

Análisis comparativo de anticuerpos monoclonales en la respuesta inflamatoria pulmonar, en un modelo experimental de ventilación mecánica

ENRIQUE CORREGER,^{*,**} JOSEFINA MARCOS,^{*,#} GRACIELA LAGUENS,^{##}
PABLO STRINGA^{*,‡}

* Grupo de Trabajo en Fisiopatología Pulmonar Experimental, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires

** Hospital El Cruce de Alta Complejidad en Red "Dr. Néstor Kirchner", Florencio Varela, Buenos Aires

Servicio de Reumatología, Sanatorio IPENSA, La Plata, Buenos Aires

Cátedra de Patología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires

‡ Laboratorio de Trasplante de Órganos y Tejidos, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires

Correspondencia:

Dr. Enrique Correger
enriquecorreger@yahoo.com.ar

Los autores no declaran conflictos de intereses.

Palabras clave

- Lesión pulmonar por ventilación mecánica
- Síndrome de dificultad respiratoria aguda
- Análisis de laboratorio

Resumen

Objetivo: Evaluar si el pretratamiento con anticuerpos monoclonales anti-FNT α y anti-IL-6, administrados de manera independiente, atenúa el daño pulmonar en un modelo experimental de lesión pulmonar inducida por la ventilación mecánica.

Materiales y Métodos: Se utilizaron 24 ratas Wistar que fueron separadas en cuatro grupos experimentales: 1) bajo Vt (n = 6): Vt 7 ml/kg, PEEP 5 cmH₂O, 2) alto Vt (n = 6): Vt 25 ml/kg, ZEEP (PEEP = 0), 3) anti-IL-6 (n = 6): Vt 25 ml/kg, ZEEP y 30 mg/kg de tocilizumab intraperitoneal 24 h antes de la ventilación mecánica, 4) anti-FNT α (n = 6): Vt 25 ml/kg, ZEEP y 100 μ g/kg de adalimumab intraperitoneal 24 h antes de la ventilación mecánica. Se evaluaron el daño histológico cuantificado según el puntaje reportado por Villar et al y la hemodinamia medida con la presión arterial media. Los datos fueron analizados con ANOVA y las pruebas de comparaciones múltiples de Dunn y de Tukey.

Resultados: En el grupo tratado con anti-FNT α y en los animales tratados con anti-IL-6, se observó un menor daño histológico pulmonar que en el resto de los grupos. Por otro lado, no se encontraron diferencias en la mecánica pulmonar y en la presión arterial media entre grupos.

Conclusiones: Bajo estas condiciones experimentales, los anticuerpos monoclonales anti-FNT α y anti-IL-6 mostraron efectos protectores a nivel pulmonar, lo que postula a estas drogas como estrategias promisorias para atenuar la lesión pulmonar inducida por la ventilación mecánica.

Key words

- Ventilator-induced lung injury
- Acute respiratory distress syndrome
- Clinical laboratory

Abstract

Objective: To evaluate whether pretreatment with monoclonal antibodies, anti- TNF α and anti-IL-6 administered independently attenuates lung damage in an experimental model of ventilator-induced lung injury.

Materials and Methods: Twenty-four Wistar rats were used. Animals were divided into four experimental groups: 1) low Vt (n = 6): Vt 7 mL/kg, PEEP 5 cmH₂O; 2) high Vt (n = 6): Vt 25 mL/kg, ZEEP (PEEP = 0); 3) anti-IL-6 (n = 6): Vt 25 mL/kg, ZEEP, and intraperitoneal tocilizumab 30 mg/kg, 24 hours prior to mechanical ventilation; 4) anti-TNF α (n = 6): Vt 25 mL/kg, ZEEP, and intraperitoneal adalimumab 100 μ g/kg, 24 hours before the VM. Histological damage measured by Villar score, and hemodynamics measured with mean arterial pressure were evaluated. Data were analyzed using ANOVA, Dunn's multiple comparison test and Tukey's multiple comparison test.

Results: In groups treated with anti-TNF α and anti-IL-6, less histological damage was observed in comparison with the rest of groups. On the other hand, no statistically significant differences were found in pulmonary mechanics and mean arterial pressure among groups.

Conclusions: Under these experimental conditions, monoclonal antibodies anti-TNF α and anti-IL-6 showed protective effects on lungs, indicating that these drugs are promising strategies to attenuate ventilator-induced lung injury.

Introducción

El síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) es uno de los problemas más difíciles de remediar en Terapia Intensiva, representa un impacto significativo en la salud pública, y es una de las principales causas de indicación de ventilación mecánica (VM) en las Unidades de Cuidados Críticos.¹ A partir de la publicación de Ashbaugh et al, en 1967, se ha tornado una de las patologías más complejas de comprender y corregir, debido a su heterogeneidad fisiopatológica. Existe evidencia contundente de que el uso de una estrategia de ventilación inapropiada puede inducir daño pulmonar o incrementar aquel que motivó su empleo, proceso conocido como lesión pulmonar inducida por la VM (*ventilator-induced lung injury*, VILI).²

El efecto de una estrategia de ventilación protectora mostró una disminución de la tasa de mortalidad utilizando una reducción del volumen corriente.³ Los estudios ALVEOLI⁴ y Express,⁵ buscando el mejor nivel de PEEP, o el estudio de Guérin et al,⁶ en el contexto de decúbito prono, y más reciente Amato⁷ observa la relación de la *driving pressure*; todos han sido hallazgos para analizar el desarrollo de nuevas estrategias ventilatorias, pero aún queda por determinar la utilidad de tratamientos adicionales para atenuar la inflamación pulmonar que sean útiles para reducir la VILI.

Se ha demostrado que toda estrategia ventilatoria dañina puede llevar a la liberación tanto local como

sistémica de mediadores inflamatorios y fragmentos proteicos,⁸ lo que genera una lesión adicional al tejido pulmonar y también a distancia en otros órganos o sistemas.⁹

En el estudio ARDS Network, se observó una disminución en los días de fallas orgánicas y una reducción de las tasas circulantes de interleucina 6 (IL-6) (citocina proinflamatoria) en pacientes con una modalidad de ventilación con volúmenes ajustados a 6 ml/kg.^{10,11} Asimismo, hace más de dos décadas, Tremblay¹² comunicó que la VM con altos volúmenes induce una lesión pulmonar y un incremento de la expresión de genes relacionados con la lesión pulmonar aguda, como el factor de necrosis tumoral alfa (FNT α) y la IL-6, en células epiteliales pulmonares de ratas.

Estudios en seres humanos han demostrado, en la microvasculatura pulmonar, un aumento de la expresión de los receptores tipo 2 de FNT α (FNT-R2) y una mayor producción de IL-6 y IL-8 en pacientes con SDRA, al compararlos con grupos de control; esto sugiere una mayor activación del endotelio pulmonar durante el desarrollo del SDRA, o bien la presencia de un endotelio constitutivamente más reactivo en sujetos que luego desarrollan VILI o SDRA.^{13,14} Asimismo, se ha establecido que la concentración de IL-6 en el líquido del lavado broncoalveolar de pacientes con SDRA fue mayor que en voluntarios sanos; además, la concentración de IL-6 en sangre es más alta en pacientes con riesgo de sufrir VILI y que posteriormente

■ Análisis comparativo de anticuerpos monoclonales en la respuesta inflamatoria pulmonar, en un modelo experimental de ventilación mecánica

la desarrollaron comparados con pacientes en riesgo que no desarrollaron este cuadro.¹⁵⁻¹⁸

La IL-6 es una glicoproteína de 26 kDa y con actividad pleiotrópica, participa en múltiples y esenciales funciones de la regulación de la inmunidad, inflamación e incluso oncogénesis y podría ser el mediador para el desarrollo de muchas enfermedades inflamatorias crónicas o autoinmunes.^{19,20}

Adalimumab y tocilizumab son anticuerpos monoclonales que se unen específicamente a los receptores del FNT α y al receptor transmembrana de IL-6, respectivamente, neutralizando su función al bloquear su interacción con los receptores.

El empleo de inhibidores de la respuesta inflamatoria podría ser una opción terapéutica, la activación de estos receptores se relaciona con la persistencia de la inflamación.

El objetivo de este estudio es evaluar variables de respuesta en la mecánica pulmonar, la hemodinamia, como histología y delta de peso pulmonar, en dos tratamientos con tocilizumab y adalimumab, como estrategias para atenuar los mecanismos inflamatorios de la VILI en un modelo de VM.

Materiales y Métodos

Se utilizaron 24 ratas de la cepa Wistar, machos, adultos, con un peso promedio de 287 g (\pm 13), que fueron provistas por el Bioterio Central de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de La Plata.

La anestesia general se efectuó con clorhidrato de ketamina (80 mg/kg) y diazepam (5 mg/kg) administrados por vía intraperitoneal. Además, se colocó lidocaína al 2% (10 mg/kg) en la piel y el tejido celular subcutáneo de la región ventral del cuello. Luego de la inducción anestésica, los animales fueron colocados en decúbito dorsal sobre una manta térmica. Durante la fase de mantenimiento anestésico, se administraron dosis adicionales de clorhidrato de ketamina (25 mg/kg) cada 45 minutos, hasta finalizar el procedimiento.

Luego de abordar el cuello, se disecó y canuló la arteria carótida izquierda con un catéter de teflón (24 Fr), que se conectó a un monitor multiparamétrico (modelo MCO-300-07, Buenos Aires, Argentina), con el fin de monitorear la presión arterial media (PAM); también se disecó y canuló la vena yugular derecha, se administraron 10 ml/h de solución fisiológica al 0,9% por bomba de infusión. Como último paso, se intubó la tráquea y se conectó a un ventilador mecánico (Neuroment GraphNet Neo TECME®, Argentina).

Durante el estudio, todas las ratas fueron ventiladas por dos horas con una FiO₂ del 0,40%. Los animales fueron divididos en los siguientes grupos:

- Grupo bajo volumen corriente (Vt) (n = 6): Vt 7 ml/kg, PEEP 5 cmH₂O

- Grupo alto Vt (n = 6): Vt 25 ml/kg, ZEEP
- Grupo anti-IL-6 (n = 6): Vt 25 ml/kg, ZEEP y tocilizumab 30 mg/kg, por vía intraperitoneal, 24 h antes de la VM
- Grupo anti-FNT α (n = 6): Vt 25 ml/kg, ZEEP y adalimumab 100 μ g/kg, por vía intraperitoneal, 24 h antes de la VM

Durante la VM, se midieron la PAM y los parámetros ventilatorios en forma continua; desde el comienzo y cada 30 minutos, se realizaron controles de la mecánica pulmonar (presión meseta [*plateau*]) y distensibilidad pulmonar estática.

Al terminar el estudio, se sacrificó a los animales mediante exanguinación, se retiraron los pulmones y se los embebió en solución buffer de formaldehído al 10% para el posterior estudio histopatológico.

Se remitió el lóbulo inferior del pulmón izquierdo para el análisis histológico. El material histológico se incluyó en parafina y se tiñó con hematoxilina y eosina. Mediante microscopía óptica se valoró el daño histológico según el puntaje descrito por Villar et al.¹¹ Se evaluó la presencia de cada parámetro del puntaje (células inflamatorias intratabicarias, células inflamatorias intralveolares, edema alveolar, presencia de membrana hialina, alteración del epitelio alveolar, engrosamiento tabicario y presencia de cuerpos apoptóticos) valorando las observaciones en una escala de 0 a 4 (ausencia, leve, moderado, severo y muy severo). El puntaje global se obtuvo por la adición de los puntajes individuales en cada animal y el promedio de las evaluaciones de cada grupo.

Para evaluar la ganancia de peso pulmonar, el lóbulo inferior derecho se pesó inmediatamente después de la recolección de la muestra y se colocó en una estufa a 60°C, durante dos días, para secarlo; luego, se volvió a pesar el tejido con el fin de calcular la relación entre peso húmedo y peso seco.

Los valores obtenidos de hemodinamia, distensibilidad pulmonar y peso húmedo/peso seco fueron analizados con ANOVA, seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Un valor p <0,05 se consideró estadísticamente significativo. Para el análisis histológico, se utilizó el test ANOVA seguido de la prueba de Dunn de comparaciones múltiples.

Resultados

Los animales ventilados con alto Vt + ZEEP mostraron un aumento significativo de cambios histológicos, como de ganancia de peso pulmonar, comparados con los del grupo bajo Vt + PEEP 5 cmH₂O (Figura 1). Tal como se representa en la Figura 1A, luego de dos horas de VM dañina, en ambos grupos con tratamiento previo (anti-FNT α y tocilizumab) disminuyó el daño pulmonar evaluado mediante análisis histopatológico; se observaron diferencias estadísticamente signifi-

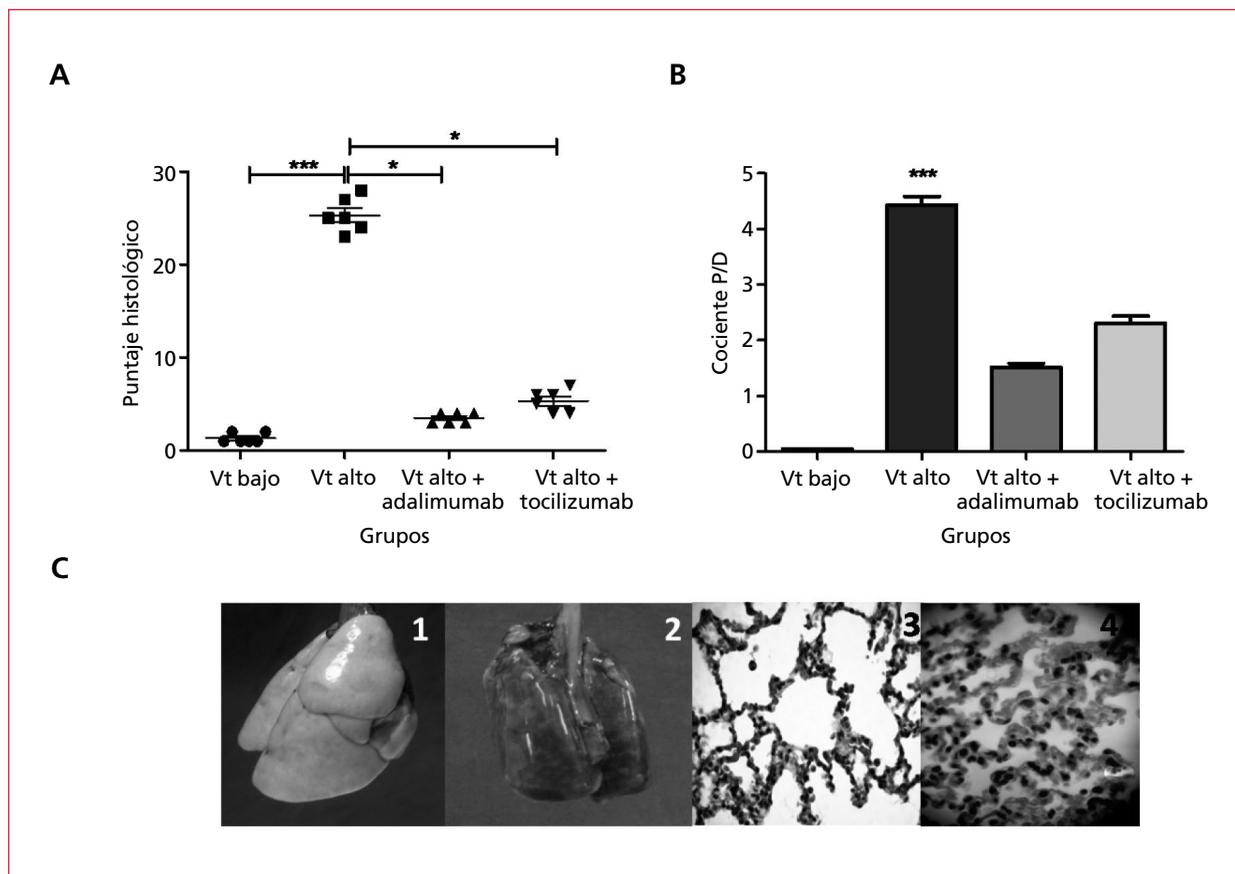


Figura 1. **A.** Representación gráfica de la evaluación histológica pulmonar de los diferentes grupos. Se observan diferencias estadísticamente significativas entre el grupo con alto volumen corriente (Vt) no tratado y aquellos que recibieron un tratamiento antes de la ventilación mecánica y el grupo con bajo Vt (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$). **B.** Ganancia de peso pulmonar entre grupos. Se aprecian diferencias significativas entre el grupo con alto Vt y los tres grupos restantes ($p < 0,001$). La ventilación con un Vt alto se asoció con empeoramiento del daño histológico y mayor ganancia de edema pulmonar, estos hallazgos se corrigen en los grupos tratados con adalimumab y tocilizumab. **C.** 1. Pulmón macroscópico sometido a ventilación mecánica con bajo Vt. 2. Pulmón macroscópico sometido a ventilación mecánica con alto Vt. Se observan congestión, edema, hemorragia. 3. Imagen histológica (40X). Se observa un pulmón histológico estructuralmente normal. 4. Imagen histológica correspondiente. Se aprecian membrana hialina, engrosamiento tabicario, inclusive, cuerpos apoptóticos (burbuja más clara).

cativas al compararlos con el grupo de alto Vt + ZEEP. En la Figura 2, se muestran, en detalle, algunos aspectos del estudio microscópico de los pulmones obtenidos de los diferentes grupos experimentales.

En el estudio comparativo de ganancia de peso pulmonar, ambos tratamientos disminuyeron el edema pulmonar, se observaron diferencias significativas en comparación con el grupo de alto Vt + ZEEP; de igual forma, el grupo con alto Vt + tocilizumab manifestó una tendencia a ganar más peso pulmonar que el grupo con alto Vt + adalimumab (Figura 1B).

Con respecto a la mecánica pulmonar, la distensibilidad a lo largo del tiempo no mostró diferencias significativas entre los grupos; tampoco, se detectaron diferencias hemodinámicas entre los grupos que recibieron tratamiento y los no tratados. La VM con

estrategia dañina se asoció a un empeoramiento de la PAM, aunque sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (Tabla).

Discusión

Al igual que otros grupos de investigación, en este estudio, se observó que la VM con alto Vt + ZEEP en ratas induce un mayor daño histológico,²¹ medido con el puntaje de lesión pulmonar, y una significativa ganancia de edema pulmonar. Por otro lado, pese a no alcanzar significación estadística en el período de dos horas, se observó un mínimo deterioro en las variables hemodinámicas, como la caída de la PAM en el grupo con alto Vt + ZEEP frente a los grupos tratados. El uso de un Vt elevado genera que los pulmones opri-

■ Análisis comparativo de anticuerpos monoclonales en la respuesta inflamatoria pulmonar, en un modelo experimental de ventilación mecánica

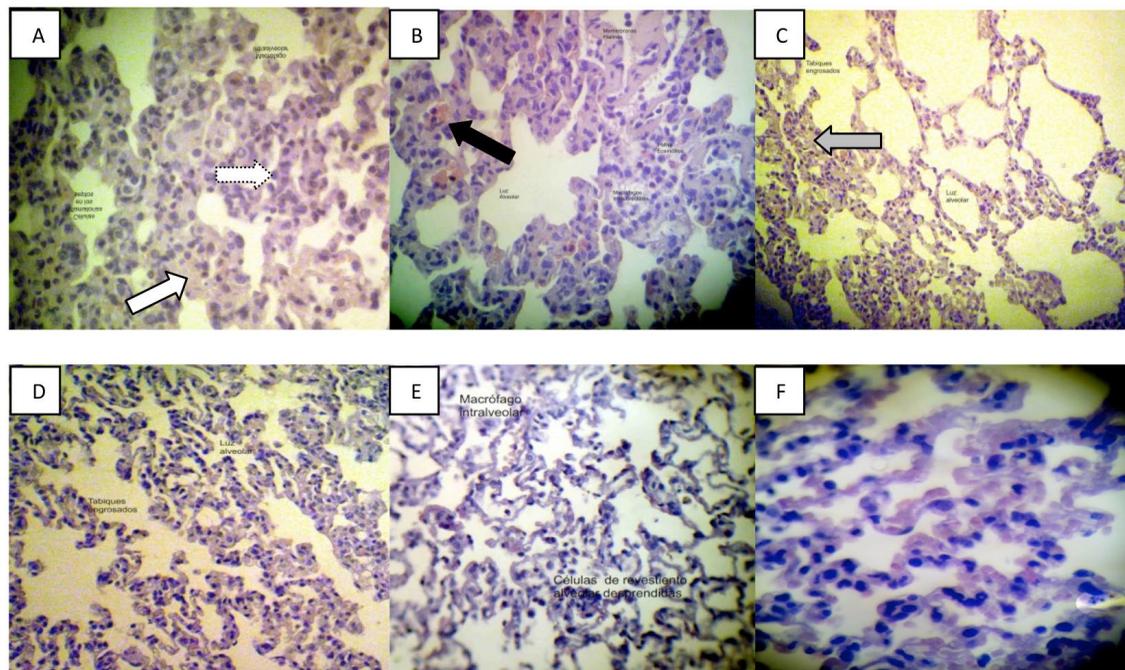


Figura 2. Microfotografías del tejido pulmonar de ratas Wistar teñido con hematoxilina-eosina (40X). A y B. Ratas ventiladas con alto volumen corriente (Vt) sin tratamiento. La imagen muestra membrana hialina (flecha blanca), engrosamiento de tabiques alveolares, infiltración de polimorfonucleares (flecha de puntos), macrófagos intralveolares, hemorragia (flecha llena). C y D. Ratas ventiladas con alto Vt y tratadas con tocilizumab por vía intraperitoneal, 24 h antes. Se observan engrosamiento de tabiques alveolares (flecha gris), menor luz alveolar que el grupo con bajo Vt, aunque el infiltrado alveolar es menor con respecto al del grupo con alto Vt no tratado. E y F. Pulmones sometidos a ventilación mecánica dañina y tratados previamente con anti-FNT α . Obsérvense el engrosamiento tabicario, la disminución del infiltrado leucocitario intralveolar como en el tabique. En la imagen F, además, hay cuerpos apoptóticos (burbuja resaltada).

TABLA

Valores de distensibilidad y presión arterial media de todos los grupos experimentales al comienzo de la ventilación mecánica (hora 0) y al final del procedimiento (2 horas). En ninguna de las evaluaciones ni en los tiempos considerados para el estudio, se observan diferencias estadísticamente significativas entre grupos

	Distensibilidad (ml/cmH ₂ O)		Presión arterial media (mmHg)	
	0 h	2 h	0 h	2 h
Vt bajo	0,6 ± 0,08	0,53 ± 0,05	94,15 ± 4,6	78,7 ± 8,28
Vt alto	0,54 ± 0,05	0,44 ± 0,06	96,5 ± 5,54	83,9 ± 5,14
Vt alto + adalimumab	0,57 ± 0,08	0,54 ± 0,1	97,8 ± 4,71	75,66 ± 5,75
Vt alto + tocilizumab	0,64 ± 0,08	0,58 ± 0,04	95,3 ± 6,9	80,13 ± 9,92

man el corazón, la pared torácica y el diafragma; de este modo, mientras que la pared torácica se expande hacia afuera y el diafragma desciende, el corazón y el pericardio son comprimidos, lo que causa una caída de la PAM. En pacientes con pulmones sobredistendidos, por el uso de un Vt dañino, el llenado ventricular puede comprometerse. Para analizar más a fondo el

impacto de los cambios de la alta presión intratorácica, se debe tener en cuenta que la elastancia de la pared torácica de los animales utilizados (ratas) es más baja que la de los seres humanos, porque mayormente está compuesta de cartílago; de este modo, es posible explicar los escasos cambios hemodinámicos observados con la VM.

Los cambios de las variables que conforman el puntaje histológico fueron atenuados en los animales de los grupos tratados con adalimumab (anti-FNT α) y con tocilizumab (anti-IL-6), lo que postula a estos fármacos como potenciales estrategias para atenuar el daño ocasionado por la VM, como así también resalta la importancia del FNT α y la IL-6 en la fisiopatogenia del daño pulmonar desencadenado por un evento de VM dañino.

El modelo de lesión inducida por la VM *in vivo*, confirmado por la infiltración de polimorfonucleares tanto en el espacio alveolar como en el intersticio pulmonar y el agravamiento del estado hemodinámico indican lesión pulmonar y deterioro cardiovascular, en el contexto de la falla multiorgánica.

Para proporcionar más evidencia de los mecanismos inflamatorios que están involucrados en el desarrollo de la VILI, tratamos ratas con anticuerpos neutralizantes de mediadores inflamatorios que se desencadenan en la VILI, como IL-6 y FNT α . Ambos tratamientos mostraron ser potenciales atenuantes de la lesión pulmonar, como se observa por la menor infiltración de polimorfonucleares alveolares e intersticiales y la menor repercusión hemodinámica. Paradójicamente, la VM con alto Vt mostró cuerpos apoptóticos, que no se observaron en el grupo tratado con adalimumab.

Numerosos estudios demostraron que la VM con alto Vt produce un aumento de la permeabilidad con el consiguiente edema pulmonar, tanto en animales de laboratorio, como en seres humanos. Estudios experimentales que utilizan como mecanismo de lesión el volutrauma como efecto dañino lesionan los pulmones e inducen inflamación sistémica. A su vez, la apoptosis es un fenómeno observado en otros órganos en el contexto de la falla multiorgánica, excluida la afectación pulmonar. En este sentido, nuestros hallazgos muestran cuerpos apoptóticos en cinco pulmones de seis ratas del grupo con alto Vt.

Imai et al²² demostraron en conejos prelesionados con instilación de ácido clorhídrico y VM con alto Vt una asociación con apoptosis intestinal y renal, sin apoptosis pulmonar.

Los hallazgos de apoptosis observada cualitativamente sobre los efectos de la VM con alto Vt y la falla multiorgánica deben cuantificarse con estudios posteriores que observen más específicamente este fenómeno.

En este estudio, el uso de agentes, como un antagonista del FNT α , fue eficaz como el bloqueo de la IL-6; no obstante, la ganancia de peso pulmonar en ratas tratadas antes con adalimumab fue menor. La lesión histológica observada como una reducción en la infiltración de polimorfonucleares tanto en el espacio alveolar como en el intersticio, fue estadísticamente más significativa en aquellos animales tratados con adalimumab que con el bloqueo de IL-6. Este hallaz-

go podría ser interpretado como un reflejo indirecto del rol preponderante del FNT α ante la IL-6 en la inducción de la VILI. Desde el punto de vista clínico, los animales de los grupos pretratados con inmunomoduladores tuvieron menor impacto hemodinámico, sin cambios estadísticamente significativos entre sí, comparados con los que recibieron VM dañina, sin tratamiento farmacológico.

Conclusiones

La utilización de fármacos biológicos para modular la respuesta inflamatoria es una práctica clínica no utilizada aún en Cuidados Críticos, posiblemente, porque la VILI convive con una respuesta inflamatoria secundaria a procesos infecciosos que contraindican formalmente el uso de estos agentes. En este trabajo, se observó que inmunomodular la respuesta inflamatoria es una estrategia muy prometedora para atenuar la VILI; los agentes terapéuticos empleados en este estudio (adalimumab y tocilizumab) minimizan el daño histológico y disminuyen el edema pulmonar, se halló un efecto considerablemente marcado en la inhibición de la vía del FNT α . Bajo estas condiciones experimentales de estrés pulmonar mecánico, el adalimumab es tan eficaz como el tocilizumab frente a la VILI.

Este trabajo servirá de modelo para futuras investigaciones que tendrán como objetivo evaluar, con mayor detalle, el mecanismo de estos y otros anticuerpos monoclonales; estudiar variables, como la expresión de diversas citocinas a nivel tisular, y el impacto de los tratamientos en órganos remotos.

Bibliografía

1. Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, et al. Incidence and outcomes of acute lung injury. *N Engl J Med* 2005; 353: 1685-1693.
2. Dreyfuss D, Saumon G. Ventilator-induced lung injury: lessons from experimental studies. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 294-323.
3. Amato MB, Barbas CS, Medeiros DM, et al. Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1998; 338(6): 347-354.
4. Brower RG, Lanken PN, MacIntyre N, et al. Higher versus lower positive end-expiratory pressures in patients with the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2004; 351: 327-336.
5. Mercat A, Richard JC, Vielle B, et al. Expiratory Pressure (Express) Study Group. Positive end-expiratory pressure setting in adults with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA* 2008; 299: 646-655.
6. Guérin C, Reignier J, Richard JC. Prone positioning in severe acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2013; 368: 2159-2168.

■ Análisis comparativo de anticuerpos monoclonales en la respuesta inflamatoria pulmonar, en un modelo experimental de ventilación mecánica

7. Amato MB, Meade MO, Slutsky AS, et al. Driving pressure and survival in acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2015; 372: 747-755.
 8. Ranieri M, Giunta F, Suter PM, Slutsky A. Mechanical ventilation as a mediator of multisystem organ failure in acute respiratory distress syndrome. *JAMA* 2000; 284: 43-44.
 9. Slutsky AS. Ventilator-induced lung injury: From barotrauma to biotrauma. *Respir Care* 2005; 50: 646-659.
 10. Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2000; 342: 1301-1308.
 11. Villar J, Herrera-Abreu MT, Valladares F, et al. Experimental ventilator-induced lung injury: exacerbation by positive end-expiratory pressure. *Anaesthesiology* 2009; 110(6): 1341-1347.
 12. Tremblay LN, Slutsky AS. Ventilator-induced injury: from barotrauma to biotrauma. *Proc Assoc Am Physicians* 1998; 110: 482-488.
 13. Verbrugge SJ, Lachmann B, Kesecioglu J. Lung protective ventilatory strategies in acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: from experimental findings to clinical application. *Clin Physiol Funct Imaging* 2007; 27(2): 67-90.
 14. Ventrice EA, Martí-Sistac O, Gonzalvo R, Villagrà A, López-Aguilar J, Blanch L. Molecular and biophysical mechanisms and modulation of ventilator-induced lung injury. *Med Intensiva* 2007; 31(2): 73-82.
 15. Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J* 1990; 265: 621-636.
 16. Hirano T, Akira S, Taga T, Kishimoto T. Biological and clinical aspects of interleukin 6. *Immunol Today* 1990; 11: 443-449.
 17. Akira S, Taga T, Kishimoto T. Interleukin-6 in biology and medicine. *Adv Immunol* 1993; 54: 1-78.
 18. Kishimoto T. Interleukin-6: from basic science to medicine—40 years in immunology. *Annu Rev Immunol* 2005; 23: 1-21.
 19. Yamasaki K, Taga T, Hirata Y, et al. Cloning and expression of the human interleukin-6 (BSF-2/IFN α 2) receptor. *Science* 1988; 241: 825-828.
 20. Taga T, Hibi M, Hirata Y, et al. Interleukin-6 triggers the association of its receptor with a possible signal transducer gp130. *Cell* 1989; 58: 573-581.
 21. Correger E, Marcos J, Sotelo DE, Beldarrain M, Stringa P, Laguens G. Analysis of ventilator induced lung injury impact in lung and cardiac tissue in a murine model. *Intensive Care Med* 2015; 3(1): A565.
 22. Imai Y, Parodo J, Kajikawa O, et al. Injurious mechanical ventilation and end-organ epithelial cell apoptosis and organ dysfunction in an experimental model of acute respiratory distress syndrome. *JAMA* 2003; 289: 2104-2112.
-