alcoholemia, entre otros factores. La presencia anormalmente alta de eosinófilos en sangre ó eosinofilia supone un número de eosinófilos superior al límite de normalidad (entre 50-500 células/ μ l), y se clasifica en media (entre 500-1500 células/ μ l), moderada (entre 1500-5000 células/ μ l) y grave (más de 5000 células/ μ l). Como se ha comentado anteriormente, la causa más extendida de eosinofilia en el mundo son las infecciones por helmintos, pero en los países industrializados la causa más común es la enfermedad atópica y por ello muchos de los aspectos detallados a continuación se han estudiado principalmente en las enfermedades alérgicas. En la siguiente tabla (tabla 10) se detallan algunas enfermedades que cursan con eosinofilia, la presencia o ausencia de eosinofilia en sangre periférica y en los tejidos y las causas principales que pueden provocar el aumento de eosinófilos.

Tabla 10: presencia (+) o ausencia (-) de eosinofilia en sangre periférica y en los tejidos y sus causas principales en diferentes procesos patológicos.

Patología	Sangre	Tejido	Causas
Infeciosa	+	+/-	Helmintos, protozoos, virus
Respiratoria	+/-	+	Asma, neumonía eosinofílica
Gastrointestinal	+/-	+	Enfermedad inflamatoria, colitis alérgica, gastroenteritis eosinofílica, pancreatitis eosinofílica, enfermedad de Crohn
Alérgica	+/-	+	Rinoconjuntivitis, asma, eccema
Sistémica	+	+	Vasculitis
Iatrogénica	+	+/-	Reacción a drogas
Cancerosa	+/-	+/-	Linfoma, carcinoma
Pancreatitis	¿?	¿?	Inflamación aguda o crónica del páncreas

Fuente: Revisado por Rothenberg ME y Hogan SP, 2006.

4.4.1. Eosinopoyesis y eosinofilia tisular

La eosinopoyesis y eosinofilia tisular ocurre como resultado de un proceso que se puede resumir en cuatro fases: diferenciación y proliferación del eosinófilo, interacción con el endotelio, atracción del eosinófilo a la localización específica y destrucción en el tejido (Rothenberg ME, 1998).

Un resumen muy breve del proceso puede definirse en los siguientes términos: el eosinófilo se forma en la médula ósea inducido por la presencia de citocinas hematopoyéticas, entra en el flujo sanguíneo donde permanece entre 6-12 horas, y rápidamente migra a los tejidos, atravesando el epitelio y dirigido por mediadores quimiotácticos, donde libera sustancias tóxicas que atacan al cuerpo extraño y a las propias células humanas lesionadas o anormales. A la vez, las propias sustancias que libera el eosinófilo pueden activar a las células T y a los mastocitos, generando así un complejo proceso que permite la regulación del proceso inflamatorio. La figura 5 muestra resumido este proceso, e incluye también los efectos del eosinófilo en el tejido cuando se produce la degranulación de éste.

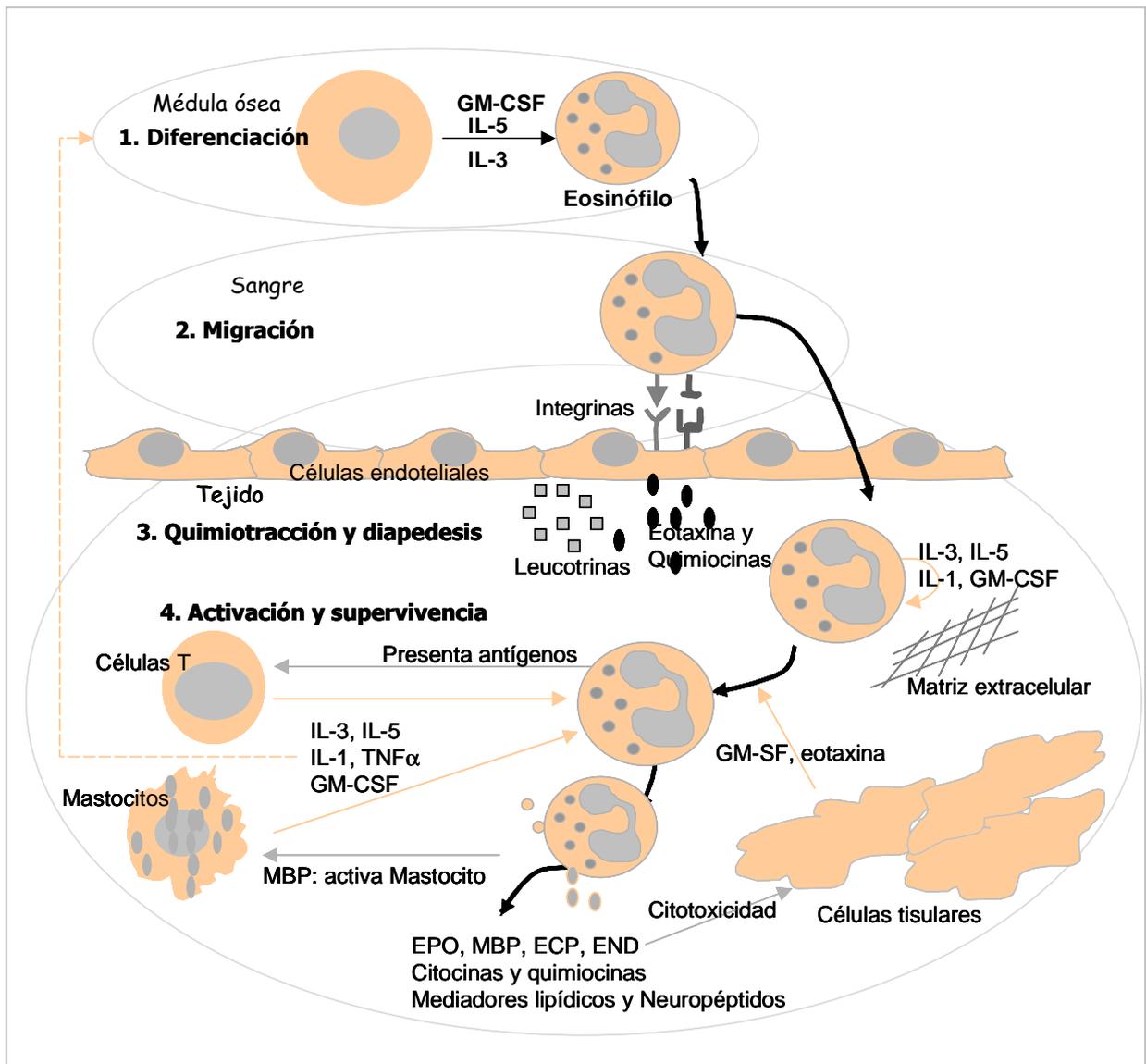


Figura 5: Fases de diferenciación, migración, quimioatracción, activación y supervivencia del eosinófilo y degranulación en los procesos inflamatorios.

Fuente: Rothenberg ME, 1998; Rothenberg ME y Hogan SP, 2006.

4.4.1.1. Diferenciación y proliferación del eosinófilo

El eosinófilo se genera a partir de las células pluripotenciales de la médula ósea y su crecimiento y diferenciación está regulado principalmente por 3 citocinas que actúan sobre las propias células progenitoras: interleucina-3 (IL-3), interleucina-5 (IL-5) y factor estimulador de colonia de granulocitos y monocitos (GM-CSF). Todas ellas se codifican en genes muy cercanos del mismo cromosoma 5q31 y todas ellas actúan a través de su unión a receptores específicos en la membrana de las células diana (Rothenberg ME, 1998). La interleucina-5 es el principal factor responsable de la diferenciación de los eosinófilos, por lo que también es conocida como factor de diferenciación del eosinófilo, y su importancia ha sido demostrada en experimentos sobre ratones manipulados genéticamente, en los cuales se ha evidenciado que una producción elevada de IL-5 provoca una eosinofilia moderada y la eliminación del gen de la IL-5 en el ratón provoca una reducción, respecto a un ratón no manipulado, en la concentración de eosinófilos en sangre tras la exposición a un alérgeno (Sanderson CJ, 1992). Igualmente ha sido demostrado que la eosinofilia que no va acompañada de un aumento en el resto de subgrupos celulares sanguíneos, habitualmente está acompañada, efectivamente, por un incremento notable de la producción de IL-5 (Sanderson CJ, 1992). Aun así, estudios posteriores (Collins PD et al, 1995), evidencian que la IL-5, en concentraciones bajas y por ella sola, no es capaz de atraer al eosinófilo hacia los tejidos lesionados.

En el mecanismo por el cual se incrementa la producción de las citocinas están implicados los linfocitos T-helper y en concreto los Th2 y también los mastocitos (Sampson AP, 2000). Las citocinas Th2 son principalmente IL-4, IL-5 e IL-13 y las quimiocinas son RANTES y la *familia* eotaxina, aunque de todas ellas sólo la IL-5 y la *familia* eotaxina parecen ser reguladores selectivos del tráfico de eosinófilos. IL-4 e IL-13 son potentes inductores de la *familia* eotaxina, lo cual explica la asociación de la eosinofilia con la respuesta inmune humoral mediada por Th2 (Zimmermann N et al, 2003).

4.4.1.2. Interacción con el endotelio

La migración de los leucocitos desde el torrente sanguíneo hasta los tejidos implica la interacción de éstos con las células endoteliales y con las proteínas de la matriz extracelular. Todos los leucocitos migran hasta los tejidos de la misma forma: adhiriéndose a las células endoteliales y atravesando el endotelio mediante el conocido proceso de diapedesis. Pero esta migración está mediada selectivamente

por diferentes moléculas en cada tipo celular. Las moléculas de adhesión son proteínas de membrana que se expresan en la superficie de los leucocitos y de las células endoteliales y permiten la interacción de las células entre sí y con proteínas de la matriz extracelular mediante la unión a ligandos específicos. Estas moléculas regulan la adhesión, extravasación y migración a lo largo de la matriz extracelular de los leucocitos. Las moléculas de adhesión que expresan los eosinófilos pertenecen a la familia de las selectinas y de las integrinas. La familia selectina y sus ligandos permiten la interacción inicial entre los eosinófilos circulantes y el endotelio, mientras que las integrinas participan en la adhesión y en la migración transendotelial. La familia de las integrinas consta de moléculas heterodiméricas con cadenas α y β , existiendo varias subfamilias que comparten, dentro del grupo, una misma cadena β pero cada una con una cadena α única. El eosinófilo expresa en su membrana las subfamilias de integrinas β_1 , β_2 y β_7 . Las integrinas β_2 interactúan principalmente con la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y son las que median la adhesión de todos los tipos leucocitarios a las células endoteliales. La molécula ICAM-1 se induce por varios mediadores proinflamatorios, como la IL-1 y TNF- α . Las integrinas β_1 interactúan con la molécula de adhesión vascular-celular 1 (VCAM-1) y están asociadas a la adhesión de los monocitos y de los eosinófilos, pero no de los neutrófilos. La molécula VCAM-1 es inducida principalmente por la citocina IL-4 (Revisado por Tachimoto H y Bochner BS, 2000). El eosinófilo, en condiciones normales, expresa estas integrinas, pero las moléculas quimiotácticas aumentan su afinidad por los receptores endoteliales a los que se asocian (Weber C et al, 1996) para favorecer la migración del eosinófilo a través del epitelio.

4.4.1.3 Quimiotaxis del eosinófilo

La migración de los eosinófilos a través de los espacios intercelulares del endotelio hacia los tejidos se inicia mediante la presencia de moléculas locales quimiotácticas que guían a estos leucocitos hacia la lámina propia del tejido y la zona inflamada.

Cuando una sustancia extraña es detectada por los linfocitos y los neutrófilos, éstos liberan un conjunto de sustancias mediadoras que atraen al eosinófilo. El papel patológico de los eosinófilos ocurre primero en los tejidos, así que la mayoría de las investigaciones sobre el tema se han centrado en definir el proceso por el cual los eosinófilos son reclutados a los órganos y tejidos. Numerosos mediadores han sido identificados como quimiotácticos de estas células incluyendo mediadores lipídicos como los leucotrienos, especialmente leucotrieno C_4 (LTC₄) y el factor de activación

plaquetaria (PAF), productos bacterianos (formil metionil leucilfenilalanina: fMLP), las citocinas y las quimiocinas. También la activación del sistema de complemento puede provocar la quimioatracción del eosinófilo, ya que éste expresa receptores para los fragmentos del complemento C5a y C3a. Pero todas estas moléculas no son selectivas del eosinófilo por lo que no se puede considerar que sean los mediadores principales del reclutamiento de estos leucocitos a los tejidos. En las últimas décadas han sido identificadas un grupo de moléculas que atraen selectivamente al eosinófilo, eotaxina-1 (Jose PF et al, 1994; Rothenberg ME, 1999), eotaxina-2 (Forssmann U et al, 1997) y eotaxina-3 (Shinkai A et al, 1999) que constituyen la denominada *familia* eotaxina. El efecto de atracción química de la eotaxina sobre el eosinófilo se ve incrementado por la citocina IL-5 (Collins PD et al, 1995), aunque parece que la IL-5, por si sola, no es capaz de producir el efecto de quimioatracción. En la tabla 11 se resumen los factores mediadores de atracción del eosinófilo al tejido y las fuentes primarias que sintetizan dichos mediadores.

Tabla 11: mediadores de la atracción del eosinófilo al tejido y fuentes que los producen. Se identifican con un símbolo * los factores más específicos del eosinófilo

Tipo	Mediador	Fuentes
Eicosanoides	LTB ₄ , LTD ₄ [*] , LTE ₄ [*] , PAF	Neutrófilos y monocitos
Quimiocina CC	MIP1 α , RANTES [*] , <i>Familia</i> eotaxina [*]	Neutrófilos y monocitos Eosinófilos
Citocinas	GM-CSF, IL5 [*]	Neutrófilos y monocitos
Péptidos bacterianos	fMLP	Bacterias
Otros	C5a, C3a [*]	Sistema de complemento

4.4.1.4. Supervivencia del eosinófilo y destrucción del tejido

Los eosinófilos pueden sobrevivir en los tejidos durante un periodo de tiempo relativamente largo de dos semanas, a diferencia del neutrófilo que sobrevive sólo unos días. El ciclo de vida del eosinófilo no está bien descrito hasta la fecha, pero se ha demostrado *in vitro* que IL-5, IL-3 y GM-CSF inhiben la apoptosis de este leucocito durante 14 días en los tejidos (Rothenberg ME et al, 1987) y que sin la presencia de estas citocinas el periodo de vida se reduce hasta 48 horas (Simon HU et al, 1997).

4.4.2. Regulación de la actividad del eosinófilo

En modelos de atopia, en los que está mejor estudiado el papel del eosinófilo, se ha descrito que dos mecanismos no excluyentes, en los que están implicados tanto las células Th2 como los mastocitos, pueden conducir a la acumulación de los eosinófilos en los tejidos (Rothenberg ME, 1998).

Por una parte, los mastocitos generan citocinas proinflamatorias como IL-1 y TNF- α y citocinas quimiotácticas del eosinófilo como IL-5 y eotaxina. Además inducen a las células epiteliales a producir el factor de estimulación del macrófago (GM-CSF) y quimiocinas, que atraen al eosinófilo al tejido. A su vez, los eosinófilos pueden sintetizar el factor de células madre (SCF) que es regulador de la función del mastocito (Shakoory B et al, 2004).

Por otra parte, los linfocitos Th2, como uno de los efectores principales de la respuesta inmunitaria celular, son necesarios para la acumulación de los eosinófilos. Cuando se activan las células Th2 liberan citocinas que desencadenan la respuesta alérgica: IL-5, IL-4 e IL-13. Interleucina 4 e interleucina 13 regulan la producción de IgE y la molécula de adhesión vascular-celular 1 (VCAM-1) que favorece la adhesión de monocitos y eosinófilos a las células epiteliales. Interleucina-5 induce la diferenciación de los eosinófilos (Rothenberg ME, 1998).

En los modelos experimentales establecidos para el estudio de las enfermedades atópicas son las condiciones de exposición al alérgeno las que determinan la contribución de los mastocitos y de las células T, sin olvidar que las Células Presentadoras de Antígeno (APC) no sólo activan a las células Th2 sino también a las células epiteliales del tejido afectado induciéndolas a producir citocinas que favorecen la eosinofilia. Los eosinófilos, a través de la existencia de receptores específicos para

el fragmento de la IgE (FcεR) pueden ser directamente activados por los anticuerpos específicos de clase IgE.

Estos hechos han conducido a que durante los últimos años se hayan propuesto diversos tratamientos dirigidos a inactivar a las citocinas efectoras, tales como anti-leucotrienos y los antagonistas de IL-5, IL-3 y GM-CSF. Recientemente se ha postulado la posibilidad de tratar a los pacientes con patologías acompañadas de eosinofilia con antagonistas de las quimiocinas y especialmente de la *familia* eotaxina y RANTES y con antagonistas de la molécula de adhesión VCAM-1, aunque hasta la actualidad no hemos encontrado literatura clara de resultados obtenidos con estas terapias dada la complejidad que conlleva el proceso inflamatorio (Rothenberg ME y Hogan SP, 2006; Proudfoot AE et al, 2000), excepto para el tratamiento con anti-IgE que ya ha pasado la fase de ensayo clínico y se utilizan en clínica para el tratamiento del asma.

4.5. Eosinófilo en la pancreatitis aguda como modelo de inflamación

Ya en 1975 fue descrito que la respuesta inicial a una inflamación aguda incluye un descenso rápido en el número de eosinófilos circulantes y su acumulación en el tejido inflamado y que si se prolonga el proceso inflamatorio, se inhibe el crecimiento y diferenciación de los eosinófilos en la médula ósea (Bass DA, 1975). Este descenso se observa en modelos experimentales de infección en ratones, se presenta en las 6 primeras horas del proceso inflamatorio y se mantiene durante unos días. Entonces, se postuló que la eosinopenia observada podría ser debida al bloqueo de la salida de los eosinófilos de la médula ósea, ya que se observaba una tasa de producción normal, o a una rápida migración del eosinófilo a las zonas periféricas de los tejidos afectados. Este estudio venía a reafirmar la hipótesis propuesta en 1914 por E. Schwartz en la que decía textualmente que *“el eosinófilo tienen una función homeostática a través de la inactivación de los productos de la inflamación o de la reducción de la sensibilidad a otros estímulos inflamatorios, por lo que limita el proceso inflamatorio”*.

Casi todos los estudios posteriores sobre los eosinófilos se han realizado en modelos de atopia o de asma alérgica, en los que se detecta rápidamente en sangre y en los tejidos una acumulación importante de eosinófilos, y en los que se ha demostrado que estos leucocitos llevan a cabo mecanismos efectoras principales en las vías

respiratorias inflamadas (Rothenberg ME, 1998; Sampson AP, 2000). También existen estudios en modelos experimentales de infección por parásitos (Hernández-Pomi, 1995) patología en las que también el número de eosinófilos se encuentra elevado en sangre y en los tejidos. Estos estudios se han centrado específicamente en los mediadores de inflamación que aceleran la migración de los eosinófilos a los tejidos y en el efecto que produce su activación en dichos tejidos, así como en las posibles estrategias para nuevas terapias con medicamentos que inactiven los mediadores inflamatorios.

Hasta la fecha, no hemos podido encontrar estudios que investiguen el papel de los eosinófilos en la pancreatitis aguda. Existen estudios sobre la presencia de eosinófilos en las patologías eosinofílicas gastrointestinales y se ha demostrado el aumento de eosinófilos tanto en sangre como en tejido en procesos de alergia gastrointestinal eosinofílica, en las enfermedades inflamatorias intestinales (IBD) y en el reflujo gastroesofágico donde se detecta eosinofilia en el esófago pero en escasas ocasiones es detectable en sangre periférica (Revisado por Rothenberg ME, 2004). También en modelos de enfermedades hepáticas inducidas por fármacos se ha comprobado que, a diferencia de lo que se observa en los controles, existen eosinófilos infiltrados en el tejido hepático, cuyo número no se correlaciona con el número de eosinófilos en sangre. El número de eosinófilos en el tejido depende del tipo de fármaco, de la misma forma que la activación del eosinófilo depende de la concentración del fármaco. En estos pacientes no se observa que los eosinófilos infiltrados en el tejido hepático induzcan la expresión de IL-5, IL-3 y GM-CSF ni que liberen MBP, lo cual hace pensar en que existe un comportamiento diferente que en el resto de enfermedades que cursan con eosinofilia (Pham BN et al, 2001). Todos estos hechos apoyan la hipótesis de que los eosinófilos infiltrados en el hígado de estos pacientes pueden tener una expresión de citocinas diferente que otros eosinófilos, en relación posiblemente con la existencia de diferentes subpoblaciones de eosinófilos (Lamkhieoued B et al, 1996).

Muy recientemente se ha realizado un estudio en el que se observa el comportamiento de los linfocitos durante la pancreatitis aguda, pero no del resto de células leucocitarias (Pietruczuk M et al, 2006). En el ensayo realizado en un grupo de pacientes con pancreatitis aguda (PA) grave o leve, se observa un descenso significativo del número de linfocitos en sangre durante la primera semana desde el ingreso del paciente en el hospital, que se va recuperando durante la segunda semana y vuelve a disminuir en el día 30. Esta disminución es más acusada en el caso de PA grave. Durante la primera semana, tanto el nivel de los linfocitos T como

de los linfocitos B está igualmente reducido pero a partir de la segunda semana, está más disminuido el nivel de linfocitos B circulantes. La activación mayoritaria de los linfocitos B se detecta a los 30 días del inicio del episodio. Esto supone que durante la segunda semana existe un predominio de la respuesta mediada por linfocitos T sobre los linfocitos B. En el suero de dichos pacientes la concentración de IFN- γ , producida por las células Th1, es mucho menor que la concentración de IL-4 e IL-5, producidas por las células Th2, de lo que se deduce que la respuesta está principalmente mediada por las células Th2 y es, sobre todo, humoral. La depleción de los linfocitos circulantes periféricos en la PA grave puede ser resultado de la excesiva apoptosis y de la migración al sitio de inflamación (Pietruczuk M et al, 2006).

5. INTERLEUCINA- 5 Y EOTAXINA

Dado que en las funciones del eosinófilo intervienen de forma importante la interleucina 5 y la eotaxina, pasaremos a su análisis y estudio.

5.1. Interleucina-5: factor de diferenciación del eosinófilo

La citocina interleucina 5 (IL-5) fue identificada en el año 1985 como una citocina capaz de estimular la proliferación y diferenciación de los eosinófilos *in vitro*, por lo que también fue conocida como factor de diferenciación del eosinófilo (Sanderson CJ et al, 1985; Clutterbuck EJ et al, 1989). Desde entonces, se le han atribuido diferentes funciones, todas ellas relacionadas generalmente con la capacidad de quimiotracción y activación del eosinófilo así como con la supervivencia, *in vitro*, de estas células inmunitarias, siempre durante los procesos de reacciones inflamatorias y especialmente en las inducidas por parásitos helmintos (Coffman RL et al, 1989); pero hasta 1991 no fueron descritas sus principales características biológicas y moleculares: fue clonada en el cromosoma 5q31, donde también se localizan los genes de otras citocinas como IL-3 y GM-CSF; su estructura molecular se corresponde con el resto de citocinas y su receptor de membrana es una proteína con 7 segmentos transmembrana unida a la proteína G (Karlen S et al, 1998).

Esta citocina es producida principalmente por las células Th2 activadas y los mastocitos, siendo su principal célula diana las células B sobre las que favorece su crecimiento y diferenciación y estimula la producción de IgA. Sin embargo, con una adecuada estimulación en cultivos *in vitro*, se ha descrito que las células NK pueden producir IL-5 (Warren HS et al, 1995) así como también las células del estroma de la médula ósea (Hogan MB et al, 2000).

5.1.1. Funciones

La IL-5 es la citocina más específica de la proliferación de la línea de los eosinófilos en la médula ósea y es el principal factor responsable de la diferenciación selectiva de los eosinófilos. Como se ha comentado anteriormente su importancia ha sido demostrada en experimentos sobre ratones manipulados genéticamente, evidenciándose que una producción elevada de IL-5 provoca una eosinofilia moderada mientras que la eliminación del gen de la citocina provoca una reducción en la concentración de eosinófilos en sangre ante un contacto con un alérgeno. Además, en los casos en que

la eosinofilia no va acompañada de un aumento del resto de células sanguíneas, se observa un incremento notable de la producción de IL-5 (Sanderson CJ, 1992).

La citocina IL-5 incrementa el efecto de atracción química de la eotaxina sobre el eosinófilo, aunque parece que la IL-5 por si sola no es capaz de producir el efecto de quimioatracción (Collins PD et al, 1995). Esta afirmación está contradiciendo otros estudios *in vitro*, en los que se planteaba la capacidad quimiotáctica sobre los eosinófilos, pero no sobre monocitos y neutrófilos, de la IL-5 en grandes dosis de la citocina (Wang JM et al, 1989). En los ensayos *in vivo* realizados por el grupo de Collins et al. para estudiar la acumulación de eosinófilos en la piel de cobayas, se inyectó IL-5 intravenosa a un grupo de animales y posteriormente se diferenciaron tres grupos: a un grupo se inyectó eotaxina intradérmica, a otro grupo se inyectó LTB₄ intradérmica y a un tercer grupo, IL-5 intradérmica. Tanto en el “grupo eotaxina” como en el “grupo LTB₄” intradérmica, se observó un incremento significativo con respecto al grupo control (a los que se administró inyección intravenosa de PBS) de los eosinófilos locales, siendo la capacidad de atracción de la quimiocina eotaxina 30 veces más potente que la LTB₄. En el caso de la inyección intradérmica de IL-5 no se observó incremento significativo del número de eosinófilos locales. En este mismo estudio se comprobó la correlación existente entre el incremento del número de eosinófilos “en local” con el número de eosinófilos circulantes en sangre. Con todo ello los autores concluyen que existe una cooperación importante entre la IL-5 y la eotaxina para inducir la acumulación *in vivo* del eosinófilo en los tejidos.

Se han realizado también estudios *in vitro* para analizar la relación funcional entre la IL-5 y los eosinófilos. Se ha obtenido una inhibición de la eosinofilia al administrar un anticuerpo monoclonal anti-IL-5 sin que ello afecte la producción de anticuerpos, lo cual parece lógico dado que los eosinófilos presentan en su membrana receptores para IL-5. Estos resultados demuestran indirectamente la participación de las células Th2 en la diferenciación de eosinófilos a través de una acción específica de la IL-5. Esta citocina estimula la liberación del eosinófilo desde la médula ósea hacia el torrente circulatorio (Collins PD et al, 1995). Las últimas investigaciones al respecto en estudios con ratones manipulados genéticamente que sobreexpresan conjuntamente IL-5 y eotaxina-2, demuestran que dichos ratones desarrollan un modelo de inflamación de las vías respiratorias relacionado con la degranulación del eosinófilo (Ochkur SI et al, 2007).

IL-5 colabora con la quimiocina eotaxina en la trans migración de los eosinófilos hacia los tejidos a través del endotelio vascular, dado que incrementa en estas células la expresión del receptor de la urokinasa activadora del plasminógeno (uPAR) que provoca la degradación de la matriz extracelular anexa a la membrana basal del endotelio y que además activa las metalproteinasas que digieren dicha matriz (Ferland C et al, 2001).

La citocina IL-5 colabora en el mantenimiento de la actividad del eosinófilo maduro ya que, *in vitro*, inhibe la apoptosis durante al menos 12-14 días (Simon HU et al, 1997) y, sin embargo, sobreviven menos de 48 horas en ausencia de esta citocina, así como en ausencia de IL-3 y G-CSF (Rothenberg ME et al, 1987). Los eosinófilos del tejido pueden regular su propia supervivencia de forma autocrina (Kita H, 1996) dado que esta célula sintetiza IL-5 y además presenta en su superficie el receptor IL-5R. Recientemente ha sido descrito que, en pacientes asmáticos, la presencia de IL-5 inhibe la apoptosis de los eosinófilos mediante la regulación positiva del gen de la bcl-2 en los propios eosinófilos, confirmando la regulación autocrina de este proceso (Huang CD et al, 2005), e inhibe la apoptosis de las células hematopoyéticas, en cultivo *in vitro*, mediante la regulación positiva del oncogen c-myc (Juan SH et al, 2005).

5.1.2. Expresión

La expresión del RNAm se encuentra incrementada en numerosos tejidos durante las reacciones inflamatorias mediadas por eosinófilos, entre las que destacan las vías respiratorias (Hamid Q et al, 1991), la piel (Kay AB et al, 1991) y la mucosa intestinal (Dubucquoi S et al, 1994). Incluso el propio eosinófilo activado es capaz de incrementar la síntesis de RNAm de IL-5 cuando éste está activado durante la respuesta inflamatoria (Broide DH et al, 1992).

Recientemente ha sido descrito que los inhibidores de HDAC incrementan la expresión del RNAm y de la proteína IL-5 en cultivos de células *in vitro*, actuando sobre las histonas del promotor, acetilándolas y provocando un aumento de la transcripción del gen (Han S et al, 2007).

5.1.3. Producción y modulación

No existen evidencias, hasta la fecha, de una expresión constitutiva significativa de IL-5 en humanos sanos, siendo necesaria la activación celular de los linfocitos Th2

para que sea sintetizada dicha citocina y ejerza sus efectos biológicos, que se consiguen con muy bajas concentraciones.

La incubación de eosinófilos cultivados *in vitro* con las citocinas IL-3 e IL-5 conlleva la reducción de la expresión del receptor de la IL-5 (Gregory B et al, 2003) y se observa que durante el desarrollo de los eosinófilos, IL-5 regula positivamente la expresión de su propio receptor mientras que en los eosinófilos maduros regula negativamente el RNAm de dicho receptor (Wang P et al, 1998).

5.1.4. Relación con la patología

La IL-5, su producción y regulación, ha sido relacionada con un amplio número de enfermedades que cursan con eosinofilia, dado el marcado carácter inductor de la proliferación y de la quimiotaxis de esta citocina por dichas células: procesos asmáticos y procesos infecciosos por virus y bacterias, procesos que cursan con eosinofilia como esofagitis eosinofílica (Mishra A et al, 2002) y gastroenteritis eosinofílica (Maeshima A et al, 1997). Sin embargo, en ninguna de ellas se puede considerar causa única de la patología en cuestión.

En los pacientes con colitis ulcerosa está incrementado el nivel de IL-5 contribuyendo al reclutamiento de los eosinófilos, observándose que los tratamientos con anticuerpos contra la citocina reducen los efectos inflamatorios de las células inmunitarias (Lampien M et al, 2001). Se observan así mismo valores de IL-5 elevados en el intestino de pacientes con alergia a determinados alimentos y con gastroenteritis eosinofílica (Desreumaux P et al, 1996).

5.2. Eotaxina: quimiocina selectiva del eosinófilo

La quimiocina eotaxina es una proteína de la familia de quimiocinas CC identificada en 1993 por el grupo de trabajo de Griffiths-Johnson DA, en un modelo de asma alérgica en cobayas sensibilizadas con ovoalbúmina. El ensayo fue diseñado para identificar las moléculas responsables de la acumulación de eosinófilos inducida por alérgenos (Griffiths-Johnson DA et al, 1993). Del lavado broncoalveolar de las cobayas sensibilizadas fue aislada una molécula homóloga a otras quimiocinas CC, que inyectada de forma subcutánea a cobayas normales producía una acumulación importante de eosinófilos en la dermis. Se denominó eotaxina por favorecer la quimiotaxis del eosinófilo (del inglés *eosinophil chemotaxis*). La función de la eotaxina está mediada principalmente por el receptor CCR3 que se expresa selectivamente en eosinófilos y basófilos (Ponath PD et al, 1996).

Posteriormente, en 1997 fue aislada otra molécula (Forssmann U et al, 1997) que activa principalmente al eosinófilo y al basófilo, pero no al resto de leucocitos y que fue llamada eotaxina-2. Esta proteína tiene una homología de cadena de aminoácidos del 39% con eotaxina y sus funciones son similares en cuanto a la atracción y activación del eosinófilo. Este efecto sobre los eosinófilos se midió mediante el análisis de los cambios en la concentración de Ca^{2+} intracelular ($[Ca^{2+}]_i$): el pretratamiento con eotaxina de células cultivadas reduce totalmente los cambios en la $[Ca^{2+}]_i$ provocados por el tratamiento con eotaxina-2 y viceversa, lo cual fundamenta la hipótesis de que también eotaxina-2 actúa vía el receptor CCR3.

Años más tarde fue descrita la quimiocina eotaxina-3, que se expresa en las células endoteliales vasculares que han sido estimuladas por IL-4, y que muestra un potente poder de quimiotracción para el eosinófilo (Shinkai A et al, 1999). En estas mismas condiciones no se observa que la eotaxina-1 se regule con la presencia de IL-4 en las células endoteliales vasculares humanas (García-Zepeda EA et al, 1996). Eotaxina-3 humana muestra una homología de cadena aminoacídica entre el 27-42% respecto a otras quimiocinas de la familia CC. De la misma forma que en el caso anterior, analizando el comportamiento de la concentración de Ca^{2+} intracelular, se llega a la conclusión de que el receptor de eotaxina-3 es CCR3, ya que pretratamientos con eotaxina-3 disminuyen significativamente la respuesta de las células endoteliales vasculares frente a la estimulación con eotaxina y frente a la estimulación con MIP-1 α (Shinkai A et al, 1999).

La eotaxina-1 humana fue clonada en el cromosoma 17q11 (Rothenberg ME, 1998) junto a la región en la que se codifican la subfamilia de las proteínas quimiotácticas del macrófago, con las cuales eotaxina tiene una homología del 69%. La eotaxina-2 ha sido clonada en una localización genética diferente, concretamente en el cromosoma 7q11 (Forssmann U et al, 1997), al igual que la eotaxina-3 que se clonó en el 7q11.2 (Shinkai A et al, 1999).

5.2.1. Funciones

La característica más importante de la eotaxina es su potencia en la quimiotaxis de los eosinófilos *in vivo*, a la vez que es capaz de activar la liberación de los gránulos específicos del propio eosinófilo y secretar el contenido de las vesículas. Se ha observado *in vitro* que también tiene capacidad de atracción sobre el basófilo (Uguccioni M et al, 1997) pero es una capacidad mínima comparada con la atracción sobre el eosinófilo y sobre las células Th2.

Además de estimular la quimiotaxis del eosinófilo a través de los gradientes de concentración de esta quimiocina (Jose PJ et al, 1994; Forssmann U et al, 1997; Shinkai A et al, 1999) e inducir su activación y degranulación a través del sistema de la MAP-kinasa (Kampen GT et al, 2000), han sido identificadas otras funciones como la agregación del eosinófilo (Griffiths-Johnson DA et al, 1993), la capacidad de inducir el incremento de la subunidad CD11b de la integrina (Tenscher K et al, 1996) y de incrementar así la adhesión de los eosinófilos a las células endoteliales (Burke-Gaffney A y Hellewell PG, 1996). Adicionalmente, eotaxina induce indirectamente la liberación de especies reactivas del oxígeno, dado que incrementa la respiración celular del leucocito, por lo que aporta un factor más de daño tisular por su capacidad para provocar estrés oxidativo (Elsner J et al, 1996).

La eotaxina también puede actuar como un factor promotor de la diferenciación de las células madre hematopoyéticas en células inmunitarias y como factor regulador, junto con la IL-5, de la liberación de los eosinófilos de la médula ósea durante los procesos inflamatorios, provocando una rápida eosinofilia en sangre, así como durante la embriogénesis humana (Palframan RT et al, 1998).

La actividad quimiotáctica *in vivo* de la eotaxina está favorecida por el hecho de que esta quimiocina se une selectivamente a la glicoproteína heparina y que esta interacción, además de ayudar a mantener el gradiente de concentración de eotaxina,

la protege de la proteólisis por parte de los enzimas circundantes. Administradas conjuntamente, heparina y eotaxina provocan *in vivo* un mayor reclutamiento de los eosinófilos a las zonas de inflamación que con la inyección exclusiva de eotaxina (Ellyard JI et al, 2007).

Una de las funciones de eotaxina identificada recientemente es el efecto favorecedor de fibrosis que presenta sobre fibroblastos de pulmón y de bronquios humanos, ya que incrementa la tasa de proliferación de los fibroblastos y la síntesis de colágeno, participando en la remodelación de las vías respiratorias lesionadas durante un episodio de asma (Puxeddu I et al, 2007).

Estas funciones de eotaxina están mediadas por el único receptor de quimiocinas al que se une la citocina como ligando, que es el receptor CCR3, el cual se expresa en los eosinófilos en grandes cantidades, entre 40.000 y 400.000 receptores por célula, así como en los basófilos y en los linfocitos Th2 activados aunque en menor medida (Rankin SM et al, 2000).

La unión de eotaxina al receptor CCR3 provoca cambios en la concentración de Ca^{2+} intracelular (Griffiths-Johnson DA et al, 1993). Este efecto ha sido utilizado para comprobar que eotaxina también es capaz de unirse a los receptores CCR2 y CCR5, aunque con una afinidad mucho menor que la que presenta en su unión con el receptor CCR3 (Oglivie P et al, 2001). En estudios *in vitro* con monocitos humanos, se ha observado que el pretratamiento de las células con eotaxina reduce los cambios posteriores en la $[Ca^{2+}]$ provocados por MCP-1, cuyo receptor es CCR2. En cambio, el pretratamiento con MCP-1 no modifica el comportamiento de la eotaxina. Ambos hechos sugieren que la eotaxina se une al receptor CCR2 pero no actúa a través de este receptor. Por otra parte, el pretratamiento de los monocitos con eotaxina modifica significativamente los cambios en la $[Ca^{2+}]$, provocados por RANTES o MIP-1 β , cuyo receptor es el CCR5, mientras que el pretratamiento de los monocitos con RANTES o MIP-1 β provoca la reducción de la respuesta de los monocitos, medida a través de la $[Ca^{2+}]$ intracelular, al ser estimulados por eotaxina en segundo lugar. Ambos hechos parecen demostrar que la eotaxina se une y puede actuar a través del receptor CCR5. Por tanto, en el estudio de Oglivie et al, 2001, se llega a la conclusión de que eotaxina es un antagonista del CCR2 y un agonista del CCR5, ya que en este último caso, induce la internalización de los receptores.

Todo ello ha replanteado en los últimos años la idea de buscar tratamientos dirigidos a bloquear la interacción de eotaxina con su receptor CCR3, ya que eotaxina puede unirse a otros receptores y su receptor puede unirse a otras quimiocinas y además, esta unión se puede modular en gran medida por la concentración de ligando (Sabroe I et al, 2001).

5.2.2. Expresión

Se ha detectado la expresión del RNA mensajero (RNAm) de eotaxina en varios tipos celulares como fibroblastos (Bartels J et al, 1996), células epiteliales (Lilly CM et al, 1997), células endoteliales (García-Zepeda EA et al, 1996), células T y macrófagos (Mattoli S et al, 1997). En cultivos de eosinófilos en condiciones no patológicas se observa que éstos contienen, en la matriz de sus gránulos específicos, cantidades importantes de eotaxina, aunque la concentración de esta quimiocina no es fisiológicamente relevante (son necesarios más de 10 ng/ml de eotaxina para la quimiotaxis del eosinófilo *in vitro*), por lo que es de suponer que en la patogenia de muchas enfermedades inflamatorias no es la eotaxina del eosinófilo la que inicia la respuesta inflamatoria (Nakajima T et al, 1998).

La expresión del RNAm de eotaxina puede estar regulada por otras quimiocinas, como demuestra el trabajo en el que se observa que la IL-13 de las células Th2 incrementa la síntesis de RNAm de eotaxina-3 en las células endoteliales vasculares, pero no así TNF- α ó IFN- γ que no son capaces de inducir la expresión del RNAm de eotaxina-3 si no van acompañados de IL-4, sugiriendo que la expresión de la eotaxina-3 en estas células está asociada a las células Th2. No se detectan valores significativos de RNAm de eotaxina-3 en los tejidos normales como el timo, el bazo, el pulmón y los leucocitos en sangre periférica (Shinkai A et al, 1999).

5.2.3. Producción y modulación

Se han detectado niveles de eotaxina en condiciones fisiológicas normales en el timo y en el tracto gastrointestinal, además de en corazón y riñones pero la mayor cantidad de esta quimiocina es producida por las células endoteliales y epiteliales (García-Zepeda EA et al, 1996). En diferentes estudios parece quedar demostrado que esta presencia constitutiva está ligada a la presencia de eosinófilos y tiene una función diferente a la migración de eosinófilos atraídos a los tejidos durante el proceso inflamatorio. Se postula que la función de estos eosinófilos presentes en condiciones normales en los tejidos está relacionada con el papel inmunomodulador de estas células (Matthews AN et al, 1998).

En el tracto digestivo existe síntesis de eotaxina en condiciones fisiológicas en el intestino delgado y en el páncreas. En diversos estudios *in vivo* con ratones control y ratones deficientes en el gen de la eotaxina, se ha comprobado la expresión de RNAm de eotaxina en el yeyuno de ratones control y no en ratones sin el gen de eotaxina, concretamente en la lámina propia de la mucosa y submucosa. Esta eotaxina intestinal expresada de manera constitutiva es sintetizada por las células mononucleares de dicha lámina propia. También se comprobó que en los ratones eotaxina-deficientes, el número de eosinófilos en la lámina propia se reduce significativamente con respecto al grupo de ratones control, aunque no se observa diferencia significativa con respecto al nivel de eosinófilos en la médula ósea o en el nivel de eosinófilos circulantes. Los mismos resultados fueron obtenidos con experimentos realizados en el timo, por lo que se postuló que eotaxina no es un factor activador de la hematopoyesis (Matthews AN, et al, 1998). Así mismo, eotaxina tampoco es, *in vitro*, un factor de supervivencia para el eosinófilo aunque puede inducir en éstos la síntesis autocrina de factores de supervivencia (Rothenberg ME et al, 1996). Sin embargo, existen estudios posteriores *in vivo* e *in vitro* que parecen demostrar que eotaxina si que es un factor que puede actuar como regulador, junto con IL-5, en la liberación de los eosinófilos de la médula ósea durante los procesos inflamatorios, provocando una rápida eosinofilia en sangre (Palframan RT et al, 1998) y durante el desarrollo en la embriogénesis de las células hematopoyéticas (Quackenbush EJ et al, 1997).

Las relaciones de eotaxina con el resto de citocinas están, todavía hoy, poco estudiadas debido al complejo proceso de regulación de unas citocinas sobre otras y sobre las células del sistema inmunitario:

- Parece claro el efecto estimulante *in vitro* de IL-1 y TNF- α (Teran LM et al, 1996) así como de IL-4 (Mochizuki M et al, 1998) sobre el incremento de la síntesis de eotaxina
- *In vivo*, IL-13 induce la síntesis de eotaxina en las células del pulmón y produce la eosinofilia de este órgano (Li L et al, 1999). *In vitro*, se ha demostrado que IL-13 induce la expresión del RNAm y de la proteína eotaxina en células del epitelio de las vías respiratorias, todo ello mediado por el llamado factor transductor de señales y activador de la transcripción-6 (STAT6) que se une a la región proximal del promotor de la eotaxina contribuyendo a regular su transcripción por la IL-4 (Matsukura S, 2001).
- *In vitro*, la citocina IFN- γ producidas por las células Th2, es un potente inhibidor de la expresión de eotaxina (Miyamasu M et al, 1999) pero no el IFN- α o el IFN- β .
- En experimentos *in vivo*, el efecto de atracción de la eotaxina sobre el eosinófilo aumenta con la presencia de la IL-5 (Collins PD et al, 1995). Las últimas investigaciones al respecto en estudios con ratones manipulados genéticamente que sobre-expresan conjuntamente IL-5 y eotaxina-2, muestran que estos animales desarrollan un modelo de inflamación respiratoria relacionada con la degranulación del eosinófilo (Ochkur SI et al, 2007).
- La citocina IL-5 regula negativamente la expresión del RNAm de eotaxina inducida por TNF- α en los eosinófilos (Han SJ et al, 1999).
- Recientemente ha sido identificado un mecanismo de cooperación entre IL-13 y eotaxina-2 en modelos de inflamación alérgica del pulmón inducida por ovoalbúmina, en el que se muestra que la expresión de RNAm eotaxina-2 es dependiente de la presencia de IL-13 y que los ratones deficientes en eotaxina-2 tratados con IL-13 reducen drásticamente el número de eosinófilos en las vías respiratorias (Pope SM et al, 2005).

5.2.4. Relación con la patología

La quimiocina eotaxina ha sido relacionada con un amplio número de enfermedades que cursan con eosinofilia: enfermedades alérgicas como el asma (Lamkhioued B et al, 1997; Lilly CM et al, 1999 ; Nakamura H et al, 1999) y la dermatitis atópica (Hossny E et al, 2001); la incontinencia pigmentaria (Jean-Baptiste S et al, 2002); un variado número de desórdenes gastrointestinales como la esofagitis eosinofílica (Bullock JZ et al, 2007), gastroenteritis eosinofílica (Daneshjoo R y Talley J, 2002), alergia gastrointestinal eosinofílica (Hogan SP et al, 2000), enfermedades inflamatorias del intestino (Al-Haddad S y Riddell RH, 2005) y en algunas enfermedades muy concretas como la enfermedad de Hodgkin (Teruya-Feldstein J et al, 1999).

El propio descubrimiento de la eotaxina se realizó sobre un modelo de inflamación alérgica del tracto respiratorio, concretamente en cobayas a las que se trató con un alérgeno en aerosol, en un intento de localizar las moléculas quimiotrayentes de los eosinófilos en el pulmón (Jose PF et al, 1994). Efectivamente, en todos los estudios posteriores realizados sobre pacientes con asma o alergia, se detectan niveles significativamente más altos de eotaxina y de eosinófilos en el tracto respiratorio y en suero (Lilly CM et al, 1999; Nakamura H et al, 1999; Greiff L et al, 1999; Ying S et al, 1999).

El asma es una enfermedad crónica en la que la inflamación de las vías respiratorias debido al contacto con una molécula antigénica conlleva una hiperreacción bronquiopulmonar y la obstrucción de todo el tracto respiratorio. La respuesta alérgica se da en dos fases y es en la fase tardía, unas 12 horas después de la exposición al alérgeno, cuando se detecta una infiltración de células inflamatorias, mayoritariamente eosinófilos, en el tracto respiratorio, que son capaces de dañar el pulmón y provocar los conocidos efectos asmáticos. Este aumento en el número de eosinófilos en el tejido va acompañado de un incremento en la expresión de eotaxina, encontrándose los niveles de eotaxina plasmática en pacientes con asma significativamente superiores a los niveles de eotaxina en los sujetos control (Lilly CM et al, 1999). Tal es la evidencia de la implicación de la eotaxina en la patología asmática que se llegó incluso a proponer el nivel de eotaxina en suero como un factor diagnóstico y predictivo de la gravedad de la enfermedad ya que es independiente de la raza, sexo, edad, etc. y se encuentra elevado significativamente con respecto a los controles en todos los casos (Nakamura H et al, 1999). Las inflamaciones alérgicas están conducidas por las células Th2 que liberan principalmente las citocinas IL-4, IL-5 e IL-13, conociéndose actualmente la cooperación existente entre la IL-5 y la eotaxina y

entre la IL-13 y la eotaxina-2 en la quimiotaxis de los eosinófilos hacia el foco de inflamación.

Los desórdenes del tracto gastrointestinal que cursan con eosinofilia abarcan las reacciones alérgicas por alimento mediadas por IgE, la gastroenteritis eosinofílica y la eosinofagitis eosinofílica, las enfermedades inflamatorias intestinales (colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn) y la enfermedad del reflujo gastroesofágico (GERD). En cuanto a las enfermedades o desórdenes gastrointestinales que cursan con eosinofilia existe un amplio estudio realizado por Hogan SP et al, 2000, en el que se demuestra el papel crítico de eotaxina en la alergia gastrointestinal eosinofílica inducida por alérgenos orales. En un trabajo realizado en ratones deficientes en el gen de la eotaxina y sensibilizados por un alérgeno vía oral, estos autores demostraron que el número de eosinófilos en sangre periférica, es significativamente mayor en estos ratones que en los ratones no sensibilizados eotaxina-deficientes y también que en los ratones sensibilizados controles, por lo que propusieron la hipótesis de que el elevado nivel de eosinófilos en sangre es debido al escaso reclutamiento hacia el tejido inflamado a causa de la falta de eotaxina. Simultáneamente se observó que no existen cambios morfológicos en la estructura del intestino en los ratones sensibilizados eotaxina-deficientes y que la respuesta Th2 provocada por el alérgeno oral no está reducida, ya que si se observan los niveles elevados de IgE, IgG y citocinas IL-4 e IL-5, característicos de la respuesta mediada por los linfocitos Th2. Además, tampoco existe en los ratones eotaxina-deficientes una reducción en la síntesis del receptor CCR3 ni en las moléculas de adhesión endotelial. Todos estos datos, en conjunto, soportan la hipótesis del no reclutamiento, por falta del gradiente de concentración de eotaxina, de los leucocitos a los tejidos inflamados, mostrando que la infiltración de los eosinófilos en el tracto gastrointestinal inducida por alérgenos está reducida en ausencia de eotaxina, lo cual sugiere un mecanismo para el reclutamiento de los eosinófilos diferentes al que ocurre en el pulmón en las respuestas alérgicas, en donde la eotaxina, aunque juega un papel clave, no es absolutamente necesaria para la infiltración del eosinófilo (Rothenberg ME et al, 1997).

Posteriormente un estudio similar demostró que los ratones control que ingieren el antígeno oral aumentan significativamente el número de eosinófilos en el intestino delgado e incluso en el estómago, mientras que en los ratones eotaxina-deficientes que ingieren el mismo antígeno se observa un menor número de eosinófilos en el intestino y un menor reclutamiento al esófago, corroborando con todo ello que la

quimiocina eotaxina es fundamental en el movimiento del eosinófilo hacia el tracto gastrointestinal por la estimulación de un alérgeno (Hogan SP et al, 2001).

También se ha demostrado el incremento de la concentración de eotaxina en suero de pacientes con enfermedad de Crohn y pacientes con colitis ulcerosa, en los que este incremento se da incluso en los pacientes con formas inactivas de la enfermedad. No existen diferencias significativas entre los pacientes de una y otra enfermedad. Este incremento se correlaciona negativamente con el número de eosinófilos en sangre periférica (Mir A et al, 2002). La eotaxina-2 también es detectada en el suero de los pacientes con enfermedad inflamatoria crónica intestinal, incluso en concentraciones más elevadas que los niveles de eotaxina, aunque no existen diferencias significativas entre los sujetos control y los pacientes (Chen W et al, 2001). Tanto en los pacientes con colitis ulcerosa como con enfermedad de Crohn los niveles de RNAm están elevados, pero no en pacientes con enfermedades intestinales no específicas como la diverticulosis o cáncer de colon (García-Zepeda et al, 1996). En estas enfermedades del tracto gastrointestinal, la eotaxina no sólo participa en la quimotración del eosinófilo hacia el tejido inflamado sino que también puede participar en su papel inmunoregulador a través del reclutamiento de las células Th2, que también presentan el receptor CCR3 (Sallusto F et al, 1997).

La enfermedad de Hodgkin es un cáncer linfóide caracterizado por la presencia de células cancerosas, Hodgkin and Reed-Stenberg cells (H&RS), rodeadas de abundantes células inflamatorias y acompañadas en un alto porcentaje de los casos por infección del virus Epstein-Barr (EBV). Varias quimiocinas CC y CXC son expresadas por estas células, tales como TARC (*T-cell-directed chemokine thymus and activation-regulated chemokine*), MDC (*macrophage derived chemokine*), IP-10 (*interferon-gamma-inducible protein-10*), RANTES y eotaxina. Existe una correlación directa entre la quimiocina eotaxina y la eosinofilia detectada en el tejido por lo que se postula el papel fundamental de eotaxina en el reclutamiento de los eosinófilos en esta enfermedad (Teruya-Feldstein J et al, 1999). La mayoría de las quimiocinas se detectan en las células cancerosas y en las células inflamatorias circundantes, y la eotaxina, además se localiza también en los fibroblastos y en los vasos sanguíneos anexos. Los diferentes estudios realizados parecen indicar que el desequilibrio en los elementos inmunológicos puede incidir directamente en la formación de las células H&RS independientemente de la infección por el virus EPV, aunque la expresión de las quimiocinas está más en función de la infección por EPV que en función de los

diferentes subtipos histológicos de la enfermedad (Teruya-Feldstein J et al, 2000; Ohsima k et al, 2003).

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La pancreatitis aguda es una situación clínica muy frecuente en la práctica asistencial que, en ocasiones, puede conducir a la muerte del paciente y que está ligada a muy distintas situaciones etiológicas. Hoy en día no disponemos de una terapéutica específica y el tratamiento se basa en medidas sintomáticas (reposo de la glándula, analgesia, rehidratación generosa, etc) y medidas de soporte vital (respiratoria, cardíaca, renal, etc) en casos graves.

A pesar de los recientes avances en la comprensión de su patogenia y fisiopatología tampoco disponemos de una hipótesis unitaria sobre los mecanismos implicados específicamente en cada situación etiológica; pero si parece evidente que la activación de la cascada inflamatoria iniciada por la lesión pancreática es un elemento crucial para la evolución, leve o grave, del episodio de pancreatitis aguda. Podría asumirse que el mecanismo fisiopatológico de la pancreatitis tiene dos ramas: la activación de las citocinas proinflamatorias y el efecto deletéreo de los radicales libres, por lo que diferentes citocinas (especialmente IL-1 y IL-6) han sido investigadas como posibles indicadores pronósticos, ya que la evolución de la pancreatitis en las primeras horas está marcada por la activación de la cascada inflamatoria en la glándula pancreática y su amplificación a nivel sistémico con desarrollo de un SIRS y FMO, en el que juegan un papel preponderante los radicales libres del oxígeno y las distintas citocinas proinflamatorias y/o antiinflamatorias.

La revisión bibliográfica ha puesto de manifiesto que se ha investigado la responsabilidad de distintas especies celulares en la respuesta inflamatoria de la pancreatitis aguda, pero no hay referencias bibliográficas sobre la posible acción del eosinófilo, a pesar de que éste se ha relacionado directamente con lesiones inflamatorias gastrointestinales (enfermedad inflamatoria crónica intestinal, gastroenteritis eosinofílica, esofagitis eosinofílica, alergia alimentaria, etc) y extradigestivas (especialmente inflamación del árbol bronquial en procesos asmáticos), así como en algunos tumores.

La ausencia de investigaciones sobre el papel del eosinófilo en el proceso inflamatorio de la pancreatitis aguda, junto a la disponibilidad actual de técnicas que permiten el análisis de moléculas directamente relacionadas con el eosinófilo (IL-5 y eotaxina) han motivado nuestro estudio, intentando delimitar la responsabilidad del eosinófilo en la cascada inflamatoria de la pancreatitis aguda de pacientes procedentes de un centro

hospitalario con un mismo protocolo diagnóstico y terapéutico, lo que asegura la fiabilidad de los resultados obtenidos.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

Nuestra hipótesis de trabajo ha sido: la activación del eosinófilo y la presencia de eotaxina como la quimiocina más potente y selectiva del eosinófilo, juegan un papel importante en el desarrollo de la pancreatitis aguda y niveles elevados de eotaxina puede estar relacionados con la gravedad del episodio.

Para demostrar esta hipótesis se plantean unos objetivos intermedios basados en el análisis de los datos obtenidos en sangre de pacientes con pancreatitis aguda:

1. Demostrar el incremento en el número de eosinófilos en sangre periférica de pacientes con PA y analizar la evolución del número de eosinófilos a lo largo del episodio.
2. Demostrar la relación entre el número de eosinófilos y los parámetros analíticos expresivos de inflamación: proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular y fibrinógeno, todo ello en función del curso leve o con complicaciones del episodio de PA.
3. Demostrar el incremento de concentración de eotaxina en suero de pacientes con PA y analizar su evolución a lo largo del episodio.
4. Demostrar la relación entre la concentración de eotaxina y los parámetros analíticos expresivos de inflamación: proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular y fibrinógeno, todo ello en función del curso leve o con complicaciones del episodio de PA .
5. Analizar la correlación del número de eosinófilos y de la concentración de eotaxina en los pacientes con PA a lo largo del curso del episodio.
6. Analizar los valores de IL-5 en suero de pacientes con PA y la evolución de estos valores durante el episodio, así como las diferencias entre las PA leves y las PA graves que presentan complicaciones locales o sistémicas.
7. Analizar la correlación entre la concentración de eotaxina y la concentración de IL-5 en los pacientes con PA a lo largo del curso del episodio.

8. Analizar si el número de eosinófilos en sangre periférica, los niveles de eotaxina y los niveles de IL-5 varían dependiendo de la etiología de la PA.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. TIPO DE ESTUDIO

Se trata de un estudio prospectivo sobre pacientes ingresados directamente por cuadro clínico de pancreatitis aguda en un servicio especializado de un hospital universitario sometidos a un protocolo diagnóstico y terapéutico estandarizado; no se han realizado intervenciones diagnósticas y/o terapéuticas específicas, salvo las extracciones sanguíneas programadas para la determinación de distintas variables biológicas que constituyen la base de este estudio.

2. PACIENTES

2.1. Criterios de selección

El estudio se realizó sobre una muestra poblacional de individuos que procedían del Departamento de Salud 5 de la Comunitat Valenciana, ingresados en el Servicio de Gastroenterología del Hospital Clínico Universitario de Valencia (HCUV) con el diagnóstico de pancreatitis aguda (PA), durante el periodo comprendido entre el 1 de diciembre de 2001 y el 30 de noviembre de 2003; durante dicho periodo tuvieron lugar 243 ingresos por PA en el Servicio de Gastroenterología del Hospital Clínico Universitario de Valencia.

Se incluyeron en el estudio 125/243 pacientes ingresados (55,44%) que cumplían los criterios de inclusión. Se excluyeron 118 pacientes por los siguientes motivos: 37 presentaban dolor abdominal de más de 24 horas de evolución al ingreso; en 16 casos el paciente estaba diagnosticado previamente de pancreatitis crónica o se estableció este diagnóstico durante el ingreso; un paciente fue diagnosticado de ampuloma como causa del episodio de PA; 10 pacientes presentaban antecedentes de una enfermedad concomitante que podían modificar los niveles de eotaxina y/o IL-5 y/o eosinófilos sanguíneos (6 diagnosticados de asma bronquial documentada, 1 con antecedentes de alergia alimentaria, 1 con esofagitis eosinofílica documentada, 1 por antecedentes previos de Giardiasis intestinal y 1 por enfermedad de Crohn con afectación ileocecal inactiva en el momento del ingreso) y 54 pacientes se excluyeron por falta de algunas muestras sanguíneas en las 96 horas iniciales del estudio.

A cada uno de ellos se le informó personalmente y se obtuvo el consentimiento para participar en el estudio, según las normas del Comité Ético del Hospital Clínico Universitario de Valencia. El estudio está integrado dentro del proyecto “Estudio de los mecanismos patogénicos y fisiopatológicos de la pancreatitis aguda. Implicación del estrés oxidativo y de los mediadores biológicos de la inflamación” revisado y aprobado por el Comité Ético de Investigación de dicho hospital.

Se incluyeron, pues, en el estudio los pacientes mayores de 18 años con diagnóstico de PA de menos de 24 horas de evolución (el diagnóstico de PA se ha realizado con los criterios habituales: cuadro clínico de dolor abdominal localizado en epigastrio irradiado a espalda y/o ambos hipocondrios) junto a alguna de las siguientes características: (Banks PA, 1997; DiMagna EP y Chari S, 2002)

- a. niveles de enzimas pancreáticos en sangre, especialmente la amilasa y la lipasa, tres veces mayores al límite de la normalidad
- b. sin elevación de enzimas, pero con hallazgos radiológicos compatibles con PA
- c. exclusión clínica y/o instrumental de otras afecciones abdominales susceptibles de provocar un cuadro abdominal y/o analítico similar a la PA (isquemia mesentérica, obstrucción intestinal, cólico biliar, infarto de miocardio, embarazo ectópico, etc.)

Se excluyeron del estudio los pacientes con alguna de las siguientes características:

- a. tiempo de dolor abdominal superior a 24 horas
- b. diagnóstico de pancreatitis crónica antes o durante la hospitalización
- c. diagnóstico de neoplasia pancreática
- d. no recogida de muestras sanguíneas en los tiempos prefijados en las primeras 96 horas
- e. incremento de los enzimas pancreáticos tras una CPRE
- f. antecedentes sospechosos o documentados de enfermedad capaz de influenciar los parámetros biológicos referentes a los eosinófilos (recuento en sangre periférica, IL-5, eotaxina) como asma, alergia alimentaria, enfermedad inflamatoria crónica intestinal, parasitosis intestinal, etc.
- g. negativa del paciente a participar en el estudio

En base a los criterios de inclusión-exclusión, el grupo de estudio está integrado por 125 pacientes, 51% mujeres y 49% hombres, de edades comprendidas entre 25 y 90 años, que presentaban cuadro típico de pancreatitis aguda, diagnosticada mediante la exploración física inmediata y siguiendo los criterios expuestos anteriormente.

2.2. Protocolo estandarizado de pancreatitis aguda (aspectos etiológicos, pronósticos y de gravedad)

En todos los pacientes incluidos en el estudio se ha aplicado el protocolo sobre PA del Servicio de Gastroenterología del HCUV; los aspectos que interesan para nuestro trabajo hacen referencia al diagnóstico etiológico, pronóstico y gravedad del episodio.

Diagnóstico etiológico.- Las causas de PA pueden ser múltiples y, además, algunas de ellas pueden exigir acciones terapéuticas específicas en el momento agudo de la enfermedad o tras el episodio agudo; por ello, es importante el diagnóstico etiológico del episodio de PA. Para ello, hemos seguido las pautas establecidas de forma rutinaria en el Servicio de Gastroenterología. Se han clasificado en cuatro grupos etiológicos, atendiendo a las causas más prevalentes en nuestro medio: biliar, alcohólica, miscelánea e idiopática:

a) **etiología biliar**, responsable de la mayoría de PA en nuestro ámbito; la mejor técnica diagnóstica es la ecografía hepatobiliar, por lo que se realiza en el momento del ingreso hospitalario. Como dato complementario (si la ecografía es positiva) o elemento de sospecha (si la ecografía es negativa) se pueden tomar los datos analíticos urgentes de las transaminasas GOT y GPT, especialmente este último; valores superiores de GPT a 80 U/100 ml es muy específico de etiología biliar, aunque su sensibilidad es sólo del 50 %, que se normaliza en los primeros días tras el inicio de la PA, salvo enclavamiento de un cálculo en ampolla de Vater o cualquier otra circunstancia que obstruya el flujo biliar. En pacientes con ecografía hepatobiliar negativa (dos exploraciones) y datos analíticos sospechosos de litiasis biliar (elevación inicial de GOT-GPT) se debe realizar colangiografía magnética, especialmente valiosa para detectar el calibre del colédoco y presencia de coledocolitiasis. Si el paciente presenta ecografía negativa, sospecha analítica de litiasis biliar y colangiografía negativa se realizará investigación de microcristales y/o parásitos en aspirado duodenal, tras el episodio agudo. No debe realizarse CPRE como exploración rutinaria de la probable etiología biliar de una PA, salvo que exista dilatación de la vía biliar y/o cuadro clínico-analítico de impactación ampular y/o colangitis grave (en estos casos realizar esfinterotomía).

b) **etiología alcohólica** se establece, de forma esencial, por los antecedentes alcohólicos del paciente (se recogen en la historia clínica los gramos de alcohol/día en

la anamnesis) o por el antecedente de transgresión ética inmediata previa al episodio de PA (se recoge en la historia clínica esta posibilidad consignando la cantidad ingerida) y, en menor grado, por los marcadores biológicos de alcoholismo: elevación del volumen corpuscular medio (VMC) y la transpeptidasa GGT fundamentalmente o plaquetopenia, respecto a los valores habituales en el laboratorio del hospital. Se tomarán como pacientes alcohólicos cuando la ingesta por día sea superior a 40 grs/día para el sexo femenino y superior a 60 grs/día para el sexo masculino.

c) **etiología miscelánea**, que incluye las causas menos frecuentes de PA, tales como medicamentosa, traumática, infecciosa, postCPRE, etc, tras ser descartadas la etiología biliar y alcohólica.

d) **etiología idiopática**, cuando tras el estudio pormenorizado de las posibles causas de PA no se obtiene la certeza de cualquiera de ellas y no es posible determinar el origen del episodio.

Criterios pronósticos.- Dada la evolución de la PA, desde casos de mínima gravedad a casos de fallecimiento de pacientes, interesa conocer en el menor plazo de tiempo y con la mayor certeza posible, la probable evolución del paciente con el fin de tomar las medidas terapéuticas adecuadas y prevenir, así, la aparición de complicaciones. Por ello, se han diseñado una serie de escalas pronósticas que son utilizadas de forma rutinaria. En el Servicio de Gastroenterología del HCUV se utilizan habitualmente los criterios de Ranson (clínico-biológicos), los de Balthazar (según resultados de la tomografía computadorizada) y los niveles séricos de la proteína C reactiva.

Los **criterios de Ranson** (Ranson JHC et al, 1974; Ranson JHC, 1979) constan de 11 variables, tal como se ha expuesto con anterioridad. La mortalidad es inferior a 5% en pacientes con 0, 1 o 2 criterios, del 10% con 3 a 5, y superior al 60% si presentan 6 o más criterios. La mayor utilidad de los criterios de Ranson quizá sea su capacidad para excluir una enfermedad grave, ya que su valor predictivo negativo se aproxima al 90% (DiMugno EP y Chari S, 2002).

Los **criterios de Balthazar** clasifican la PA en una serie de grados, expuestos anteriormente, con importancia pronóstica (Balthazar EJ et al, 1990). La utilización de la TC con contraste permite, además, diagnosticar las complicaciones locales de la PA (necrosis, pseudoquiste, abscesos e infección). La realización de la TC con contraste debe realizarse, si es posible, con el siguiente protocolo: realización de TC abdominal

con contraste oral para valorar la morfología y alteraciones pancreáticas y peripancreáticas, posteriormente debe realizarse un estudio tras la administración de contraste intravenoso a razón de 3 ml/s, tomando imágenes del área pancreática a intervalos de al menos 5 mm, seguido de un estudio en fase portal. Con esta técnica se pretende detectar la presencia de áreas pancreáticas sin intensificación, que se consideran necrosis. La presencia de necrosis se valora mejor a partir de las 48-72 horas, ya que en fases iniciales pueden observarse áreas de baja captación correspondientes a zonas de edema pancreático (United Kingdom guidelines for the management of acute pancreatitis, 2005; DiMagno EP y Chari S, 2002; Freeny PC, 1993).

En aquellos casos que exista contraindicación para la utilización de contrastes yodados intravenosos, la resonancia magnética (RM) es una técnica que presenta unos resultados similares a la TC para el diagnóstico de necrosis pancreática y unos resultados superiores para detectar coledocolitiasis.

La **Proteína C Reactiva (PCR)** es un reactante de fase aguda sintetizado en el hígado. Su determinación es poco costosa y se encuentra ampliamente disponible. Tras un episodio de PA, el nivel sérico de PCR aumenta alcanzando, generalmente, su pico máximo a las 48 horas. Niveles elevados de PCR son capaces de predecir el desarrollo de PA grave y de necrosis pancreática. Se han propuesto varios niveles de corte para predecir la PA leve de la PA grave; uno de los más utilizados ha sido 120 mg/l en las primeras 48 horas (Büchler M et al, 1986; Sandberg AA y Borgström A, 2002), aunque en el Consenso de Santorini y las últimas recomendaciones de la Sociedad Británica de Gastroenterología se recomienda el nivel de 150 mg/l en las primeras 48 horas (Dervenis C et al, 1999; United Kingdom guidelines for the management of acute pancreatitis, 2005).

Criterios de gravedad.- La PA se clasifica en leve o grave en función de la ausencia o presencia de fallo orgánico (complicaciones sistémicas) y/o complicaciones locales. La PA leve es aquella que no se asocia a complicaciones locales ni fallo orgánico, con mínima o ninguna disfunción orgánica y recuperación sin incidencias. La PA grave se asocia a fallo orgánico y/o complicaciones locales. En el Simposium de Atlanta, junto a los criterios de gravedad (fallo orgánico y complicaciones locales), se resaltó la importancia de los criterios pronósticos como marcadores aceptables de gravedad y se mencionaron otras complicaciones que pueden aparecer en el curso de una pancreatitis grave. La necrosis pancreática se define como área o áreas de

parénquima pancreático no viable, que se diagnostica mediante tomografía computadorizada (TC) dinámica con contraste. Un pseudoquiste pancreático es una colección de jugo pancreático delimitada por una pared de tejido fibroso o de tejido de granulación, que aparece como consecuencia de un episodio de PA, de pancreatitis crónica o de traumatismo pancreático, que para su formación requiere al menos 4 semanas desde el inicio de la pancreatitis. Un absceso pancreático es una colección circunscrita de pus, de localización intraabdominal, que aparece como consecuencia de un episodio de PA o de traumatismo pancreático.

2.3. Estudio clínico-analítico de los pacientes

Para la tipificación etiológica y pronóstica, así como para la determinación de la gravedad del episodio de la PA, todos los pacientes incluidos en el estudio se sometieron a un estudio clínico pormenorizado y se realizaron una serie de exploraciones analíticas e instrumentales; todo ello como parte del protocolo habitual del Servicio de Gastroenterología del HCUV.

2.3.1. Valoración clínica de los pacientes

La valoración clínica de los pacientes incluye los siguientes apartados:

- a. Características demográficas (edad, sexo e índice de masa corporal, si era posible determinar el peso y talla de los pacientes).
- b. Características del dolor abdominal (localización, irradiación) y sintomatología digestiva acompañante (náuseas, vómitos, hemorragia digestiva alta, cierre intestinal).
- c. Antecedentes patológicos generales y específicos relacionados con la patología biliopancreática.
- d. Detección de alcoholismo crónico activo (>60 g/día en hombres y >40 g/día en mujeres).
- e. Relación de todos los fármacos consumidos por el paciente durante la semana anterior al inicio del cuadro clínico.

La exploración clínica inmediata del paciente incluye:

- a. Aspecto general, temperatura axilar (grados C), estado cognitivo e inspección cutánea (detección de ictericia y equimosis).
- b. Valoración hemodinámica (tensión arterial, frecuencia cardíaca, signos de hipoperfusión periférica).
- c. Auscultación cardiorrespiratoria.
- d. Exploración abdominal (dolor a la palpación profunda, ausencia/presencia de signos de peritonismo, ruidos abdominales, presencia de masas y/o visceromegalias y/o zonas petequiales).

2.3.2. Estudio analítico

En cada paciente se ha determinado: hemograma, electrolitos, función renal, glucemia, proteínas totales, albúmina, calcio, bilirrubina total y directa, transaminasas, γ -glutamiltanspeptidasa, fosfatasas alcalinas, LDH, gasometría arterial, estudio de coagulación, enzimas pancreáticos, VSG y PCR. Estas determinaciones se han realizado dentro de las 24 horas del ingreso hospitalario y se han reiterado en cada una de las muestras estandarizadas en las primeras 96 horas para la cuantificación de eosinófilos periféricos, IL-5 y eotaxina. El estudio analítico se completó con las exploraciones analíticas pertinentes en cada situación clínica. En los parámetros analíticos rutinarios, se han tomado como rango de normalidad los valores indicados por el Laboratorio Central del HCUV.

La determinación de los parámetros específicos de nuestro estudio, eotaxina e IL-5, aparte del recuento de eosinófilos periféricos, se especifica pormenorizadamente en un apartado posterior.

2.3.3. Estudio radiológico

El estudio radiológico incluye la realización de radiografías simples de tórax y abdomen en el momento del ingreso y de ecografía abdominal en las primeras 24 horas del mismo. Se ha realizado TC abdominal a partir de las 48 horas del ingreso, salvo si hay indicación para la realización de una TC urgente con anterioridad, con arreglo a las normas habituales en el Servicio de Radiodiagnóstico del HCUV; si no hay contraindicación se realiza estudio dinámico mediante administración de contraste yodado. En caso de alergia al contraste yodado o de insuficiencia renal la valoración se ha realizado sin contraste y en caso necesario se realiza una RM pancreática. También se ha practicado TC abdominal a aquellos pacientes con sospecha de infección pancreática. En caso de sospecha de coledocolitiasis no diagnosticada mediante ecografía, se ha realizado una colangio-RM.

Mediante la TC se ha evaluado el grado de Balthazar, la presencia de necrosis pancreática determinando el porcentaje de glándula afecto y, en caso de sospecha de infección pancreática, la presencia de gas en el interior de la necrosis pancreática o de las colecciones peripancreáticas.

Mediante la ecografía abdominal, tal como se ha comentado anteriormente, se ha valorado la presencia de litiasis biliar y coledocolitiasis.

2.4. Grupos de estudio

Se constituyeron diversos grupos de pacientes, según gravedad siguiendo los criterios de Atlanta (PA leves vs PA graves), etiología (PA biliar, alcohólica, miscelánea e idiopática) y tipo de complicaciones (PA grave con complicaciones locales y/o complicaciones sistémicas). Estas agrupaciones de pacientes se han realizado para analizar en ellos las variaciones de los parámetros biológicos específicos de nuestro estudio: recuento de eosinófilos periféricos, concentración de eotaxina en suero y concentración de IL-5 en suero.

El grupo control estuvo formado por 44 personas sanas, con una edad media de 37 años (rango 21-65 años) y un porcentaje de hombres del 48% y mujeres del 51%. Las muestras de sangre fueron obtenidas en la Unidad de Medicina Preventiva del HCUV. En estas muestras se ha determinado eotaxina e IL-5.

3. MÉTODOS

3.1. Obtención de la muestra sanguínea

En todos los pacientes se han extraído muestras venosas periféricas a tiempo prefijado que se han utilizado para la determinación de las variables analíticas rutinarias y, por otra parte, para la determinación de los parámetros específicos de nuestro estudio.

Los tiempos de extracción prefijada han sido: durante las primeras 24 horas tras el ingreso, a las 48 y 96 horas, considerando estas extracciones como exponentes del momento agudo del proceso inflamatorio agudo pancreático. Si durante la estancia hospitalaria aparece una complicación evolutiva (local y/o sistémica) se realiza una nueva extracción sanguínea. Esta pauta se ha seguido en los 125 pacientes.

Todos los pacientes se citaron posteriormente al alta hospitalaria (un mes como mínimo) para realizar una nueva extracción sanguínea para la determinación de las mismas variables analíticas rutinarias, así como los parámetros específicos del estudio. Esta muestra se ha considerado como “recuperación del proceso inflamatorio”. A pesar de la insistencia en reiterar al paciente la importancia de esta muestra tardía, 53 pacientes no acudieron a la cita prevista, por lo que solo se pudo determinar las variables analíticas y específicas en 72 pacientes (58% del total inicial de PA incluidas en el estudio).

Como se ha indicado anteriormente, para las determinaciones analíticas rutinarias se han tomado como valores de normalidad los indicados por el Laboratorio del HCUV.

Como grupo control de las determinaciones de eotaxina e IL-5, se han determinado estos parámetros en el suero de 44 sujetos sanos (21 hombres y 23 mujeres) procedentes del Servicio de Medicina Preventiva del HCUV y que corresponden a personal sanitario sano. La edad media de este grupo es de $37,75 \pm 12,72$ años. En todos estos sujetos sanos se ha solicitado el consentimiento informado para el análisis de sus muestras sanguíneas.

3.2. Obtención de las muestras de suero para determinación de eotaxina e IL-5

Para la obtención del suero necesario para la determinación de eotaxina e IL-5, se procede a su separación mediante centrifugación a 2200 rpm durante 15 minutos, tras mantener en reposo a temperatura ambiente durante 3 horas. Posteriormente se fracciona en varias alícuotas y se congela inmediatamente a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ para su posterior procesamiento. Este proceso se ha realizado en el Laboratorio del Departament de Medicina de la Universitat de Valencia en todas las muestras del grupo control y problema.

3.3. Determinación de eotaxina en suero

Se sensibilizaron placas de microtitulación de alta eficiencia de fijación (MaxisorbTM, Nunc) con 50 μl por pocillo con una solución 1 $\mu\text{g/ml}$ del anticuerpo primario monoclonal anti-eotaxina, en tampón de sensibilización, incubándose la placa durante una noche a 4°C . Al día siguiente se retiraron los 50 $\mu\text{l/pocillo}$ y se realizaron tres lavados de la placa con PBS-Tween. A continuación se dispensaron 300 $\mu\text{l/pocillo}$ de PBS-BSA para saturar los sitios reactivos que no hubieran sido ocupados por el anticuerpo y se incubó la placa a temperatura ambiente durante una hora. Después de tres lavados con PBS-Tween se depositaron en pocillos, por duplicado, 100 μl de cada una de las muestras de suero de pacientes con PA. Para obtener la curva de referencia paralelamente a las muestras se depositaron en los correspondientes pocillos y por duplicado, 100 μl de dilución de eotaxina en PBS- BSA, de concentraciones comprendidas entre 6,25 y 400 pg/ml . En cada ensayo se incorporó por duplicado 100 μl de PBS-BSA como control. Se incubaron las placas durante 2 horas a temperatura ambiente. Tras realizar 5 lavados con PBS-Tween, se adicionó, por pocillo, 100 μl de solución de anticuerpo monoclonal anti-eotaxina (anticuerpo secundario biotinilado) a una concentración de 100 ng/ml y se incubó la placa a temperatura ambiente durante dos horas. Tras realizar 3 lavados con PBS-Tween, se incorporaron 100 $\mu\text{l/pocillo}$ de la solución de estreptavidin-peroxidasa previamente diluida en PBS-Tween-BSA, y se incubó la placa durante 45 minutos a temperatura ambiente y protegida de la luz. La detección de eotaxina se realizó tras 5 lavados con PBS-Tween, mediante la adición de 100 $\mu\text{l/pocillo}$ de la solución substrato de Tetrametilbencidina (TMB) y H_2O_2 preparada en el momento. Pasados 20 minutos se

realizó la lectura de densidad óptica a 450 nm tras detener la reacción con la adición de SO_4H_2 2N en un espectrofotómetro para microplacas.

Leídas las placas de ensayo con las muestras se determinó la media y la desviación típica de los valores de densidad óptica y se procedió a realizar la curva patrón, a partir de la cual se interpolaron los valores de las muestras de suero. Los valores finales se definen como un número entero con dos decimales en pg/ml.

3.4. Determinación de IL-5 en suero

Se sensibilizaron placas de microtitulación de alta eficiencia de fijación (MaxisorbTM, Nunc) con 50 μl /pocillo con una solución 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ del anticuerpo primario, anticuerpo monoclonal anti-IL-5, en tampón de sensibilización incubándose la placa durante una noche a 4°C. Al día siguiente se retiraron los 50 μl /pocillo y se realizaron tres lavados de la placa con PBS-Tween. A continuación se dispensaron 300 μl /pocillo de PBS-BSA para saturar los sitios reactivos que no hubieran sido ocupados por el anticuerpo y se incubó la placa a temperatura ambiente durante una hora. Después de tres lavados con PBS-Tween se depositaron en pocillos, por duplicado, 100 μl de cada una de las muestras a ensayar. Para obtener la curva de referencia paralelamente a las muestras se depositaron en los correspondientes pocillos y por duplicado, 100 μl de dilución de IL-5 en PBS-BSA, de concentraciones comprendidas entre 7,8 y 250 pg/ml. En cada ensayo se incorporó por duplicado 100 μl de PBS-BSA como control. Se incubaron las placas durante 2 horas a temperatura ambiente. Tras realizar 3 lavados con PBS-Tween, se adicionó por pocillo, 100 μl de solución de anticuerpo monoclonal anti-IL-5 (anticuerpo secundario biotinilado) a una concentración de 100 ng/ml y se incubó la placa a temperatura ambiente durante dos horas. Tras realizar 3 lavados con PBS-Tween, se incorporaron 100 μl /pocillo de la solución de estreptavidin-peroxidasa previamente diluida en PBS-Tween-BSA, y se incubó la placa durante 45 minutos a temperatura ambiente y protegida de la luz. La detección de IL-5 se realizó tras 3 lavados con PBS-Tween, mediante la adición de 100 μl /pocillo de la solución substrato de Tetrametilbencidina (TMB) y H_2O_2 preparada en el momento. Pasados 20 minutos se realizó la lectura de densidad óptica a 450 nm tras detener la reacción con la adición de SO_4H_2 2N en un espectrofotómetro para microplacas.

Leídas las soluciones se determinó la media y la desviación típica de los valores de densidad óptica y se procedió a realizar la curva patrón, a partir de la cual se

interpolaron los valores de las muestras de suero. Los valores finales se definen como un número entero en pg/ml.

3.5. Material

El trabajo experimental ha sido desarrollado en el *Laboratorio del Departament de Medicina* y en la *Unidad Central de Investigación* de la Facultat de Medicina i Odontologia de la Universitat de València.

La infraestructura utilizada ha sido el siguiente:

- Centrífuga refrigerada (Megafuge 1.0R, Heraeus).
- Autoclave (E- 05662, Mattachana).
- Arcón congelador a -20°C (Electrolux).
- Arcón congelador a -80°C (marca Thermo-Forma, modelo Ultra Freeze, Heto).
- Espectrofotómetro lector de placas de cultivo y placas de ELISA (Benchmark, Bio- Rad).
- Sistema de obtención de agua ultrapura (Milli-Q, Millipore).

Los reactivos y soluciones utilizadas y preparadas para realizar el análisis de las citocinas en el suero de pacientes con pancreatitis aguda fueron los siguientes:

1. Albúmina sérica bovina (BSA, Sigma).
2. Tampón fosfato salino (PBS, Sigma).
3. Tween 20 (Sigma).
4. Solución de bloqueo: BSA al 3 % p/ v en tampón PBS (PBS-BSA al 3%)
5. Solución de dilución: BSA al 1 % p/ v en tampón PBS (PBS-BSA al 1%)
6. Anticuerpo (primario) de captura: Anticuerpo monoclonal específico de cada una de las citocinas analizadas: anti-eotaxina (R&D Systems Europe) y anti-IL-5 (BD Biosciences, USA).
7. Citocinas recombinantes: eotaxina e IL-5.
 - Solución de eotaxina estándar: Se preparó una solución de eotaxina humana recombinante (R&D Systems Europe) de concentración $4\ \mu\text{g/ml}$ en PBS-BSA 1% esterilizado por filtración. Se conservó en alícuotas congeladas a -80°C hasta su utilización.
 - Solución de IL-5 estándar: Se preparó una solución de IL-5 humana recombinante (BD Biosciences, USA) de concentración $230\ \text{ng/ml}$ en PBS-

BSA 1% esterilizado por filtración. Se conservó en alícuotas congeladas a -80°C hasta su utilización.

8. Anticuerpo (secundario) de detección: Anticuerpo monoclonal específico de cada una de las citocinas analizadas, anti-eotaxina (R&D Systems Europe) y anti-L-5 (BD Biosciences, USA) marcado con biotina en PBS-BSA 1 %.
9. Conjugado streptavidin-peroxidasa conservado a 4°C hasta el momento de su uso y protegido de la luz.
10. Substrato: Peróxido de hidrógeno (H_2O_2) como reactivo A y tetrametilbencidina (TMB) como reactivo B en una mezcla 1:1 preparada justo en el momento de su utilización.
11. Solución de parada: H_2SO_4 2N (Merck)

3.6. Expresión de los resultados y tratamiento estadístico

3.6.1. Determinación del tamaño muestral

En el grupo control formado por 44 individuos sanos se ha realizado la determinación de la concentración de eotaxina en suero, con los siguientes resultados:

- Media: 82,11 pg/ml
- Desviación típica: 35,18 pg/ml
- Rango: 12 - 150 pg/ml

Tras el análisis del suero de 64 pacientes con PA se observó que la mayor diferencia en concentración media de eotaxina en suero se encuentra pasado un mes del episodio agudo e ingreso en el Hospital, con los valores siguientes:

- Media: 151,11 pg/ml
- Desviación típica: 78,60 pg/ml
- Rango: 32 - 415 pg/ml

Con estos valores, considerando como relevante una diferencia entre las medias del grupo control y los pacientes con PA de 2 veces la desviación típica, un nivel de significación de 0,05 y un poder estadístico de 90% se calcula la muestra necesaria según la siguiente fórmula (Pita Fernández S, 1996):

$$N = 2 \cdot (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \cdot S^2 / d^2$$

Siendo:

N = sujetos necesarios para cada grupo

Z_{α} = valor z correspondiente al nivel de significación o error tipo I

Z_{β} = valor z correspondiente a la potencia estadística (1- β) o error tipo II

S^2 = varianza de la variable de estudio del grupo control (desviación típica²)

d^2 = valor mínimo que se desea detectar de la diferencia entre las 2 medias que en nuestro caso es $(2 \cdot DT)^2$

El cálculo obtenido es de 6 individuos por grupo.

Teniendo en cuenta que en estudios similares las pérdidas de los pacientes por los criterios de exclusión mencionados en el apartado de Material y Métodos y por pérdidas durante el seguimiento del protocolo de extracción de muestras sanguíneas puede alcanzar el 30%, se aplicaría el ajuste correspondiente según la fórmula:

$$N_{ajustada} = N \cdot (1/1-r)$$

Siendo:

N = número del tamaño muestral sin pérdidas

r = proporción esperada de pérdidas

Finalmente, el tamaño muestral ajustado necesario para detectar diferencias en nuestro estudio de contraste de hipótesis para la comparación de medias del grupo control y del grupo de pacientes, es de 9 individuos por grupo.

3.6.2. Métodos estadísticos

El análisis estadístico de los datos obtenidos en el estudio se realizó con el soporte del programa SPSS versión 14.0. (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA.).

El análisis de los resultados se inicia con un estudio descriptivo de las variables cualitativas y cuantitativas, realizando posteriormente los análisis de comparaciones de medias y de influencia de factores sobre los valores de eosinófilos, eotaxina e IL-5, así como los análisis de correlación entre las variables.

Para las variables cuantitativas se procede a realizar las mediciones de la tendencia o posición central y de la dispersión, para lo que se obtienen los estadísticos descriptivos básicos: media o mediana (si la distribución de los resultados presenta un cierto grado de inclinación hacia uno de los extremos se utiliza la mediana), desviación típica (DT), valor máximo y valor mínimo, rango intercuartílico (RIC, expresado como cuartil 25-cuartil 75) y error típico de la media (EEM).

Para las variables cuantitativas que presentaron distribución normal en función del test de Kolmogorov-Smirnov, los análisis estadísticos de comparación de medias se realizan mediante test t de Student para muestras independientes y la prueba de Levene para igualdad de varianza entre las 2 medias; o mediante test t de Student para muestras relacionadas en caso de datos apareados cuando el objetivo es buscar la homogeneidad o heterogeneidad entre las parejas formadas. Se realizan también análisis ANOVA para uno o dos factores en los casos en los que se pretende estudiar las diferencias de medias entre grupos de pacientes en función de los factores estudiados (especialmente entre pares de grupos).

Para las variables cuantitativas que no presentaron distribución normal, los análisis estadísticos de comparación de medianas se realizan mediante test U de Mann-Whitney para muestras independientes y el test de Wilcoxon para muestras relacionadas en caso de datos apareados cuando el objetivo es buscar la homogeneidad o heterogeneidad entre las parejas formadas.

Para las variables cualitativas se han obtenido los valores de frecuencia y porcentaje. Los porcentajes se comparan entre sí mediante el test exacto de Fisher para variables dicotómicas obteniendo el valor problema correspondiente a cada comparación.

Para cada una de estas pruebas, con variables cuantitativas o cualitativas, se obtiene los valores problema (valor p) que se comparan con el valor asumido de cometer el error de tipo I del 5% ($\alpha=0,05$) de manera que en la comparación se establece la hipótesis nula de igualdad de medias. Por tanto, se rechazó la hipótesis nula cuando el valor p es menor o igual que 0,05.

Los análisis de correlación utilizados para describir la relación entre dos variables dependientes se realizaron calculando el coeficiente de correlación de Pearson (r) cuando tratamos con variables que se ajustan a la distribución de normalidad o el

coeficiente de Spearman (r_s) en variables que no se ajustan a dicha distribución. En función del valor r o r_s queda definida la siguiente escala de correlación:

- Correlación baja: $r < 0,5$
- Correlación aceptable: $0,5 < r < 0,75$
- Correlación buena: $0,75 < r < 0,85$
- Correlación excelente: $r > 0,85$.

De la misma forma que en el resto de análisis, también en los de correlación se obtienen los valores problema (valor p) que se comparan con el valor de significación $\alpha=0,05$, de manera que en la comparación se establece la hipótesis nula de correlación. Por tanto, se rechazó la hipótesis nula cuando el valor p es menor o igual que $0,05$.

RESULTADOS

1. CARACTERÍSTICAS DEL GRUPO DE ESTUDIO

Tal como se ha indicado en el capítulo correspondiente (Material y Métodos) de los 243 pacientes ingresados en el Servicio de Gastroenterología del HCUV con el diagnóstico de pancreatitis aguda (PA) durante los meses que ha durado el estudio, se incluyen en la muestra 125 pacientes que cumplen los criterios de inclusión; los restantes se han excluido por presentar algunos de los criterios señalados como motivo de exclusión en el presente estudio.

De los 125 pacientes incluidos, en 72 pacientes se realizó el estudio analítico completo a las 24, 48, 96 horas y al mes, es decir en el momento del episodio agudo de pancreatitis y pasado, al menos, un mes del episodio agudo, que denominaremos "recuperación"; y en 53 pacientes sólo se pudo realizar en el momento agudo del episodio de pancreatitis (24, 48, y 96 horas tras el ingreso en urgencias).

Al grupo de 72 pacientes en los que se realiza el estudio en el episodio agudo y en la recuperación se le denomina Grupo A. Al grupo de 53 pacientes en los que se realiza el estudio exclusivamente en el momento agudo del episodio se le denomina Grupo B.

Para considerar que la combinación de ambos grupos se puede utilizar para el estudio como una única muestra aleatoria total de 125 pacientes, se compararon entre ambos grupos (A y B) algunas de las características clínicas propias de los pacientes con pancreatitis aguda. Para ello se aplicó el test exacto de Fisher o prueba de probabilidad para variables cualitativas dicotómicas, excepto para las variables etiología y edad para las que se aplicó un test ANOVA por no ser variables dicotómicas. En ninguna de las características estudiadas se observó una diferencia significativa para un valor de significación $\alpha=0,05$.

En la figura 6 se muestran los porcentajes de aparición de dichas características en el Grupo A y en el Grupo B indicando también el valor de significación para la prueba de Fisher entre ambos grupos: sexo, proteína C reactiva a las 48 horas igual o superior a 150 mg/l ($PCR \geq 150$), presencia de hemorragia digestiva alta (HDA), gravedad en función de la presencia de complicaciones, pronóstico de gravedad según criterios Balthazar, pronóstico de gravedad según criterios Ranson, ingreso en UCI, presencia de infección pancreática, presencia de necrosis, presencia de pseudoquiste. No se observaron diferencias significativas entre los porcentajes de todas estas

características en ambos grupos ni tampoco en el porcentaje de exitus y presencia de absceso cuyos porcentajes no se muestra en la figura.

Así mismo, se compararon entre Grupo A y Grupo B los porcentajes de pacientes (ver figura 7) que han sido clasificados en relación con el origen de la PA mediante el test de χ^2 . El análisis obtiene un valor $p=0,900$ que, para un $\alpha=0,05$, no permiten afirmar que existan diferencias significativas en relación con la etiología.

Se realizó el análisis estadístico para el factor edad mediana con una prueba ANOVA y tampoco podemos afirmar que existen diferencias significativas entre ambos grupos, con un valor $p=0,458$. En la figura 7 se indica la edad mediana del Grupo A y del Grupo B.

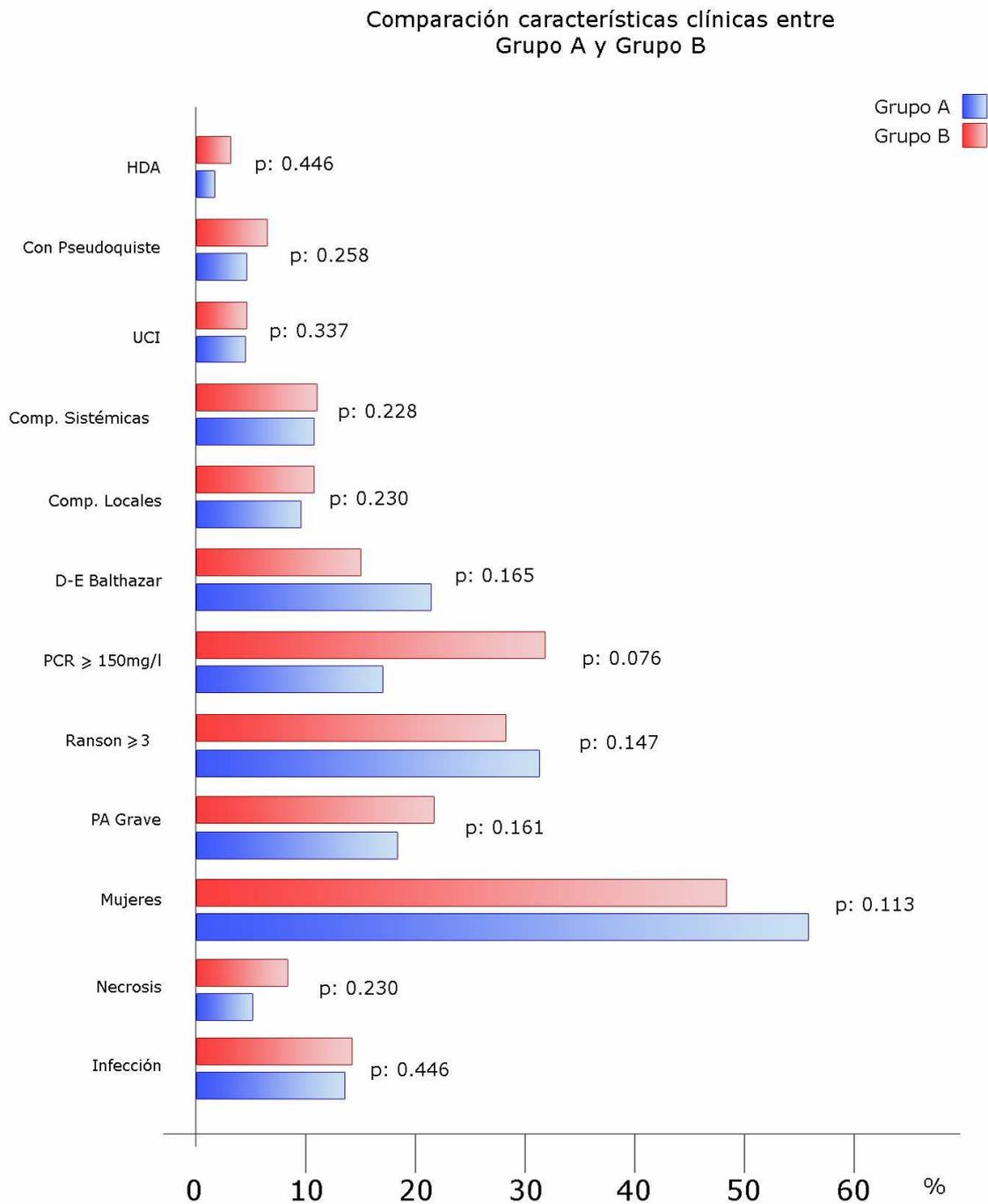


Figura 6: Estudio comparativo de las características clínicas entre los pacientes del Grupo A y del Grupo B (en porcentajes). La p indica el valor de significación para cada comparación.
 HDA: hemorragia digestiva alta; UCI: unidad de cuidados intensivos PCR: proteína C reactiva; D-E Balthazar: grados Balthazar D-E; PA: pancreatitis aguda

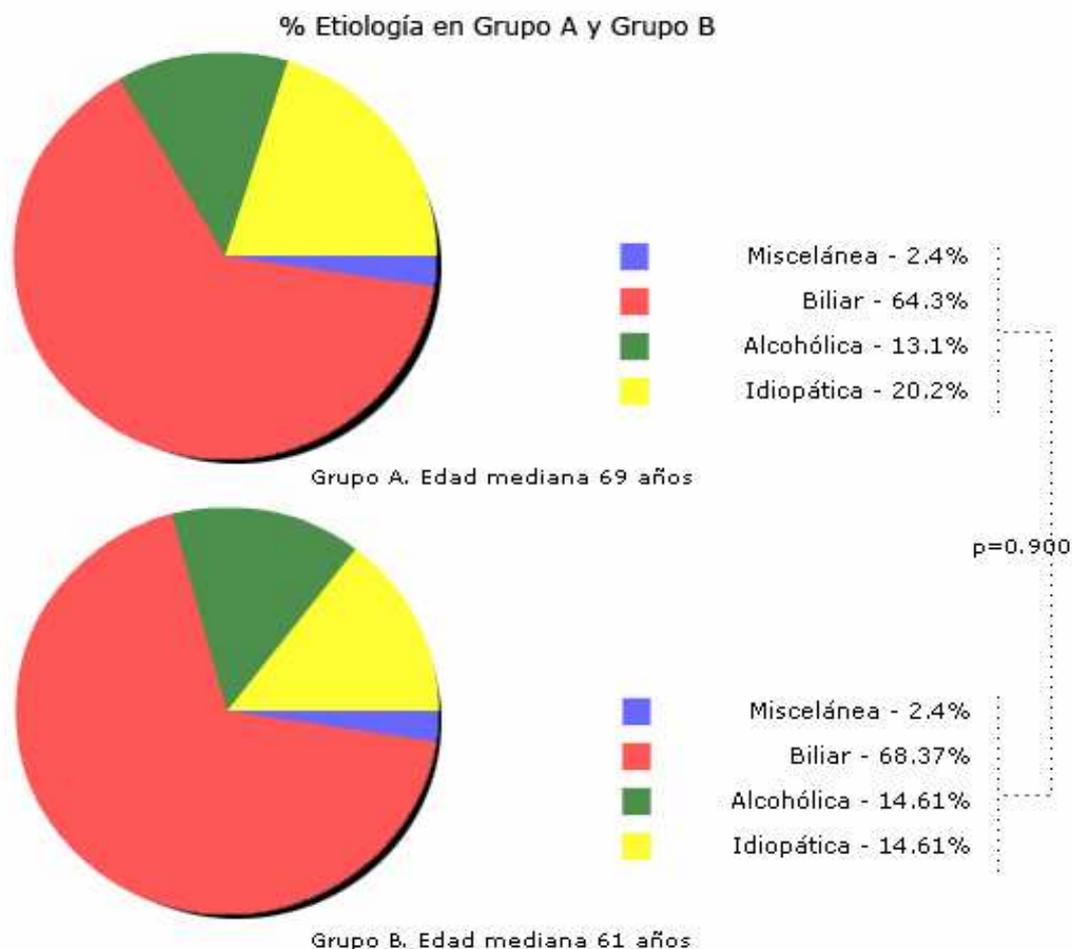


Figura 7: Análisis comparativo de la etiología en los pacientes de los grupos A y B indicando el valor del porcentaje en la leyenda. Se representa también la edad mediana de cada grupo. La p indica el valor de significación para la comparación entre etiologías.

Con el mismo objeto de estudiar si el Grupo A y el Grupo B presentan diferencias significativas entre ellos se procedió a realizar un test ANOVA sobre tres de los parámetros de estudio seleccionados aleatoriamente, como son la concentración de eotaxina a las 96h, la concentración de eotaxina a las 48 horas y el número de eosinófilos a las 48 horas. Los resultados muestran que para un valor establecido $\alpha=0,05$, en ninguno de los casos la diferencia entre el Grupo A y el Grupo B resulta significativa. Se presentan en la siguiente tabla el valor F obtenido y el valor de significación para cada uno de los tests aplicados:

Parámetro	Valor F	Significación
Eotaxina 96h.	0,527	0,469
Eotaxina 48h.	0,391	0,533
Eosinófilos 48h.	1,433	0,234

Con todo lo expuesto anteriormente, sin encontrar diferencias significativas entre el Grupo A y el Grupo B, podemos considerar que, combinando ambos grupos, disponemos de una única muestra aleatoria de pacientes con PA del tamaño de la suma de los 2 grupos, por lo que los resultados presentados en este trabajo se han obtenido de la muestra global de los 125 pacientes.

1.1. Características clínicas de los pacientes incluidos en el estudio

Considerando el grupo de estudio global constituido por 125 individuos, las características clínicas que presenta se resumen en los siguientes factores:

- El porcentaje de hombres y mujeres es de 48 y 51% respectivamente.
- La edad media es de 61,82 años, con una mediana de 67,69 y un rango 25 - 90 años.
- La etiología de los episodios queda definida en porcentajes, presentando un origen biliar el 65,6%, un origen etílico un 13,6%, un origen con causas diversas (miscelánea) un 2,4% y en otro 18,4% de los pacientes no se pudo filiar la causa de la pancreatitis aguda.
- En el 19,2 % de los casos sufrieron un episodio de PA grave y el 80,8% se consideró un episodio leve.
- Presentaron complicaciones locales un 11,2% del total de pacientes y presentaron complicaciones sistémicas un 12,2%.
- En función de los criterios pronóstico de gravedad, el 31,3% presentaron 3 o más criterios de Ranson, el 19,5% presentaron grados D-E de Balthazar en el estudio TC y el 27,2% presentaron valores de PCR \geq 150 mg/l.

1.2. Características clínicas de los pacientes con PA leve y con PA grave

Las características clínicas de los pacientes que se clasificaron como PA leve (101 de 125) se resumen en los siguientes factores:

- El porcentaje de hombres y mujeres es de 45 y 54% respectivamente.
- La edad media es de 61,28 años, con una mediana de 65,97 y rango 25 - 90 años.
- La etiología de los episodios queda definida en porcentajes, presentando un origen biliar el 65,3%, un origen etílico un 11,9%, un origen con causas diversas

(miscelánea) un 3,0% y en otro 19,8 % de los pacientes no se pudo filiar la causa de la pancreatitis aguda.

- En función de los criterios pronóstico de gravedad, el 23,3% presentaron 3 o más criterios de Ranson, el 8,8% presentaron grados D-E de Balthazar en el estudio TC y el 32,1% presentaron valores de PCR \geq 150 mg/l.
- Ninguno de los pacientes con PA leve fue ingresado en UCI ni falleció durante el ingreso en el Hospital.

Las características clínicas de los pacientes que se clasificaron como PA grave (24 de 125) se resumen en los siguientes factores:

- El porcentaje de hombres y mujeres es de 63 y 37% respectivamente.
- La edad media es de 64,08 años, con una mediana de 72,18 y rango 29 - 90 años.
- La etiología de los episodios queda definida en porcentajes, presentando un origen biliar el 66,7%, un origen etílico un 20,8%, y en otro 12,5 % de los pacientes no se pudo filiar la causa de la pancreatitis aguda.
- En función de los criterios pronóstico de gravedad, el 33,3% presentaron 3 o más criterios de Ranson, el 57,9% presentaron grados D-E de Balthazar en el estudio TC y el 17,1% presentaron valores de PCR \geq 150 mg/l.
- El 75% de los pacientes con PA grave fue ingresado en UCI y fallecieron 2 de los 24 pacientes con PA grave, lo cual representa un porcentaje de exitus del 8,3%.
- El porcentaje de pacientes con complicaciones locales es del 58,3% y el porcentaje de pacientes con complicaciones sistémicas es del 62,3%.
- En un 37% de los casos la PA grave está acompañada por necrosis en el tejido.

1.3. Parámetros analíticos de los pacientes incluidos en el estudio

Se detallan a continuación los parámetros analíticos observados en los pacientes clasificados como PA grave (24 pacientes) y como PA leve (101 pacientes) del grupo total: leucocitos, neutrófilos, eosinófilos, hemoglobina, hematocrito, glucemia, urea, creatinina, transaminasa glutámico oxalacética (GOT), transaminasa glutámico-pirúvica (GPT), lactato deshidrogenasa (LDH), amilasa, calcio, presión de oxígeno arterial (pO₂), albúmina, fibrinógeno, velocidad de sedimentación globular y proteína C reactiva (PCR).

El análisis estadístico de estos parámetros analíticos al ingreso en urgencias, se realiza comparando las medias de cada uno de los parámetros para los pacientes con PA leve y PA grave. Los resultados muestran que existe diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes con PA leve y los pacientes con PA grave en el momento del ingreso para los siguientes parámetros sanguíneos: número de leucocitos, número de neutrófilos y concentración de glucemia. (Ver tabla 12).

Tabla 12: Variables analíticas al ingreso, según gravedad del episodio y valor de significación (p) para PA grave vs PA leve. * $p < 0,05$. (a) indica no igualdad de varianzas.

	Intervalo normal	PA grave			PA leve			p
		Mín.	Máx.	Media	Mín.	Máx.	Media	
Leucocitos·10 ⁶ /l	4800-10800	6600	23400	14526	4500	25200	12305	0,004*
Neutrófilos·10 ⁶ /l	2500-8000	4900	21000	12549	3500	22700	10407	0,011*
Eosinófilos·10 ⁶ /l	50-500	0	300	75	0	300	69	0,738
Hemoglobina g/dl	12,0-16,0	8,5	16,6	14,9	8	16,6	13,5	0,170
Hematocrito %	37-50	27,8	47,3	41,3	24,9	47,3	40,3	0,261
Glucemia mg/dl	60-110	98	380	177	75	380	144	0,002*(a)
Urea mg/dl	20,0-50,0	19	74	44,1	9	97	37,9	0,074
Creatinina mg/dl	0,50-1,17	0,8	3,7	1,36	0,6	5,1	1,15	0,096
GOT mU/ml	1-31	22	702	175	11	1320	230	0,145
GPT mU/ml	7-33	15	1048	197	11	1224	236	0,463
LDH mU/ml	240-480	368	1093	674	260	2292	701	0,674(a)
Amilasa mU/ml	25-115	178	6085	1768	58	6455	1820	0,863
Calcio mg/dl	8,10-10,50	7,0	10,3	8,61	6,8	10,6	8,5	0,678
pO ₂ mmHg	83,0-108,0	57	110	76,7	57	133	82,9	0,070

Se analizan los parámetros sanguíneos a las 24 horas del ingreso y se realiza el análisis de comparación entre las medias de cada uno de los parámetros para los pacientes con PA leve y PA grave. Se observa diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes con PA leve y los pacientes con PA grave a las 24 horas del ingreso para los siguientes parámetros sanguíneos: número de leucocitos, número de neutrófilos, concentración de hemoglobina, porcentaje de hematocrito, concentración de glucosa, concentración de urea, concentración de creatinina, concentración de LDH y concentración de PCR. (Ver tabla 13).

Tabla 13: Variables analíticas en las primeras 24 horas del ingreso, según gravedad del episodio y valor de significación (p) para PA grave vs PA leve. * $p < 0,05$. (a) indica no igualdad de varianzas.

	Valores normales	PA grave			PA leve			p
		Mín.	Máx.	Media	Mín.	Máx.	Media	
Leucocitos·10 ⁶ /l	4800-10800	2600	26800	13192	2600	26800	10798	0,016*
Neutrófilos·10 ⁶ /l	2500-8000	2300	25400	11588	1120	25400	8888	0,006*
Eosinófilos·10 ⁶ /l	50-500	0	400	53	0	400	69	0,347
Hemoglobina g/dl	12,0-16,0	9,4	18,2	13,5	8	18,2	12,7	0,033*
Hematocrito %	37-50	31,1	66	40,8	25	66	37,8	0.001* ^(a)
Glucemia mg/dl	60-110	83	334	172	63	371	121	0.001* ^(a)
Urea mg/dl	20,0-50,0	19	116	50,4	8	164	37,7	0.010*
Creatinina mg/dl	0,50-1,17	0,6	4,4	1,4	0,5	8,1	1,1	0.049*
GOT mU/ml	1-31	22	519	128	9	846	130	0.929
GPT mU/ml	7-33	10	640	151	8	1061	185	0.320
LDH mU/ml	240-480	233	935	553	134	2437	472	0.046*
Amilasa mU/ml	25-115	114	4576	898	41	5210	801	0.693
Calcio mg/dl	8,10-10,50	6,4	9,9	8,4	6	10	8,3	0,889
pO ₂ mmHg	83,0-108,0	59	116	81,5	52	132	83,1	0.748
Albúmina g/dl	3,50-5,00	2,5	4,2	3,57	2,5	4,3	3,53	0.663
Fibrinógeno g/l	2,00-4,00	2,3	12,6	5,91	2,3	12,6	5,26	0.315
VSG mm/1 ^a hora	1,0-20,0	1	112	26,3	1	810	33,65	0.586
PCR mg/l	0,0-5,0	3,5	518,9	119,1	0	518,9	67,41	0.030* ^(a)

El análisis estadístico de los mismos parámetros analíticos a las 48 horas del ingreso en urgencias, se realiza comparando las medias de cada uno de los parámetros para los pacientes con PA leve y PA grave. Se observa diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes con PA leve y los pacientes con PA grave a las 48 horas del ingreso para los siguientes parámetros sanguíneos: número de leucocitos, número de neutrófilos, concentración de glucosa, concentración de urea, concentración de creatinina y concentración de PCR, hecho similar a lo descrito a las 24 horas del ingreso. (Ver tabla 14).

Tabla 14: Variables analíticas en las primeras 48 horas del ingreso, según gravedad del episodio y valor de significación (p) para PA grave vs PA leve. * $p < 0,05$. (a) indica no igualdad de varianzas.

	Intervalo normal	PA grave			PA leve			p
		Mín.	Máx.	Media	Mín.	Máx.	Media	
Leucocitos·10 ⁶ /l	4800-10800	4800	20000	12717	3100	24500	10542	0,009*
Neutrófilos·10 ⁶ /l	2500-8000	3100	18400	10739	2000	22100	8520	0,009*
Eosinófilos·10 ⁶ /l	50-500	0	500	84	0	900	124	0,103
Hemoglobina g/dl	12,0-16,0	9,5	15,5	12,6	8,7	16	12,4	0,583
Hematocrito %	37-50	27	67	38,5	23,6	67	37,0	0,312
Glucemia mg/dl	60-110	74	303	149	59	303	107	0.001* _(a)
Urea mg/dl	20,0-50,0	10	128	49,7	9	128	31,1	0.006* _(a)
Creatinina mg/dl	0,50-1,17	0,5	3,6	1,4	0,5	5,8	1,0	0.002* _(a)
GOT mU/ml	1-31	9	157	57	9	306	60	0.820
GPT mU/ml	7-33	7	291	110	7	903	132	0.336
LDH mU/ml	240-480	215	1756	607	146	1756	412	0.001 _(a)
Amilasa mU/ml	25-115	35	1147	375	15	2490	295	0.235
Calcio mg/dl	8,10-10,50	7,2	11	8,4	5,7	11	8,41	0.802
Albúmina g/dl	3,50-5,00	2,7	4,2	3,32	2,6	4,4	3,42	0.481
Fibrinógeno g/l	2,00-4,00	3,4	12,4	8,16	0,7	82	7,56	0.655
VSG mm/1ªhora	1,0-20,0	7	121	51,0	2	121	36,9	0.101 _(a)
PCR mg/l	0,0-5,0	40	438	224,5	0,3	438	126,0	0.003*

Se analizan los parámetros analíticos transcurrido al menos un mes del alta del paciente mediante la comparación entre las medias de cada uno de los parámetros para los pacientes con PA leve y PA grave. Los resultados muestran que existe diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes con PA leve y los pacientes con PA grave al mes del ingreso exclusivamente en la concentración de fibrinógeno, indicando de esta forma la igualdad de los parámetros sanguíneos entre los dos grupos.

Se observa también que al mes del alta hospitalaria el valor de los parámetros sanguíneos se encuentra dentro del rango de normalidad, excepto en el caso del fibrinógeno. (Ver tabla 15)

Tabla 15: Variables analíticas al mes del alta hospitalaria, según gravedad del episodio y valor de significación (p) para PA grave vs PA leve. * $p < 0,05$. (a) indica no igualdad de varianzas.

	Intervalo normal	PA grave			PA leve			p
		Mín.	Máx.	Media	Mín.	Máx.	Media	
Leucocitos- $10^6/l$	4800-10800	3900	10500	7154	3900	13000	6693	0.430
Neutrófilos- $10^6/l$	2500-8000	2200	6600	4080	1600	8900	3877	0.640
Eosinófilos- $10^6/l$	50-500	0	400	172	0	1000	184	0.740
Hemoglobina g/dl	12,0-16,0	11,2	15,2	13,08	9,4	15,8	13,22	0.670
Hematocrito %	37-50	33	44	39,00	29	45	39,04	0.960
Glucemia mg/dl	60-110	84	131	103,27	67	156	103,62	0.920
Urea mg/dl	20,0-50,0	25	65	35,00	8	123	36,64	0.640
Creatinina mg/dl	0,50-1,17	0,8	1,5	1,02	0,3	6,1	1,06	0.690
GOT mU/ml	1-31	11	37	20,82	8	159	26,92	0.090
GPT mU/ml	7-33	9	46	19,09	4	107	24,71	0.120
LDH mU/ml	240-480	232	479	337,00	193	606	330,52	0.820
Amilasa mU/ml	25-115	15	106	61,30	15	744	75,73	0.300
Calcio mg/dl	8,10-10,50	8,2	11,5	9,73	8,2	11,5	9,63	0.700
Albúmina g/dl	3,50-5,00	3,5	4,5	5,1	2,4	5,1	4,0	0.690
Fibrinógeno g/l	2,00-4,00	2,5	50	8,10	1,5	50	4,84	0.030* ^(a)
VSG mm/1ªhora	1,0-20,0	7	40	18,60	1	93	19,19	0.860
PCR mg/l	0,0-5,0	1	12,4	2,83	0	27,5	3,05	0.840

Se analiza también la evolución de algunos de los parámetros analíticos desde el día del ingreso hasta pasado un mes del episodio de pancreatitis aguda, principalmente aquellos que presentaron diferencias estadísticamente significativas en los tests t de Student realizados anteriormente y aquellos que por razones inherentes al estudio son de interés para éste: leucocitos, neutrófilos, eosinófilos, hemoglobina, hematocrito, glucemia, urea, creatinina, LDH, VSG, PCR y fibrinógeno.

En cuanto al número de leucocitos en sangre se detectan valores significativamente diferentes entre los pacientes con PA leve y PA grave en las extracciones al ingreso, a las 24 horas y a las 48 horas, valores que se convierten en similares al mes del ingreso. El día del ingreso, el valor de leucocitos se ve incrementado con respecto al valor control y su número va disminuyendo hasta llegar a valores considerados normales al mes del ingreso. (Ver figura 8)

El número de neutrófilos también se encuentra elevado en el momento del ingreso y va disminuyendo a lo largo de las diferentes extracciones hasta alcanzar valores normales al mes del ingreso. Entre los pacientes con PA grave y PA leve existen diferencias significativas en las tres primeras extracciones (ingreso, 24 horas y 48 horas) que dejan de ser significativas al mes del ingreso. (Ver figura 9)

El número de eosinófilos se encuentra dentro del rango de valores considerado como normal, observándose un incremento importante especialmente a partir de las 48 horas del ingreso, que se hace significativo pasado un mes del episodio agudo. No existen diferencias significativas entre PA grave y PA leve en ninguna de las extracciones temporales. (Ver figura 10)

La concentración de hemoglobina en sangre se mantiene durante todas las extracciones en valores similares y dentro del rango de valores control. No existe diferencia significativa entre los pacientes con PA leve y PA grave excepto a las 24 horas del ingreso. (Ver figura 11)

El porcentaje de hematocrito en sangre permanece constante a lo largo del tiempo, dentro de los valores del rango normal, aunque en el caso de los pacientes con PA grave, el día del ingreso presenta valores muy bajos, lo que provoca su diferencia significativa con el valor del hematocrito en PA leve. (Ver figura 12)

La concentración de glucosa es, al ingreso, superior a los valores del rango de normalidad y va decreciendo a lo largo de las extracciones hasta valores normales al mes del alta hospitalaria. Existen diferencias significativas entre todas las extracciones para PA grave y PA leve, excepto para la extracción correspondiente al mes del episodio agudo. (Ver figura 13)

En cuanto a la concentración de urea en sangre, se observan valores elevados al ingreso, con respecto a los valores de normalidad. Aunque estos valores van disminuyendo a lo largo del tiempo, al mes del ingreso aún se observan concentraciones de urea en sangre superiores al valor normal. Entre los pacientes PA grave y PA leve, existen diferencias significativas en todas las extracciones excepto en la última, que corresponde al mes del episodio agudo. (Ver figura 14)

El comportamiento de la creatinina a lo largo del tiempo es bastante característico. En el caso de la PA leve los valores se mantienen dentro del rango normal, mientras que en los pacientes PA grave la concentración está elevada con respecto a estos valores considerados normales, excepto al mes del ingreso. Existen diferencias significativas entre pacientes graves y leves en todas las extracciones, excepto en el momento de la “recuperación”, indicando una posible afectación de la función renal en los pacientes con complicaciones. (Ver figura 15)

La concentración del enzima lactato deshidrogenasa (LDH) es superior al rango de normalidad al ingreso, y se va reduciendo hasta llegar a valores normales al mes, extracción en la que ya no se observan diferencias significativas entre los pacientes con PA grave y los pacientes con PA leve. (Ver figura 16)

La velocidad de sedimentación globular presenta un pico importante a las 48 horas, encontrando además diferencia significativa en esta extracción entre los paciente leves y los graves. Los valores normales se han recuperado al mes del episodio agudo. (Ver figura 17)

La concentración de proteína C reactiva se observa incrementada a partir de las 24 horas, especialmente en los pacientes con PA grave, mostrando diferencia significativa con PA leve. Al mes del ingreso, los valores se encuentran dentro del rango normal, sin existir diferencia significativa entre graves y leves. (Ver figura 18)

En cuanto a la concentración de fibrinógeno en sangre, los resultados muestran diferencias importantes entre el comportamiento temporal de los pacientes con PA grave y leve. En ambos grupos, a las 24 horas y a las 48 horas, se observan valores superiores a los considerados normales, no existiendo diferencia significativa entre ellos. Sin embargo, al mes del ingreso el grupo PA leve ha recuperado valores normales, mientras que el grupo PA grave sigue manteniendo valores altos de fibrinógeno en sangre, por lo que se presenta diferencia significativa entre uno y otro. (Ver figura 19)

En las siguientes gráficas (figuras 8-18) se representa el valor medio del parámetro y el EEM de los pacientes con PA grave y PA leve desde el día del ingreso hasta pasado un mes del episodio agudo. El * indica diferencia significativa entre leve y grave para un valor de referencia $\alpha=0,05$. Entre paréntesis se presenta el rango de valores considerado normal para el parámetro en sangre.

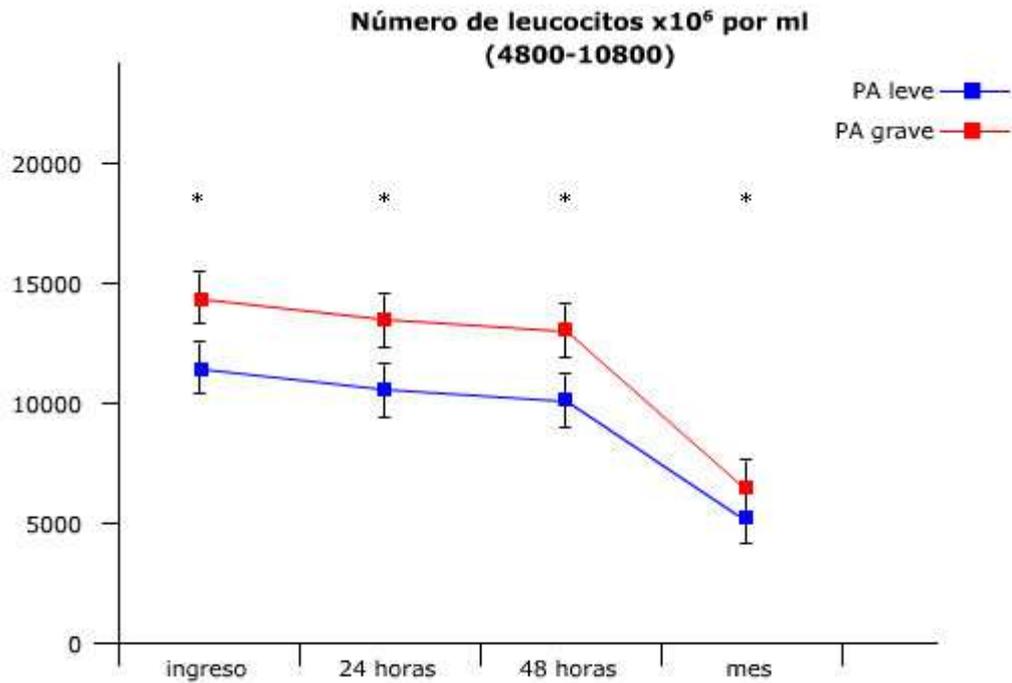


Figura 8: Análisis comparativo del número de leucocitos entre los pacientes con PA grave y los PA leve (se representa media \pm EEM) para las diferentes extracciones temporales.* $p < 0,05$.

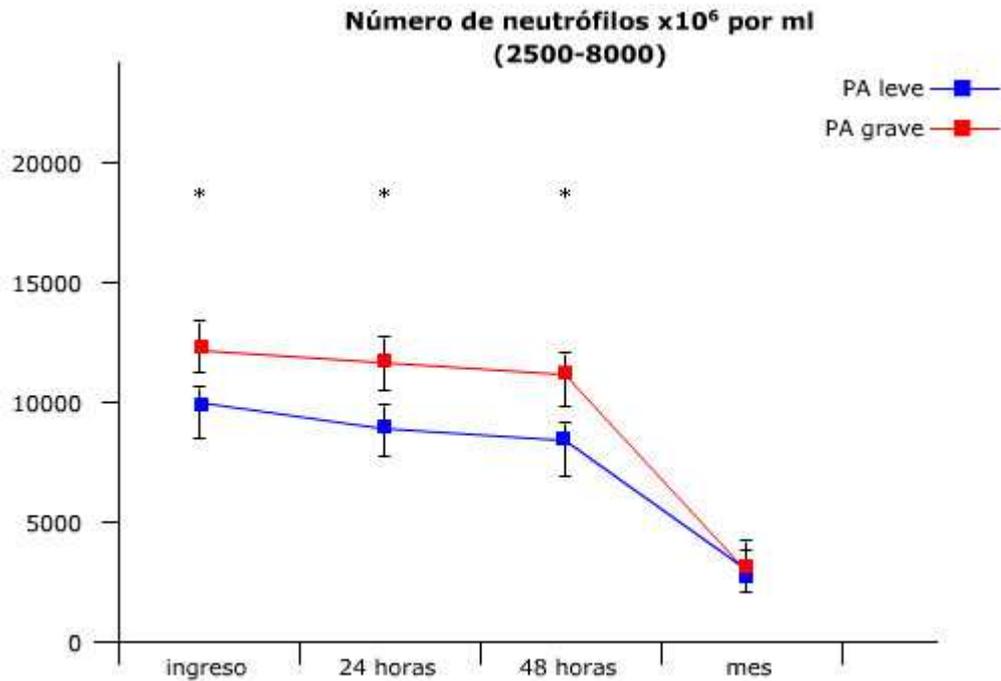


Figura 9: Análisis comparativo del número de neutrófilos entre los pacientes con PA grave y los PA leve (se representa media \pm EEM) para las diferentes extracciones temporales.* $p < 0,05$.

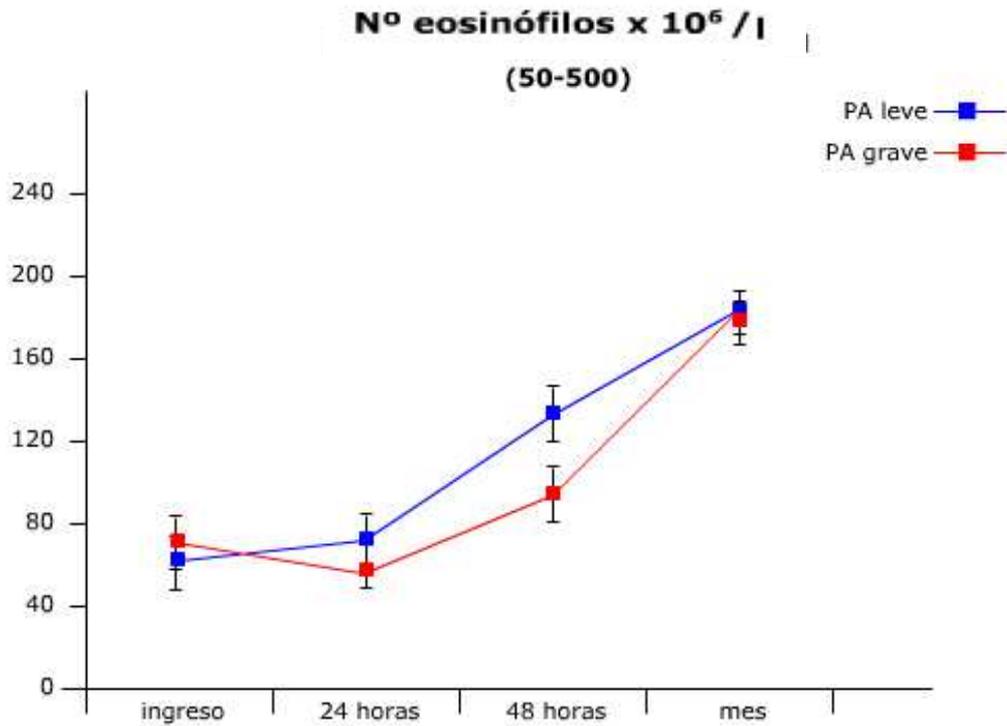


Figura 10: Análisis comparativo del número de eosinófilos entre los pacientes con PA grave y los PA leve (se representa media \pm EEM) para las diferentes extracciones temporales.* $p < 0,05$.

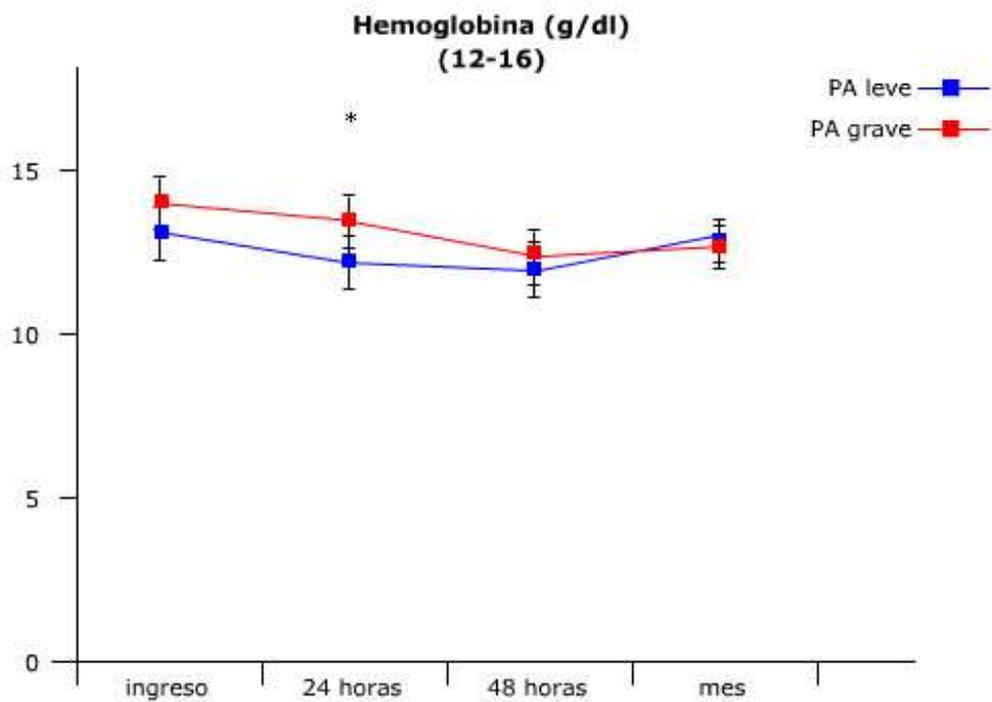


Figura 11: Análisis comparativo de la concentración de hemoglobina entre los pacientes con PA grave y los PA leve (se representa media \pm EEM) para las diferentes extracciones temporales.* $p < 0,05$.

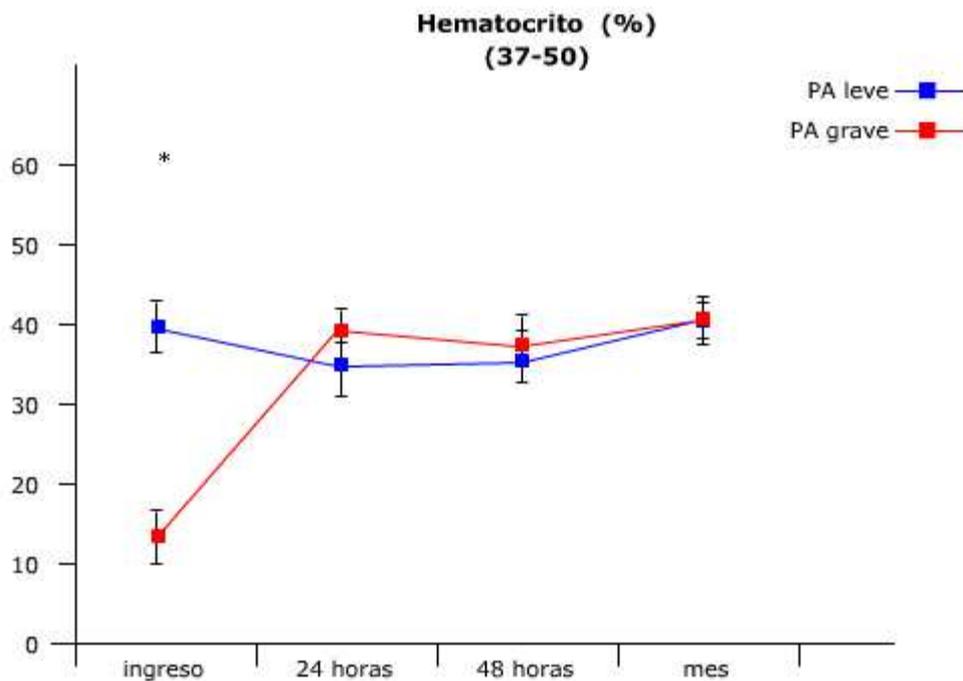


Figura 12: Análisis comparativo del porcentaje de hematocrito entre los pacientes con PA grave y los PA leve (se representa media \pm EEM) para las diferentes extracciones temporales.* $p < 0,05$.

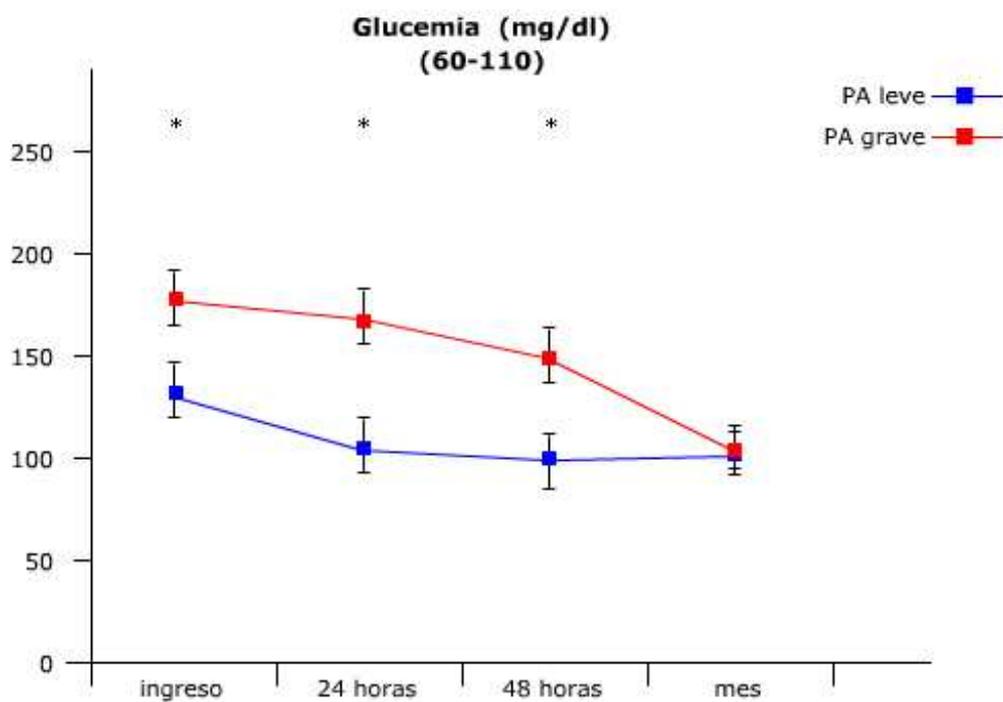


Figura 13: Análisis comparativo de la concentración de glucosa entre los pacientes con PA grave y los PA leve (se representa media \pm EEM) para las diferentes extracciones temporales.* $p < 0,05$.

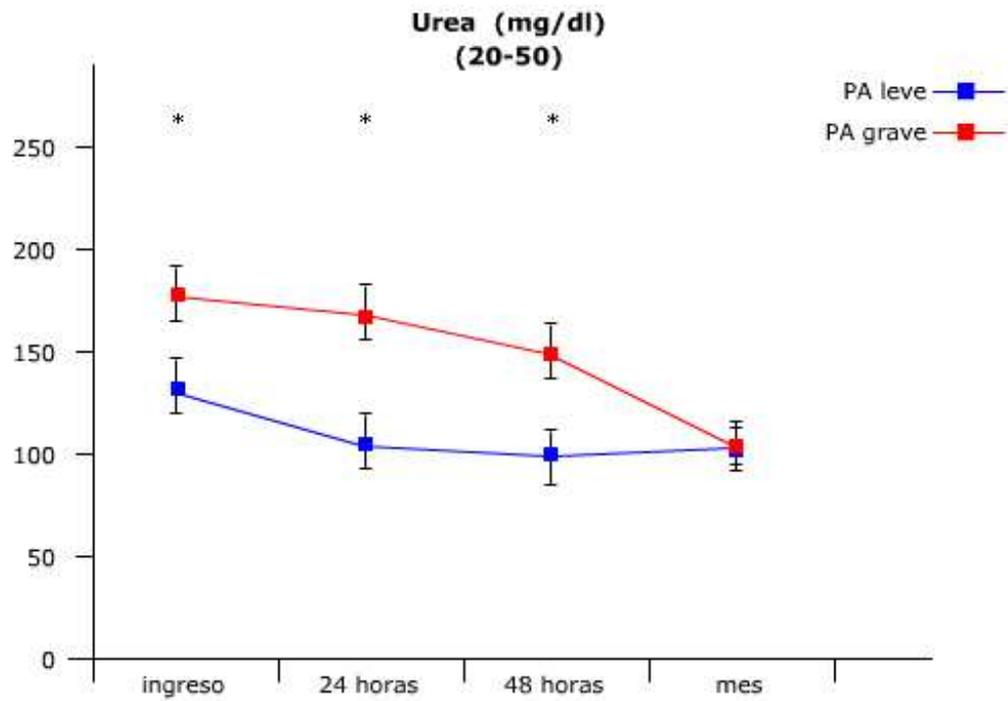


Figura 14: Análisis comparativo de la concentración de urea entre los pacientes con PA grave y los PA leve (se representa media \pm EEM) para las diferentes extracciones temporales.* $p < 0,05$.

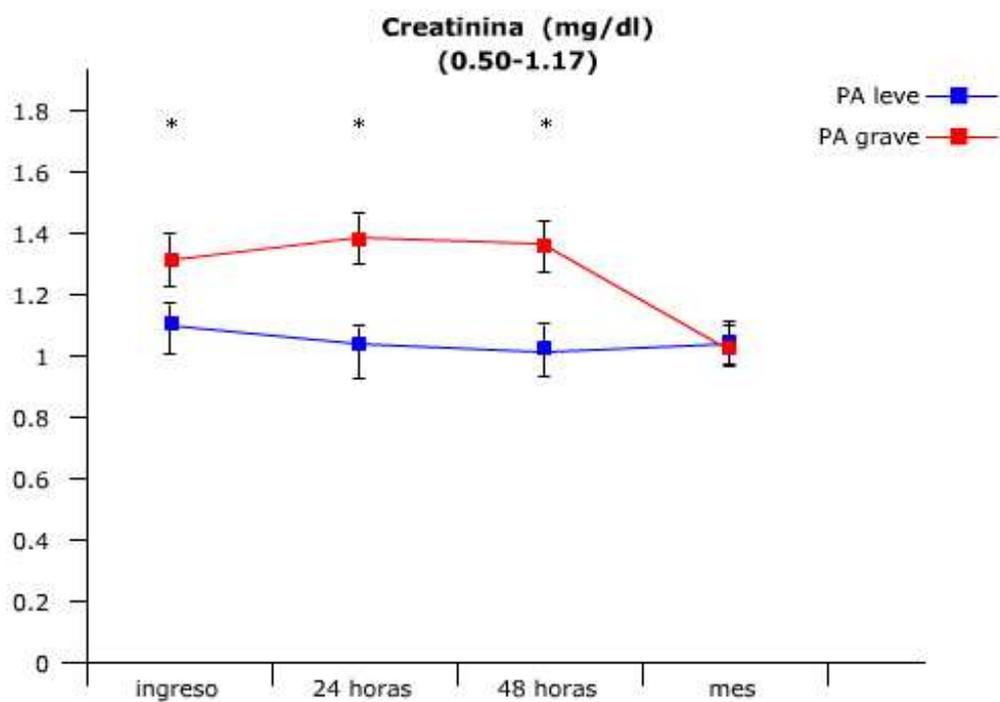


Figura 15: Análisis comparativo de la concentración de creatinina entre los pacientes con PA grave y los PA leve (se representa media \pm EEM) para las diferentes extracciones temporales.* $p < 0,05$.

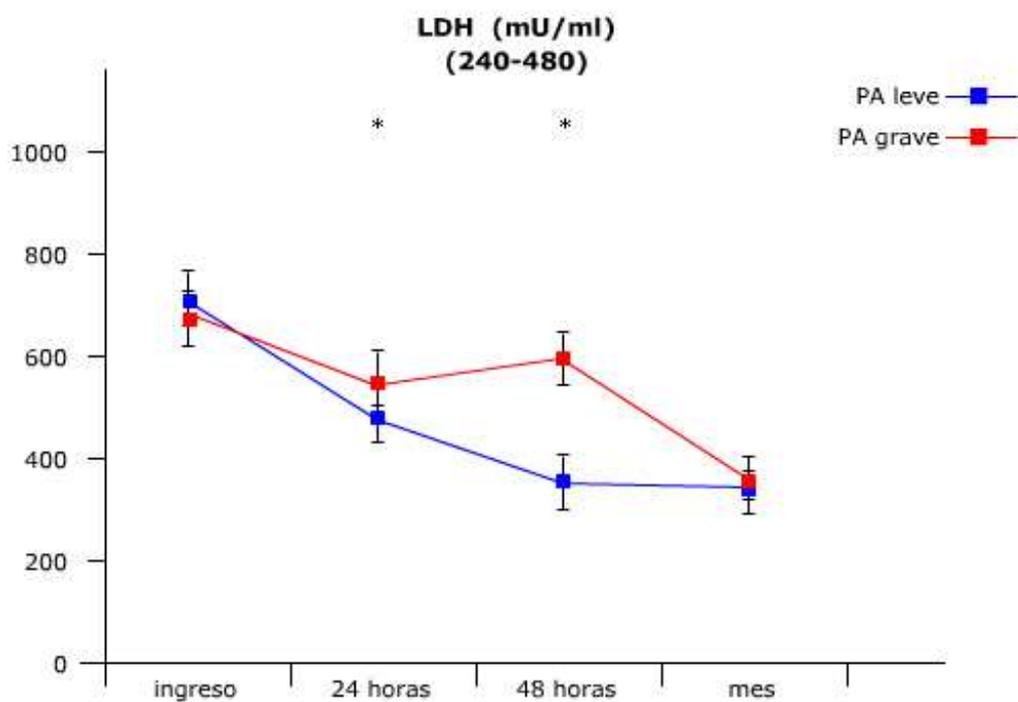


Figura 16: Análisis comparativo de la concentración de lactato deshidrogenasa (LDH) entre los pacientes con PA grave y los PA leve (se representa media \pm EEM) para las diferentes extracciones temporales.* $p < 0,05$.

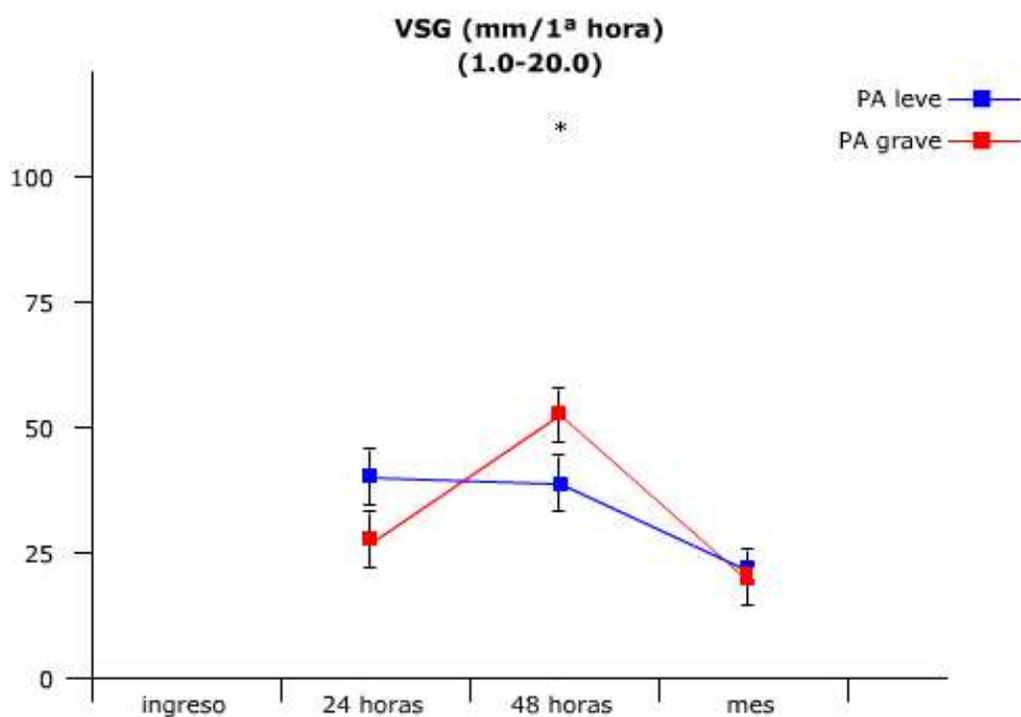


Figura 17: Análisis comparativo de la velocidad de sedimentación globular (VSG) entre los pacientes con PA grave y los PA leve (se representa media \pm EEM) para las diferentes extracciones temporales.* $p < 0,05$.

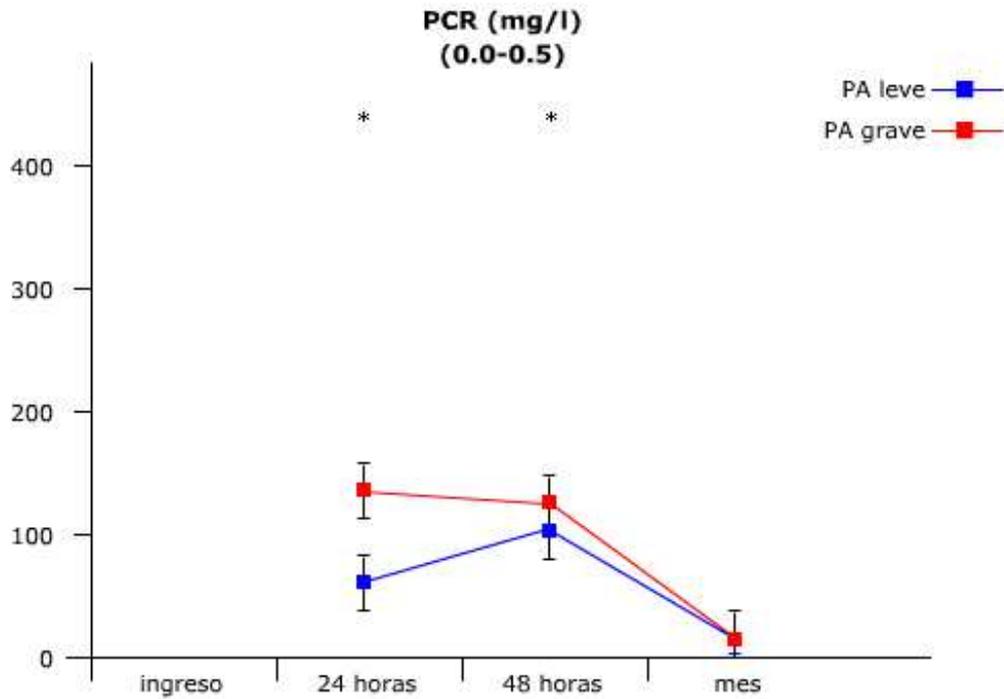


Figura 18: Análisis comparativo de la concentración de proteína C reactiva (PCR) entre los pacientes con PA grave y los PA leve (se representa media \pm EEM) para las diferentes extracciones temporales.* $p < 0,05$.

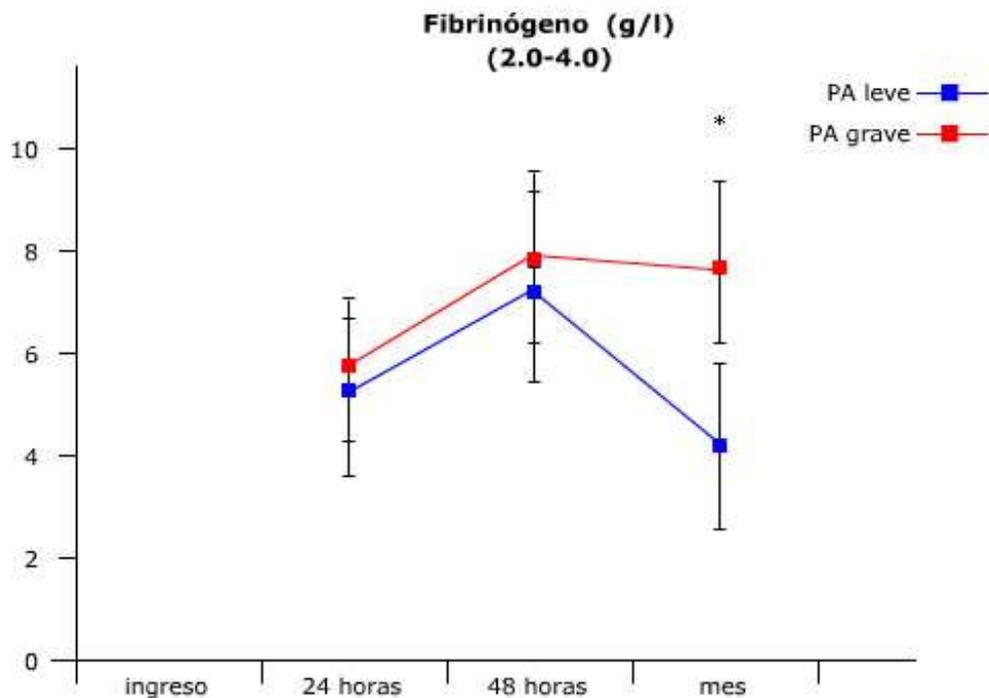


Figura 19: Análisis comparativo de la concentración de fibrinógeno entre los pacientes con PA grave y los PA leve (se representa media \pm EEM) para las diferentes extracciones temporales.* $p < 0,05$.

2. ESTUDIO CUANTITATIVO DEL EOSINÓFILO EN PACIENTES CON PANCREATITIS AGUDA

El estudio del número de eosinófilos en pacientes con pancreatitis aguda (PA) se realizó mediante recuento en sangre periférica del número de eosinófilos absolutos en el momento del ingreso en el hospital, tras 24 horas del ingreso, tras 48 horas, tras 96 horas y transcurrido, al menos, un mes del episodio agudo. Se realiza también el análisis en el momento de la aparición de alguna complicación sea local o sistémica.

La distribución de frecuencias del número de eosinófilos en sangre periférica dentro del grupo total de pacientes no sigue una distribución normal, por lo que se trabaja con la mediana y el rango intercuartílico (RIC) expresado como el cuartil 25 - cuartil 75. En determinadas ocasiones se presenta también el valor de la media y la desviación típica de ésta (media \pm DT). En los análisis estadísticos se asume un error de tipo I del 5% (valor de significación de referencia $\alpha = 0,05$).

2.1. Cuantificación de eosinófilos en pacientes con PA

Nuestros resultados muestran que el número de eosinófilos en los pacientes con pancreatitis aguda se incrementa a lo largo de la evolución del episodio, mostrando una diferencia significativa con respecto al ingreso a partir de las 48 horas, que se mantiene y es todavía mayor al mes del episodio agudo, aunque en todas las extracciones el número de eosinófilos en los pacientes con PA se encuentra dentro del intervalo considerado normal ($50-500 \times 10^6$ células por mililitro). Se muestran en la tabla 16 los estadísticos básicos del número de eosinófilos en los pacientes con pancreatitis aguda.

Tabla 16: Valores del número de eosinófilos $\times 10^6/l$ en los pacientes con PA en las diferentes extracciones temporales programadas y en el momento de la complicación. Se presenta la mediana, el rango intercuartílico (RIC) y la media \pm desviación típica.

Extracción	Mediana	RIC	Media	DT
Ingreso	50,00	20,00-105,00	45,05	68,08
24 horas	50,00	00,00-100,00	43,20	83,04
48 horas	100,00	12,50-200,00	48,27	130,80
Mes	150,00	100,00-200,00	61,16	159,81
Complicación	40,00	10,00-122,50	45,35	123,97

El tratamiento estadístico para comparar las muestras apareadas en las diferentes extracciones temporales se realiza mediante un test de Wilcoxon (test de comparación de rangos) obteniendo los valores p de significación que se muestran en la tabla 17. De este análisis cabe destacar que en el grupo total de pacientes con PA no se observan diferencias significativas entre el número de eosinófilos al ingreso y a las 24 horas, pero si se observan entre el momento del ingreso y a las 48 horas y momento de "recuperación", así como entre estas dos determinaciones. (Ver figura 20)

Tabla 17: Valores de significación para la comparación del número de eosinófilos entre diferentes extracciones temporales en los pacientes con PA. * $p < 0,05$.

	ingreso	24h	48h	mes
Valor "p" (ingreso)	-	0,832	0,001*	0,001*
Valor "p" (24h)	-	-	0,001*	0,001*
Valor "p" (48h)	-	-	-	0,001*

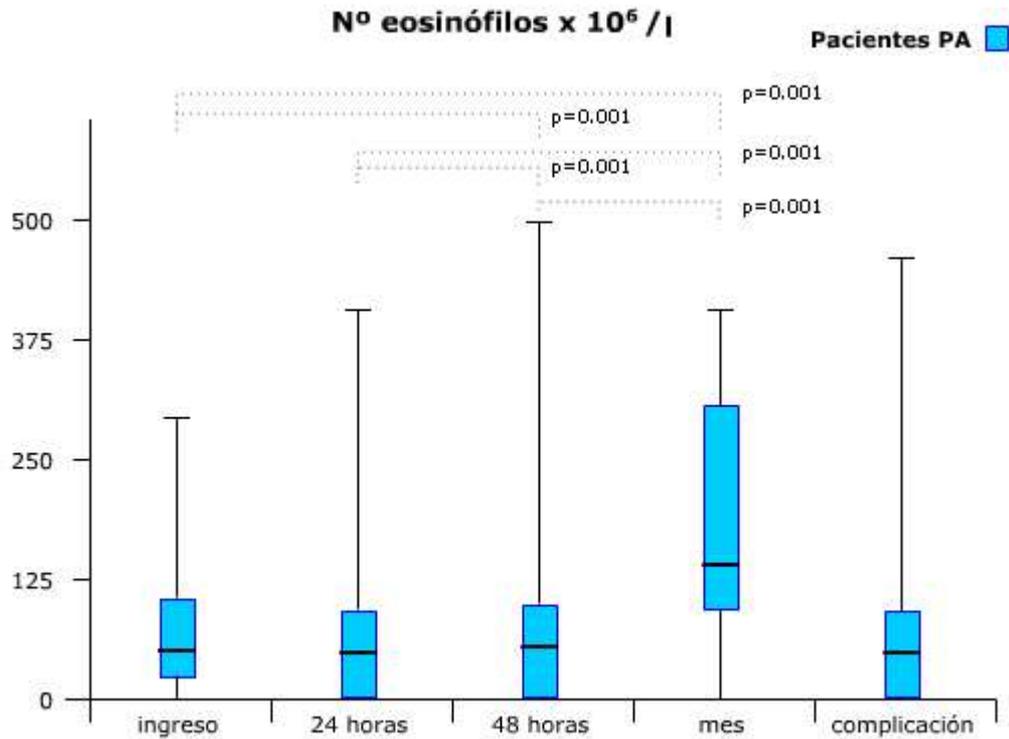


Figura 20: Número de eosinófilos en cada extracción temporal en pacientes PA. Datos representados como mediana (línea horizontal) y RIC (cajas). Las barras indican el valor máximo y mínimo para cada tiempo. Se indica valor p entre las distintas extracciones si es significativo.

2.2. Determinación del número de eosinófilos en pacientes con PA en relación con la etiología

Se aborda el análisis estadístico de la evolución del número de eosinófilos en pacientes con PA en relación con la etiología desde dos ópticas: la igualdad entre las muestras de la misma extracción temporal en las diferentes etiologías y la igualdad para cada grupo de pacientes con la misma etiología entre las diferentes extracciones.

Para realizar el análisis estadístico del comportamiento del número de eosinófilos en sangre en la misma extracción temporal en relación con la etiología del episodio de pancreatitis aguda, se aplica un test U de Mann-Whitney para muestras independientes, comparando entre si los diferentes grupos de pacientes según la etiología, en cada uno de los momentos evolutivos del estudio. Este análisis no se realiza en la etiología miscelánea, dado que en este grupo sólo se clasifican tres pacientes. Los estadísticos básicos para cada grupo se presentan en la tabla 18 y los valores p de significación para la comparación entre grupos etiológicos se muestran en la tabla 19.

Los resultados muestran que existen diferencias en el valor de eosinófilos entre los grupos de las diferentes etiologías; en concreto, los pacientes con etiología alcohólica presentan un mayor número de eosinófilos ($p < 0,05$) en el momento del ingreso y, especialmente, al mes del alta hospitalaria respecto a los pacientes con PA biliar e idiopática (figura 21).

Tablas 18: Número de eosinófilos $\times 10^6/l$ en pacientes con PA biliar, PA alcohólica y PA idiopática (se muestra la mediana y el RIC).

Extracción	PA biliar		PA alcohólica		PA idiopática	
	mediana	RIC	mediana	RIC	mediana	RIC
Ingreso	50,00	20,00-100,00	90,00	60,00-160,00	20,00	10,00-80,00
24 horas	50,00	0,00-100,00	100,00	10,00-205,00	10,00	0,00-100,00
48 horas	100,00	10,00-200,00	160,00	100,00-200,00	100,00	0,00-155,00
Mes	200,00	100,00-200,00	300,00	250,00-600,00	100,00	100,00-200,00

Tablas 19: Valores p de significación para la comparación del número de eosinófilos entre los grupos de pacientes PA establecidos en función de la etiología. * $p < 0,05$.

Comparación	Valor p ingreso	Valor p 24h	Valor p 48h	Valor p mes
biliar-alcohólica	0,035*	0,182	0,254	0,031*
biliar-idiopática	0,067	0,223	0,251	0,164
alcohólica-idiopática	0,020*	0,020*	0,013*	0,016*

Dado que existe un aumento significativo de eosinófilos en los pacientes con PA alcohólica con respecto al resto de etiologías al mes del episodio agudo se analiza la correlación entre la cantidad de alcohol consumida al día (expresada en gramos/día) y el número de eosinófilos en los pacientes clasificados como PA etílica ($n=17$), no encontrando una correlación estadísticamente significativa ($p=0,381$) entre ambos parámetros.

Con respecto al comportamiento temporal (evolución) del número de eosinófilos en relación con la etiología, nuestros resultados muestran que el número de eosinófilos se incrementa progresivamente en todos los grupos de diferente etiología a partir de las 48 horas tras el ingreso, y que este incremento es mucho más acusado en el grupo de pacientes PA de etiología alcohólica (figura 21).

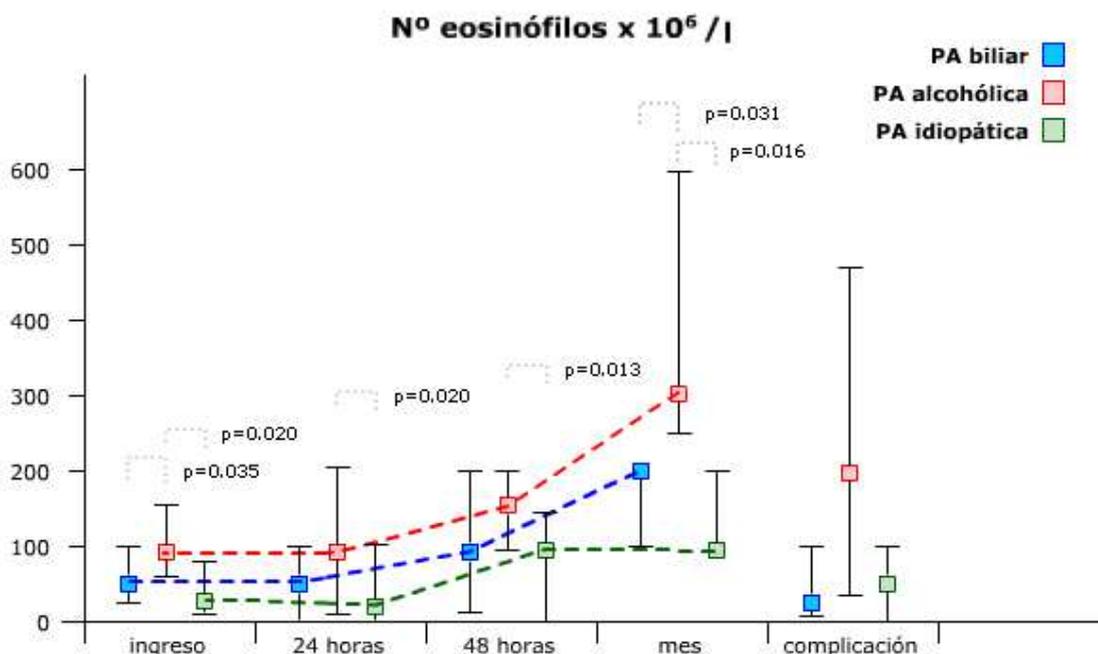


Figura 21: Análisis comparativo del número de eosinófilos entre los pacientes con PA biliar, PA etílica y PA idiopática, para las diferentes extracciones temporales. El cuadrado indica la mediana y las barras verticales indican el RIC. Se incluye $p < 0,05$.

Para realizar el análisis estadístico de contraste de hipótesis para la igualdad entre las diferentes extracciones de cada grupo de pacientes con la misma etiología se utiliza un test de Wilcoxon para muestras apareadas. Los resultados se muestran en la tabla 20 e indican que:

- para la etiología biliar existen diferencias estadísticamente significativas entre las extracciones al ingreso y a las 48 horas y al mes; entre las 24 horas y las 48 horas y entre las 24 horas y momento de recuperación (mes tras alta); y finalmente entre las 48 horas y el mes.
- para la etiología alcohólica existen diferencias estadísticamente significativas entre las extracciones de las 24 horas y las 48 horas, así como entre todas las extracciones y el mes.
- para la etiología no filiada existen diferencias estadísticamente significativas entre las extracciones del ingreso y las 48 horas, y el ingreso y el mes; entre las 24 horas y las 48 horas, entre las 24 horas y el mes, y finalmente entre las 48 horas y el mes.

Tablas 20: Valores de significación para la comparación del número de eosinófilos entre diferentes extracciones temporales en los pacientes con PA de origen biliar, origen etílico y origen desconocido. * $p < 0,05$.

PA de etiología biliar

	ingreso	24h	48h	mes
Valor "p ₁ " (ingreso)	-	0,791	0,002*	0,001*
Valor "p ₂ " (24h)	-	-	0,001*	0,001*
Valor "p ₃ " (48h)	-	-	-	0,005*

PA de etiología alcohólica

	ingreso	24h	48h	mes
Valor "p ₁ " (ingreso)	-	0,474	0,093	0,005*
Valor "p ₂ " (24h)	-	-	0,016*	0,002*
Valor "p ₃ " (48h)	-	-	-	0,022*

PA de etiología idiopática

	ingreso	24h	48h	mes
Valor "p ₁ " (ingreso)	-	0,649	0,011*	0,021*
Valor "p ₂ " (24h)	-	-	0,016*	0,006*
Valor "p ₃ " (48h)	-	-	-	0,070*

En resumen, existe un incremento estadísticamente significativo del número de eosinófilos periféricos a partir de las 48 horas del ingreso en los pacientes con PA independientemente del grupo etiológico en el que se han clasificado.

2.3. Determinación del número de eosinófilos en pacientes con PA leve y PA grave

Se aborda el análisis estadístico de la evolución del número de eosinófilos en pacientes con PA grave y en pacientes con PA leve desde 2 ópticas diferentes: la igualdad entre las muestras de la misma extracción temporal en cada uno de los grupos y la igualdad para el grupo de pacientes con la misma gravedad entre las diferentes extracciones.

Se realizan los análisis estadísticos, mediante un test U de Mann-Whitney para medianas de muestras independientes, para comparar el número de eosinófilos en sangre periférica entre el grupo de pacientes PA leve y el grupo de pacientes PA grave y establecer si existen o no diferencias significativas entre ellos. Con dicho análisis observamos que no existen diferencias significativas en el número de eosinófilos entre el grupo de pacientes con PA grave y el grupo de pacientes con PA leve en el momento del ingreso. Lo mismo ocurre con las diferentes extracciones temporales entre los 2 grupos de pacientes: no se observan diferencias estadísticamente significativas en la misma extracción temporal entre PA grave y PA leve en ninguno de los casos. (Ver tabla 21 y figura 22)

Tabla 21: Valores del número de eosinófilos $\times 10^6/l$ en pacientes con PA grave y en pacientes con PA leve (se muestra la mediana y el RIC). En la última columna se muestra el valor de significación (p) para la comparación PA leve vs. PA grave. * $p < 0,05$.

Extracción	PA leve		PA grave		p
	mediana	RIC	mediana	RIC	
Ingreso	45,00	20,00-100,00	60,00	10,00-120,00	0,738
24 horas	60,00	0,00-100,00	10,00	0,00-50,00	0,347
48 horas	100,00	40,00-200,00	60,00	0,00-105,00	0,103
Mes	200,00	100,00-200,00	100,00	100,00-300,00	0,740

En cuanto al comportamiento temporal del número de eosinófilos en los pacientes con PA nuestros resultados muestran que el número de eosinófilos en los pacientes con PA leve se incrementa desde el día del ingreso hasta el mes del episodio. En los casos con PA grave, el incremento se observa transcurridas 24 horas del ingreso y es progresivo hasta pasado un mes del episodio agudo. El análisis detallado de los resultados evidencia que:

- en los pacientes con PA leve no se observan diferencias significativas entre el número de eosinófilos al ingreso y a las 24 horas, pero si se observan entre el momento del ingreso y a las 48 horas y en el momento de “recuperación”, entre las 24 horas y las 48 horas, entre las 24 horas y al mes, así como entre 48 horas y al mes del alta hospitalaria (tabla 22)
- en los pacientes con PA grave se detectan diferencias significativas estadísticamente entre el número de eosinófilos al mes del alta hospitalaria y en el momento del ingreso, a las 24 horas y a las 48 horas del ingreso (tabla 22)

De todo este análisis se concluye que en la pancreatitis aguda leve, el número de eosinófilos en sangre periférica aumenta significativamente, con respecto al ingreso, desde las 48 horas hasta el mes del alta; pero en los pacientes con PA grave, el incremento en el número de eosinófilos sólo obtiene significación estadística al mes del episodio agudo.

Tablas 22: Valores de significación para la comparación del número de eosinófilos entre diferentes extracciones temporales en los pacientes con PA leve o en los pacientes con PA grave. * $p < 0,05$.

PA leve

	ingreso	24h	48h	mes
Valor “ p_1 ” (ingreso)	-	0,817	0,001*	0,001*
Valor “ p_2 ” (24h)	-	-	0,001*	0,001*
Valor “ p_3 ” (48h)	-	-	-	0,001*

PA grave

	ingreso	24h	48h	mes
Valor “ p_1 ” (ingreso)	-	0,304	0,350	0,001*
Valor “ p_2 ” (24h)	-	-	0,162	0,004*
Valor “ p_3 ” (48h)	-	-	-	0,012*

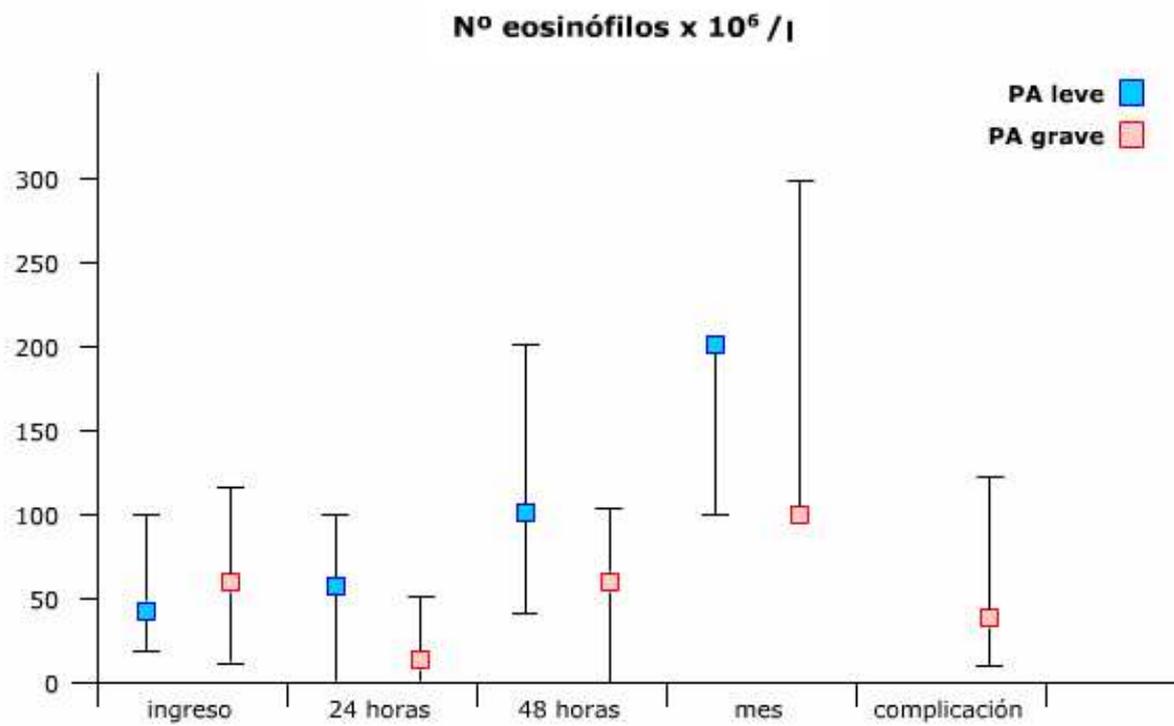


Figura 22: Comparación del número de eosinófilos entre el grupo de pacientes con PA grave y el grupo con PA leve para las diferentes extracciones temporales. Se representa la mediana (cuadro) y RIC (líneas verticales). No existen diferencias significativas PA leve vs PA grave.

2.4. Determinación del número de eosinófilos en pacientes con PA en relación con la aparición de complicaciones locales y complicaciones sistémicas

Se aborda el análisis estadístico de la evolución del número de eosinófilos en pacientes con PA en relación con la aparición de complicaciones locales o complicaciones sistémicas desde dos puntos de vista: la igualdad de medianas entre la misma extracción temporal en la aparición de complicaciones locales o de complicaciones sistémicas y la igualdad de medianas entre las diferentes extracciones de cada grupo de pacientes con unas u otras complicaciones.

En cuanto a la comparación entre el número de eosinófilos en los pacientes con PA acompañada de complicaciones locales y los PA acompañada de complicaciones sistémicas observamos que el número de eosinófilos es similar en ambos grupos, excepto en la extracción realizada en el momento de la aparición de la complicación. En la tabla 23 se presenta el valor de la mediana y el RIC para los dos grupos de pacientes con PA grave al ingreso, transcurridas 24, 48 y 96 horas, tras un mes del episodio agudo, y en el momento de la aparición de la complicación. Para realizar el análisis estadístico del comportamiento del número de eosinófilos en sangre periférica en la misma extracción temporal en relación con la presencia de unas u otras complicaciones se aplica el test U de Mann-Whitney para muestras independientes, comparando el número de eosinófilos en el grupo de pacientes con complicaciones locales en cada una de las muestras programadas con el número de eosinófilos en cada muestra seriada en los pacientes PA con complicaciones sistémicas. En la tabla 23 se presenta el valor de significación para la comparación entre los dos grupos de PA grave.

Los resultados del análisis estadístico muestran que sólo existe una diferencia significativa entre ambos grupos en el momento de la aparición de las complicaciones (figura 23), momento en el que el grupo de pacientes con complicaciones sistémicas presenta una mediana de concentración de eotaxina menor que el grupo de complicaciones locales.

Tabla 23: Valores del número de eosinófilos- $10^6/l$ en pacientes con PA grave acompañada de complicaciones locales y en pacientes con PA grave acompañada de complicaciones sistémicas (se muestra la mediana y el RIC). En la última columna se muestra el valor de significación (p) para la comparación entre los dos grupos de pacientes con PA grave. * $p < 0,05$.

Extracción	PA complic. locales		PA complic. sistémicas		P
	mediana	RIC	mediana	RIC	
Ingreso	20,00	10,00-110,00	80,00	20,00-120,00	0,985
24 horas	10,00	00,00-55,00	20,00	0,00-100,00	0,940
48 horas	20,00	00,00-100,00	20,00	0,00-105,00	0,414
Mes	100,00	100,00-125,00	100,00	100,00-150,00	0,798
Complicación	200,00	55,00-380,00	30,00	2,50-100,00	0,017*

La evolución del número de eosinófilos en los pacientes con complicaciones exclusivamente locales y en los pacientes con complicaciones sistémicas se mantiene paralela, siendo siempre inferior el número de células en sangre en los pacientes con complicaciones sólo sistémicas. En conjunto se puede concluir que el número de eosinófilos es mayor en la PA leve que en la PA grave, y dentro de esta última es mayor en los casos con complicaciones locales que en los casos con complicaciones sistémicas, aunque no se evidencian diferencias estadísticamente diferentes entre PA grave vs. PA leve y entre PA grave complicaciones locales y PA grave complicaciones sistémicas, excepto en el momento de la aparición de la complicación.

Para realizar el análisis estadístico de contraste de hipótesis para la igualdad de la mediana entre las diferentes extracciones de cada grupo de pacientes con complicaciones locales o con complicaciones sistémicas, se utiliza un test de Wilcoxon para muestras apareadas entre las distintas extracciones: ingreso, 24 horas, 48 horas y mes tras el alta. Los resultados se presentan en la tabla 24 e indican que:

- para la PA con complicaciones locales se observan diferencias estadísticamente significativas entre las extracciones del ingreso y del mes, así como entre las 24 horas y el mes, siendo superior el número de eosinófilos en la extracción al mes.
- para la PA con complicaciones sistémicas no se observan diferencias significativas en el valor de eosinófilos entre las distintas extracciones.

Tabla 24: Valores de significación para la comparación de la media del valor de eosinófilos entre diferentes extracciones temporales en los pacientes con PA acompañada sólo de complicaciones locales y sólo de complicaciones sistémicas. * $p < 0,05$.

PA con complicaciones locales

	ingreso	24h	48h	mes
Valor "p ₁ " (ingreso)	-	0,785	0,244	0,044*
Valor "p ₂ " (24h)	-	-	0,246	0,048*
Valor "p ₃ " (48h)	-	-	-	0,364

PA con complicaciones sistémicas

	ingreso	24h	48h	mes
Valor "p ₁ " (ingreso)	-	0,785	0,244	0,084
Valor "p ₂ " (24h)	-	-	0,246	0,088
Valor "p ₃ " (48h)	-	-	-	0,364

En resumen, en los pacientes con PA grave con complicaciones locales se observa un incremento de eosinófilos periféricos en el momento de "recuperación" (mes del alta) respecto a las extracciones realizadas al ingreso y 24 horas, mientras que en los pacientes con PA grave con complicaciones sistémicas no se observa una modificación significativa estadísticamente del número de eosinófilos a lo largo de la evolución temporal analizada.

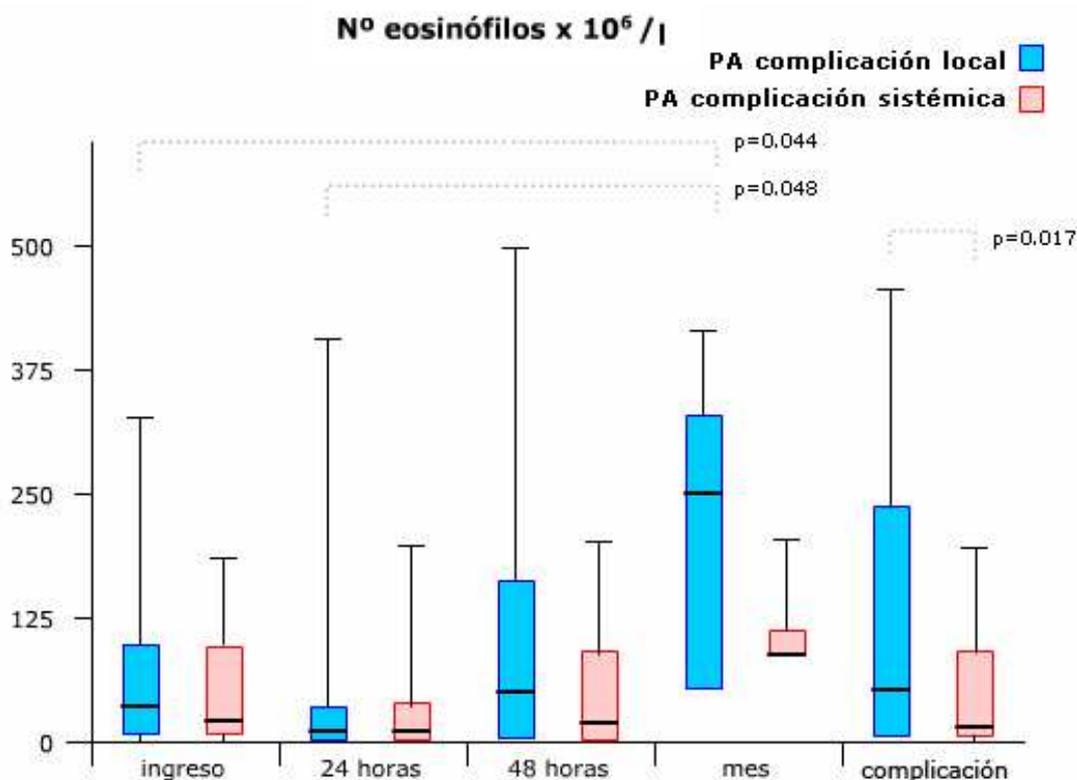


Figura 23: Número de eosinófilos en cada extracción temporal en pacientes PA con complicaciones locales y complicaciones sistémicas. Datos representados como mediana (línea horizontal), RIC (cajas) y valor máximo y mínimo (líneas verticales). Se indica $p < 0,05$.

2.5. Correlación del número de eosinófilos con parámetros de inflamación en los pacientes con PA

El análisis de correlación entre el número de eosinófilos en sangre periférica y los parámetros inflamatorios (número de leucocitos y de neutrófilos, concentración de proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular y concentración de fibrinógeno) en cada una de las extracciones para el grupo total de pacientes con PA muestra que existe una correlación significativa mínima inversa ($r_s < 0,5$) entre el número de eosinófilos y el número de leucocitos, así como entre el número de eosinófilos y el número de neutrófilos en los pacientes con PA, que se repite en los análisis para los pacientes con PA leve. Esta tendencia varía a lo largo de la evolución del episodio, y al mes del ingreso se presenta una correlación mínima directa significativa entre el número de eosinófilos y el número de leucocitos, en el grupo total de pacientes y en el grupo de pacientes con PA leve.

Se observa también una correlación buena ($0,75 < r_s < 0,85$) entre el número de eosinófilos y la concentración de fibrinógeno, así como entre el número de eosinófilos y la VSG en los pacientes con PA grave a las 48 horas del ingreso del paciente, encontrándose ambos parámetros a las 48 horas significativamente por encima de los límites de normalidad.

No se observan más correlaciones relevantes en el resto de extracciones temporales programadas ni en el momento de la aparición de la complicación para el grupo total de pacientes con PA. Los valores de correlación y de significación estadística, si existe, se presentan en la tabla 25.

Tabla 25: Coeficientes de correlación (r de Spearman) entre eosinófilos y parámetros inflamatorios en las diferentes extracciones en los pacientes con PA. Sólo se indica significatividad estadística (entre paréntesis), si $p < 0,05$.

Com: momento de aparición de la complicación; FIB: fibrinógeno; LEU: leucocitos; NEU: neutrófilos; PCR: proteína C reactiva; VSG: velocidad de sedimentación globular.

	Eosinófilos ingreso		
	Total PA	PA leve	PA grave
LEU 24 h	-0,080	-0,092	0,012
NEU 24h	-0,262 (0,007)	-0,288 (0,007)	-0,129

Eosinófilos 24 horas

	Total PA	PA leve	PA grave
LEU 24h	-0,270 (0,003)	-0,237 (0,020)	-0,277
NEU 24h	-0,362 (0,001)	-0,350 (0,001)	-0,382
PCR 24h	0,079	0,056	0,187
VSG 24h	0,115	0,202	0,015
FIB 24h	0,270 (0,024)	0,042	0,262

Eosinófilos 48 horas

	Total PA	PA leve	PA grave
LEU 48h	-0,138	-0,078	-0,176
NEU 48h	-0,206 (0,026)	-0,151	-0,317
PCR 48h	-0,095	-0,051	-0,254
VSG 48h	0,040	-0,060	0,752 (0,018)
FIB 48h	-0,052	-0,119	0,781 (0,007)

Eosinófilos mes

	Total PA	PA leve	PA grave
LEU mes	0,330 (0,005)	0,306 (0,016)	0,291
NEU mes	0,168	0,147	0,283
PCR mes	-0,081	-0,109	0,094
VSG mes	-0,047	-0,041	-0,066
FIB mes	0,043	-0,025	0,431

Eosinófilos complicación

	Total PA	PA leve	PA grave
LEU com	-	-	-0,055
NEU com	-	-	-0,249
PCR com	-	-	-0,222
VSG com	-	-	0,442
FIB com	-	-	0,154

2.6. Correlación del número de eosinófilos con parámetros de inflamación en los pacientes con PA clasificados según la etiología

El análisis de la correlación entre el número de eosinófilos en sangre periférica y los parámetros inflamatorios (número de leucocitos y de neutrófilos, concentración de proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular y concentración de fibrinógeno) en cada una de las extracciones para el grupo total de pacientes con pancreatitis aguda de origen biliar, de origen alcohólico y de origen idiopático muestra que la correlación más relevante por ser excelente y con significación estadística, se observa entre el valor de VSG y el número de eosinófilos a las 24 horas del ingreso en los pacientes con PA de etiología alcohólica. También existe una buena correlación entre la concentración de fibrinógeno y el número de eosinófilos en esta misma extracción y etiología. Y se observan correlaciones aceptables y significativas entre el número de eosinófilos y el de leucocitos, así como entre eosinófilos y neutrófilos en la etiología alcohólica transcurrido un mes del ingreso del paciente en el hospital.

Se observa también una correlación inversa aceptable y significativa en la PA biliar entre el número de leucocitos y el número de eosinófilos así como entre eosinófilos y neutrófilos transcurridas 24 horas desde el ingreso del paciente en el hospital, que se mantiene pero de forma más débil a las 48 horas del ingreso.

No existen otras correlaciones significativas entre el resto de factores analizados. Los valores de correlación y de significación estadística, si existe, se presentan en la tabla 26. No se presentan los resultados para la etiología miscelánea dado que el número de pacientes no alcanza el tamaño muestral determinado en el apartado de Material y Métodos.

Tabla 26: Análisis de correlación (Spearman) entre eosinófilos y parámetros inflamatorios en las diferentes extracciones en los pacientes con PA clasificados según la etiología. Se indica significación (entre paréntesis) si $p < 0,05$.

FIB: fibrinógeno; LEU: leucocitos; NEU: neutrófilos; PCR: proteína C reactiva; VSG: velocidad de sedimentación globular.

	Eosinófilos ingreso		
	PA biliar	PA alcohólica	PA idiopática
LEU 24 h	-0,223	0,077	0,031
NEU 24h	-0,334 (0,005)	-0,219	-0,257

	Eosinófilos 24 horas		
	PA biliar	PA alcohólica	PA idiopática
LEU 24h	-0,438 (0,001)	0,045	-0,016
NEU 4h	-0,505 (0,001)	-0,012	-0,167
PCR 24h	0,133	-0,082	0,137
VSG 24h	0,140	0,883 (0,001)	-0,151
FIB 24h	0,233	0,736 (0,015)	0,123

	Eosinófilos 48 horas		
	PA biliar	PA alcohólica	PA idiopática
LEU 48h	-0,266 (0,021)	0,338	-0,082
NEU 84h	-0,302 (0,008)	0,199	-0,182
PCR 48h	-0,192	0,164	-0,136
VSG 48h	0,059	0,429	-0,392
FIB 48h	-0,009	0,177	0,054

	Eosinófilos mes		
	PA biliar	PA alcohólica	PA idiopática
LEU mes	0,244	0,679 (0,044)	-0,044
NEU mes	0,098	0,566	-0,146
PCR mes	0,132	-0,301	0,078
VSG mes	0,192	-0,092	-0,079
FIB mes	0,041	-0,078	0,263

2.7. Correlación del número de eosinófilos con parámetros de inflamación en los pacientes con PA acompañada de complicaciones

El análisis de la correlación entre el número de eosinófilos en sangre periférica y los parámetros inflamatorios (número de leucocitos y de neutrófilos, concentración de proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular y concentración de fibrinógeno) en cada una de las extracciones para el grupo total de pacientes con pancreatitis aguda grave muestra que la correlación más relevante por ser excelente y con significación estadística, se observa entre el valor del fibrinógeno y el número de eosinófilos al mes del ingreso en los pacientes con complicaciones sistémicas, hecho que no se observa en ninguna otra correlación establecida (tabla 27), así como entre la VSG y los eosinófilos a las 24 horas.

Tabla 27: Análisis de correlación (r de Spearman) entre eosinófilos y parámetros inflamatorios en las diferentes extracciones en los pacientes con PA acompañada de complicaciones locales o de complicaciones sistémicas. Se indica significación (entre paréntesis) si $p < 0,05$. Compli: momento de aparición de la complicación; FIB: fibrinógeno; LEU: leucocitos; NEU: neutrófilos; PCR: proteína C reactiva; VSG: velocidad de sedimentación globular

	Eosinófilos ingreso		
	PA leve	Compli. locales	Compli. sistémicas
LEU 24 h	-0,092	0,004	-0,041
NEU 24h	-0,288 (0,007)	-0,107	-0,041

	Eosinófilos 24 horas		
	PA leve	Compli. locales	Compli. sistémicas
LEU 24h	-0,237 (0,020)	-0,223	-0,265
NEU 24h	-0,350 (0,001)	-0,421	-0,375
PCR 24h	0,056	0,137	0,251
VSG 24h	0,202	0,773 (0,025)	0,560
FIB 24h	0,042	0,698	0,504

	Eosinófilos 48 horas		
	PA leve	Compli. locales	Compli. sistémicas
LEU 48h	-0,078	0,120	-0,515
NEU 48h	-0,151	-0,099	-0,542
PCR 48h	-0,051	-0,167	-0,565
VSG 48h	-0,060	0,550	0,689
FIB 48h	-0,119	0,680	0,618

	Eosinófilos mes		
	PA leve	Compli. locales	Compli. sistémicas
LEU mes	0,306 (0,016)	0,683	0,655
NEU mes	0,147	0,493	0,707
PCR mes	-0,109	0,074	-0,112
VSG mes	-0,041	0,286	-0,396
FIB mes	-0,025	0,364	0,999 (0,001)

3. EXPRESIÓN DE EOTAXINA EN PACIENTES CON PANCREATITIS AGUDA

El estudio de la expresión de eotaxina en pacientes con pancreatitis aguda (PA) se realizó mediante la determinación en suero de la concentración de esta quimiocina a las 24, 48 horas y 96 horas del ingreso (momento agudo de la enfermedad) y pasado un mes del alta hospitalaria (momento de la recuperación). Se realiza también el estudio en el momento de la aparición de alguna complicación sean complicaciones locales o sistémicas. Dado que la mayoría de las complicaciones aparecen en la misma fecha que la primera, segunda o tercera extracción (70% de los casos) y el resto aparecen pasados 8 días (30% de los casos) no se referencian separadamente los niveles de eotaxina en las gráficas de comportamiento temporal.

La distribución de frecuencias de los valores de eotaxina en suero dentro del grupo total de pacientes y dentro del grupo control siguen una distribución normal, por lo que se aplican análisis estadísticos paramétricos (media y desviación típica o error estándar de la media). También se muestran los resultados de la mediana y el RIC. En las representaciones gráficas se utilizan indistintamente unos u otros valores. En los análisis estadísticos se asume un error de tipo I del 5% (valor de significación de referencia $\alpha = 0,05$).

3.1. Expresión de eotaxina en pacientes con pancreatitis aguda

Se aborda el análisis estadístico de la concentración de eotaxina en pacientes con PA desde dos ópticas: la diferencia entre los sujetos control y los pacientes y la evolución para el grupo de pacientes a lo largo del episodio agudo y en el momento de la recuperación.

3.1.1. Concentración de eotaxina en el grupo control y en pacientes PA

Los resultados muestran que el nivel de eotaxina en sangre de los pacientes con PA es similar al nivel del grupo control a las 24 y 48 horas, observándose un incremento importante a las 96 horas del ingreso con respecto al grupo control, que aún es más elevado al mes del episodio agudo. En la tabla 28 se presentan los valores de la media y la desviación típica para todas las extracciones temporales y para el momento de aparición de la complicación.

Se realiza el análisis estadístico para comparar la media de la concentración de eotaxina entre el grupo control y el resto de las extracciones, usando un test t de Student aplicado a muestras independientes. Se obtienen los valores “p” para la comparación entre el control y las 24 horas, 48 horas, 96 horas, mes y momento de aparición de las complicaciones asumiendo la igualdad de varianzas. En el caso de que las varianzas de la muestra control y el grupo de pacientes presenten varianzas significativamente diferentes se asume la no igualdad de varianzas en función de la prueba de Levene, obteniendo el valor “p” correspondiente.

Los resultados del análisis estadístico indican que existen diferencias significativas entre la concentración de eotaxina en el grupo control y la concentración de eotaxina a las 96 horas del ingreso, entre el grupo control y al mes del episodio agudo (recuperación) así como entre el grupo control y el momento en el que se presentan las complicaciones (figura 24 y tabla 28).

Tabla 28: Concentración de eotaxina sérica (pg/ml): media y DT, mediana y RIC, y valor de significación (p) para la comparación de la concentración de eotaxina entre el grupo control y las diferentes extracciones temporales en los pacientes con PA. Se muestra también los valores para el momento de aparición de las complicaciones. * p<0,05.

Extracción	Media	DT	Mediana (RIC)	p
Control	82,11	35,18	82,00 (52,00-105,00)	
24 horas	87,19	45,05	83,00 (53,00-111,00)	0,500
48 horas	86,19	43,20	77,00 (57,00-106,00)	0,575
96 horas	120,88	48,27	110,00 (90,00-146,00)	0,001*
Mes	141,36	61,16	130,00 (101,00-173,00)	0,001*
Complicación	108,33	45,35	99,00 (71,00-149,00)	0,013*

3.1.2. Concentración de eotaxina durante la evolución de la PA

Nuestros resultados muestran que la concentración de eotaxina en los pacientes con pancreatitis aguda se mantiene similar entre las 24 y las 48 horas tras el ingreso del paciente en el hospital, y a partir de las 48 horas se incrementa progresivamente, alcanzado su valor máximo al mes del episodio agudo. Estos resultados se muestran en la figura 24, en la que se representa el valor medio de la concentración de eotaxina y el RIC en las diferentes extracciones temporales.

Se realiza el análisis estadístico de los resultados de la media y la varianza de ésta durante las extracciones temporales en el grupo total de pacientes con PA mediante un test t de Student para datos apareados, entre cada una de las muestras programadas. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 29 e indican que existen diferencias significativas entre la media de concentración de eotaxina en suero a las 24 horas y a las 96 horas, igual que entre la concentración a las 24 horas y al mes del alta; es significativa entre las 48 horas y las 96 horas, así como entre las 48 horas y al mes del alta. Finalmente es significativa entre el valor de eotaxina en suero a las 96 horas y al mes del ingreso.

Tabla 29: Valores de significación para la comparación de la media de eotaxina entre las diferentes extracciones temporales. * $p < 0,05$.

	24h	48h	96h	mes
Valor "p ₁ " (24 horas)	-	0,738	0,001*	0,001*
Valor "p ₂ " (48 horas)	-	-	0,001*	0,001*
Valor "p ₃ " (96 horas)	-	-	-	0,002*

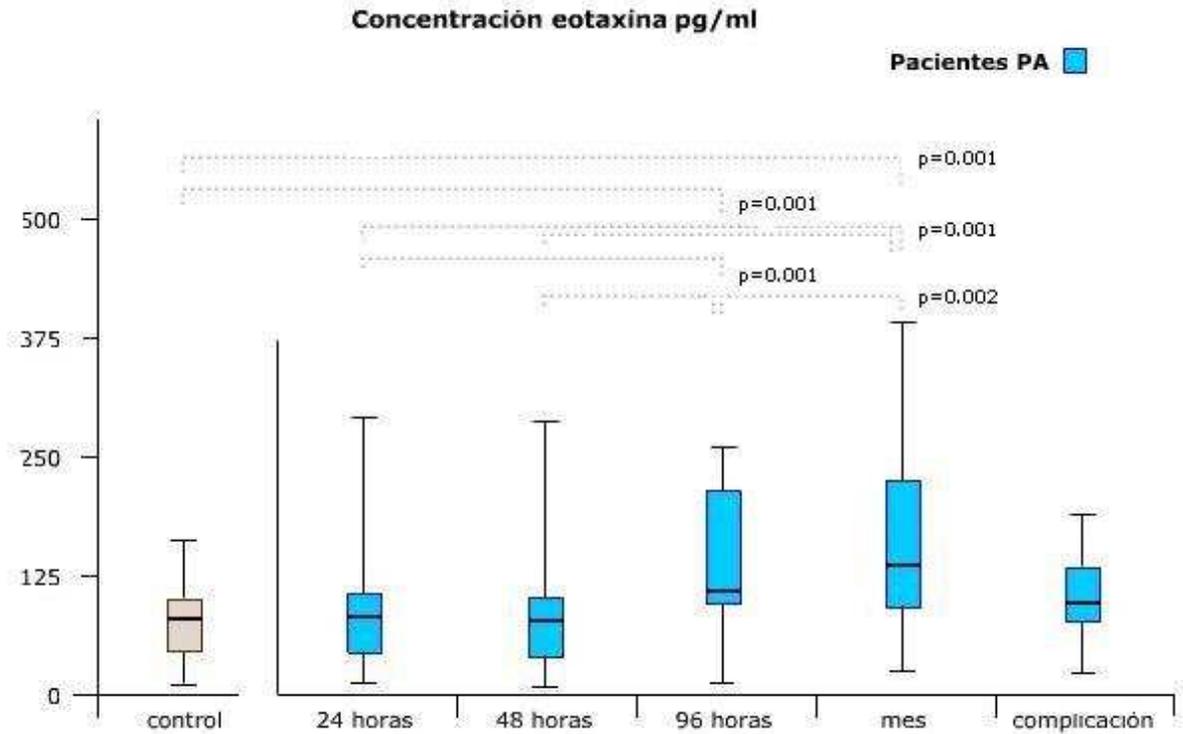


Figura 24: Concentración de eotaxina en grupo control y en cada extracción temporal en pacientes PA. Datos representados como mediana (línea horizontal) y RIC (cajas). Las barras indican el valor máximo y mínimo para cada tiempo. Se indica valor p significativo entre el control y extracciones programadas así como entre ellas.

3.2. Expresión de eotaxina en pacientes PA en relación con la etiología

Se aborda el análisis estadístico de la evolución de la concentración sérica de eotaxina en pacientes con PA en relación con la etiología desde tres puntos de vista: la igualdad entre los sujetos control y las diferentes extracciones temporales de pacientes en las diferentes etiologías, la igualdad para el grupo de pacientes con la misma etiología entre las diferentes extracciones y la igualdad entre las diferentes etiologías para una misma extracción temporal. Este análisis no se realiza en la etiología miscelánea, dado que en este grupo sólo se clasifican tres de los 125 pacientes.

Todos los análisis estadísticos utilizan como valor de significación de referencia $\alpha=0,05$, asumiendo de esta forma un error de tipo I del 5%.

3.2.1. Concentración de eotaxina en sujetos control y en pacientes con PA de diferente etiología

Se realiza el análisis estadístico para comparar la media de la concentración de eotaxina entre el grupo control y el resto de las extracciones, para cada etiología, usando un test t de Student aplicado a muestras independientes. Se obtienen los valores "p" para la comparación entre el control y las 24h, 48h, 96h, y la aparición de complicaciones.

Los resultados del análisis estadístico, mostrados en la tabla 30, indican que:

- para la etiología biliar existen diferencias significativa entre el grupo control y la extracción a las 96 horas y al mes del episodio agudo.
- para la etiología alcohólica existe diferencia significativa entre el grupo control y la extracción al mes del episodio agudo, pero no muestra diferencia significativa entre el control y la extracción a las 96 horas.
- para la etiología idiopática existe diferencia significativa entre el grupo control y la extracción a las 96 horas y entre el control y al mes del episodio agudo.

En ninguno de los grupos definidos en relación con el origen de la PA se muestran diferencias significativas durante las primeras 24-48 horas, mientras que en todos los grupos se observan diferencias al mes del alta hospitalaria.

Tabla 30: Concentración de eotaxina en suero (pg/ml): media y DT, mediana y RIC, y valor de significación (p) para la comparación de la media de eotaxina entre el grupo control y las diferentes extracciones temporales en los pacientes con PA de origen biliar, origen alcohólico, y origen no filiado (idiopática). * p<0,05.

PA de etiología biliar

Extracción	Media	DT	Mediana (RIC)	p
Control	82,11	35,18	82,00 (52,00-105,00)	
24 horas	85,39	42,63	78,00 (56,00-108,75)	0,665
48 horas	83,42	42,34	75,00 (57,00-99,00)	0,863
96 horas	120,30	45,17	113,00 (90,50-144,50)	0,001*
Mes	148,33	66,07	131,00 (110,25-178,00)	0,001*

PA de etiología alcohólica

Extracción	Media	DT	Mediana (RIC)	p
Control	82,11	35,18	82,00 (52,00-105,00)	
24 horas	87,76	47,46	81,00 (47,50-128,00)	0,613
48 horas	93,71	55,15	81,00 (59,00-112,50)	0,333
96 horas	100,80	59,63	99,00 (62,00-112,00)	0,147
Mes	125,60	40,81	122,00 (88,50-159,00)	0,001*

PA de etiología idiopática

Extracción	Media	DT	Mediana (RIC)	p
Control	82,11	35,18	82,00 (52,00-105,00)	
24 horas	92,61	54,11	85,00 (47,00-129,00)	0,406
48 horas	88,77	39,34	79,50 (54,50-118,25)	0,488
96 horas	138,50	48,90	126,50 (97,50-167,25)	0,001*
Mes	136,57	58,40	136,50 (86,25-188,00)	0,004*

3.2.2. Concentración de eotaxina durante la evolución de la PA en relación con la etiología

Nuestros resultados muestran que la concentración de eotaxina en los pacientes con pancreatitis aguda se incrementa progresivamente desde las 24 horas a lo largo de la evolución del episodio, alcanzado su valor máximo al mes del episodio agudo, independientemente del origen de la PA. Estos resultados se muestran en la figura 25, en la que se representa el comportamiento temporal de la concentración de eotaxina en pacientes con PA de etiología biliar, alcohólica, miscelánea e idiopática.

Se realiza el análisis estadístico de los resultados de la media y la varianza de ésta durante las extracciones temporales dentro de los grupos formados por pacientes con PA de diferente origen, mediante un test t de Student para comparar dos medias de muestras apareadas. Para cada etiología se compara la media de la concentración de eotaxina a las 24 horas con la media a las 48 horas, 96 horas, mes y complicación. Se compara la media de eotaxina a las 48 horas con la media a las 96 horas, mes y complicación. Se compara la media de la eotaxina a las 96 horas con el mes y la complicación. Y finalmente se compara la media de eotaxina al mes con la media de la aparición de la complicación.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 31 e indican que, asumiendo un error tipo I del 95% ($\alpha=0,05$) para la igualdad de medias entre las extracciones de una misma etiología, se observan diferencias estadísticamente significativas :

- entre las extracciones de las 24 horas y las 96 horas, entre las 24 horas y el mes, entre las 48 horas y las 96 horas, entre las 48 horas y el mes y finalmente entre las 96 horas y el mes, para la etiología biliar
- entre las extracciones de las 24 horas y el mes, entre las 48 horas y el mes y finalmente entre las 96 horas y el mes, para la etiología alcohólica. No se observan diferencias significativas entre el nivel de eotaxina a las 24 horas o a las 48 horas comparado con el nivel a las 96 horas, contrariamente a la etiología biliar.
- entre las extracciones de las 24 horas y las 96 horas, entre las 24 horas y el mes, entre las 48 horas y las 96 horas y finalmente entre las 48 horas y el mes, para la etiología idiopática. No se observan diferencias significativas entre las 96 horas y el mes, contrariamente a la etiología biliar y a la etiología alcohólica.

Tabla 31: Valores de significación para la comparación de la media de eotaxina entre diferentes extracciones temporales en los pacientes con PA de origen biliar, origen alcohólico y origen no filiado. * $p < 0,05$.

PA de etiología biliar

	24h	48h	96h	mes
Valor "p ₁ " (24 horas)	-	0,732	0,001*	0,001*
Valor "p ₂ " (48 horas)	-	-	0,001*	0,001*
Valor "p ₃ " (96 horas)	-	-	-	0,001*

PA de etiología alcohólica

	24h	48h	96h	mes
Valor "p ₁ " (24 horas)	-	0,576	0,191	0,041*
Valor "p ₂ " (48 horas)	-	-	0,132	0,041*
Valor "p ₃ " (96 horas)	-	-	-	0,034*

PA de etiología idiopática

	24h	48h	96h	mes
Valor "p ₁ " (24 horas)	-	0,324	0,017*	0,022*
Valor "p ₂ " (48 horas)	-	-	0,001*	0,001*
Valor "p ₃ " (96 horas)	-	-	-	0,210

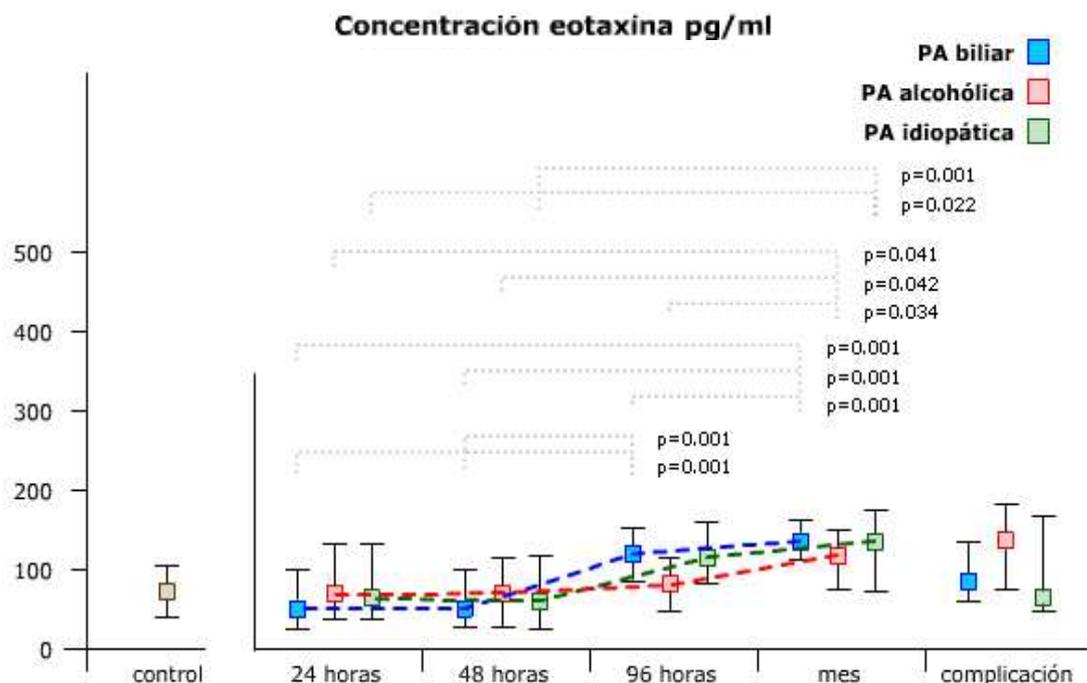


Figura 25: Evolución temporal de la concentración de eotaxina en los pacientes con pancreatitis aguda en relación con la etiología. Se representa la mediana (cuadrado) y el RIC (barras verticales), así como los valores $p < 0,05$ entre las diferentes extracciones para una misma etiología.

3.2.3. Comparación de la concentración de eotaxina entre pacientes con PA de diferente etiología

Se comparan las medias de la concentración de eotaxina para un mismo punto temporal entre los pacientes con pancreatitis aguda de diferente etiología aplicando un test de t de Student para muestras independientes, comparando cada una de las diferentes extracciones entre la etiología biliar, alcohólica e idiopática. Se obtiene el valor de significación correspondiente, comparándolo con el valor $\alpha = 0,05$. Los datos se presentan en la tabla 32. Nuestros resultados muestran que no existen diferencias significativas entre los tres grupos de pacientes con respecto a la concentración de eotaxina en ninguna extracción temporal.

Tabla 32: Valores p de significación para la comparación de la concentración de eotaxina entre los grupos de pacientes PA establecidos en función de la etiología. * $p < 0,05$.

Comparación	Valor p 24h	Valor p 48h	Valor p 96h	Valor p mes
biliar-alcohólica	0,838	0,392	0,153	0,303
biliar-no filiada	0,503	0,596	0,135	0,552
alcohólica-idiopática	0,770	0,746	0,055	0,615

3.3. Expresión de eotaxina en los pacientes PA en relación con la gravedad del episodio

El grupo total de 125 pacientes se clasifica en dos subgrupos: PA graves (19,2%) y PA leves (80,8%). Se aborda el análisis estadístico de la evolución de la concentración de eotaxina en suero de pacientes según la gravedad desde tres puntos de vista: la igualdad entre las muestras de los sujetos control y las diferentes extracciones temporales en los pacientes PA grave y los pacientes PA leve, la igualdad para el grupo de pacientes con la misma gravedad entre las diferentes extracciones y finalmente la igualdad entre una misma extracción temporal entre PA grave y PA leve.

3.3.1. Niveles de eotaxina en controles y en pacientes con PA leve y PA grave

Se analiza la concentración de eotaxina en suero en el grupo de pacientes con PA leve y el grupo con PA grave en todas las extracciones programadas, es decir tras 24, 48, 96 horas y mes del alta, y además en el momento en el que se presentan las complicaciones. Los resultados muestran que el nivel de eotaxina de los pacientes con PA leve es similar al nivel del grupo control a las 24 y 48 horas, observándose un incremento importante con respecto al grupo control a las 96 horas del ingreso, que aún es más elevado al mes del episodio agudo. Estos mismos resultados se evidencian en los pacientes con PA grave observándose diferencias importantes entre el grupo control y las extracciones realizadas a las 96 horas y al mes del episodio agudo, tal y como se puede observar en la tabla 33 y en la figura 26.

Se realiza el análisis estadístico para comparar la media de la concentración de eotaxina entre el grupo control y el resto de las extracciones, en los pacientes con PA leve y los pacientes con PA grave, usando un test t de Student aplicado a muestras independientes. Se obtienen los valores "p" para la comparación entre el control y las 24 horas, 48 horas, 96 horas y en el momento de la aparición de complicaciones.

Los resultados indican que existe diferencia significativa entre el grupo control y la extracción a las 96 horas y al mes del episodio agudo tanto en pacientes con PA leve como en pacientes con PA grave. La media para el grupo control es similar a la media de la concentración de eotaxina a las 24 horas y a las 48 horas tanto para los pacientes con PA leve como para los pacientes con PA grave (tabla 33).

Tabla 33: Concentración de eotaxina sérica (pg/ml): media y DT, mediana y RIC, y valor de significación (p) para la comparación entre el grupo control y las diferentes extracciones temporales en los pacientes con PA leve y con PA grave. * p<0,05.

PA leve

Extracción	Media	DT	Mediana (RIC)	p
Control	82,11	35,18	82,00 (52,00-105,00)	
24 horas	88,21	47,03	79,00 (53,00-111,00)	0,443
48 horas	86,39	44,46	76,50 (56,00-107,25)	0,574
96 horas	120,79	48,58	111,00 (90,00-146,00)	0,001*
Mes	134,61	61,13	126,00 (95,00-163,00)	0,001*

PA grave

Extracción	Media	DT	Mediana (RIC)	p
Control	82,11	35,18	82,00 (52,00-105,00)	
24 horas	82,96	47,03	87,50 (55,25-113,25)	0,926
48 horas	85,35	44,46	79,00 (59,00-106,00)	0,737
96 horas	121,23	48,58	109,00 (87,25-151,50)	0,001*
Mes	172,00	61,13	173,00 (135,00-201,00)	0,001*
Complicación	108,33	45,36	99,00 (71,50-149,00)	0,013*

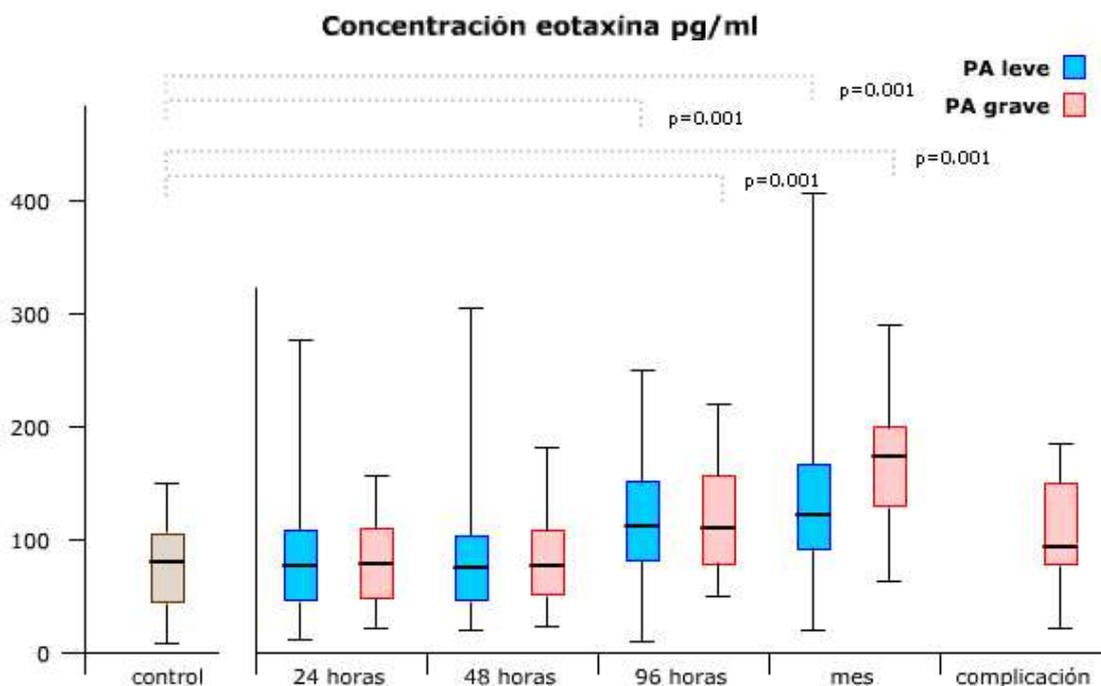


Figura 26: Concentración de eotaxina en sujetos control y en pacientes PA para cada extracción temporal. Datos representados como mediana (línea horizontal) y RIC (cajas). Las barras verticales indican el valor máximo y mínimo. Se indica $p < 0,05$ entre el control y las extracciones programadas.

3.3.2. Concentración de eotaxina durante la evolución de los pacientes con PA leve y pacientes con PA grave

Nuestros resultados muestran que la concentración de eotaxina en los pacientes con pancreatitis aguda se incrementa progresivamente desde las 24 horas a lo largo de todas las extracciones, alcanzando su valor máximo al mes del episodio agudo, tanto para el grupo de PA grave como el grupo de PA leve (figura 26).

Para comparar la concentración de eotaxina a lo largo de las extracciones dentro del grupo PA grave o dentro del grupo PA leve se utiliza un test t de Student para datos apareados. Los resultados indican que existen diferencias significativas entre la eotaxina a las 24 horas y 96 horas así como entre 24 horas y mes, entre la eotaxina a las 48 horas y el resto de extracciones (96 horas y mes) y entre la eotaxina a las 96 horas y al mes del episodio agudo, tanto en PA grave como en PA leve, tal como se muestra en la tabla 34. En los casos PA grave, en el momento de la complicación la concentración de eotaxina muestra diferencias significativas con respecto a las 24 horas y al mes del episodio agudo.

Tablas 34: Valores de significación para la comparación de la media de eotaxina entre diferentes extracciones temporales en los pacientes con PA leve y en los pacientes con PA grave. * $p < 0,05$.

PA leve

	24h	48h	96h	mes
Valor "p ₁ " (24 horas)	-	0,719	0,001*	0,001*
Valor "p ₂ " (48 horas)	-	-	0,001*	0,001*
Valor "p ₃ " (96 horas)	-	-	-	0,001*

PA grave

	24h	48h	96h	mes
Valor "p ₁ " (24 horas)	-	0,970	0,001*	0,001*
Valor "p ₂ " (48 horas)	-	-	0,001*	0,001*
Valor "p ₃ " (96 horas)	-	-	-	0,008*
Valor "p ₄ " (complic.)	0,019	0,092	0,195	0,001*

3.3.3. Comparación de la concentración de eotaxina entre pacientes con PA leve y pacientes con PA grave

Se comparan las medias de la concentración de eotaxina para un mismo punto temporal entre los pacientes con pancreatitis aguda clasificada como PA grave y los pacientes con PA leve aplicando un test de t de Student para muestras independientes, comparando cada una de las diferentes extracciones entre ambos grupos. Se obtiene el valor de significación correspondiente, comparándolo con el valor $\alpha = 0,05$ (tabla 35).

Nuestros resultados muestran que existe una diferencia significativa entre PA leve y PA grave siendo mayor la concentración sérica de eotaxina en el grupo de pacientes clasificados como PA grave. En el resto de las extracciones programadas no existen diferencias significativas entre los dos grupos de pacientes con respecto a la concentración de eotaxina.

Tabla 35: Valores p de significación para la comparación de la concentración de eotaxina entre los grupos de pacientes PA establecidos en función de la gravedad. * $p < 0,05$.

Comparación	Valor p 24h	Valor p 48h	Valor p 96h	Valor p mes
grave-leve	0,838	0,918	0,970	0,045*

Además, para corroborar estos resultados y observar el efecto del factor gravedad sobre la concentración de eotaxina, se realiza un test ANOVA para el factor gravedad, mediante el cual se observa que sólo al mes del alta del paciente del hospital con un episodio de PA, existe una diferencia significativa entre PA grave y PA leve:

Factor	Parámetro	Valor F	Significación
Gravedad	Eotaxina 24h.	0,261	0,610
	Eotaxina 48h.	0,011	0,980
	Eotaxina 96h.	0,001	0,960
	Eotaxina mes.	5,429	0,020*

Ello nos permite afirmar que el valor de eotaxina al mes del ingreso en los pacientes con PA grave es superior al valor de eotaxina al mes del episodio agudo en los pacientes con PA leve.

Dado que los valores de eotaxina están más elevados al mes del episodio agudo en los pacientes con PA grave, se realiza un análisis de correlación entre los días que transcurren desde el ingreso del paciente hasta el día de la aparición de la primera complicación y la concentración de eotaxina al mes del episodio, no encontrando correlación estadísticamente significativa entre ambos parámetros ($r = -0,301$ y $p = 0,318$).

Para comprobar si el tiempo de estancia en el hospital tiene algún efecto sobre el nivel de eotaxina al mes del episodio agudo se obtiene la mediana del tiempo de estancia del paciente en el hospital para los pacientes PA leve (6 días) y para los pacientes PA grave (11 días) y se analiza mediante test t de Student el valor medio de eotaxina entre los pacientes con días de ingreso menor o igual a la mediana y los pacientes con días de ingreso mayor a la mediana tanto en PA leve como PA grave. No se hallan resultados significativos en este análisis por lo que concluimos que el número de días que el paciente permanece ingresado en el HCUV no influye en el nivel de eotaxina al mes del alta hospitalaria.

3.4. Expresión de eotaxina en los pacientes PA con complicaciones

El factor gravedad es, de entre los estudiados, el que provoca cambios significativos en la concentración de eotaxina en suero de pacientes con pancreatitis aguda en función de los análisis realizados. Esta gravedad se ha definido en función de la aparición de complicaciones locales y/o sistémicas.

Para realizar el análisis entre los pacientes PA leve y PA grave con cada tipo de complicación utilizando la prueba ANOVA para una variable con el factor aparición de complicaciones locales (simultáneamente o no a sistémicas) hemos observado que no existen diferencias significativas en la concentración de eotaxina entre los pacientes que presentan complicaciones locales y aquellos que no las presentan.

Factor	Parámetro	Valor F	Significación
	Eotaxina 24h.	0,303	0,583
Complicac.	Eotaxina 48h.	0,336	0,536
locales	Eotaxina 96h.	0,067	0,796
	Eotaxina mes.	2,180	0,140

Y utilizando la prueba ANOVA para un variable, con el factor aparición de complicaciones sistémicas (simultáneamente o no a locales) hemos observado que no existen diferencias significativas en la concentración de eotaxina entre los pacientes que presentan complicaciones sistémicas y aquellos que no las presentan.

Factor	Parámetro	Valor F	Significación
	Eotaxina 24h.	0,790	0,370
Complicac.	Eotaxina 48h.	0,010	0,986
sistémicas	Eotaxina 96h.	0,080	0,777
	Eotaxina mes.	2,350	0,120

En función de estos resultados, no podemos rechazar la hipótesis de igualdad de medias de la concentración de eotaxina en función de la aparición de complicaciones locales y/o complicaciones sistémicas. En definitiva, se podría considerar que la aparición de complicaciones locales o sistémicas durante el curso del episodio agudo de pancreatitis no afecta a los valores de eotaxina en suero, por lo que concluimos que la eotaxina no tiene valor diagnóstico ni pronóstico de gravedad para la pancreatitis aguda.

Para profundizar más en el comportamiento de los pacientes con complicaciones, y comprobar que la media de eotaxina en los pacientes con complicaciones dentro de cada extracción temporal es similar a la media de eotaxina del resto de pacientes que, en esa misma extracción temporal, no tuvieron complicaciones, se agruparon los pacientes con complicaciones en tres grupos:

- Grupo GG-24 en el que las complicaciones aparecen entre las 24-48 horas iniciales del episodio.
- Grupo GG-96 en el que las complicaciones aparecen entre las 96 horas y la semana tras el ingreso hospitalario.
- Grupo GG-mes en el que las complicaciones aparecen entre una semana y un mes tras el episodio agudo.

Se realiza el análisis estadístico mediante un test ANOVA de un factor comparando los subgrupos establecidos con el resto de pacientes PA. Los resultados muestran que no existen diferencias significativas en la concentración de eotaxina a las 24 horas entre los pacientes con PA sin complicaciones y los pacientes en los que las complicaciones aparecen entre las 24-48 horas tras el ingreso en el hospital. De igual modo, no se observan diferencias estadísticamente significativas en el nivel de eotaxina a las 48 horas entre los pacientes con PA sin complicaciones y aquellos en los que las complicaciones aparecen entre las 24-48 horas. Tampoco se detectan diferencias significativas en la concentración de eotaxina a las 96 horas entre los pacientes con PA sin complicaciones y aquellos que presentan complicaciones entre las 96 horas y la semana del ingreso en el hospital. Y finalmente no se observan diferencias estadísticamente significativas en la concentración de eotaxina en suero de pacientes al mes del episodio agudo de PA entre los pacientes con complicaciones que aparecen tras una semana del ingreso en el hospital y aquellos que no han tenido complicaciones.

Factor	Parámetro	Valor F	Significación
GG-24	Eotaxina 24h.	0,070	0,792
	Eotaxina 48h.	0,213	0,645
	Eotaxina 96h.	0,287	0,163
	Eotaxina mes.	1,991	0,011
	Eotaxina complic.	8,056	0,011

Factor	Parámetro	Valor F	Significación
GG-96	Eotaxina 24h.	0,001	0,980
	Eotaxina 48h.	0,282	0,596
	Eotaxina 96h.	0,001	0,971
	Eotaxina mes.	1,990	0,163
	Eotaxina complic.	0,693	0,416

Factor	Parámetro	Valor F	Significación
GG-mes	Eotaxina 24h.	0,155	0,695
	Eotaxina 48h.	0,048	0,826
	Eotaxina 96h.	0,046	0,831
	Eotaxina mes	0,072	0,790
	Eotaxina complic.	8,526	0,009

Con todo ello podemos concluir que en los pacientes con PA, efectivamente, la concentración de eotaxina no se ve incrementada en ninguna de las extracciones temporales por la aparición de complicaciones.

3.4.1. Concentración de eotaxina en sujetos control y en pacientes con complicaciones locales o complicaciones sistémicas

Entre los 21 pacientes que presentaron una PA grave, 11 presentaron complicaciones locales (acompañadas o no de sistémicas) y 15 presentaron complicaciones sistémicas (acompañadas o no de locales). Entre los pacientes con complicaciones locales en 9 de ellos se presentan de forma aislada, mientras que en 10 pacientes se presentaron exclusivamente complicaciones sistémicas.

Se obtienen los estadísticos básicos y se realiza el análisis estadístico entre la concentración de eotaxina en el grupo control y los pacientes con PA grave acompañada de complicaciones locales y los pacientes PA grave acompañada de complicaciones sistémicas (test t de Student para datos independientes) en cada una de las extracciones sanguíneas: 24h, 48h, 96h, mes tras el alta y momento de aparición de complicaciones.

Los resultados obtenidos, detallados en la tabla 36 y representados en la figura 27, muestran que en los pacientes PA:

- en presencia de complicaciones locales existen diferencias significativas entre el valor del grupo control y la extracción a las 96 horas en pacientes con PA, así como con la muestra extraída en el momento de la complicación local y también al mes tras el alta hospitalaria.
- en presencia de complicaciones sistémicas existen diferencias significativas entre el valor de la concentración del grupo control y la extracción a las 96 horas y en el periodo de “recuperación” (mes del alta hospitalaria).

En el momento de la aparición de las complicaciones locales, la concentración de eotaxina está incrementada respecto al grupo control; sin embargo, en el momento de la aparición de complicaciones sistémicas no existen diferencias significativas desde el punto de vista estadístico entre los valores del grupo control y los pacientes con complicaciones sistémicas. Ello puede obedecer al hecho de que la mayoría de complicaciones sistémicas se dan al inicio del episodio, en las primeras 48 horas.

En la figura 27 se presentan los valores de eotaxina para cada extracción en pacientes PA grave con complicaciones locales y en PA grave con complicaciones sistémicas comparados con el grupo control. Se muestran los valores para las 24, 48, 96 horas y mes tras el alta, así como en el momento de la aparición de las complicaciones.

Tabla 36: Concentración de eotaxina sérica (pg/ml): media y DT, mediana y RIC, y valor de significación para la comparación de la media de eotaxina entre el grupo control y las diferentes extracciones programadas y en el momento de la aparición de la complicación en los pacientes con complicaciones locales o con complicaciones sistémicas. * $p < 0,05$.

PA grave con complicaciones locales

Extracción	Media	DT	Mediana (RIC)	p
Control	82,11	35,18	82,00 (52,00-105,00)	
24 horas	80,93	41,21	86,50 (45,25-11,75)	0,263
48 horas	92,77	40,85	92,00 (61,50-113,00)	0,550
96 horas	124,15	50,91	110,00 (86,50-155,00)	0,016*
Mes	167,57	67,73	173,00 (125,00-197,00)	0,001*
Complicación	128,82	48,34	148,00 (76,00-1269,00)	0,002*

PA grave con complicaciones sistémicas

Extracción	Media	DT	Mediana (RIC)	p
Control	82,11	35,18	82,00 (52,00-105,00)	
24 horas	77,47	35,15	85,00 (55,00-115,00)	0,559
48 horas	86,00	44,28	75,50 (55,75-96,50)	0,661
96 horas	124,46	48,91	110,00 (94,00-158,00)	0,002*
Mes	166,25	36,21	157,00 (131,50-202,00)	0,001*
Complicación	91,93	37,19	87,00 (64,00-116,00)	0,559

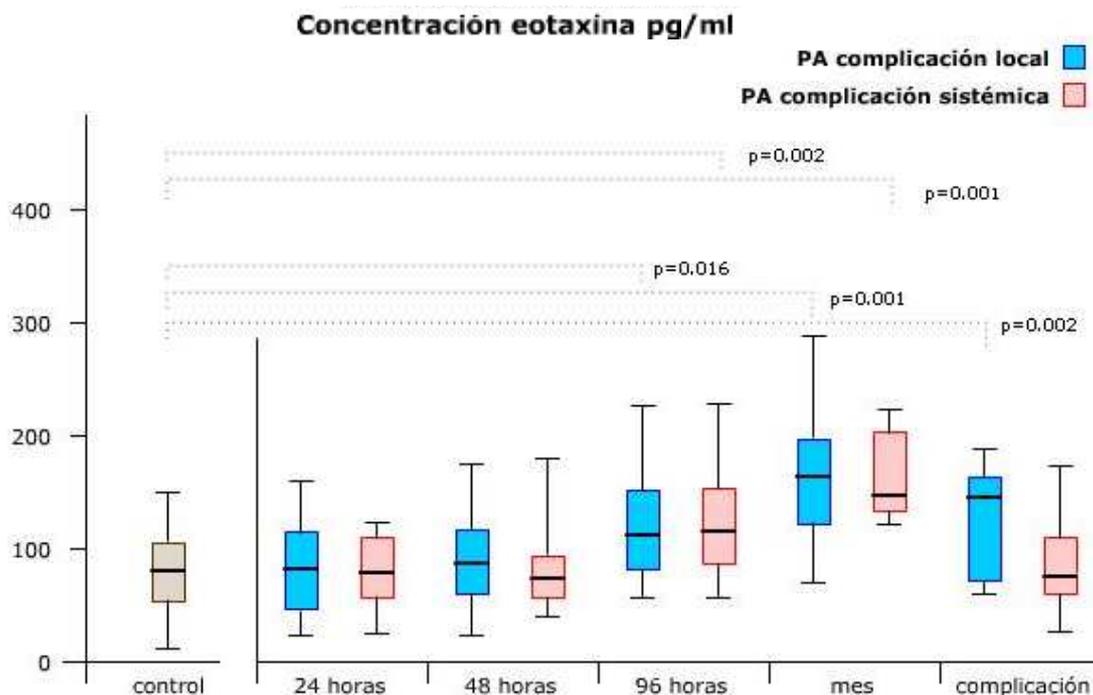


Figura 27: Concentración de eotaxina en sujetos control y en pacientes PA con complicaciones locales y con complicaciones sistémicas en cada extracción temporal. Datos representados como mediana (línea horizontal), RIC (cajas) y valor máximo y mínimo (líneas verticales). Se indica valor $p < 0,05$ entre el grupo control y las extracciones.

Aunque el tamaño de los grupos formados por los pacientes con PA grave con complicaciones locales exclusivamente o PA grave con complicaciones sistémicas exclusivamente no alcanza el valor definido en el apartado de Material y Métodos para obtener resultados significativos estadísticamente, si realizamos un análisis descriptivo comparando la concentración de eotaxina del grupo control con la concentración de eotaxina en ambos subgrupos de pacientes, observando resultados similares a los descritos anteriormente:

- la presencia de complicaciones exclusivamente locales marca diferencias entre el grupo control y los pacientes en las extracciones a las 96 horas, en el momento de la aparición de complicaciones locales y al mes del alta hospitalaria.
- en presencia de complicaciones exclusivamente sistémicas existen diferencias entre el valor de la concentración del grupo control y las extracciones de los pacientes a las 96 horas y un mes tras el alta hospitalaria, pero no respecto a la obtenida en el momento de la aparición de la complicación sistémica.

Se analiza la posible influencia de la presencia de complicaciones exclusivamente locales sobre los valores de eotaxina en suero mediante un test ANOVA. Para las diferentes extracciones de suero de pacientes, los resultados muestran que no existen

diferencias significativas entre la concentración de eotaxina en los pacientes que presentan complicaciones locales exclusivamente y aquellos que no las presentan, en ninguna de las extracciones temporales:

Factor	Parámetro	Valor F	Significación
	Eotaxina 24h.	0,319	0,573
Complicac. sólo locales	Eotaxina 48h.	0,045	0,833
	Eotaxina 96h.	0,043	0,836
	Eotaxina mes.	2,758	0,102

De la misma forma se analiza la influencia de las complicaciones exclusivamente sistémicas sobre la concentración de eotaxina en el suero de pacientes con PA grave. Para las diferentes extracciones programadas, los resultados muestran que existe una diferencia significativa entre la concentración de eotaxina al mes del episodio agudo en los pacientes que presentan complicaciones sistémicas exclusivamente y aquellos que no las presentan:

Factor	Parámetro	Valor F	Significación
Complicac. sólo sistémicas	Eotaxina 24h.	0,010	0,922
	Eotaxina 48h.	0,499	0,481
	Eotaxina 96h.	0,012	0,912
	Eotaxina mes.	6,132	0,016*

Podríamos concluir entonces que la presencia de complicaciones sólo locales no afecta a la concentración de eotaxina en ninguna de las extracciones, y sin embargo, la presencia de complicaciones sólo sistémicas altera el valor de eotaxina en suero en la extracción tomada al mes del episodio agudo.

3.4.2. Concentración de eotaxina durante la evolución de la PA con complicaciones locales o complicaciones sistémicas

Nuestros resultados muestran que la concentración de eotaxina en los pacientes con pancreatitis aguda se incrementa progresivamente desde las 24 horas a lo largo de todas las extracciones programadas, alcanzado su valor máximo al mes del episodio agudo. Estos resultados se repiten igualmente para la PA grave acompañada de complicaciones locales y la PA grave acompañada de complicaciones sistémicas.

Para realizar el análisis estadístico de los resultados en las distintas extracciones, incluida la obtenida en el momento de aparición de la complicación, se utiliza un test t de Student para datos apareados, en ambos grupos de pacientes (PA graves con complicaciones locales y PA graves con complicaciones sistémicas).

Los resultados, presentados en la tabla 37, indican que:

- en los pacientes con PA acompañada de complicaciones locales se observan diferencias significativas entre la eotaxina a las 24 horas y el resto de extracciones (96 horas, complicación y mes) excepte 48 horas, y finalmente entre la eotaxina a las 48 horas y 96 horas, así como entre 48 horas y mes. Sin embargo no se observan diferencias significativas entre la media de los valores de eotaxina a las 24 y a las 48 horas, así como entre la media a las 96 horas con el mes o las complicaciones, ni tampoco entre el mes tras alta hospitalaria y el momento de la aparición de la complicación.
- en los pacientes con PA acompañada de complicaciones sistémicas se observan diferencias significativas entre la concentración de eotaxina a las 24 horas y el resto de extracciones programadas (96 horas y mes) excepto 48 horas, entre la concentración de eotaxina a las 48 horas y el resto de extracciones programadas (96 horas y mes) y entre la concentración de eotaxina a las 96 horas y al mes del episodio agudo, así como entre las 96 horas y el momento de la aparición de las complicaciones. En cuanto al momento de la aparición de las complicaciones sistémicas, no se muestra diferencia significativa con respecto a las 24 y 48 horas, pero si se muestra diferencia significativa a las 96h y al mes del episodio. Como se comentó en el apartado anterior este dato no parece aportar una información relevante ya que los pacientes muestran las complicaciones sistémicas mayoritariamente entre las primeras 24-48 horas.

Tablas 37: Valores de significación para la comparación de la media de eotaxina entre diferentes extracciones temporales en los pacientes con PA acompañada de complicaciones exclusivamente locales y PA acompañada de complicaciones exclusivamente sistémicas. * $p < 0,05$.

PA con complicaciones locales (complic. local.)

	24h	48h	96h	mes	complic. local.
Valor "p ₁ " (24 horas)	-	0,436	0,002*	0,014*	0,014*
Valor "p ₂ " (48 horas)	-	-	0,001*	0,046*	0,201
Valor "p ₃ " (96 horas)	-	-	-	0,061	0,800
Valor "p ₄ " (mes)					0,054

PA con complicaciones sistémicas (complic. sistém.)

	24h	48h	96h	mes	complic. sistém.
Valor "p ₁ " (24 horas)	-	0,856	0,001*	0,001*	0,208
Valor "p ₂ " (48 horas)	-	-	0,001*	0,005*	0,817
Valor "p ₃ " (96 horas)	-	-	-	0,019*	0,025*
Valor "p ₄ " (mes)	-	-	-	-	0,001*

Aunque el tamaño de los grupos formados por los pacientes con PA grave acompañada exclusivamente de complicaciones locales o PA grave acompañada exclusivamente de complicaciones sistémicas no alcanza el valor definido en el apartado de Material y Métodos para obtener resultados significativos, se realiza el mismo análisis para comparar la concentración de eotaxina entre las distintas extracciones de los pacientes PA con sólo complicaciones sistémicas y de los pacientes PA con sólo complicaciones locales, obteniendo resultados similares al apartado anterior:

- en los pacientes con PA acompañada de complicaciones exclusivamente locales se observan diferencias significativas entre la eotaxina a las 24 horas y el resto de extracciones (96 horas, complicación y mes) excepto 48 horas, y entre la eotaxina a las 48 horas y el resto de extracciones (96 horas, complicación y mes). Sin embargo no se observan diferencias significativas entre la media de los valores de eotaxina a las 24 y a las 48 horas, ni entre las 96 horas con el mes o la aparición de complicaciones, ni tampoco entre los valores de eotaxina al mes del alta hospitalaria y el momento de aparición de la complicación local.
- en los pacientes con PA acompañada exclusivamente de complicaciones sistémicas se observan diferencias significativas entre la concentración de eotaxina a las 24 horas y el resto de extracciones (48, 96 horas y mes), entre la concentración de eotaxina a las 48 horas y el resto de extracciones (96 horas y mes) y entre la concentración de eotaxina a las 96 horas y al mes del episodio agudo, así como entre las 96 horas y el momento de aparición de las complicaciones. Por el contrario,

no se observan diferencias significativas entre la concentración de eotaxina a las 24 y a las 48 horas, ni entre las 24 horas y la aparición de las complicaciones, ni entre las 48 horas y la aparición de las complicaciones.

3.5. Correlación de la concentración de eotaxina con parámetros inflamatorios en pacientes PA

El análisis de la correlación entre la concentración sérica de eotaxina y los parámetros inflamatorios (número de leucocitos y de neutrófilos, concentración de proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular y concentración de fibrinógeno) en cada una de las extracciones para el grupo total de pacientes con PA muestra que existe una correlación significativa mínima ($r < 0,5$) entre la concentración de eotaxina y el valor de VSG a las 48 horas del ingreso del paciente. No se observan más correlaciones significativas en el resto de extracciones temporales para los pacientes con PA excepto al mes del episodio agudo, momento en que se evidencian correlaciones significativas, aunque débiles, entre la concentración de eotaxina y la cifra de leucocitos y de neutrófilos. Los valores de correlación y de significación estadística se presentan en la tabla 38.

En el grupo de PA leve sólo se observa una correlación significativa entre eotaxina y recuento leucocitario y de neutrófilos ($r < 0,5$) en la extracción realizada al mes del alta hospitalaria. En los pacientes con PA grave se observa una correlación excelente ($r > 0,85$) entre la concentración de eotaxina y la VSG a las 48 horas; así mismo, existe una correlación aceptable ($0,5 < r < 0,75$) entre los niveles de eotaxina y de fibrinógeno a las 48 horas del ingreso. Al mes del alta hospitalaria se observa una correlación inversa aceptable entre eotaxina y fibrinógeno (tabla 38).

Tabla 38: Coeficientes de correlación (r de Pearson) entre eotaxina y parámetros inflamatorios en las diferentes extracciones en los pacientes con PA. Solo se indica significatividad estadística (entre paréntesis), si $p < 0,05$.

FIB: fibrinógeno; LEU: leucocitos; NEU: neutrófilos; PCR: proteína C reactiva; VSG: velocidad de sedimentación globular.

	Eotaxina 24 horas		
	Total PA	PA leve	PA grave
LEU 24 h	0,096	0,145	-0,107
NEU 24h	0,061	0,138	-0,114
PCR 24h	0,042	-0,035	0,345
VSG 24h	0,048	-0,067	0,459
FIB 24h	0,034	-0,052	0,437

	Eotaxina 48 horas		
	Total PA	PA leve	PA grave
LEU 48h	0,032	0,099	-0,340
NEU 48h	0,017	0,088	-0,372
PCR 48h	0,019	-0,049	0,312
VSG 48h	0,286 (0,016)	0,093	0,861 (0,001)
FIB 48h	0,096	0,067	0,731 (0,016)

	Eotaxina mes		
	Total PA	PA leve	PA grave
LEU mes	0,486 (0,001)	0,509 (0,001)	0,386
NEU mes	0,340 (0,004)	0,359 (0,005)	0,148
PCR mes	0,017	0,017	-0,009
VSG mes	0,038	0,037	0,083
FIB mes	-0,186	0,117	- 0,665 (0,036)

3.6. Correlación de la concentración de eotaxina con parámetros inflamatorios en los pacientes con PA clasificados según la etiología

Analizando la correlación entre los niveles séricos de eotaxina en cada muestra sanguínea y los parámetros inflamatorios (PCR, VSG, y fibrinógeno) según la etiología de la PA observamos que existe una correlación aceptable y estadísticamente significativa entre los niveles de eotaxina y los niveles de fibrinógeno a las 48 horas en PA alcohólica. No se observa correlación alguna significativa entre niveles de eotaxina y recuento de eosinófilos periféricos (tabla 39).

Tabla 39: Coeficiente de correlación (r de Pearson) entre eotaxina y parámetros inflamatorios en las diferentes extracciones en los pacientes con PA en función de la etiología. Solo se indica significatividad estadística (entre paréntesis), si $p < 0,05$.

FIB: fibrinógeno; LEU: leucocitos; NEU: neutrófilos; PCR: proteína C reactiva; VSG: velocidad de sedimentación globular.

	Eotaxina 24 horas		
	PA biliar	PA alcohólica	PA idiopática
LEU 24h	0,166	0,166	-0,152
NEU 24h	0,150	0,150	-0,183
EOS 24h	-0,031	0,204	-0,109
PCR 24h	0,081	0,197	-0,215
VSG 24h	0,169	0,403	-0,210
FIB 24h	0,084	0,573	-0,385

	Eotaxina 48 horas		
	PA biliar	PA alcohólica	PA idiopática
LEU 48h	0,075	-0,056	-0,022
NEU 48h	0,044	-0,036	-0,026
EOS 48h	0,083	0,120	-0,297
PCR 48h	-0,030	0,245	-0,069
VSG 48h	0,323 (0,037)	0,340	0,086
FIB 48h	0,051	0,618 (0,043)	0,132

	Eotaxina mes		
	PA biliar	PA alcohólica	PA idiopática
LEU mes	0,197	0,604	-0,089
NEU mes	0,058	0,516	-0,146
EOS mes	-0,061	-0,268	-0,041
PCR mes	-0,015	0,446	-0,028
VSG mes	0,055	-0,144	-0,154
FIB mes	-0,234	0,518	-0,309

3.7. Correlación de la concentración de eotaxina con parámetros inflamatorios en los pacientes PA con complicaciones

El análisis de los resultados de correlación entre la concentración de eotaxina y los parámetros típicos de inflamación (leucocitos, neutrófilos, PCR, VSG y fibrinógeno) en cada una de las extracciones para el grupo de pacientes con PA acompañada de complicaciones muestra que:

- existe una correlación aceptable ($0,5 < r < 0,75$) y estadísticamente significativa entre la concentración de eotaxina y la concentración de fibrinógeno a las 24 horas (que está elevada a las 24 y 48 horas con respecto al rango de valores de normalidad) en los pacientes con PA grave acompañada de complicaciones sistémicas.
- existe una correlación excelente ($r > 0,85$) y estadísticamente significativa entre el valor de VSG (que está elevado a las 48 horas respecto al rango de valores de normalidad) y la concentración de eotaxina en los pacientes con PA grave acompañada de complicaciones sistémicas a las 48 horas del ingreso, observándose también una excelente correlación para los pacientes PA con complicaciones locales, aunque este dato no resulta estadísticamente significativo para un valor $\alpha=0,05$.
- Existe, en las complicaciones sistémicas, una correlación inversa aceptable entre el nivel de eotaxina y el nivel de fibrinógeno (que se mantiene alto en los pacientes con PA al mes del alta hospitalaria) así como entre el nivel de eotaxina y el número de eosinófilos al mes, aunque en ninguno de los 2 casos presenta significación estadística para un $\alpha=0,05$.

Los valores de correlación, así como los valores de significación estadística, si existe, se presentan en la tabla 40.

Tabla 40: Coeficiente de correlación (r de Pearson) entre eotaxina y parámetros inflamatorios en las diferentes extracciones en los pacientes PA con complicaciones locales y con complicaciones sistémicas. Sólo se indica significatividad estadística (entre paréntesis), si $p < 0,05$.

FIB: fibrinógeno; LEU: leucocitos; NEU: neutrófilos; PCR: proteína C reactiva; VSG: velocidad de sedimentación globular.

	Eotaxina 24 horas		
	Total PA	Compli. locales	Compli. sistémicas
LEU 24h	0,336	0,429	0,108
NEU 24h	0,389	0,389	0,107
PCR 24h	0,042	0,359	0,416
VSG 24h	0,048	0,402	0,739 (0,023)
FIB 24h	0,034	0,313	0,600

	Eotaxina 48 horas		
	Total PA	Compli. locales	Compli. sistémicas
LEU 48h	0,728	0,248	0,305
NEU 48h	0,858	0,258	0,429
PCR 48h	0,019	0,410	0,224
VSG 48h	0,286 (0,016)	0,861	0,944 (0,005)
FIB 48h	0,096	0,846	0,728

	Eotaxina mes		
	Total PA	Compli. locales	Compli. sistémicas
LEU mes	0,493	0,407	0,384
NEU mes	0,816	0,319	0,599
PCR mes	0,017	0,300	0,028
VSG mes	0,038	0,090	0,231
FIB mes	-0,186	0,364	-0,852

4. EXPRESION DE IL-5 EN PACIENTES CON PANCREATITIS AGUDA

La distribución de frecuencias de los valores de IL-5 en suero dentro del grupo total de pacientes no presenta una distribución normal, por lo que los análisis estadísticos se realizan utilizando la mediana y el rango intercuartílico. En los análisis estadísticos se asume un error de tipo I del 5% (valor de significación de referencia $\alpha = 0,05$).

4.1. Evolución de la concentración de IL-5 en pacientes con PA

Se analiza la evolución temporal de los niveles de IL-5 en las extracciones programadas (24, 48, 96 horas del ingreso y mes del alta hospitalaria), así como la concentración de IL-5 en el momento de la presencia de complicaciones. Nuestros resultados (ver tabla 41) muestran que la mediana de la concentración de IL-5 en suero de pacientes con PA se incrementa durante las 24-48 horas tras el ingreso, observándose a partir del pico de las 48 horas un descenso brusco hasta la recuperación de valores normales a las 96 horas del ingreso.

Tabla 41: Concentración de IL-5 (pg/ml) en pacientes con PA. Se muestra mediana, RIC, media y desviación típica (DT).

Extracción	Mediana	RIC	Media	DT
24 horas	2,00	0,00-9,75	9,91	23,84
48 horas	3,00	00,00-11,75	8,33	13,22
96 horas	0,00	0,00-9,00	8,64	19,88
Mes	0,00	0,00-0,00	3,21	9,20
Complicación	1,00	0,00-8,50	5,23	8,85

Se realiza el análisis estadístico de los resultados con un test de Wilcoxon (test de comparación de rangos) para comparar valores de muestras apareadas entre las distintas extracciones temporales. Los resultados se presentan en la tabla 42 e indican que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de IL-5 en suero a las 24 horas y los niveles al mes en los pacientes con PA, con niveles más elevados en la determinación más precoz. Existen también diferencias significativas entre el valor de IL-5 a las 48 horas y las 96 horas, así como entre las 48 horas y el mes, observándose en ambos casos que el valor más elevado se obtiene a las 48 horas.

Tabla 42: Valores de significación para la comparación de la mediana de concentración de IL-5 entre las diferentes extracciones temporales. * $p < 0,05$.

	24h	48h	96h	mes
Valor "p ₁ " (24 horas)	-	0,698	0,060	0,002*
Valor "p ₂ " (48 horas)	-	-	0,001*	0,001*
Valor "p ₃ " (96 horas)	-	-	-	0,345

Se analiza también la presencia de diferencias de concentración de IL-5 en suero entre el grupo de sujetos control y el grupo de pacientes con PA mediante el test U de Mann-Whitney para muestras independientes encontrando que los valores de IL-5 son significativamente más altos en los pacientes PA a las 24 horas que en el grupo control y de la misma forma son más altos en la extracción temporal a las 48 horas que en los sujetos del grupo control. Ni transcurridas 96 horas ni un mes del episodio agudo, los valores de IL-5 son significativamente diferentes del grupo control, ni tampoco en el momento de la aparición de complicaciones (tabla 43 y figura 28).

Tabla 43: Concentración de IL-5 (pg/ml) en pacientes con PA y grupo control (se muestra la mediana y el RIC) y valores de significación (p) entre el control y los pacientes. * $p < 0,05$.

Extracción	Mediana	RIC	p
Control	0,5	0,00-2,00	
24 horas	2,00	0,00-9,75	0,023*
48 horas	3,00	0,00-11,75	0,020*
96 horas	0,00	0,00-9,00	0,417
Mes	0,00	0,00-0,00	0,228
Complicación	1,00	0,00-8,50	0,228

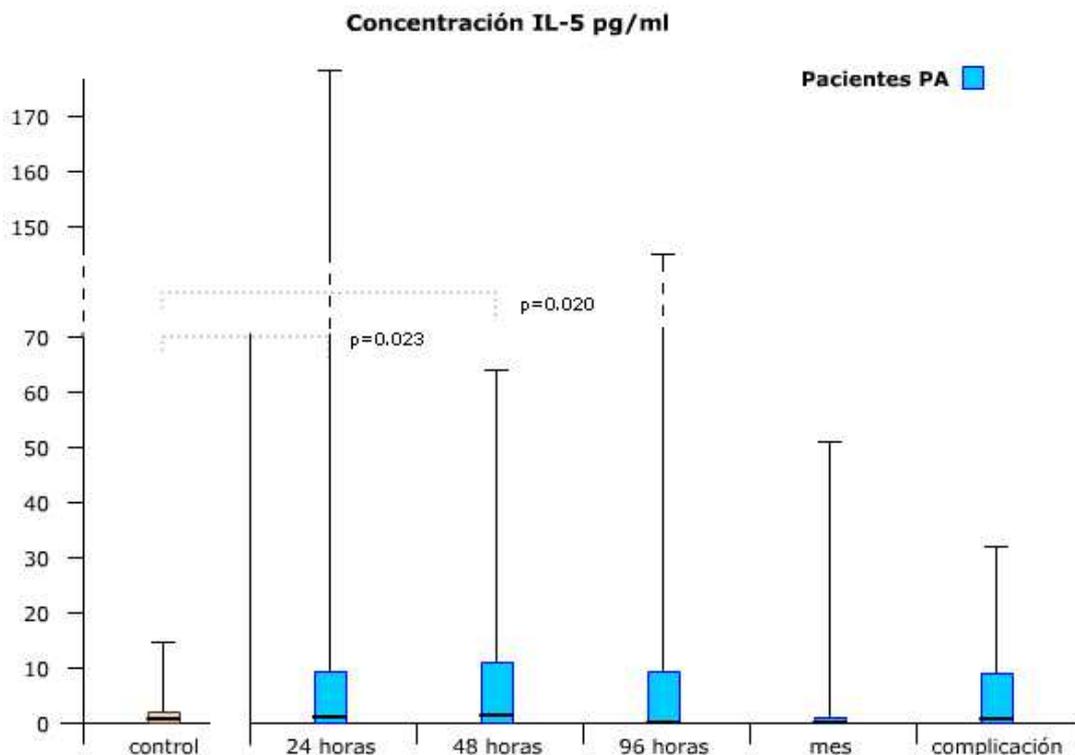


Figura 28: Concentración de IL-5 en cada extracción temporal en pacientes PA. Datos representados como mediana (línea horizontal), RIC (cajas) y valor máximo y mínimo (líneas verticales). Se indica valor p entre el control y las extracciones programadas.

4.2. Concentración de IL-5 en suero a lo largo de la evolución de la PA en relación con la etiología

En relación con la etiología de la enfermedad se establecieron cuatro grupos: origen biliar, origen etílico, origen variado (miscelánea) y origen no filiado (idiopática). El grupo de pacientes con pancreatitis aguda de origen diverso consta de tres enfermos, por lo que no se incluye en el estudio ya que los resultados no son representativos debido al bajo número de sujetos de este grupo.

Los resultados muestran que la concentración de IL-5 en suero de pacientes con PA se incrementa durante las 24-48 horas tras el ingreso, observándose a partir de las 48 horas un descenso hasta la recuperación de valores normales a las 96 horas tras el ingreso, en los diferentes grupos en relación con la etiología. Hemos observado además que los niveles de IL-5 en la etiología alcohólica son mayores que en el resto de etiologías para todas las extracciones seriadas, aunque los análisis de igualdad no aporta significación estadística entre los tres grupos etiológicos.

Se analiza también la presencia de diferencias de concentración de IL-5 en suero entre el grupo de sujetos control y el grupo de pacientes con PA biliar, con PA alcohólica y con PA idiopática, mediante el test U de Mann-Withney para muestras independientes, observando que en las PA biliares y alcohólicas los niveles de IL-5 sérica son más elevados a las 24 y 48 horas respecto al grupo control con diferencias significativas estadísticamente y similares en el resto de muestras, mientras que en el grupo idiopático en todas las extracciones es similar a la detectada en el grupo control (tabla 44).

Tablas 44: Concentración de IL-5 en pg/ml en pacientes con PA biliar, PA alcohólica, PA miscelánea y PA idiopática (se muestra la mediana y el RIC) y valores de significación (p) entre el control y los pacientes. * $p < 0,05$.

Extracción	PA biliar			PA alcohólica		
	mediana	RIC	p	mediana	RIC	p
Control	0,5	0,00-2,00			0,5	
24 horas	2,00	0,00-10,00	0,030*	3,00	0,00-9,25	0,028*
48 horas	2,00	0,00-11,00	0,025*	5,50	0,25-15,00	0,017*
96 horas	0,00	0,00-8,50	0,562	3,00	0,00-10,00	0,203
Mes	0,00	0,00-0,00	0,141	0,00	0,00-0,00	0,199

Extracción	PA idiopática		
	mediana	RIC	p
Control	0,5	0,00-2,00	
24 horas	2,00	0,00-8,25	0,133
48 horas	1,50	0,00-10,75	0,311
96 horas	0,00	0,00-7,00	0,830
Mes	0,00	0,00-1,50	0,321

Para analizar las diferencias entre los valores de IL-5 de cada extracción temporal dentro de una misma etiología, se realiza el análisis estadístico de los resultados de pacientes con PA con un test de Wilcoxon para muestras apareadas entre todas ellas.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 45 e indican que:

- en los pacientes con PA biliar se detectan diferencias significativas estadísticamente entre la muestra a las 24 horas y las obtenidas a las 96 horas y mes tras alta hospitalaria (mayores en la extracción más precoz); así mismo, se observan concentraciones más elevadas de forma significativa entre las muestras a las 48 horas y momento de la recuperación, con mayor concentración en la primera de ellas.
- en los pacientes con PA ética e idiopática no se observan diferencias significativas entre las concentraciones de IL-5 obtenidas en las distintas muestras programadas.

Tablas 45: Valores de significación para la comparación de los valores de IL-5 entre diferentes extracciones temporales en los pacientes con PA de origen biliar, origen alcohólico y origen idiopático. * $p < 0,05$.

PA de etiología biliar

	24h	48h	96h	mes
Valor "p ₁ " (24 horas)	-	0,742	0,022*	0,001*
Valor "p ₂ " (48 horas)	-	-	0,004*	0,011*
Valor "p ₃ " (96 horas)	-	-	-	0,767

PA de etiología alcohólica

	24h	48h	96h	mes
Valor "p ₁ " (24 horas)	-	0,260	0,678	0,179
Valor "p ₂ " (48 horas)	-	-	0,075	0,109
Valor "p ₃ " (96 horas)	-	-	-	0,180

PA de etiología idiopática

	24h	48h	96h	mes
Valor "p ₁ " (24 horas)	-	0,553	0,101	0,279
Valor "p ₂ " (48 horas)	-	-	0,157	0,136
Valor "p ₃ " (96 horas)	-	-	-	0,317

4.3. Concentración de IL-5 en suero a lo largo de la evolución de la PA leve y la PA grave

Nuestros resultados muestran que, analizando independientemente el grupo de pacientes con PA leve y con PA grave, existe una disminución de la concentración de IL-5 en suero desde las 24 horas hasta el mes del episodio agudo de pancreatitis en los pacientes con PA leve mientras que en los pacientes con PA grave los niveles de IL-5 se encuentran altos durante toda la fase aguda del episodio y disminuyen al mes del alta hospitalaria. Además, los niveles de IL-5 son, para todas las extracciones, más elevados en el grupo de pacientes con PA grave que en el grupo de pacientes con PA leve (tabla 46), aunque no se obtienen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (test U de Mann-Whitney para muestras independientes).

En cada subgrupo de pacientes con PA leve y PA grave se han analizado las variaciones en la concentración de IL-5 a lo largo de las distintas muestras programadas mediante test de Wilcoxon (test de comparación de rangos). Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 46 e indican que en los casos de PA leve se observan diferencias significativas entre la IL-5 a las 24 horas y la extracción del mes, así como entre la IL-5 a las 48 horas y las extracciones a las 96 horas y al mes del episodio agudo de pancreatitis. Sin embargo, en el resto de extracciones comparadas no existen diferencias significativas en el nivel de IL-5. En cambio en los casos de PA grave no se observan diferencias significativas entre las distintas extracciones.

Tablas 46: Valores de significación para la comparación de la concentración de IL-5 entre diferentes extracciones temporales en los pacientes con PA leve y PA grave. * $p < 0,05$.

PA leve

	24h	48h	96h	mes
Valor "p ₁ " (24 horas)	-	0,456	0,062	0,001*
Valor "p ₂ " (48 horas)	-	-	0,001*	0,002*
Valor "p ₃ " (96 horas)	-	-	-	0,553

PA grave

	24h	48h	96h	mes
Valor "p ₁ " (24 horas)	-	0,648	0,677	0,183
Valor "p ₂ " (48 horas)	-	-	0,498	0,279
Valor "p ₃ " (96 horas)	-	-	-	0,357
Valor "p ₄ " (complic.)	0,285	0,866	0,465	0,498

Además, para analizar si existen diferencias significativas entre la concentración de IL-5 en los pacientes PA leve y los pacientes PA grave, se aplica un test U de Mann-Whitney para muestras independientes, cuyos resultados evidencian que no existen diferencias significativas entre los dos grupos de pacientes (tabla 47).

Se analiza también la presencia de diferencias de concentración de IL-5 en suero entre el grupo de sujetos control y pacientes con PA grave y leve mediante el test U de Mann-Whitney para muestras independientes, observando que, tanto para la PA grave como para la PA leve, existen diferencias significativas con el grupo control en las muestras a las 24 horas ($p_{\text{control-grave}} = 0,012$ y $p_{\text{control-leve}} = 0,047$, respectivamente) y a las 48 horas ($p_{\text{control-grave}} = 0,011$ y $p_{\text{control-leve}} = 0,044$, respectivamente) con niveles más elevados en las extracciones de los pacientes con PA.

Tabla 47: Concentración de IL-5 (pg/ml) en pacientes con PA grave y en pacientes con PA leve (se muestra la mediana y el RIC) y valor de significación (p) entre ambos grupos.

Extracción	PA leve		PA grave		p
	mediana	RIC	mediana	RIC	
24 horas	2,00	0,00-10,00	5,00	0,50-9,00	0,683
48 horas	2,00	0,00-14,00	3,00	0,50-8,00	0,267
96 mes	0,00	0,00-9,00	3,00	0,00-7,00	0,416
Mes	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-6,00	0,812
Complicac.	-	-	1,00	0,00-8,50	-

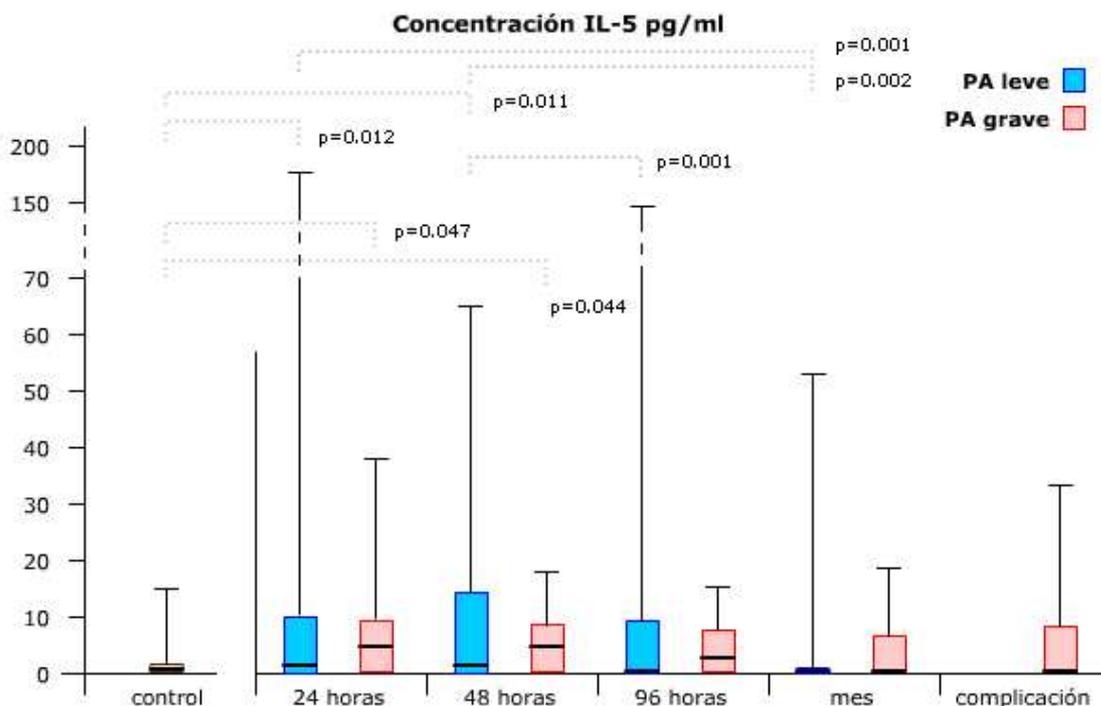


Figura 29: Concentración de IL-5 en cada extracción temporal en pacientes PA. Datos representados como mediana (línea horizontal), RIC (cajas) y máximo y mínimo (líneas verticales). Se indica valor $p < 0,05$ entre el control y las extracciones programadas así como entre ellas.

4.4 Comportamiento de la concentración de IL-5 en los pacientes con PA acompañada de complicaciones locales o sistémicas

Nuestros resultados muestran que la concentración de IL-5 en el suero de pacientes con pancreatitis aguda acompañada de complicaciones locales es más elevada que la concentración de IL-5 en los pacientes con PA acompañada de complicaciones sistémicas (tabla 48), aunque sin alcanzar significatividad estadística en función del test U de Mann-Whitney.

En ambos subgrupos, PA con complicaciones locales y PA con complicaciones sistémicas, no se observan variaciones significativas entre las diversas extracciones (tabla 49) mediante test de Wilcoxon de comparación de rangos.

Se analiza también la posibilidad de diferencias de concentración de IL-5 en suero entre el grupo de sujetos control y el grupo de pacientes con PA grave acompañada de complicaciones locales y entre el grupo control y los pacientes con PA grave acompañada de complicaciones sistémicas mediante el test U de Mann-Whitney para

muestras independientes observando que para ambos grupos existen diferencias significativas con el grupo control a las 24 horas y a las 48 horas tras el ingreso hospitalario (figura 30).

Tabla 48: Concentración de IL-5 (pg/ml) en pacientes con PA grave acompañada de complicaciones locales y acompañada de complicaciones sistémicas (se muestra la mediana y el RIC) y valor de significación (p) entre ambos grupos. * $p < 0,05$.

Extracción	PA compli. locales		PA compli. sistémicas		p
	mediana	RIC	mediana	RIC	
24 horas	2,00	0,00-10,00	5,00	0,50-9,00	0,438
48 horas	2,00	0,00-14,00	3,00	0,50-8,00	0,331
96 mes	0,00	0,00-9,00	3,00	0,00-7,00	0,848
Mes	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-6,00	0,320

Tabla 49: Valores de significación para la comparación de la concentración de IL-5 entre diferentes extracciones temporales en los pacientes con PA acompañada de complicaciones locales y acompañada de complicaciones sistémicas. * $p < 0,05$.

PA complicaciones locales

	24h	48h	96h	mes
Valor "p ₁ " (24 horas)	-	0,999	0,416	0,144
Valor "p ₂ " (48 horas)	-	-	0,285	0,180
Valor "p ₃ " (96 horas)	-	-	-	0,180

PA complicaciones sistémicas

	24h	48h	96h	mes
Valor "p ₁ " (24 horas)	-	0,734	0,345	0,998
Valor "p ₂ " (48 horas)	-	-	0,655	0,785
Valor "p ₃ " (96 horas)	-	-	-	0,655

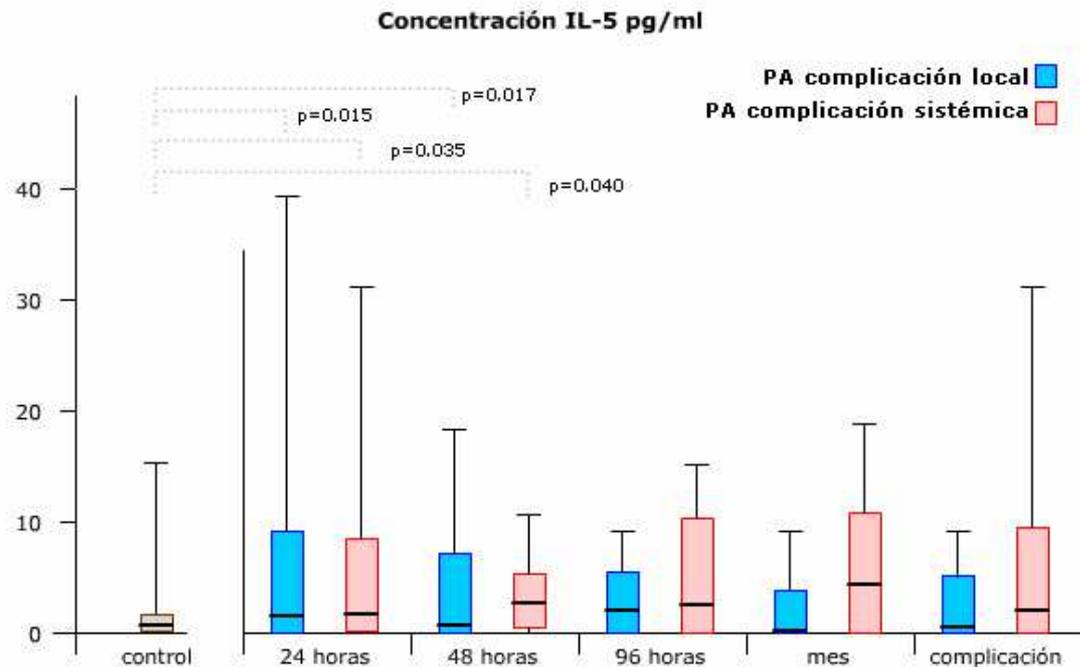


Figura 30: Concentración de IL-5 en sujetos control y en pacientes PA con complicaciones locales y complicaciones sistémicas para las distintas extracciones temporales. Datos representados como mediana (línea horizontal), RIC (cajas) y valor máximo y mínimo (líneas verticales). Se indica valor $p < 0,05$ entre el grupo control y las extracciones programadas.

Dado que el número de pacientes con PA grave sólo con complicaciones locales o sólo con complicaciones sistémicas es insuficiente para aportar significación estadística no hemos realizado estudio alguno en este sentido, aunque de forma meramente descriptiva podemos decir que se observan valores similares en todas las muestras analizadas.

4.5. Correlación de la concentración de IL-5 con parámetros de inflamación en los pacientes con PA

El análisis de los resultados de correlación entre la concentración de IL-5 y los parámetros típicos de inflamación (número de leucocitos y de neutrófilos, PCR, VSG y fibrinógeno) en cada una de las extracciones de los pacientes con PA muestra que existe una correlación buena significativa inversa entre la concentración de IL-5 en la PA grave y el valor de eotaxina a las 96 horas. No existen otras correlaciones relevantes y significativas.

Tabla 50: Coeficiente de correlación (r de Spearman) entre el valor de interleucina 5 y los parámetros inflamatorios en las diferentes extracciones en pacientes PA. Sólo se indica significatividad estadística (entre paréntesis) si $p < 0,05$.

FIB: fibrinógeno; LEU: leucocitos; NEU: neutrófilos; PCR: proteína C reactiva; VSG: velocidad de sedimentación globular.

	IL-5, 24 horas		
	Total PA	PA leve	PA grave
LEU 24h	0,048	-0,007	0,151
NEU 24h	0,012	-0,059	0,082
PCR 24h	0,131	0,097	0,069
VSG 24h	0,029	0,139	-0,085
FIB 24h	0,047	0,051	-0,039

	IL-5, 48 horas		
	Total PA	PA leve	PA grave
LEU 48h	0,029	0,022	-0,108
NEU 48h	0,052	0,058	-0,098
PCR 48h	0,199	0,221	-0,055
VSG 48h	0,254	0,412 (0,004)	-0,590
FIB 48h	0,004	0,046	-0,370

	IL-5, 96 horas		
	Total PA	PA leve	PA grave
ETX 96h	0,028	0,153	-0,798 (0,003)

	IL-5, mes		
	Total PA	PA leve	PA grave
LEU mes	0,077	-0,009	0,237
NEU mes	0,184	0,148	0,190
PCR mes	-0,094	-0,182	0,058
VSG mes	0,031	0,129	-0,497
FIB mes	0,115	-0,039	0,201

4.6. Correlación de la concentración de IL-5 con los parámetros de inflamación en función de la etiología

No se observan correlaciones significativas entre IL-5 y los distintos parámetros inflamatorios cuando se subdividen los pacientes con PA por su diagnóstico etiológico.

4.7. Correlación de la concentración de IL-5 con los parámetros de inflamación en los pacientes PA en función del tipo de complicación

El tipo de complicaciones (locales y/o sistémicas) en las PA graves no induce correlación significativa entre los niveles de IL-5 y los distintos parámetros inflamatorios.

5. CORRELACIÓN ENTRE LOS PARAMETROS DE ESTUDIO EN LOS PACIENTES CON PANCREATITIS AGUDA

Se analiza el coeficiente de correlación entre los niveles séricos de IL-5 con el número de eosinófilos periféricos y la concentración de eotaxina en cada una de las muestras sanguíneas (tabla 51), observándose una buena correlación inversa significativa ($0,75 < r < 0,85$) en la muestra obtenida a las 96 horas del ingreso ($r = -0,798$, $p = 0,003$) en los pacientes con PA grave, lo que indica que a menor concentración sérica de IL-5 se observa mayor concentración de eotaxina.

También se observa en los pacientes con PA grave que existe, en general, una buena ($0,75 < r < 0,85$) correlación inversa significativa entre la concentración de IL-5 a las 48 horas y la concentración de eotaxina a las 24h, 96h y mes, así como entre el valor de IL-5 a las 96 horas y la concentración de eotaxina a las 24h, 48h y mes.

Tabla 51: Coeficiente de correlación (r de Spearman) entre IL-5 y eosinófilos periféricos, entre IL-5 y eotaxina, y entre eotaxina y eosinófilos en el grupo total de pacientes con PA, divididos por gravedad, en las diferentes muestras sanguíneas. Sólo se indica significatividad estadística (entre paréntesis), si $p < 0,05$.

	Total PA	PA leve	PA grave
IL-5, 24 horas			
ETX 24h	0,135	0,218	-0,381
EOS 24h	0,143	0,197	0,041

	Total PA	PA leve	PA grave
IL-5, 48 horas			
ETX 24h	-	-	-0,443
ETX 48h	-0,008	-0,024	-0,475
ETX 96h		-	-0,663 (0,006)
ETX mes		-	-0,688 (0,041)
EOS 48h	0,053	0,115	-0,091

	Total PA	PA leve	PA grave
IL-5, 96 horas			
ETX 24h	-	-	-0,706 (0,015)
ETX 48h			-0,689 (0,020)
ETX 96h	0,028	0,153	-0,798 (0,003)
ETX mes		-	-0,688 (0,041)
EOS 48h	0,053	0,115	-0,091

IL-5, mes			
ETX mes	0,097	0,047	-0,186
EOS mes	-0,172	-0,254	0,086

Eotaxina 24 horas			
EOS 24h	-0,025	-0,048	0,054

Eotaxina 48 horas			
EOS 48h	0,041	0,001	0,317

Eotaxina mes			
EOS mes	-0,116	-0,129	0,010

No se observan más resultados de correlación significativa entre los pacientes de los cuatro grupos formados por la etiología del episodio, así como tampoco entre los dos grupos de pacientes clasificados según el tipo de complicación.

DISCUSIÓN

1. Interés del estudio del eosinófilo en la pancreatitis aguda

La pancreatitis aguda (PA) es un proceso inflamatorio del páncreas que puede afectar también a otros órganos. Hasta un 25% de los casos pueden cursar como una forma grave con aparición de complicaciones locales, pancreáticas o peripancreáticas, o sistémicas que pueden conducir al desarrollo de un fallo multiorgánico (FMO) que provoca la muerte en un elevado número de casos. La mortalidad precoz debida a FMO representa entre el 40-60% de los casos de exitus, porcentaje que se ha mantenido constante durante muchos años, al contrario que el porcentaje de mortalidad relacionada con las complicaciones más tardías que se ha logrado disminuir significativamente en las últimas décadas (Braganza JM, 2001). Por ello muchos de los estudios realizados sobre la PA están enfocados a conocer los mecanismos fisiopatológicos iniciales que provocan el desarrollo del FMO para poder actuar primariamente sobre ellos y reducir la tasa de mortalidad precoz. Se ha planteado la existencia de un periodo aproximado de 48 horas entre la aparición de la primera sintomatología clínica y la aparición de complicaciones, en el que el estrés oxidativo no muestra diferencias entre los pacientes con PA leve y PA grave, periodo en el que se podría actuar con el objeto de reducir dicho estrés y mantener una evolución leve del episodio de PA (Hernández Ramírez V, 2006).

En nuestro medio, el abuso de alcohol y la enfermedad biliar son los principales factores etiológicos de la pancreatitis aguda, pero los mecanismos por los que estos factores conducen a la inflamación, el edema y la necrosis, no se conocen todavía. Hasta hace pocos años, los estudios sobre los mecanismos patogénicos de la pancreatitis eran muy escasos, probablemente debido a la relativa inaccesibilidad del páncreas durante este proceso, y todavía en la actualidad se desconocen muchos aspectos de estos mecanismos. Varios estudios en los últimos años han puesto de manifiesto que en la pancreatitis aguda se produce una inflamación local como fenómeno temprano, seguida de la aparición de edema y necrosis. La hipótesis actual es que la célula pancreática acinar, tras el estímulo etiológico, libera las citocinas IL-1, IL-6 y TNF- α , que van a desencadenar la atracción de leucocitos al páncreas. Los leucocitos, a través de la liberación de mediadores, producen una amplificación de la respuesta inflamatoria, que si es muy intensa puede conducir a una inflamación sistémica, el *Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica* (SIRS), responsable principal de la morbilidad y mortalidad en este proceso (Norman JG et al, 1995; Grady T et al, 1997; Ramudo L et al, 2005). La acumulación de neutrófilos, macrófagos y mastocitos en el páncreas durante la pancreatitis es un fenómeno bien conocido; en

cambio existe muy poca información sobre la participación del eosinófilo en este proceso.

Desde su identificación el eosinófilo ha sido considerado una célula citotóxica que, mediante la liberación de sustancias tóxicas almacenadas en sus gránulos secundarios, es capaz de destruir parásitos y así, llevar a cabo una función defensiva del hospedador, o por el contrario, producir un efecto deletéreo sobre determinados tejidos, como el epitelio bronquial en pacientes asmáticos (Calman P et al, 2006). Sin embargo, en estos últimos años se han producido grandes avances en el conocimiento de este tipo leucocitario que han dado lugar a un cambio de perspectiva ya, que ha pasado de ser contemplado como una célula exclusivamente citotóxica a ser considerado como una célula que participa activamente en la regulación de la respuesta inmunitaria y que tiene un papel importante en la inflamación.

Recientemente se ha demostrado que el eosinófilo expresa citocinas inflamatorias como TNF- α , IL-1, IL-6 e IL-8 y también es capaz de responder a ellas. Además es capaz de atraer macrófagos mediante la secreción de MIP-1 y de atraer neutrófilos potenciando de este modo la inflamación (Lacy P y Moqbel R, 2000). En patología, además del importante papel que tiene en las enfermedades alérgicas, actualmente se conoce que el eosinófilo está implicado en algunas enfermedades inflamatorias en fase activa, como la artritis reumatoide y la enfermedad inflamatoria intestinal, así como en procesos neoplásicos (Rothenberg ME y Hogan SP, 2006). Estos hechos nos sugieren que el eosinófilo podría participar en la patogenia de la pancreatitis aguda, una enfermedad en la que las citocinas inflamatorias tienen un papel principal en la iniciación del proceso y en su desarrollo.

La pancreatitis aguda se caracteriza por la recuperación completa de la estructura y de la función del páncreas, en cambio en la pancreatitis crónica se produce una destrucción irreversible de la estructura pancreática que se va atrofiando y va siendo sustituida por tejido fibrótico (Mews P et al, 2001). Actualmente se reconoce que repetidas crisis de pancreatitis aguda pueden conducir a una pancreatitis crónica y se considera por la mayoría de autores que la pancreatitis aguda alcohólica (clínica y analíticamente relacionada con la ingesta de alcohol) puede considerarse *ab initio* como una pancreatitis crónica, desde el punto de vista anatomopatológico. Aunque los cambios morfológicos de la pancreatitis crónica se conocen desde hace décadas, las condiciones fisiopatológicas que conducen a ellos todavía no han sido elucidadas. No obstante, se han realizado considerables avances en estos últimos años debido,

sobretudo, a la identificación de la célula estrellada pancreática (Apte MV et al, 1998; Bachem MG et al, 1998) que juega un papel central en la fibrogénesis pancreática, de manera análoga a la célula estrellada hepática en la fibrosis hepática (Li D y Friedman S, 1999). Se ha hipotetizado que tras una lesión pancreática la célula estrellada pancreática (PSC) se activa, prolifera, se transforma en una célula con fenotipo de miofibroblasto y sintetiza proteínas de la matriz extracelular, fundamentalmente colágeno (Emrich J et al, 2000). Los factores que pueden activar a las PSC son el alcohol, factores de crecimiento como el PDGF y el TGF- β (Apte MV et al, 1998) y productos derivados del estrés oxidativo (Apte MV et al, 2000). Recientemente se ha demostrado que las citocinas TNF- α , IL-1 e IL-6 también pueden activar a esta célula (Mews P et al, 2001). Puesto que estas citocinas inflamatorias están elevadas tempranamente en la pancreatitis, una producción persistente de las mismas, o en forma de crisis repetidas, podría contribuir al desarrollo de la fibrosis pancreática.

Además de intervenir en la patogenia de la pancreatitis aguda mediante la producción de citocinas inflamatorias, el eosinófilo podría participar en la pancreatitis crónica a través de la formación de fibrosis por otros mecanismos. Varios estudios recientes han demostrado que esta célula es capaz de regular la proliferación de células mesenquimatosas, la diferenciación de miofibroblastos y la producción de proteínas de la matriz extracelular a través de la secreción de mediadores profibróticos como el TGF- β , y las citocinas IL-4 e IL-13 (Huaux F et al, 2005).

2. Valoración del grupo de estudio

El grupo de estudio, tal como se presenta en el apartado de Material y Métodos, está constituido por 125 pacientes, 51% mujeres y 49% hombres, de edades comprendidas entre 25 y 90 años, que presentaban cuadro típico de pancreatitis aguda. La etiología de los episodios queda definida en porcentajes, presentando un origen biliar el 65,6%, un origen alcohólico un 13,6%, un origen con causas diversas un 2,4% y en otro 18,4% de los pacientes no se pudo filiar la causa de la pancreatitis aguda, datos que se ajustan a las recomendaciones internacionales que abogan por no superar el 20% de episodios de origen no filiado. En principio, se incluyen todos los pacientes con cualquier etiología dado que no se conoce que efecto puede tener la etiología sobre el número de eosinófilos en sangre periférica y los valores de eotaxina e IL-5 en suero. Finalmente, en nuestro estudio, no podemos afirmar que la etiología provoque diferencias significativas en los valores de eotaxina e IL-5, y en cambio si que se observan diferencias significativas en el número de eosinófilos en relación con la etiología del episodio.

El 19,2 % de los casos cursaron con un episodio de PA grave y el 80,8% se consideró un episodio leve, datos que son similares a los descritos en los documentos de consenso alcanzados en los diferentes simposios celebrados sobre la pancreatitis aguda (United Kingdom Guidelines for the management of acute pancreatitis, 2005). De los pacientes clasificados como PA grave presentaron complicaciones locales un 11,2% del total de pacientes y presentaron complicaciones sistémicas un 12,2%. El porcentaje de mortalidad de la muestra total de pacientes fue del 1,2%, dato inferior al publicado en diferentes series, que varía entre el 5 y el 9% (Werner J et al, 2005; Modifi R et al, 2006) aunque los porcentajes de pacientes con PA con complicaciones locales y complicaciones sistémicas se ajustan, tal como se ha comentado anteriormente, a los datos descritos en las publicaciones anteriores.

Con todo ello, podemos concluir que la muestra de pacientes con pancreatitis aguda estudiada en este trabajo, es una muestra representativa de la población total de pacientes con PA.

3. Variación del número de eosinófilos en la pancreatitis aguda

El proceso inflamatorio está caracterizado por la atracción de los leucocitos desde la médula ósea hasta los tejidos dañados y la activación de dichas células en el foco de inflamación. Estos procesos se llevan a cabo por mediadores químicos, citocinas o quimiocinas, que pueden ser liberadas en primera instancia por el tejido lesionado y por las propias células inflamatorias infiltrantes que amplifican así la cascada inflamatoria. Los leucocitos se activan de forma muy rápida durante el proceso inflamatorio; sin embargo no existen datos sobre la activación del eosinófilo en el curso de la pancreatitis aguda.

Nuestros resultados muestran que el número de eosinófilos circulantes en pacientes con pancreatitis aguda está dentro de la normalidad en las determinaciones realizadas durante la evolución del episodio. Sin embargo, en la comparación entre los distintos momentos evolutivos de la enfermedad, el número de eosinófilos presenta variaciones significativas. El hecho de que no exista una elevación significativa en el número de eosinófilos en la pancreatitis aguda con respecto al grupo control, no excluye su participación en esta enfermedad ya que la eosinofilia no es una condición indispensable para su participación en un proceso patológico; por ejemplo, hay enfermedades, como la enfermedad inflamatoria intestinal, en las que a pesar de que no están elevados en sangre periférica se ha observado la presencia de eosinófilos activados en la mucosa intestinal y su relación con la recidiva (Dubucquoi S et al, 1995).

En las primeras 24 horas del inicio de la pancreatitis el número de eosinófilos circulantes en nuestros pacientes, considerados en su conjunto, está disminuido de manera significativa respecto a su valor a las 48 horas y respecto a su valor al cabo de un mes; es decir, los eosinófilos presentan una elevación progresiva desde el inicio de la pancreatitis hasta el periodo de recuperación un mes después. Podríamos hipotetizar que el menor número de eosinófilos circulantes en los primeros momentos de la enfermedad puede deberse a su secuestro en el páncreas, tal y como se ha explicado este mismo fenómeno en las infecciones agudas con formación de abscesos, donde se ha observado que los eosinófilos acuden al foco abscesificado y disminuyen en sangre periférica (Bass DA, 1975). Otra posibilidad es que los mecanismos que inducen la eosinofilia, tanto periférica como tisular, no actúen en los primeros momentos de la crisis, sino que aparezcan de manera secundaria a los procesos inflamatorios tempranos. La IL-5 es el principal factor de inducción de la producción de eosinófilos en

la médula ósea ; la elevación sérica de esta citocina argumenta a favor de la primera hipótesis.

En un estudio reciente realizado por Pietruczuk et al. en pacientes con pancreatitis aguda (Pietruczuk M et al, 2006) se observa un comportamiento similar en los linfocitos circulantes durante la fase aguda de la enfermedad, los cuales presentan un ascenso en la segunda semana de la evolución. Sin embargo, en este trabajo, después de transcurrido un mes, el número de linfocitos circulantes vuelve a los valores iniciales, contrariamente a lo que sucede en los eosinófilos que, según nuestros resultados, permanecen significativamente elevados un mes después respecto a la primera semana de evolución. Estos datos sugieren que a diferencia de los linfocitos, los eosinófilos podrían estar implicados en la evolución tardía de la pancreatitis aguda.

En relación con la gravedad del proceso destaca que mientras que en los pacientes con pancreatitis aguda leve el nivel de eosinófilos circulantes aumenta ya significativamente a las 48 horas del inicio del proceso, en los pacientes con pancreatitis aguda grave sólo se detecta este aumento significativo de eosinófilos en la extracción realizada al cabo de un mes del alta hospitalaria del paciente, es decir a las 48 horas los eosinófilos permanecen sin diferencias respecto al valor inicial. Este hecho sugiere que en los pacientes en los que la pancreatitis cursa con mayor gravedad se retrasan los mecanismos que inducen el aumento de eosinófilos, o bien, que en estos pacientes graves los eosinófilos son atraídos al páncreas y retenidos allí durante más tiempo.

Analizando los resultados según la etiología de la pancreatitis aguda, observamos que el grupo de pacientes con pancreatitis de etiología alcohólica presenta un aumento significativo del número de eosinófilos circulantes respecto al grupo de pacientes con pancreatitis de etiología biliar y respecto al grupo de pacientes con pancreatitis idiopática, tanto en el momento del ingreso como al mes del episodio agudo. Esto podría ser debido, en parte, al efecto proinflamatorio de la ingesta de alcohol que activa rápidamente, en un plazo de 1 hora, la expresión de mediadores proinflamatorios, en concreto de la IL-6, lo cual provoca el incremento de los niveles de TNF- α y otras citocinas (Pedersen N et al, 2004) y con ello la rápida activación de los leucocitos, y entre ellos los eosinófilos, a través del aumento de eotaxina que induce TNF- α (Li L et al, 1999). Transcurrido un mes del episodio agudo, el hecho de que se mantenga más alto el número de eosinófilos en los pacientes con pancreatitis aguda alcohólica, podría estar indicando una acción concreta del etanol sobre la producción de eosinófilos. Sin

embargo, nuestros análisis de correlación entre la ingesta diaria de alcohol y el número de eosinófilos no aporta significación estadística en ninguna de las extracciones por lo que no es posible, con los datos del estudio, corroborar esta hipótesis.

4. Expresión de eotaxina en pacientes con pancreatitis aguda

El hecho de que los eosinófilos se acumulen selectivamente en el pulmón durante la inflamación alérgica sugirió la existencia de sustancias quimiotácticas selectivas del eosinófilo y condujo al descubrimiento de la eotaxina (Jose PF et al, 1994). Desde entonces se ha avanzado mucho en el conocimiento de este mediador, aunque los estudios han sido realizados sobretudo en enfermedades alérgicas y más recientemente en la enfermedad inflamatoria intestinal. Además de la actividad quimiotáctica, la eotaxina induce la agregación del eosinófilo y una mayor expresión de las moléculas de adhesión que permiten a esta célula leucocitaria unirse a las células endoteliales para que se produzca la transmigración (Jia GQ et al, 1999).

Nuestros resultados muestran que en las primeras 48 horas del inicio de la pancreatitis aguda no existen diferencias significativas en la expresión sérica de eotaxina entre el grupo de pacientes y el grupo control de personas sanas. Sin embargo, a las 96 horas de iniciado el proceso se produce una elevación de la concentración de eotaxina sérica en el grupo de pacientes en relación a su valor en el grupo de controles sanos. Esta elevación se mantiene y es todavía mayor, al cabo de un mes. Este comportamiento de la eotaxina es diferente al de las citocinas típicamente proinflamatorias, como IL-1, IL-6 y TNF- α , que aumentan muy tempranamente, a las pocas horas de iniciada la crisis, y se normalizan en una semana aproximadamente (Schölmerich J, 1996; Mentula P et al, 2004).

La expresión de eotaxina en pacientes con pancreatitis no había sido estudiada hasta ahora y se desconoce cuáles son las células que pueden estar produciendo esta quimiocina en el curso de la inflamación pancreática. Una fuente de eotaxina en la pancreatitis podrían ser las células tisulares del páncreas o también las células infiltrantes, directamente o a través de otros mediadores. Actualmente se conoce que TNF- α y otras citocinas inflamatorias son, junto con citocinas Th2, las principales inductoras de la expresión de eotaxina en distintas células como fibroblastos (Mochizuki M et al, 1998) y células epiteliales del pulmón (Li L et al, 1999). Es un hecho establecido, tanto en modelos experimentales animales como en clínica humana, que TNF- α aumenta en las primeras horas del inicio de la pancreatitis aguda (Norman JG et al, 1995) posiblemente producido por macrófagos o por otras células como mastocitos y basófilos. En un estudio realizado por Gucovskaya et al, estos autores demostraron que la célula acinar del páncreas tiene la capacidad de producir TNF- α , lo que fundamenta la hipótesis de que el TNF- α liberado por la célula acinar

tras la agresión al páncreas es uno de los primeros mecanismos de la inflamación que iniciaría los procesos infiltrativos tempranos en este órgano (Gucovskaya AS et al, 1997). Estos hechos nos permiten hipotetizar que el aumento de la expresión de eotaxina que hemos observado en nuestros pacientes podría relacionarse con la expresión de TNF- α en la pancreatitis aguda, ya que esta citocina es un fuerte inductor de la producción de eotaxina. De esta manera, eotaxina no sería un mediador temprano sino un mediador que participaría en los bucles de amplificación de la inflamación a través de la atracción y la activación del eosinófilo, que a su vez, podría liberar citocinas inflamatorias que perpetuarían el proceso inflamatorio.

En relación con estos hechos, aunque en referencia al páncreas endocrino, se ha publicado recientemente un trabajo en el que se observa que en ratas que espontáneamente desarrollan diabetes existe eosinofilia sanguínea, infiltración eosinofílica de los islotes de Langerhans y aumento de la expresión de eotaxina en sangre, que se relaciona con el daño pancreático y con el comienzo de la enfermedad. (Hessner MJ et al, 2004). Este hecho, junto con el hallazgo de que la célula β del páncreas secreta eotaxina, sugieren que esta quimiocina liberada por células tisulares del páncreas o por otras células podría ser responsable de la atracción de eosinófilos al páncreas inflamado y contribuir, de ese modo, a la patogenia de la enfermedad mediante la amplificación de señales inflamatorias

La evolución del número de eosinófilos circulantes y de la expresión de eotaxina en suero a lo largo de la evolución de la enfermedad son similares; se observa la tendencia a una correlación negativa entre ambos parámetros, aunque esta correlación no alcanza valores estadísticamente significativos. Teniendo en cuenta que la eotaxina induce la migración de los eosinófilos desde la sangre periférica hacia los tejidos (Rothenberg ME, 1999), podemos pensar que la disminución observada del número de eosinófilos circulantes en pacientes con niveles altos de eotaxina se produce porque en estos pacientes habría una mayor atracción hacia el páncreas y un secuestro en dicho órgano. Un hecho similar ha sido descrito en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (Mir A et al, 2002).

No hemos encontrado ninguna correlación significativa entre la concentración de eotaxina y la concentración de la proteína C reactiva o el número de leucocitos circulantes. Mientras que las proteínas de fase aguda aparecen en las primeras horas del inicio de una pancreatitis aguda nuestros resultados indican que la eotaxina no empieza a aumentar hasta 96 horas después. En otras enfermedades inflamatorias,

como la enfermedad inflamatoria intestinal, tampoco se ha puesto de manifiesto una correlación entre eotaxina y proteína C reactiva (Chen W et al, 2001; Mir A et al, 2002) y probablemente la expresión de ambos parámetros responda a estímulos diferentes.

La pancreatitis aguda se caracteriza por la recuperación completa de la estructura y de la función del páncreas. En cambio en la pancreatitis crónica se produce una destrucción irreversible de la estructura pancreática que se va atrofiando y va siendo sustituida por tejido fibrótico (Mergener K y Baillie J, 1997). Actualmente se reconoce que repetidas crisis de pancreatitis aguda pueden conducir a una pancreatitis crónica. Los mecanismos que conducen a la fibrosis en la pancreatitis crónica todavía no han sido elucidados, no obstante se han realizado considerables avances en este campo, debido sobre todo a la identificación de la célula estrellada pancreática. Como se ha comentado anteriormente, se piensa que esta célula juega un papel central en la fibrogénesis del páncreas, del mismo modo que la célula estrellada hepática en la fibrosis hepática, de manera que debido a una lesión pancreática las células estrelladas se activan, proliferan y sintetizan proteínas de la matriz extracelular (Mews P et al, 2001).

Son diversos los factores que pueden activar a la célula estrellada pancreática entre los cuales se hallan las citocinas TNF- α , IL-1 e IL-6, que se elevan tempranamente en el suero de pacientes con pancreatitis aguda, por lo que una respuesta persistente ó repetidos aumentos de citocinas inflamatorias podría contribuir al desarrollo de la fibrosis.

La elevación persistente en la concentración de eotaxina sérica que hemos observado en nuestros pacientes, que transcurrido un mes del inicio del episodio muestran una elevación significativa respecto al grupo control, podría significar que esta citocina tiene un papel importante en la cronificación de la pancreatitis y en particular en el proceso de fibrogénesis. En este sentido se ha publicado recientemente un trabajo en el que se analiza la expresión de eotaxina en pacientes con hepatitis crónica (Tacke F et al, 2007). En él, los autores describen una correlación positiva entre los niveles de eotaxina sérica y el grado de fibrosis hepática, por lo que deducen que la eotaxina puede estar implicada en la patogénesis de las enfermedades crónicas hepáticas. Además, estudios *in vitro* han demostrado que eotaxina induce la proliferación de fibroblastos pulmonares y la producción de colágeno (Puxeddu I et al, 2006), por lo que esta citocina podría participar directamente en la fibrogénesis, además de indirectamente a través de su efecto sobre los eosinófilos.

5. Expresión de IL-5 en pacientes con pancreatitis aguda

Interleucina-5 es una citocina que participa de manera central en la patología mediada por una activación de linfocitos Th2, como las enfermedades alérgicas, el cáncer o las parasitosis. En estas circunstancias IL-5 induce la proliferación, diferenciación y activación del eosinófilo y sensibiliza a esta célula para que responda a agentes quimiotácticos. Es también un potente activador de funciones del eosinófilo tales como la citotoxicidad y la liberación de mediadores (Sanderson CJ, 1992). En un modelo experimental de esofagitis alérgica eosinofílica en ratón (Mishra A et al, 2002) se ha demostrado que el aumento de producción de IL-5 induce la acumulación de eosinófilos a la mucosa esofágica. De una manera similar, niveles elevados de IL-5 también inducen la acumulación de eosinófilos en las placas de Peyer del intestino (Mishra A et al, 2000). Estos hechos sugieren que la IL-5, no sólo actúa favoreciendo la migración de los eosinófilos desde la médula ósea a sangre periférica, sino que también participa en la atracción de los eosinófilos a los tejidos.

Nuestros resultados muestran que en pacientes con pancreatitis aguda se produce una elevación significativa de la concentración de IL-5 en las primera 24 horas del inicio de la crisis, contrariamente a la eotaxina que se mantiene en niveles normales y no empieza a aumentar hasta 96 horas después. El aumento de IL-5 en suero va progresando en las 48 y 96 horas para volver a la normalidad después, de modo que al cabo de un mes esta citocina se encuentra en niveles normales en todos los pacientes. Un trabajo reciente en el que se analizan las citocinas Th1 y Th2 en pacientes con pancreatitis presenta resultados similares (Pietruczuk M et al, 2006). Estos hechos nos permiten pensar que la IL-5 podría intervenir inicialmente en la pancreatitis promoviendo la atracción del eosinófilo al páncreas y su activación, mientras que en los días posteriores sería la eotaxina, secretada por el propio eosinófilo ó por otras células, la que mantendría la presencia del eosinófilo en el foco de inflamación. Estos resultados son coherentes con el momento de actuación de los dos mediadores selectivos del eosinófilo: la IL-5 actúa fundamentalmente favoreciendo la diferenciación y proliferación del eosinófilo en la médula ósea y su migración a la sangre, mientras que eotaxina es responsable de la migración del eosinófilo a los tejidos. La normalización de la IL-5 un mes después de la crisis aguda que presentan nuestros pacientes sugiere que esta citocina, al contrario que la eotaxina, no está implicada en los procesos de cronificación de la enfermedad.

Dado que se ha demostrado que el efecto de atracción química de la eotaxina sobre el eosinófilo se ve incrementado por IL-5 (Collins PD et al, 1995), en nuestro estudio hemos observado el comportamiento de la concentración de IL-5 en el suero de pacientes con PA. El nivel de IL-5 está incrementado durante las primeras 48 horas y disminuye a partir de aquí, recuperando su nivel similar al valor considerado normal a partir de las 96 horas. La etiología o la gravedad de la pancreatitis no afectan a estos resultados, así como la aparición de complicaciones locales o complicaciones sistémicas.

Recientemente ha sido publicado el único estudio que hemos encontrado en la revisión bibliográfica sobre la presencia de IL-5 en suero de pacientes con PA (Pietruczuk M et al, 2006). Nuestros resultados son similares a los obtenidos por dicho estudio en el que se observa un leve incremento hasta las 48 horas y un descenso posterior para alcanzar niveles casi normales a los 10 días. Este trabajo muestra diferencias estadísticamente significativas entre el control y los pacientes con PA en los primeros días del ingreso y presenta valores similares de IL-5 entre los pacientes y el grupo control a partir del quinto día. Tal como observamos en nuestros resultados, no existen diferencias significativas en la concentración sérica de IL-5 entre los pacientes con PA grave y con PA leve, aunque en nuestro estudio los valores de IL-5 son menores en los pacientes con PA grave que aquellos que presentan PA leve. En el caso del estudio de Pietruczuk M et al, la concentración de IL-5 de los pacientes graves es ligeramente mayor que la de los pacientes leves. Las diferencias entre ambos estudios podrían radicar en los distintos criterios de clasificación de los pacientes en un grupo u otro, ya que en nuestro estudio se agrupan según los criterios de Atlanta y en el otro estudio se agrupan en función de la presencia en sangre periférica de una concentración de PCR mayor o igual a 150 mg/l (PA grave) o menor a dicha concentración (PA leve).

La elevación de los niveles de citocinas Th2 (IL-4, IL-5 e IL-10) durante la primera semana del curso del episodio de pancreatitis aguda, acompañado por la depleción de linfocitos T y B especialmente durante la primera semana, efecto mayor en los pacientes con PA grave, hace pensar en que la segunda semana de la enfermedad es crítica para la función de las células inmunes (Pietruczuk M et al, 2006).

6. Estudio conjunto de los parámetros de estudio

Nuestros resultados muestran una correlación negativa relevante entre la concentración sérica de eotaxina y la concentración sérica de IL-5 en pacientes con pancreatitis aguda a las 48 y 96 horas de iniciado el proceso. Este hecho señala que ambas citocinas actúan en distintos momentos; mientras que la IL-5 está presente en los primeros días de la pancreatitis, junto con los mediadores inflamatorios tempranos, la eotaxina aparece después de este periodo y la prolongación de los valores elevados después de un mes, hace pensar en su participación en mecanismos de cronificación de la enfermedad. Además, la correlación negativa que observamos entre los parámetros sugiere la posibilidad de un mecanismo de control negativo entre ellos. En este sentido, un reciente trabajo de Costa GG et al, 2007, demuestra que la incubación in vitro de eosinófilos con eotaxina inhibe, en un ensayo posterior, la quimiotaxis inducida por IL-5 de estos eosinófilos, sugiriendo que eotaxina ejerce una función reguladora negativa sobre IL-5.

Entre la concentración de eotaxina y el número de eosinófilos circulantes existe una tendencia a la correlación negativa, aunque este dato no alcanza significación estadística. Podríamos pensar que el bajo número de eosinófilos circulantes que acompaña al aumento de eotaxina se debe a la atracción de estas células hacia el páncreas y su secuestro en este órgano.

Un porcentaje importante de la mortalidad de la PA está atribuida a las complicaciones de la necrosis pancreática. El consumo de alcohol de forma continuada puede ser un factor de riesgo muy importante en los procesos de necrosis pancreática así como se ha demostrado para los procesos de fibrosis pancreática (Deng X et al, 2005). Podríamos hipotetizar que la presencia de eotaxina al mes del episodio agudo observada en los pacientes estaría implicada en los procesos de necrosis, ya que en pacientes PA en los que se presenta necrosis pancreática, la concentración de eotaxina es mayor que en los pacientes en los que no se presenta necrosis, aunque los resultados no presentan significación estadística dado el escaso número de pacientes que presentan necrosis en nuestra serie. Aunque las diferencias observadas carecen de significación estadística, en pacientes con necrosis pancreática la concentración de IL-5 es menor que en los pacientes que no presentan necrosis.

Los procesos de reparación del páncreas, al igual que el tejido del hígado y del pulmón, se realizan mediante el proceso de fibrosis del tejido lesionado. La necrosis puede

provocar el inicio del proceso de fibrosis y en ésta, la eotaxina puede jugar un papel importante dado que se ha demostrado su capacidad de activar fibroblastos para que produzcan proteínas de la matriz extracelular (Puxeddu I et al, 2006).

La pancreatitis aguda es el resultado de una compleja interacción entre células inflamatorias, mediadores que éstas liberan y mediadores de las células de los tejidos afectados. Probablemente en la PA el eosinófilo participa también, junto con otros factores, en la inmunoregulación del proceso inflamatorio, como sugiere el aumento de los mediadores quimiotácticos selectivos del eosinófilo en este proceso.

CONCLUSIONES

En función de los objetivos establecidos y de los resultados obtenidos en el presente trabajo se pueden establecer las siguientes conclusiones:

1. En la pancreatitis aguda el número de eosinófilos circulantes, aunque se encuentra en los rangos de normalidad, presenta una elevación progresiva desde el inicio del proceso que persiste al cabo de un mes, lo que indica que el eosinófilo participa en la fase aguda y en la fase de recuperación de la pancreatitis.
2. Los pacientes con pancreatitis alcohólica presentan, en todas las determinaciones, una elevación de eosinófilos en sangre periférica mayor que la de los grupos de pacientes con pancreatitis biliar o idiopática, lo que apoya la idea de que las pancreatitis alcohólicas representan un grupo con características propias.
3. En pacientes con pancreatitis aguda, la expresión de eotaxina en suero aumenta a partir del cuarto día de su ingreso hospitalario. Este aumento es todavía mayor al cabo de un mes del inicio del proceso, lo que sugiere que eotaxina está implicada en la fisiopatología de la pancreatitis, e interviene después de las proteínas de fase aguda de la inflamación amplificando sus efectos.
4. La expresión de eotaxina sérica es significativamente mayor en los pacientes que presentan un episodio de pancreatitis aguda grave que en aquellos que presentan un episodio leve, en todas las determinaciones. Este hecho permite proponer que la concentración de eotaxina en suero es un indicador de gravedad, aunque no aparezca en los primeros días de la enfermedad.
5. El valor de interleucina-5 en suero aumenta progresivamente en los pacientes con pancreatitis aguda durante los dos primeros días después del inicio del proceso y se reduce de forma significativa el cuarto día, lo que indica que la interleucina-5 está implicada en los mecanismos precoces de la inflamación en la pancreatitis aguda.
6. La expresión de eotaxina y de interleucina-5 en las pancreatitis agudas presenta una cinética diferente, lo que sugiere que estas dos citocinas participan en distintos momentos de la evolución de la enfermedad.

7. La concentración de interleucina-5 en suero a las 96 horas presenta una correlación negativa con la concentración de eotaxina, lo que permite pensar en la existencia de mecanismos reguladores a nivel celular entre ambas citocinas.

BIBLIOGRAFÍA

Abehsira-Amar O, Gibert M, Theze I, Iankovic D.

IL-4 plays a dominant role in the differential development of Th0 into Th1 and Th2 cells.

J Immunol (1992), 148: 3820- 3829

Albrigh AV, Shieh JT, Itoh T, Lee B, Pleasure D, O'Connor MJ, Doms RW, González-Scarano F.
Microglia express CCR-5, CXCR4 and CCR3, but of this, CCR5 is the principal correceptor for human immunodeficiency virus type I dementia isolates.

J Virol (1999), 73: 205-213

Alexander WS, Hilton DJ.

The role of supressors of cytokine signaling (SOCS) protein in regulation immune response.

Annu Rev Immunol (2004), 22: 503-529

Al-Haddad S, Riddell RH.

The role of eosinophils in inflammatory bowel disease.

Gut (2005), 54 (12): 1674-1675

Ansel KM, Cyster JG.

Chemokines in lymphopoiesis and lymphoid organ development.

Curr Opin Immunol (2001), 13 (2): 172-179. Review

Aparisi L, Farre A, Gomez-Cambronero L, Martinez J, De las Heras G, Corts J, Navarro S, Mora J, Lopez-Hoyos M, Sabater L, Ferrandez A, Bautista D, Perez-Mateo M, Mery S, Sastre J.
Antibodies to carbonic anhydrase and IgG4 levels in idiopathic chronic pancreatitis: relevance for diagnosis of autoimmune pancreatitis.

Gut (2005), 54: 703-709

Apte MV, Haber PS, Applegate TL, Norton ID, McCaughan GW, Korsten MA, Pirola RC, Wilson JS.
Periacinar stellate shaped cells in rat pancreas: identification, isolation and culture.

Gut (1998), 43: 128-133

Apte MV, Haber PS, Darby SJ, Rodgers SC, McCaughan GW, Korsten MA, Pirola RC, Wilson JS.
Pancreatic stellate cells are activated by proinflammatory cytokines: implications for pancreatic fibrogenesis.

Gut (1999), 45: 543-541

Apte MV, Phillips PA, Fahmy RG, Darby SJ, Rodgers SC, McCaughan GW, Korsten MA, Pirola RC, Naidoo D, Wilson JS.

Does alcohol directly stimulate pancreatic fibrogenesis? Studies with rat pancreatic stellate cells.

Gastroenterol (2000), 118: 780-794

Assa'ad AH, Spicer RL, Nelson DP, Zimmermann N, Rothenberg ME.

Hypereosinophilic syndromes. In "Human eosinophils. Biological and clinical aspects".

Marone G (Ed). Chem Immunol (2000), 76: 208-229

Bachem MG, Schneider M, Grob H, Weidenbach H, Schmid RM, Menke A, Siech M, Beger H, Grünter A, Adler G.

Identification, culture and characterisation of pancreatic stellate cells in rats and human.

Gastroenterol (1998), 115: 421-432

- Baggiolini M, Dewald B, Moser B.
Human chemokines: An update.
Annu Rev Immunol (1997), 15: 675-705
- Balthazar EJ, Robinson DL, Megibow AJ, Ranson JHC.
Acute pancreatitis: value of CT in establishing prognosis.
Radiology (1990), 174: 331-336
- Banks C, Bateman A, Payne R, Johnson P, Sheron N.
Chemokine expression in IBD. Mucosal chemokine expression is unselectively increased in both ulcerative colitis and Crohn's disease.
J Pathol (2003), 199 (1): 28-35
- Banks PA.
Practice guidelines in acute pancreatitis.
Am J Gastroenterol (1997), 92: 377-386
- Bartels J, Schluter C, Richter E, Noso N, Kulke R, Christophers E, Schröder JM.
Human dermal fibroblasts express eotaxin: molecular cloning, mRNA expression and identification of eotaxin sequence variants.
Biochem Biophys Res Commun (1996), 225: 1045-1051
- Bass DA.
Behaviour of eosinophilic leukocytes in acute inflammation. II Eosinophil dynamics during acute inflammation.
J Clin Invest (1975), 56: 870-879
- Bathia M, Brady M, Shoukin S, Christmas S, Neoptolemos Jonh P, Slavin J.
Inflammatory mediators in acute pancreatitis.
J Pathol (2000), 190: 117-125
- Bathia M.
Apoptosis of pancreatic acinar cells in acute pancreatitis: is it good or bad?.
J Cell Mol Med (2004), 8 (3): 402-409
- Bazan JF, Bacon KB, Hardiman G, Wang W, Soo K, Rossi D, Greaves DR, Zlotnik A, Schall TJ.
A new class of membrane-bound chemokine with a CX3C motif.
Nature (1997), 385 (6617): 640-644
- Beger HG, Bittner R, Büchler M, Hess W, Schmitz JE.
Hemodynamic data pattern in patients with acute pancreatitis.
Gastroenterology (1986), 90 (1): 74-79
- Bhatnagar A, Wig JD, Majumdar S.
Expression of activation, adhesion molecules and intracellular cytokines in acute pancreatitis.
Immunol Lett (2001), 77: 133-141

Blamey SL, Imrie CW, O'Neil J, Gilmour WH, Carter DC.

Prognostic factors in acute pancreatitis.

Gut (1984), 25: 1340-1346

Bradley EL.

A clinically based classification system for acute pancreatitis. Summary of the International Symposium on Acute Pancreatitis, Atlanta, Ga, September 11 through 13, 1992.

Arch Sur (1993), 128: 586-590

Braganza JM, Scott P, Bilton D, Schofield D, Chaloner C, Shiel N, Hunt LP, Bottiglieri T.

Evidence for early oxidative stress in acute pancreatitis.

Int J Pancreatol (1995), 17: 69-81

Braganza JM.

Towards a novel treatment strategy for acute pancreatitis. Reappraisal of the evidence on aetiology.

Digestion (2001), 63: 69-91

Brivet FG, Emile D, Galanaud P.

Pro- and anti-inflammatory cytokines during acute severe pancreatitis: an early and sustained response, although unpredictable of death. Parisian Study Group on Acute Pancreatitis.

Crit Care Med (1999), 27 (4): 749-755

Broide DH, Paine MN, Firestein GS.

Eosinophils express interleukin 5 and granulocyte macrophage-colony-stimulating factor mRNA at sites of allergic inflammation in asthmatics.

J Clin Invest (1992), 90: 1414-1424

Broxmeyer HE, Sherry B, Lu L, Cooper S, Carow C, Wolpe SD, Cerami A.

Myelopoietic enhancing effects of murine macrophage inflammatory proteins 1 and 2 on colony formation in vitro by murine and human bone marrow granulocyte/macrophage progenitor cells.

J Exp Med (1989), 170: 1583-1594

Büchler M, Malfertheiner P, Schoetensack C, Uhl W, Beger HG.

Sensitivity of antiproteases, complement factors and C-reactive protein in detecting pancreatic necrosis. Results of a prospective clinical study.

Int J Pancreatol (1986), 1 (3-4): 227-235

Bullock JZ, Villanueva JM, Blanchard C, Filipovich AH, Putman PE, Collins MH, Risma KA, Akers RM, Kirby CL, Buckmeier BK, Assa'ad AH, Hogan SP, Rothenberg ME.

Interplay of adaptive Th2 immunity with eotaxin-3/C-C chemokine receptor 3 in eosinophilic esophagitis.

J Pediatr Gastroenterol Nutr (2007), 45 (1): 22-31

Burke-Gaffney A, Hellewell PG.

Eotaxin stimulates eosinophil adhesion to human lung microvascular endothelial cells.

Biochem Biophys Res Commun (1996), 227: 35-40

Cano NF, Montoya CJ.

Las quimiocinas: citoquinas proinflamatorias y reguladoras del tráfico celular.

IATREIA (2001), 14 (1): 57-72

- Chen CC, Wang SS, Lee FY, Chang FY, Lee SD.
Proinflammatory cytokines in early assessment of the prognosis of acute pancreatitis.
Am J Gastroenterol. (1999), 94 (1): 213-218
- Chen W, Paulus B, Shu D, Wilson I, Chadwick W.
Increase serum levels of eotaxin in patients with inflammatory bowel disease.
Scand J Gastroenterol (2001), 36: 515-520
- Chun-Chia C, Sun-Sang W, Fa-Yauh L, Full-Young C, Shou-Dong L.
Proinflammatory cytokines in early assessment of the prognosis of acute pancreatitis.
Am J Gastroenterol (1999), 94 (1): 213-18
- Clutterbuck EJ, Hirst EM, Sanderson CJ.
Human interleukin-5 (IL-5) regulates the production of eosinophils in human bone marrow cultures: comparison and interaction with IL-1, IL-3, IL-6, and GM-CSF.
Blood (1989), 73 (6): 1504-12
- Coffman RL, Seymour BWP, Hudak S, Jackson J, Rennick D.
Antibody to interleukin-5 inhibits helminth-induced eosinophilia in mice.
Science (1989), 245: 308-310
- Collins PD, Marleau S, Griffiths-Johnson DA, José PJ, Williams TJ.
Cooperation between interleukin-5 and the chemokine eotaxin to induce eosinophil accumulation in vivo.
J Exp Med (1995), 182: 1169-1174
- Costa GG, Silva RM, Franco-Penteado CF, Antunes E, Ferreira HH.
Interactions between eotaxin and interleukin-5 in the chemotaxis of primed and non-primed human eosinophils.
Eur J Pharmacol (2007), 566: 200-205
- D'Andrea A, Ma X, Aste-Amezaga M, Paganin C, Trinchieri G.
Stimulatory and inhibitory effects of interleukin (IL)-4 and IL-13 on the production of cytokines by human peripheral blood mononuclear cells: priming for IL-12 and tumor necrosis factor alpha production.
J Exp Med (1995), 181 (2): 537-546
- Danese S, Gasbarrini A.
Chemokines in inflammatory bowel disease.
J Clin Pathol (2005), 58 (10): 1025-1207
- Daneshjoo R, Talley J.
Eosinophilic gastroenteritis.
Curr Gastroenterol Rep (2002), 4 (5): 366-372
- De Waal Malefyt R, Yssel H, Roncarolo M, Spits H, De Vries J.
Interleukin 10.
Curr Opin Immunol (1992), 4(3): 314-320

Dellinger EP, Tellado JM, Soto NE, Ashley SW, Barie PS, Dugernier T, Imrie CW, Johnson CD, Knaebel HP, Laterre PF, Maravi-Poma E, Olsina Kissler JJ, Sanchez-Garcia M, Utzolino S.
Early antibiotic treatment for severe acute necrotizing pancreatitis. A randomized, double-blind, placebo-controlled study.

Ann Surg (2007), 245: 674-683

Deng X, Wang L, Elm MS, Gabazadeh D, Diorio GJ, Eagon PK, Withcomb DC.

Chronic alcohol consumption accelerates fibrosis in response to cerulein-induced pancreatitis in rats.

Am J Pathol (2005), 166: 93-106

Dervenis C, Johnson CD, Bassic C, Bradley E, Imrie CW, McMaon MJ, Modlin I.

Diagnosis, objective assessment of severity and management of acute pancreatitis.

Internat J Pancreatol (1999), 25: 195-210

Desreumaux P, Bloget F, Seguy D, Capron M, Cortot A, Colombel JF, Janin A.

Interleukin 3, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and interleukin 5 in eosinophilic gastroenteritis.

Gastroenterology (1996), 110 (3): 768-774

Desreumaux P, Janin A, Dubucquoi S, Copin MC, Torpier G, Capron A, Capron M, Prin L.

Synthesis of interleukin-5 by activated eosinophils in patients with eosinophilic heart diseases.

Blood (1993), 82: 1553-1560

DiMagno EP, Chari S.

Acute pancreatitis. En "Sleisenger and Fordtrans Gastrointestinal and Liver disease".

Feldman M, Friedman LS, Sleisenger MH (Eds). (2002), págs: 913-941

Dubucquoi S, Desreumaux P, Janin A, Klein O, Goldman M, Tavernier J, Capron A, Capron M.

Interleukin 5 synthesis by eosinophils: association with granules and immunoglobulin-dependent secretion.

J Exp Med (1994), 179: 703-708

Dubucquoi S, Janin A, Klein O, Desreumaux P, Quandalle P, Cortot A, Capron M, Colombel JF.

Activated eosinophils and interleukin 5 expression in early recurrence of Crohn's disease.

Gut (1995), 37: 242-246

Dvorak AM, Weller PF.

Ultrastructural analysis of human eosinophils. In "Human eosinophils. Biological and clinical aspects".

Marone G (Ed). Chem Immunol (2000), 76: 1-27

Dvorak AM.

Similarities in the ultrastructural morphology and developmental and secretory mechanisms of human basophils and eosinophils.

J Allergy Clin Immunol (1994), 94: 1103-1134

Egesten A, Calafat J, Knol EF, Janssen H, Walz TM.

Subcellular localization of transforming growth factor-alpha in human eosinophil granulocytes.

Blood (1996), 87: 3910-3918

Ellyard JI, Simsons L, Bezos A, Johnston K, Freeman C, Parish CR.

Eotaxin selectively binds heparin. An interaction that protects eotaxin from proteolysis and potentiates chemotactic activity in vivo.

J Biol Chem (2007), 282 (20): 15238-15247

Elsner J, Hochstetter R, Kimmig D, Kapp A.

Human eotaxin represents a potent activator of the respiratory burst of human eosinophils.

Eur J Immunol (1996), 26: 1919-1925

Elsner J, Kapp A.

Regulation and modulation of eosinophil effector functions.

Allergy (1999), 54: 15-26. (Review Articles)

Elsner J, Kapp A.

Activation of human eosinophils by chemokine. In "Human eosinophils. Biological and clinical aspects".

Marone G (Ed). Chem Immunol (2000), 76: 177-207

Emrich J, Weber I, Sparman G.

Activation of stellate pancreatic cells in human and experimental chronic pancreatitis in rats.

Gastroenterol (2000), 118: 166-172

Ernst CA, Zhang YJ, Hancock PR, Rutledge BJ, Corless CL, Rollins BJ.

Biochemical and biologic characterization of murine monocyte chemoattractant protein-1. Identification of two functional domains.

J Immunol (1994), 152 (7): 3541-3549

Feng Y, Broder CC, Kennedy PE, Berger EA.

HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane G protein-coupled receptor.

Science (1996), 272: 872-877

Ferland C, Guilbert M, Davoine F, Flamand N, Chakir J, Laviolette M.

Eotaxin promotes eosinophil transmigration via the activation of the plasminogen-plasmin system.

J Leukoc Biol (2001), 69: 772-778

Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR, Howard M, O'Garra A.

IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages.

J Immunol (1991), 147: 3815

Forssmann U, Ugucioni M, Loetscher P, Dahinden CA, Langen H, Thelen M, Baggiolini M.

Eotaxin-2: a novel CC chemokine that is selective for the chemokine receptor CCR-3, and acts like eotaxin on human eosinophil and basophil leucocytes.

J Exp Med (1997), 185: 2171-2176

Freeny PC.

Incremental dynamic bolus computed tomography of acute pancreatitis.

Int J Pancreatol. Review (1993), 13 (3): 147-158

García-Zepeda EA, Rothenberg ME, Ownbey RT, Celestin J, Leder P, Luster AD.

Human eotaxin is a specific chemoattractant for eosinophil cells and provides a new mechanism to explain tissue eosinophilia.

Nat Med (1996), 2: 449-456

Gleich GJ, Adolphson CR, Leifermann KM.

The biology of the eosinophilic leucocyte.

Annu Rev Med (1993), 44: 85-101

Go VLW.

Secreción pancreática. En " Tratado de medicina interna".

Stein JH (Ed). Ediciones Salvat (1983), págs: 32-58

Gonzalez-Quintela A, Alende MR, Gamallo R, Gonzalez-Gil P, Lopez-Ben S, Tome S, Otero E, Torre JA.

Serum immunoglobulins (IgG, IgA, IgM) in chronic hepatitis C. A comparison with non-cirrhotic alcoholic liver disease.

Hepatogastroenterol (2003), 50 (54): 2121-2126

Grady T, Liang P, Ernst SA, Logsdon CD.

Chemokine gene expression in rat pancreatic acinar cells is an early event associated with acute pancreatitis.

Gastroenterology (1997), 113 (6): 1966-1975

Graham GJ, Wright EG, Hewick R, Wolpe SD, Wilkie NM, Donaldson D, Lorimore S, Pragnell IB.

Identification and characterization of an inhibitor of haemopoietic stem cell proliferation.

Nature (1990), 344: 442-444

Granjer J, Remick D.

Acute pancreatitis: models, markers, and mediators.

Shock (2005), 24: 45-51

Gregory B, Kirchem A, Phipps S, Gevaert P, Pridgeon C, Rankin SA, Robinson DS.

Differential regulation of human eosinophil IL-3, IL-5 and GM-CSF receptor α -chain expression by cytokines: IL-3, IL-5, and GM-CSF down-regulate IL-5 receptor α expression with loss of IL-5 responsiveness, but up-regulate IL-3 receptor α expression.

J Immunol (2003), 170: 5359-5366

Greiff L, Andersson M, Andersson E, Linden M, Myint S, Svensson C, Persson CGA.

Experimental common cold increases mucosal output of eotaxin in atopic individuals.

Allergy (1999), 54: 1204-1208

Griffiths-Johnson DA, Collins PD, Rossi AG, Jose PF, Williams TJ.

The chemokine eotaxin activates guinea pig eosinophils in vitro, and causes their accumulation into the lung in vivo.

Biochem Biophys Res Commun (1993), 197: 1167-1172

Grimm MC, Elsbury SK, Pavli P, Doe WF.

Interleukin 8: cells of origin in inflammatory bowel disease.

Gut (1996), 38 (1): 90-98

- Gukovskaya AS, Gukovsky I, Zaninovic V, Song M, Sandoval D, Gukovsky S, Pandol SJ.
Pancreatic acinar cells produce, release, and respond to tumor necrosis factor-alpha. Role in regulating cell death and pancreatitis.
J Clin Invest (1997), 100 (7): 1853-1862
- Hamid Q, Azzawi M, Ying S, Moqbel R, Wardlaw AJ, Corrigan CJ, Bradley B, Durham SR, Collins JV, Jeffery PK, Quint DJ, Kay AB.
Interleukin-5 in the pathogenesis of asthma.
J Clin Invest (1991), 87: 1541-1546
- Han S, Lu J, Zhang Y, Cheng C, Li L, Han L, Huang B.
HDAC inhibitors TSA and sodium butyrate enhanced the human IL-5 expression by altering histone acetylation status at its promoter region
Immunol Lett (2007), 108: 143-150
- Han SJ, Kim JH, Noh YJ, Chang HS, Kim CS, Kim KS, Ki SY, Park CS, Chung HY.
Interleukin (IL)-5 downregulates tumor necrosis factor (TNF)-induced eotaxin messenger RNA (mRNA) expression in eosinophils: induction of eotaxin mRNA by TNF and IL-5 in eosinophils.
Am J Respir Cell Mol Biol (1999), 21: 157-167
- Haslett C.
Granulocyte apoptosis and its role in the resolution and control of lung inflammation.
Am J Respir Crit Care Med (1999), 160: 5-11
- Hérmendez Ramírez V.
Estudio del estrés oxidativo en la pancreatitis aguda.
Tesis doctoral. Universitat de València (2006).
- Hernández V, Pascual I, Almela P, Añón R, Herreros B, Sánchez V, Mínguez M, Benages A.
Recurrence of acute gallstone pancreatitis and relationship with cholecystectomy or endoscopic sphincterotomy.
Am J Gastroenterol (2004), 99: 2417-2423
- Hernández-Pomi A.
Estudio de subpoblaciones de linfocitos T y citoquinas en la hidatidosis humana.
Tesis doctoral. Universitat de València (1995).
- Hessner MJ, Wang X, Meyer L, Geoffrey R, Jia S, Fuller J, Lernmark A, Ghosh S.
Involvement of eotaxin, eosinophils, and pancreatic predisposition in development of type 1 diabetes mellitus in the BioBreeding rat.
J Immunol (2004), 173 (11): 6993-7002
- Heth DI, Cruickshank A, Gudgeon M, Jehanli A, Shenkin A, Imrie CW.
Role of interleukin-6 in mediating the acute phase protein response and potential as an early means of severity assesment in acute pancreatitis.
Gut (1993), 34: 41-45
- Hillyer P, Male D.
Expression of chemokines on the surface of different human endothelia.
Immunol Cell Biol (2005), 83 (4): 375-382

- Hogan MB, Piktel D, Landreth KS.
IL-5 production by bone marrow stromal cells: implications for eosinophilia associated with asthma.
J Allergy Clin Immunol (2000), 106: 329-36
- Hogan SP, Mishra A, Brandt EB, Foster PS, Rothenberg ME.
A critical role for eotaxin in experimental oral antigen-induced eosinophilic gastrointestinal allergy.
Proc Natl Acad Sci (Immunol) (2000), 97 (12): 6681-6686
- Hogan SP, Mishra A, Brandt EB, Royalty M, Pope SM, Zimmermann N, Foster PA, Rothenberg ME.
A pathological function for eotaxin and eosinophils in eosinophilic gastrointestinal inflammation.
Nature Immunol (2001), 2 (4): 353-360
- Horuk R.
Chemokine receptors and HIV-1: the fusion of two major research fields.
Immunol Today (1999), 20: 89-94
- Hossny E, Aboul-Magd M, Bakr S.
Increased plasma eotaxin in atopic and acute urticaria in infants and children.
Allergy (2001), 56 (10): 992-1002
- Hu M, Krause D, Greaves M, Sharkis S, Dexter TM, Heyworth CM, Enver T.
Multigene expression precedes commitment in the haemopoietic system.
Genes Dev (1997), 14: 512-524
- Huang CD, Wang CH, Lui CY, Lin SM, Chou CL, Liu WT, Lin HC, Kuo HP.
Eosinophils from asthmatics release IL-5 in an autocrine fashion to prevent apoptosis through upregulation of Bcl-2 expression.
J Asthma (2005), 42: 395-403
- Huang S, Xie K, Bucana CD, Ullrich SE, Bar-Eli M.
Interleukin 10 suppresses tumor growth and metastasis of human melanoma cells: potential inhibition of angiogenesis.
Clin Cancer Res (1996), 2: 1967-1979
- Huax F, Gharaee-Kermani M, Liu T, Morel V, McGarry B, Ullenbruch M, Kunkel SL, Wang J, Xing Z, Phan SH.
Role of Eotaxin-1 (CCL11) and CC chemokine receptor 3 (CCR3) in bleomycin-induced lung injury and fibrosis.
Am J Pathol (2005), 167 (6): 1485-1496
- Jacoby DB, Costello RM, Fryer AD.
Eosinophil recruitment to the airways nerves.
J Allergy Clin Immunol (2001), 107: 211-218
- Janeway CA Jr., Travers P, Walport M, Shlomchik MJ.
Inmunidad innata. En "Inmunobiología. El sistema inmunitario en condiciones de salud y enfermedad". 2ª edición.
Ediciones Masson (2003), Capítulo 2: 35-91

Janeway CA, Medzhitov R.
Innate immune recognition.

Annu Rev Immunol (2002), 20: 197-216

Jaster R.

Molecular regulation of pancreatic stellate cell function.

Mol Cancer (2004), 3: 26

Jia GQ, Gonzalo JA, Hidalgo A, Wagner D, Cybulsky M, Gutierrez-Ramos JC.

Selective eosinophil transendothelial migration triggered by eotaxin via modulation of Mac-1/ICAM-1 and VLA-4/VCAM-1.

Int Immunol (1999), 11: 1-10.

Jose PJ, Griffiths-Johnson DA, Collins PD, Walsh DT, Moqbel R, Totty NF, Truong O, Hsuan JJ, Williams TJ.
Eotaxin: a potent eosinophil chemoattractant cytokine detected in guinea pig model of allergic airways inflammation.

J Exp Med (1994), 183: 2421-2426

Juan SH, Yen JJ, Lee HM, Huang HM.

IL-5 inhibits apoptosis by upregulation of c-myc expression in human hematopoietic cells.

Ann N.Y Acad Sci (2005), 1042: 481-487

Kampen GT, Stafford S, Adachi T, Jinquna T, Grant JA, Skov PS, Poulsen LK, Alam R.

Eotaxin induces degranulation and chemotaxis of eosinophils through the activation of ERK2 and p38 mitogen-activated protein kinases.

Blood (2000), 95 (6): 1911-1917

Kapp A.

The role of eosinophils in the pathogenesis of atopic dermatitis--eosinophil granule proteins as markers of disease activity.

Allergy (1993), 48 (1): 1-5. (Review Articles)

Karlen S, De Boer ML, Lipscombe RJ, Lutz W, Mordvinov VA, Sanderson CJ.

Biological and molecular characteristics of interleukin 5 and its receptor.

Int Rev Immunol (1998), 16: 227-247

Kay AB, Ying S, Varney V, Gaga M, Durham SR, Moqbel R, Wardlaw AJ, Hamid Q.

Messenger RNA expression of the cytokine gene cluster, interleukin 3 (IL-3), IL-4, IL-5 and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor, in allergen-induced late-phase cutaneous reactions in atopic subjects.

J Exp Med (1991), 173: 775-778

Kelner GS, Kennedy J, Bacon KB, Kleyensteuber S, Largaespada DA, Jenkins NA, Copeland NG, Bazan JF, Moore KW, Schall TJ.

Lymphotactin: a cytokine that represents a new class of chemokine.

Science (1994), 266 (5189): 1395-1399

Kita H.

The eosinophil: a cytokine-producing cell?

J Allergy Clin Immunol (1996), 97: 3902-3908

Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE.
APACHE II: a severity of disease classification system.

Crit Care Med (1985), 13(10): 818-829

Lacy P, Mahmudi-Azer S, Bablitz B, Hagen SC, Velázquez JR, Man SFP, Moqbel R.

Rapid mobilization of intracellularly stored RANTES in response to interferon-gamma in human eosinophils.

Blood (1999), 94: 23-32

Lacy P, Moqbel R.

Eosinophil Cytokines. In "Human eosinophils. Biological and clinical aspects".

Marone G (Ed). Chem Immunol (2000), 76: 134-55

Lamkhioued B, Gounni AS, Aldebert D, Delaporte E, Prin L, Capron A.

Synthesis of type 1 (IFN gamma) and type 2 (IL-4, IL-5 and IL-10) cytokines by human eosinophils.

Ann N.Y Acad Sci (1996), 796: 203-208

Lamkhioued B, Renzi PM, Abi-Younes S, García-Zepeda A, Allakhverdi A, Ghaffar O, Rothenberg ME, Luster AD, Hamid Q.

Increased expression of eotaxin in bronchoalveolar lavage and airways of asthmatics contributes to the chemotaxis of eosinophils to the site of inflammation.

J Immunol (1997), 159: 4593-4601

Lee JJ, McGarry MP, Farmer SC, Denzler KL, Larson KA, Carrigan PE, Brenneise IE, Horton MA, Haczku A, Gelfand EW, Leikauf GD, Lee NA.

Interleukin-5 expression in the lung epithelium of transgenic mice leads to pulmonary changes pathognomonic of asthma.

J Exp Med (1997), 185 (12): 2143-2156

Leiferman KM.

Eosinophils in atopic dermatitis.

Allergy (1989), 44. Suppl 9: 20-26

Li D, Friedman S.

Liver fibrogenesis and the role of hepatic stellate cells. New insights and prospects for therapy.

J Gastroenterol Hepatol (1999), 14: 618-633

Li L, Xia Y, Nguyen A, Lai YH, Feng L, Mosmann TR, Lo D.

Effects of Th2 cytokines on chemokine expression in the lung: IL-13 potently induces eotaxin expression by airway epithelial cells.

J Immunol (1999), 162 (5): 2477-2487

Lilly CM, Nakamura H, Kesselman H, Naqler-Anderson C, Asano K, García-Zepeda EA, Rothenberg ME, Drazen JM, Luster AD.

Expression of eotaxin by human lung epithelial cells: induction by cytokines and inhibition by glucocorticoids.

J Clin Invest (1997), 99: 1767-1773

Lilly CM, Woodruff PG, Camargo CA, Nakamura H, Drazen JM, Nadel ES, Hanrahan JP.

Elevated plasma eotaxin levels in patients with acute asthma.

J Allergy Clin Immunol (1999), 104: 786-790

- Logan MR, Odemuyiwa SO, Moqbel R.
Understanding exocytosis in immune and inflammatory cells: the molecular basis of mediator secretion.
J Allergy Clin Immunol (2003), 111: 923-932
- Longnecker DS.
Pathology and pathogenesis of disease of the pancreas.
Am J Pathol (1982), 107: 103-121
- Lukacs NW.
Role of chemokines in the pathogenesis of asthma.
Nat Rev Immunol (2001), 1 (2): 108-116
- Luster AD.
Chemokines-chemotactic cytokines that mediate inflammation.
N Engl J Med (1998), 338: 436-45
- MacKay CR.
Chemokine receptors and T cell chemotaxis.
J Exp Med (1996), 184: 799-802
- Maeshima A, Murakami H, Sadakata H, Saitoh T, Matsushima T, Tamura J, Karasawa M, Naruse T.
Eosinophilic gastroenteritis presenting with acute pancreatitis.
J Med (1997), 28 (3-4): 265-72.
- Matsukura S, Stellato C, Georas SN, Casolaro V, Plitt JR, Miura K, Kurosawa S, Schindler U, Schleimer RP.
Interleukin-13 upregulates eotaxin expression in airway epithelial cells by a STAT6-dependent mechanism.
Am J Respir Cell Mol Biol (2001), 24 (6): 755-761
- Matthews AN, Friend DS, Zimmermann N, Sarafi MN, Luster AD, Pearlman E, Wert SE, Rothenberg ME.
Eotaxin is required for the baseline level of tissue eosinophils.
Proc Natl Acad Sci USA (1998), 95 (11): 6237-6278
- Mattoli S, Stacey MA, Sun G, Bellini A, Marini M.
The role of CD8+ Th2 lymphocytes in the development of smoking-related lung damage.
Biochem Biophys Res Commun (1997), 236: 299-301
- Mayer J, Rau B, Gansauge F, Beger HG.
Inflammatory mediator in human acute pancreatitis: Clinical and pathophysiological implications.
Gut (2000), 47: 546-552
- Mayer J, Rau B, Schoenberg MH, Beger HG.
Mechanism and role of trypsinogen activation in acute pancreatitis.
Hepatogastroenterol (1999), 46 (29): 2757-2763
- McCormack G, Moriarty D, O'Donoghue DP, McCormick PA, Sheahan K, Baird AW.
Tissue cytokine and chemokine expression in inflammatory bowel disease.
Inflamm Res (2001), 50 (10): 491-495

McKay C, Imrie CW, Baxter JN.

Mononuclear phagocyte activation and acute pancreatitis.

Scand J Gastroenterol (1996), 31: 32-6

Mellado M, Rodríguez -Frade JM, Mañes S, Martínez-A C.

Chemokine signaling and functional responses: the role of receptor dimerization and TK pathway activation.

Annu Rev Immunol (2001), 19: 397-421

Mentula P, Kylänpää ML, Kemppainen E, Jansson SE, Sarna S, PuolaKKainen P, Haapiainen R, Repo H.

Plasma anti-inflammatory cytokines and monocyte human leucocyte antigen-DR expression in patients with acute pancreatitis.

Scand J Gastroenterol (2004), 39: 178-87

Mergener K, Baillie J.

Chronic pancreatitis.

Lancet (1997), 350 (9088): 1379-1385

Mews P, Phillips P, Fahmy R, Korsten M, Pirola R, Wilson J, Apte M.

Pancreatic stellate cells respond to inflammatory cytokines: potential role in chronic pancreatitis.

Gut (2002), 50 (4): 535-541

Miño Fugarolas G, Jaramillo Esteban JL, Costan Rodero G.

Pancreatitis aguda. Del "Tratado de medicina interna".

Quinta edición Tratado Medicina Interna (1988), 11: 516-528

Mir A, Minguez M, Tatay J, Pascual I, Peña A, Sanchiz V, Almela P, Mora F, Benages A.

Elevated serum eotaxin levels in patients with inflammatory bowel disease.

Am J Gastroenterol (2002), 9 (6): 1452-1457

Mishra A, Hogan SP, Brandt EB, Rothenberg ME.

IL-5 promotes eosinophil trafficking to the esophagus.

J Immunol (2002), 168: 2464-2469

Mishra A, Hogan SP, Brandt EB, Rothenberg ME.

Peyer's patch eosinophils: identification, characterization, and regulation by mucosal allergen exposure, interleukin 5, and eotaxin.

Blood (2000), 96 (4): 1538-1544

Miyamasu M, Yamaguchi M, Nakijama T, Misaki Y, Morita Y, Matsushima K, Yamamoto K, Hirai K.

Th1 derived cytokine IFN-gamma is a potent inhibitor of eotaxin synthesis in vitro.

Int Immunol (1999), 11: 1001-1004

Mochizuki M, Bartels J, Mallet AI, Christophers E, Schroder JM.

IL-4 induces eotaxin: a possible mechanism of selective eosinophil recruitment in helminth infection and atopy.

J Immunol (1998), 160 (1): 60-68

Modifi R, Duff MD, Wigmore SJ, Madhavan KK, Garden OF, Parks RW.

Association between early systemic inflammatory response, severity of multiorgan dysfunction and death in acute pancreatitis.

Br J Surg (2006), 93: 738-744

Mora A, Pérez-Mateo M, Viedma JA, Carballo F, Sánchez-Payá J, Liras G.

Activation of cellular immune response in acute pancreatitis.

Gut (1997), 40: 794-797

Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL.

Two types of murine helper T-cell clone. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins.

J Immunol (1986), 136: 2348-57

Mould AW, Ramsay AJ, Matthaai KI, Young IG, Rothenberg ME, Foster PS.

The effect of IL-5 and eotaxin expression in the lung on eosinophil trafficking and degranulation and the induction of bronchial hyperactivity.

J Immunol (2000), 164: 2142-2150

Nakajima T, Yamada H, Iikura M, Miyamasu M, Izumi S, Shida H, Ohta K, Imai T, Yoshie O, Mochizuki M, Schroder JM, Morita Y, Yamamoto K, Hirai K.

Intracellular localization and release of eotaxin from normal eosinophils.

Febs Letters (1998), 434: 226-30

Nakamura H, Weiss ST, Israel E, Luster AD, Drazen JM, Lilly CM.

Eotaxin and impaired lung function in asthma.

Am J Respir Crit Care Med (1999), 160: 1952-1956

Nickel R, Beck LA, Stellato C, Schleimer RP.

Chemokines and allergic disease.

J Allergy Clin Immunol (1999), 104: 723-742

Norman J.

New approaches to acute pancreatitis: role of inflammatory mediators.

Digestion (1999), 60: 57-60

Norman J.

The role of cytokines in the pathogenesis of acute pancreatitis.

Am J Surg (1998), 175: 76-83

Norman JG, Fink GW, Franz MG.

Acute pancreatitis induces intrapancreatic tumor necrosis factor gene expression.

Arch Surg (1995), 130: 966-970

Ochkur SI, Jacobsen EA, Protheroe CA, Biechele TL, Pero RS, McGarry MP, Wang H, O'Neill KR, Colbert DC, Colby TV, Shen H, Blackburn MR, Irvin CC, Lee JJ, Lee NA.

Coexpression of IL-5 and eotaxin-2 in mice creates an eosinophil-dependent model of respiratory inflammation with characteristics of severe asthma.

J Immunol (2007), 178 (12): 7879-7889

- Ogilvie P, Bardi G, Clark-Lewis I, Baggiolini M, Uguccioni M.
Eotaxin is a natural antagonist for CCR2 and an agonist form CCR5.
Blood (2001), 97 (7): 1920-1924
- Ohl L, Henning G, Krautwald S, Lipp M, Hardtke S, Bernhardt G, Pabst O, Förster R.
Cooperating mechanisms of CXCR5 and CCR7 in development and organization of secondary lymphoid organs.
J Exp Med (2003), 197 (9): 1199-204
- Ohshima K, Karube K, Hamasaki M, Suefuji H, Tutiya T, Yamaguchi T, Suzumiya J, Kikuchi M.
Imbalances of chemokines, chemokine receptors and cytokines in Hodgkin lymphoma: classical Hodgkin lymphoma vs. Hodgkin-like ATLL.
Int J Cancer (2003), 106 (5): 706-712
- Oswald IP, Gazzinelli RT, Sher A and James SL.
IL-10 synergizes with IL-4 and TGF alpha to inhibit macrophage cytotoxic activity.
J Immunol (1992), 148: 3578-3582
- Palframan RT, Collins PD, Williams TJ, Rankin SM.
Eotaxin induces a rapid release of eosinophils and their progenitors from the bone marrow.
Blood (1998), 91: 2240-2248
- Pedersen N, Larsen S, Seidelin J B, Nielsen OH.
Alcohol modulates circulating levels of interleukin-6 and monocyte chemoattractant protein-1 in chronic pancreatitis.
Scand J Gastroenterol (2004), 39: 277-282
- Pham BN, Bernuau J, Durand F, Sauvanet A, Degott C, Prin L, Janin A.
Eotaxin expression and eosinophil infiltrate in the liver of patients with drug-induced liver disease.
J Hepatol (2001), 34: 537-547
- Pietruczuk M, Dabrowska MI, Wereszczynska-Siemiatkowska U, Dabrowski A.
Alteration of peripheral blood lymphocyte subsets in acute pancreatitis.
World J Gastroenterol (2006), 12 (33): 5344-5351
- Pita Fernández S.
Investigación: Determinación del tamaño muestral.
Ca Aten Primaria (1996), 32: 114-33
- Ponath PD, Qin S, Post TW, Wang J, Wu L, Gerard NP, Newman W, Gerard C, Mackay R.
Molecular cloning and characterization of a human eotaxin receptor expressed selectively on eosinophils.
J Exp Med (1996), 183: 2437-2448
- Pope SM, Fulkerson PC, Blanchard C, Akei HS, Nikolaidis NM, Zimmermann N, Molkentin JD, Rothenberg ME.
Identification of a cooperative mechanism involving interleukin-13 and eotaxin-2 in experimental allergic lung inflammation.
J Biol Chem (2005), 280: 13952-13961

Proudfoot AE, Power CA, Wells TNC.

The strategy of blocking the chemokine system to combat disease.

Immunol Rev (2000), 177: 246-256

Prussin C, Metcalfe DD.

IgE, mast cells, basophils and eosinophils.

J Allergy Clin Immunol (2006), 117 (2 Suppl): S450-456. Review

Puxeddu I, Bader R, Piliponsky AM, Reich R, Levy-Schaffer F, Berkman N.

The CC chemokine eotaxin/CCL11 has a selective profibrogenic effect on human lung fibroblasts.

J Allergy Clin Immunol (2006), 117 (1): 103-110

Quackenbush EJ, Aguirre V, Wershil BK, Gutierrez-Ramos JC.

Eotaxin influences the development of embryonic hematopoietic progenitors in the mouse.

J Leukoc Biol (1997), 62: 661-666

Raithel M, Dormann H, Harsch IA, Winterkamo S, Weidenhiller M, Fischer B, Hahn EG, Schneider T.
Immunoglobulin E production in chronic pancreatitis.

Eur J Gastroenterol Hepatol (2003), 15 (7): 801-807

Ramudo L, Manso MA, Sevillano S, De Dios I.

Kinetic study of TNF production and its regulatory mechanisms in acinar cells during acute pancreatitis induced by bile-pancreatic duct obstruction.

J Pathol (2005), 206: 9-16

Rane SG, Lee JH, Lin HM.

Transforming growth factor-beta pathway: role in pancreas development and pancreatic disease.

Cytokine Growth Factor Rev (2006), 17 (1-2): 107-119

Rankin SM, Conroy DM, Williams TJ.

Eotaxin and eosinophil recruitment: implications for human disease.

Molecular Medicine Today (Reviews) (2000), 6: 20-27

Ranson JH.

The timing of biliary surgery in acute pancreatitis..

Ann Surg (1979), 189 (5): 654-663

Ranson JHC, Rifkind KM, Roses DF, Finl JD, Eng K, Spencer FC.

Prognostic signs and the role of operative management in acute pancreatitis.

Surg Gynecol Obstet (1974), 139: 69-81

Rau B, Poch B, Gansauge F, Bauer A, Nussler AK, Nevalainen T, Schoenberg MH, Beger HG.

Pathophysiologic role of oxygen free radicals in acute pancreatitis: initiating event or mediator of tissue damage?

Ann Surg (2000), 231 (3): 352-360

Rinderknecht, H.

Fatal pancreatitis, a consequence of excessive leucocyte stimulation?.

Int J Pancreatol (1988), 3: 105-112

Rollins BJ.

Chemokines.

Blood (1997), 90 (3): 909-928. Review article

Rot A, von Andrian UH.

Chemokines in innate and adaptative host defense: basic chemokines grammar for immune cells.

Annu Rev Immunol (2004), 22: 891-928

Rothenberg E, Hogan SP.

The eosinophil.

Annu Rev Immunol (2006), 24: 147-174

Rothenberg ME, MacLean JA, Pearlman E, Luster AD, Leder P.

Targeted disruption of the chemokine eotaxin partially reduces antigen-induced tissue eosinophilia.

J Exp Med (1997), 185: 785-790

Rothenberg ME, Owen WF Jr, Silberstein DS, Soberman RJ, Austen KJ, Stevens RL.

Eosinophils cocultured with endothelial cells have increased survival and functional properties.

Science (1987), 237: 645-647

Rothenberg ME, Ownbey R, Mehlhop PD, Loiselle PM, Van de Rijn, Bonventre JV, Oettgen HC, Leder P, Luster AD.

Eotaxin triggers eosinophil-selective chemotaxis and calcium flux via a distinct receptor and induces pulmonary eosinophilia in the presence of interleukin 5 in mice.

Mol Med (1996), 2 (3): 334-348

Rothenberg ME.

Eosinophilia. Mechanism of Disease.

N Engl J Med (Review Articles) (1998), 338 (22): 1592-1600

Rothenberg ME.

Eotaxin. An essential mediator of eosinophil trafficking into mucosal tissues.

Am J Respir Cell Mol Biol (1999), 21: 291-295

Rothenberg ME.

Eosinophilic gastrointestinal disorders (EGID).

J Allergy Clin Immunol (2004), 113: 11-28

Sabroe I, Williams TJ, Pease JE.

Roles of chemokines in the regulation of leucocyte recruitment.

Clin Sci (2001), 100: 359-62

Sallusto F, Mackay CR, Lanzavecchia A.

Selective expression of the eotaxin receptor CCR3 by human T helper 2 cells.

Science (1997), 277 (5334): 2005-2007

Saluja AK, Ashok K, Steer, Michael L.

Pathophysiology of pancreatitis. Role of cytokines and other mediators of inflammation.

Digestion (Review) (1999), 60 Suppl: 27-33

Saluja AK, Saluja M, Printz H, Zaverchnik A, Sengupta A, Steer ML.

Experimental pancreatitis is mediated by low-affinity cholecystokinin receptors that inhibit digestive enzyme secretion.

Proc Natl Acad Sci USA (1989), 86 (22): 8968-8971

Sampson AP.

The role of eosinophils and neutrophils in inflammation.

Clin Exp Allergy (2000), 30 (1): 22-27

Sandberg AA, Borgström A.

Early prediction of severity in acute pancreatitis. Is this possible?.

JOP (2002), 3 (5): 116-125

Sanderson CJ, Warren DG, Strath M.

Identification of a lymphokine that stimulates eosinophil differentiation in vitro. Its relationship to interleukin 3, and functional properties of eosinophil produced in cultures.

J Exp Med (1985), 162: 60-74

Sanderson CJ.

Interleukin-5, eosinophils and disease.

Blood (1992), 79: 3101-3109

Sanfey H, Bulkley GB, Cameron JL.

The role of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of acute pancreatitis.

Ann Surg (1984), 200 (4): 405-413

Sarkhosh K, Tredget EE, Karami A, Uludag H, Iwashina T, Kilani RT, Ghahary A.

Immune cell proliferation is suppressed by the interferon-gamma-induced indoleamine 2,3-dioxygenase expression of fibroblasts populated in collagen gel (FPCG).

J Cell Biochem (2003), 90 (1): 206-217

Sarner M, Cotton PB.

Classification of pancreatitis.

Gut (1984), 25 (7): 756-759

Sarr MG, Bulkley GB, Cameron JL.

Temporal efficacy of allopurinol during the induction of pancreatitis in the ex vivo perfused canine pancreas.

Surgery (1987), 101 (3): 342-346

- Schmid RM, Adler G.
Cytokines in acute pancreatitis-new pathophysiological concepts evolve.
Eur J Gastroenterol Hepatol (1999), 11 (2): 125-127
- Schoenberg MH, Büchler M, Gaspar M, Stinner A, Younes M, Melzner I, Bültmann B, Beger HG.
Oxygen free radicals in acute pancreatitis of the rat.
Gut (1990), 31 (10): 1138-1143
- Schölmerich, J.
Interleukins in acute pancreatitis.
Scand J Gastroenterol (1996), 31: 37-42
- Schröder JM, Mrowietz U, Morita E, Christophers E.
Purification and partial biochemical characterization of human monocyte-derived, neutrophil-activating peptide that lacks interleukin 1 activity.
J Immunol (1987), 139 (10): 3474-3483
- Schultz HU, Schmidt D, Kunz D, Pross M, Gerber A, Weiss G, Sokolowski A, Struy H, Lippert H.
Cellular and humoral functions in acute pancreatitis.
Wien Med Wochenschr (1997), 147 (1): 10-13
- Sehmi R, Denburg JA.
Differentiation of human eosinophils. Role in allergic inflammation. In "Human eosinophils. Biological and clinical aspects".
Marone G (Ed). Chem Immunol (2000), 76: 29-44
- Shakoory B, Fitzgerald SM, Lee SA, Chi DS, Krishnaswamy G.
The role of human mast cell-derived cytokines in eosinophil biology.
J Interferon Cytokine Res (2004), 24 (5): 271-281
- Shinkai A, Yoshisue H, Koike M, Shoji E, Nakagawa S, Saito A, Takeda T, Imabeppu S, Kato Y, Hanai N, Anazawa H, Kuga T, Nishi T.
A novel human CC chemokine, eotaxin-3, which is expressed in IL-4 vascular endothelial cells, exhibits potent activity toward eosinophils.
J Immunol (1999), 163: 1602-1610
- Simon D, Simon HU.
Eosinophilic disorders.
J Allergy Clin Immunol (2007), 119 (6): 1291-1300
- Simon HU, Yousefi S, Dibbert B, Levi-Schaffer F, Blaser K.
Anti-apoptotic signals of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor are transduced via Jak2 tyrosine kinase in eosinophils.
Eur J Immunol (1997), 27 (12): 3536-3539
- Stern M, Meagher L, Savill J, Haslett C.
Apoptosis in human eosinophils. Programmed cell death in the eosinophil leads to phagocytosis by macrophages and is modulated by IL-5.
J Immunol (1992), 148: 3543-3549

- Swain SL, Weinberg AD, English M, Huston G.
IL-4 directs the development of Th2 like helper effector.
J Immunol (1990), 145: 3796-3806
- Sweiry JH, Mann GE.
Role of oxidative stress in the pathogenesis of acute pancreatitis.
Scand J Gastroenterol Suppl (1996), 219: 10-15
- Tachimoto H, Bochner BS.
The surface phenotype of human eosinophils. In "Human eosinophils. Biological and clinical aspects".
Marone G (Ed). Chem Immunol (2000), 76: 45-62
- Tacke F, Trautwein C, Yagmur E, Hellerbrand C, Wiest R, Brenner DA, Schnabl B.
Up-regulated eotaxin plasma levels in chronic liver disease patients indicate hepatic inflammation, advanced fibrosis and adverse clinical course.
J Gastroenterol Hepatol (2007), 22 (8): 1256-1264
- Taylor A, Verhagen J, Blaser K, Akdis M, Akdis CA.
Mechanisms of immune suppression by interleukin-10 and transforming growth factor-beta: the role of T regulatory cells.
Immunology (Review) (2006), 117 (4): 433-442
- Tenscher K, Metzner B, Schopf E, Norgauer J, Czech W.
Recombinant human eotaxin induces oxygen radical production, Ca²⁺ mobilization, actin reorganization and CD11b upregulation in human eosinophils via a Pertussis toxin-sensitive heterodimeric guanine nucleotide binding protein.
Blood (1996), 88: 3195-3199
- Teran LM, Noso N, Carroll M, Davies DE, Holgate S, Schröder JM.
Eosinophil recruitment following allergen challenge is associated with the release of the chemokine RANTES into asthmatic airways.
J Immunol (1996), 157: 1806-1812
- Teran LM.
CCL chemokines and asthma.
Immunol Today (2000), 21 (5): 235-242. Review
- Teruya-Feldstein J, Jaffe ES, Burd PR, Kingma DW, Setsuda JE, Tosato G.
Differential chemokine expression in tissues involved by Hodgkin's disease: direct correlation of eotaxin expression and tissue eosinophilia.
Blood (1999), 93: 2463-2470
- Teruya-Feldstein J, Tosato G, Jaffe ES.
The role of chemokines in Hodgkin's disease.
Leuk Lymphoma (2000), 38: 363-371

Ugucioni M, McKay CR, Ochensberger B, Loetscher P, Rhis S, LaRosa GJ, Rao P, Ponath PD, Baggiolini M, Dahinden CA.

High expression of the chemokine receptor CCR3 in human blood basophils: role in activations by eotaxin, MCP-4, and other chemokines.

J Clin Invest (1997), 100: 1137-1143

Van Zant G, Goldwasser E, Pech N.

Competition between erythropoietin and colony stimulating factor for target cells in mouse marrow.

Blood (1979), 53: 946-965

Vaquero-Raya EC, Molero-Richard X.

Especies reactivas del oxígeno en las enfermedades inflamatorias del páncreas: ¿una posible diana terapéutica?

Gastroenterol Hepatol (2005), 28 (8): 473-484

Vasseur S, Folch-Puy E, Hlouschek V, Garcia S, Fiedler F, Lerch MM, Dagorn JC, Closa D, Iovanna JL.
p8 improves pancreatic response to acute pancreatitis by enhancing the expression of the anti-inflammatory protein pancreatitis-associated protein 1.

J Biol Chem (2004), 279 (8): 7199-7207

Venge P, Bystrom J, Carlson M, Hakansson L, Karawaczyk M, Peterson C, Seveus L, Trulsson A.
Eosinophil cationic protein (ECP): molecular and biological properties and the use of ECP as a marker of eosinophil activation in disease.

Clin Exp Allergy (1999), 29: 1172-1186

Viedma JA, Pérez-Mateo M, Domínguez JE, Carballo F.

Role of interleukin-6 in acute pancreatitis. Comparison with C-reactive protein and phospholipase A.

A Gut (1992), 33: 1264-7

Wang JM, Rambaldi A, Biondi A, Chen ZG, Sanderson CJ, Mantovani A.

Recombinant human interleukin 5 is a selective eosinophil chemoattractant.

Eur J Immunol (1989), 19: 701-705

Wang P, Wu P, Cheewatrakoolpong B, Myers JG, Egan RW, Billah MM.

Selective inhibition of IL-5 receptor α -chain gene transcription by IL-5, IL-3 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in human blood eosinophils.

J Immunol (1998), 160: 4427-4432

Ward JB, Sutton R, Jenkins SA, Petersen OH.

Progressive disruption of acinar cell calcium signalling in early feature of caerulein-induced pancreatitis in mice.

Gastroenterol (1996), 111: 141-145

Wardlaw AJ.

Matrix proteins and eosinophil mediator release.

Clin and Exp Allergy (2000), 30: 753-755

Warren HS, Kinnear BF, Phillips JH, Lanier LL.

Production of IL-5 by human NK cells and regulation of IL-5 secretion by IL-4, IL-10 and IL-12.

J Immunol (1995), 154: 5144-5152

Weber C, Kitayama J, Springer TA.

Different regulation of beta 1 and beta 2 integrin avidity by chemoattractants in eosinophils.

Proc Natl Acad Sci (1996), 93: 10939-44

Webster JI, Tonelli L, Stenberg M.

Neuroendocrine regulation of immunity.

Annu Rev Immunol (2002), 20: 125-163

Weller PF, Bozza PT, Yu W, Dvorak AM.

Cytoplasmic lipid bodies in eosinophils: central roles in eicosanoid generation.

Int Arch Allergy Immunol (1999), 118 (2): 450-452

Wereszczynska-Siemiatkowska U, Mroczko B, Siemiatkowski A, Szmitkowski M, Borawska M, Kose J.

The importance of interleukin 18, glutathione peroxidase, and selenium concentration changes in acute pancreatitis.

Dig Dis and Sci (2004), 49 (4): 642-50

Wolpe SD, Davatelis G, Sherry B, Beutler B, Hesse DG, Nguyen HT, Moldawer LL, Nathan CF, Lowry SF, Cerami A.

Macrophages secrete a novel heparin-binding protein with inflammatory and neutrophil chemokinetic properties.

J Exp Med (1988), 167 (2): 570-581

Working Party of the British Society of Gastroenterology, Association of Surgeons of Great Britain and Ireland, Pancreatic Society of Great Britain and Ireland, Association of Upper GI Surgeons of Great Britain and Ireland. *United Kingdom guidelines for the management of acute pancreatitis.*

Gut (2005), 54: III1-III-9

Wu W, Chen Y, Hazen SL.

Eosinophil peroxidase, nitrates, protein tyrosyl residues. Implications for oxidative damage by nitrating intermediates in eosinophilic inflammatory disorders.

J Biol Chem (1999), 274: 25933-25944

Xu J, Jiang F, Nayeri F, Zetterström O.

Apoptotic eosinophils in sputum from asthmatic patients correlate negatively with levels of IL-5 and eotaxin.

Respir Med (2007), 101: 1447-1454

Ying S, Meng Q, Zeibecoglou, Robinson DS, Macfarlane A, Humbert M, Kay AB.

Eosinophil chemotactic chemokines (eotaxin, eotaxin-2, RANTES, monocyte chemoattractant protein-3 (MCP-3), and MCP-4, and C-C chemokine receptor 3 expression in bronchial biopsies from atopic and non atopic asthmatics.

J Immunol (1999), 163: 6321-6329

Young JD, Peterson CG, Venge P, Cohn ZA.

Mechanism of membrane damage mediated by human eosinophil cationic protein.

Nature (1986), 321: 613-616

Zheutlin LM, Ackerman SJ, Gleich GJ, Thomas LL.

Stimulation of basophil and rat mast cell histamine release by eosinophil granule-derived cationic proteins.

J Immunol (1984), 133: 2180-2185

Zhou Z-G, Chen Y-D.

Influencing factors of pancreatic microcirculatory impairment in acute pancreatitis.

World J Gastroenterol (2002), 8 (3): 406-412

Zimmermann N, Hershey GK, Foster PS, Rothenberg ME.

Chemokines in asthma: cooperative interaction between chemokines and IL-13.

J Allergy Clin Immunol (2003), 111: 227-242