

Revisión: Rescate lipídico en intoxicaciones. Un aliado en el paciente grave.

Review: Lipid rescue poisoning. A partner in critical patient.

Jorge Barriga M.¹ MV; Rodrigo Frávega P.² MV.

Recibido: 09 de Mayo 2014
Aceptado: 24 de Mayo 2014

Resumen

La emulsión lipídica intravenosa ha ganado terreno como antídoto en intoxicaciones con drogas lipofílicas tanto en humanos como pacientes veterinarios. La terapia lipídica se acepta como parte integral del tratamiento de intoxicación con anestésicos locales en medicina humana. Sin embargo, su mecanismo de acción y margen terapéutico no han sido determinados. La información publicada hasta el momento parece promisorio.

Palabras Claves: Intoxicación, Lípidos, Fosfatados

Abstract

Intravenous lipid emulsion is emerging as a potential antidote for lipophilic drug toxicities in both human and veterinary medicine. Lipid emulsion has already gained acceptance in human medicine as a treatment of local anesthetic systemic toxicity. However, mechanism of action, safety margins, remains undetermined at this time. The posted information may be promising at this time.

Keyword: Poisoning, Lipid.

Introducción

Según información internacional, cada año los centros de información toxicológica veterinaria reciben muchos llamados sobre intoxicaciones en animales pequeños¹. De estas, destacan la ingestión de anti inflamatorios, anti psicóticos y plaguicidas¹. En Chile, no hay trabajos epidemiológicos al respecto. Pero, sin duda, son una causa frecuente de morbilidad en la práctica diaria. Lamentablemente, para la mayoría de estos tóxicos no se dispone de antídotos específicos y la terapia se limita al soporte vital y medidas de descontaminación convencionales². En la última década existen bastantes trabajos que sustentan la terapia con lípidos de nutrición parenteral, emulsión lipídica intravenosa (ELI), principalmente en la intoxicación con anestésicos locales³⁻¹⁰. Sin embargo, también hay argumento experimental, clínico y teórico potente para un amplio rango de sustancias liposolubles¹¹⁻¹⁸. El objetivo de este artículo es revisar la información disponible en la literatura internacional humana y veterinaria, discutir las potenciales aplicaciones de esta terapia en animales pequeños y recomendaciones para su uso.

Historia

ELI fue utilizado inicialmente en los años 60 como soporte nutricional parenteral y luego como vehículo para la administración de fármacos (por ejemplo, propofol).¹⁹ Posteriormente, en trabajos publicados en la década de los 80, se evaluaron los efectos de ELI en la farmacocinética de ciclosporina y fenitoína en modelos murinos.²⁰⁻²² Luego se comprobó que ELI aumenta la dosis cardiotoxicidad de bupivacaína en ratas,³ dándose a conocer los potenciales efectos benéficos en el tratamiento de las intoxicaciones por agentes lipofílicos.²³

En medicina humana, la utilización de ELI ha sido reportada en distintas publicaciones de casos clínicos^{9, 10, 15, 17, 24} y se indica en casos de condiciones potencialmente mortales producidas por toxicosis con agentes lipofílicos, en donde la terapia convencional no logra mejorar los parámetros fisiológicos.²³ El uso de ELI en animales principalmente ha sido documentado en distintos trabajos experimentales^{3, 7, 11-14, 16, 18, 20-22} y existen varios reportes de utilización clínica en distintas especies,^{19, 25-28} variando la respuesta al tratamiento de leve mejoría a resolución completa de los signos clínicos asociados a la intoxicación.

¹ Médico Veterinario, Residente 2º año, Hospital Veterinario de Santiago.

² Médico Veterinario. Unidad de Paciente Crítico, Hospital Veterinario de Santiago.

Emulsión lipídica

Las ELIs consisten en emulsiones de aceite en agua que contienen triglicéridos, un emulsionante fosfolípido en distintos porcentajes y glicerina.²⁹ El de mayor utilización en la actualidad para el tratamiento de toxicosis, es una emulsión en base a aceite de soja de triglicéridos de cadena larga (TCL), el cual contiene ácidos grasos como linoleico, oleico, palmítico, linolénico y esteárico,³⁰ al 20% (Intralipid®; Baxter Healthcare Corp., Deerfield, IL).^{23, 31} Estas formulaciones lipídicas IV se clasifican en 3 grupos dependientes del tamaño medio de las micelas (MDS del inglés; mean droplet size), estas son emulsiones: Macro (MDS > 1.0 µm), Mini (MDS < 1.0 µm) y Micro (MDS < 0.1 µm), siendo principalmente las mini-emulsiones de lípidos inyectables las utilizadas en nutrición parenteral y en el tratamiento de toxicosis por fármacos lipófilos.²³ Se recomienda que el MDS no sea mayor a 1 µm, ya que se ha demostrado que este tamaño de micelas incrementan el riesgo de embolización microvascular y una respuesta inflamatoria secundaria.^{23, 31}

Las micelas grasas en ELIs son similares a los quilomicrones endógenos y son metabolizados y eliminados por el músculo esquelético, bazo, miocardio y los tejidos subcutáneos, mientras que el glicerol y ácidos grasos libres son los productos de descomposición de los triglicéridos, fosfolípidos, y componentes de colina de ELI y son utilizados por los tejidos del cuerpo como fuente de energía.³¹

Tanto agentes físicos como químicos, pueden reducir la vida útil y la seguridad de las ELIs y se deben tener en cuenta las recomendaciones del fabricante sobre el almacenamiento y manipulación para minimizar las variables externas que pueden desestabilizar estos productos. Además, se debe tener énfasis en el uso de técnicas asépticas al utilizarlos, previniendo la contaminación bacteriana.²³ En el caso de la fracción no utilizada del producto, esta se debe almacenar en condiciones de refrigeración de entre 2 y 8°C, y deben ser eliminados a las 24 horas posteriores. Si se requiere para un tratamiento más prolongado, se debe utilizar un nuevo producto.^{23, 31}

Al ser preparaciones isotónicas, las ELIs comerciales pueden ser administradas a través de un catéter endovenoso periférico.

Mecanismo de acción

El mecanismo de acción de los ELIs, aunque se han realizado numerosas investigaciones, no ha sido precisado y sigue siendo teórico, aunque algunos estudios y evidencia anecdótica le otorgan tres posibles mecanismos, que tienen como resultado el mejoramiento de la función cardíaca como inótropro positivo, recuperación mitocondrial y un efecto de "sumidero" o partición de lípidos.^{8, 23, 31, 32, 33}

En cuanto al efecto de inotropismo positivo de la ELI, este es debido a que los TCL han demostrado estimular la activación de los canales de Ca dependientes de voltaje, aumentando la concentración de Calcio ionizado (Ca²⁺) citosólico de los miocitos cardíacos,^{8, 23, 31, 32, 33, 34} generando a su vez un aumento en la fuerza o intensidad de contracción cardíaca, sin afectar la frecuencia, con la consecuente elevación de la presión arterial sistólica (PAS).

En el miocardio utiliza los ácidos grasos libres (AGL) como el sustrato preferido para la producción de energía por parte de las mitocondrias de los miocitos en condiciones aeróbicas, así los TCL contenidos en la ELI, al ser hidrolizados, serían una fuente directa de energía.^{8, 11, 31-35} Además, la bupivacaína y otros anestésicos locales son capaces de inhibir la carnitina acilcarnitina translocasa, enzima encontrada en la membrana interna mitocondrial que transporta la acilcarnitina a la matriz de ésta, bloqueando de esta manera el transporte de AGL hacia la mitocondria. La administración de ELI mediante efecto de masa, inhibición competitiva o un mecanismo desconocido, ayuda a anular esta inhibición que resulta en una mayor utilización de la AGL y la producción de energía.^{8, 23, 31, 36}

La teoría de partición o "sumidero de lípidos" propone que la emulsión de lípidos contrarresta las toxinas lipofílicas atrapándolas en la gran fase lipídica creada dentro del plasma por la infusión.^{8, 23} Esta fase lipídica establece un gradiente que arrastra al tóxico o droga soluble en lípidos, secuestrándolo en la sangre desde el corazón y el cerebro. A medida que la ELI circula por todo el cuerpo, ésta se elimina por el músculo esquelético, bazo, miocardio y tejidos subcutáneos, que ayudan a diluir y limpiar la toxina del cuerpo.³¹ La vida media y el grado de liposolubilidad o coeficiente de partición (log P) del tóxico responsable puede afectar su eliminación del organismo, además el pH y la temperatura corporal alteran la capacidad de unión del tóxico a esta fase lipídica, siendo el pH ácido un factor negativo de unión, mientras que un aumento de la temperatura se considera benéfico,^{23, 37} por lo tanto, es necesario tomar en consideración estos factores cuando se administra ELI a animales críticamente enfermos con alteraciones del equilibrio ácido-base severas o alteraciones de temperatura. Todo esto es apoyado por distintos informes; experimentos en modelo porcino han demostrado el secuestro de amiodarona en el plasma después de la administración,³⁸ por otro lado, estudios en preparados de corazón murino con bupivacaína radiomarcada demuestran el aumento del movimiento de ésta desde miocitos cardíacos hacia la fase lipídica plasmática mejorando su eliminación.³⁹ Informes de casos humanos detallan el aclaramiento plasmático de mepivacaína después de la administración ELI en comparación con los controles.⁵

Posibles efectos adversos

Los riesgos potenciales relacionados con el uso ELI como un antídoto pueden extrapolarse a partir de los riesgos documentados de la administración de nutrición parenteral influenciados por la velocidad de infusión, la dosis diaria total y duración de la administración.³¹ Los efectos adversos son poco comunes, pero pueden ser causados por contaminación del producto o reacción directa a la emulsión.

La contaminación microbiana del producto ocurre por un manejo inadecuado o una técnica no estéril y puede resultar en irritación venosa, con la consiguiente tromboflebitis, en infección local o sistémica.³⁶ También se describen reacciones anafilácticas, que se producen en menos del 1 % de los casos en humanos, estos pueden ocurrir dentro de los primeros 20 minutos post administración y los signos incluyen fiebre, náuseas, vómitos, disnea, taquipnea, cianosis, arritmias, hipotensión y colapso cardiovascular.^{31, 36, 40}

Se ha descrito la aparición de un síndrome llamado "síndrome de sobrecarga grasa" que es el resultado de la administración de volúmenes excesivos o altas tasas de administración que saturan los mecanismos de eliminación de lípidos. Se han reportado complicaciones neurológicas, como déficits multifocales y convulsiones focales en personas con este síndrome; adicionalmente, puede provocar embolia grasa, hiperlipidemia, hepatomegalia, ictericia, esplenomegalia, trombocitopenia, aumento del tiempo de coagulación y hemólisis.^{36, 40}

La administración de ELI 20% en pacientes críticamente enfermos, sépticos y en los que sufren de síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) resultó en el aumento de la presión arterial pulmonar media, disminución de la presión parcial de oxígeno arterial (PaO₂) a partir de la fracción inspirada de oxígeno (FIO₂), aumento del gradiente de presión parcial de O₂ alveolar/arterial (A/a), shunt intrapulmonar y cambios en el líquido broncoalveolar, lo que sugiere deterioro de la permeabilidad de la membrana respiratoria, inflamación del tejido pulmonar, y cambios en las características de surfactante. Estos cambios fueron resueltos tras la interrupción de la administración de ELI.^{41, 42} Si bien esto no ha sido evaluado en medicina veterinaria, la terapia con ELI en pacientes veterinarios con enfermedad pulmonar subyacente debe ser considerada.

La lipidemia es una consecuencia inevitable con el uso de la ELI y perros con hipertrigliceridemia grave tienen un mayor riesgo para el desarrollo de pancreatitis y convulsiones. Aunque hay una mayor incidencia de pancreatitis en perros con hiperlipidemias primarias y muchos animales que cursan pancreatitis generan hiperlipidemia secundaria, no se ha demostrado una relación

de causa y efecto entre la hipertrigliceridemia transitoria y pancreatitis.^{23, 31}

Casos reportados en Medicina Veterinaria

Existen reportes de la utilización clínica de ELI en animales con resultados favorables en el tratamiento de intoxicación con agentes lipofílicos, que a continuación se describen.

Se presenta Hembra Jack Russell Terrier de 16 semanas de edad con convulsiones de inicio agudo seguidas de parálisis y coma. El tratamiento inicial consistió en diazepam, glicopirrolato, y líquidos por vía intravenosa, recibiendo ventilación mecánica y cuidados de enfermería de soporte. Después de 10 horas post exposición al tóxico se estableció una ELI al 20%, administrada por vía intravenosa, dando un bolo inicial de 2 ml/kg en 10 minutos, seguido de una infusión de 4 ml/kg/h durante cuatro horas, observándose una leve mejoría. Luego se realizó una segunda infusión 25,5 horas posteriores a la exposición y se administró a una velocidad de 0,5 ml/kg/min durante 30 minutos en donde se observó una mejoría dramática transcurridos 30 minutos de esta segunda dosis. El estado neurológico del cachorro volvió a la normalidad dentro de las seis horas posteriores a la segunda administración, sin recaídas.¹⁹

Otro caso descrito por Clarke, y colaboradores,²⁶ en donde una hembra castrada Border Collie de dos años fue tratada con ELI, ocho horas después de ingerir 6 mg/kg de ivermectina, el cual puede generar la muerte si no se instaura un tratamiento agresivo. Al examen inicial, se encuentran temblores musculares difusos, hipertermia y a la evaluación neurológica se reveló ataxia, midriasis con respuesta de amenaza y de reflejos fotopupilar bilateralmente ausentes. El perro fue tratado con ELI, además de tratamiento de soporte con fluidos IV y con monitoreo cardiovascular, respiratorio y neurológico. Se administra un bolo inicial de 1,5 ml/kg de una solución de lípidos estéril 20% IV durante 10 minutos, seguido por una infusión a velocidad constante de 0,25 ml/kg/min a lo largo 60 minutos, administrado en dos ocasiones para tratar los signos clínicos de la toxicosis por ivermectina. El perro fue dado de alta 48 horas después de la admisión y fue clínicamente normal a los cuatro días después post ingestión de ivermectina.

En gatos también se ha utilizado la administración de ELI y existen dos reportes de respuesta positiva a esta. Macho castrado de cinco años de edad, doméstico de pelo corto, fue examinado debido a la intoxicación presuntiva por lidocaína. Treinta minutos antes, el gato había recibido una inyección SC de aproximadamente 140 mg de clorhidrato de lidocaína (20 mg/kg) para facilitar el cierre de una herida en la extremidad posterior izquierda. El examen físico inicial reveló letargo severo y dificultad respiratoria, ataxia,

pulsos de baja calidad con una hipotensión grave y edema pulmonar. El tratamiento de apoyo inicial incluyó oxigenación y la administración de solución de Ringer lactato IV. El tratamiento adicional con una emulsión de lípidos al 20% a 1,5 ml/kg IV entregados durante un período de 30 minutos, dio como resultado una mejora dramática en las variables cardiovasculares y de comportamiento. No se observaron efectos adversos.²⁷ Mientras que otro reporte de intoxicación de 2 gatos con permétrina, con los mismos resultados, ha sido descrito por Kuo y Odunayo.²⁵

Conclusiones

La utilización de ELI ha demostrado ser una terapia confiable y de resultados positivos para el tratamiento de intoxicaciones por agentes lipofílicos. A pesar de que no se ha determinado el mecanismo preciso de este tratamiento, se ha demostrado científica y clínicamente sus beneficios. Por otra parte, las pautas seguidas en Medicina Veterinaria son extrapoladas desde la Medicina Humana, por lo cual se amerita estudios sobre la dosificación, efectos y contraindicaciones de las ELI en animales.

La terapia con ELI no ha sido evaluada en intoxicaciones comunes en Chile, como son las producidas por la ingesta de órganos fosforados y metaldehído que, al ser compuestos lipofílicos, tienen efectos tóxicos que podrían ser revertidos por este manejo y representar un potencial beneficio para la práctica cotidiana en clínica.

Finalmente, los autores recomiendan la instauración de protocolos de utilización de ELI en todo hospital veterinario de urgencia.

Referencias Bibliográficas

1. ASPCA. Top 10 poisons of the year. Disponible en: www.aspc.org/pet-care/poison-control/Top-10-poisons-of-the-year.html 14 Septiembre, 2013.
2. Lee JA. Emergency management and treatment of the poisoned small animal patient. *Vet Clin Small Anim Pract*; 2013, 43: 757-771.
3. Weinberg G, VadeBoncouer T, Ramaraju G, Garcia-Amaro M, Cwik M. Pretreatment or resuscitation with a lipid infusion shift the dose-response to bupivacaine-induced asystole in rats. *Anesthesiology*; 1998, 88(4): 1071-1075.
4. Weinberg G, Ripper R, Feinstein D, Hoffman W. Lipid emulsion infusion rescues dogs from bupivacaine-induced cardiac toxicity. *Reg Anesth Pain Med*; 2003, 28(3): 198-202.
5. Spence A. Lipid reversal central nervous system symptoms of bupivacaine toxicity. *Anesthesiology*; 2007, 107(3): 516-517.
6. Foxall G, McCahon R, Lamb J, Hardman J, Bedford N. Levobupivacaine-induced seizures and cardiovascular collapse treated with intralipid. *Anaesthesia*; 2007, 62(5): 516-518.

7. Cave G, Harvey M, Winterbottom T. Evaluation of the association of anaesthetists of Great Britain and Ireland lipid infusion protocol in bupivacaine-induced cardiac arrest in rabbits. *Anaesthesia*; 2009, 64(7): 732-737.

8. Cave G, Harvey M. Intravenous lipid emulsion as antidote beyond local anesthetic toxicity: a systematic review. *Acad Emerg Med*; 2009, 16: 815-824.

9. Charbboneau H, Marcou T, Mazoit J, Zetlaoui P, Benhamou D. Early use of lipid emulsion to treat incipient mepivacaine intoxication. *Reg Anesth Pain Med*; 2009, 34(3): 277-278.

10. Sonsino D, Fischler M. Immediate intravenous lipid infusion in the successful resuscitation of ropivacaine-induced cardiac arrest after intraclavicular brachial plexus block. *Reg Anesth Pain Med*; 2009, 34(3): 276-277.

11. Pérez E, Bania T, Medlej K, Chu J. Determining the optimal dose of intravenous fat emulsion for the treatment of severe verapamil toxicity in a rodent model. *Acad Emerg Med*; 2008, 15(12): 1284-1289.

12. Young A, Velez L, Kleinschmidt K. Intravenous fat emulsion therapy for intentional sustained-release verapamil overdose. *Resuscitation*; 2009, 80(5): 591-593.

13. Tebbut S, Harvey M, Nicholson T, Cave G. Intralipid prolongs survival in a rat model of verapamil toxicity. *Acad Emerg Med*; 2006, 13(2): 134-139.

14. Weinberg G, Di Gregorio G, Hiller D, Hewett A, Sirianni A. Reversal of haloperidol-induced cardiac arrest by using lipid emulsion. *Ann Intern Med*; 2009, 150(10): 737-738.

15. Finn S, Uncles D, Willers J, Sable N. Early treatment of a quetiapine and sertraline overdose with intralipid. *Anaesthesia*; 2009, 64(2): 191-194.

16. Harvey M, Cave G. Intralipid infusion ameliorates propanolol-induced hypotension in rabbits. *J Med Toxicol*; 2008, 4(2): 71-76.

17. Jakkala-Saibaba R, Morgan P, Morton G. Treatment of cocaine overdose with lipid emulsion. *Anaesthesia*; 2011, 66: 1168-1170.

18. Kazemi A, Harvey M, Cave G, Lahner D. The effect of lipid emulsion on depth of anaesthesia following thiopental administration to rabbits. *Anaesthesia*; 2011, 66: 373-378.

19. Clarke D, Lee J, Murphy L, Reineke E. Use of intravenous lipid emulsion to treat ivermectin toxicosis in a Border Collie. *J Am Vet Med Assoc*; 2011, 239: 1328-1333

20. Krieglstein J, Meffert A, Niemeyer D. Influence of emulsified fat on chlorpromazine availability in rabbit blood. *Experimentia*; 1974, 30(8): 924-926.

21. Shah A, Sawchuk R. Effect of co-administration of intralipid on the pharmacokinetics of cyclosporine in the rabbit. *Biopharm Drug Dispos*; 1991, 12(6): 457-466.

22. Straathof D, Driessen O, Meijer J, Van Rees H, Vermeij P, Vermeij T. Influence of intralipid infusion on the elimination of phenytoin. *Arch Int Pharmacodyn Ther*; 1984, 267(2): 180-186.

23. Fernandez A, Lee J, Rahilly L, Hovda L, Brutlag A, Engbretsen K. The use of intravenous lipid emulsion as an antidote in veterinary toxicology. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*; 2011, 21(4): 309-320.

24. Rosenblatt M, Abel M, Fischer G, Itzkovich C, Eisenkraft J. Successful use of a 20% lipid emulsion to resuscitate a patient after a presumed bupivacaine-related cardiac arrest. *Anesthesiology*; 2006, 105: 217-8.

25. Kuo K, Odunayo A. adjunctive therapy with intravenous lipid emulsion and methocarbamol for permethrin toxicity in 2 cats. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*; 2013, 23(4): 436-441.

26. Crandell D, Weinberg G. moxidectin toxicosis in a puppy successfully treated with intravenous lipids. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*; 2009, 19(2): 181-186.

27. O'Brien T, Clark-Price S, Evans E, Di Fazio R, McMichael M. Infusion of a lipid emulsion to treat lidocaine intoxication in a cat. *J Am Vet Med Assoc*; 2010, 237: 1455-1458.

28. Bruenisholz H, Kupper J, Muentener C, Dally A, Kraemer T, Naegeli H, Schwarzwald C. Treatment of ivermectin overdose in a miniature Shetland pony using intravenous administration of a lipid emulsion. *J Vet Intern Med*; 2012, 26: 407-411.

29. Mirtallo J, Dasta J, Kleinschmidt K, Varon J. State of the art review: Intravenous fat emulsions: Current applications, safety profile, and clinical implications. *Ann Pharmacother*; 2010, 44(4): 688-700.

30. LipidRescue™ Resuscitation: for drug toxicities. Disponible en <http://lipidrescue.org/>. Consultado 30 Abril 2014.

31. Kaplan A, Whelan M. the use of IV lipid emulsion for lipophilic drug toxicities. *J Am Anim Hosp Assoc*; 2012, 48: 221-227.

32. Litonius, E, Tarkkila P, Neuvonen P, Rosenberg P. Effect of intravenous lipid emulsion on bupivacaine plasma concentration in humans. *Anaesthesia*; 2012, 67: 600-605.

33. Gueret G, Pennec J, Arvieux C. Hemodynamic effects of Intralipid after verapamil intoxication may be due to a direct effect of fatty acids on myocardial calcium channels. *Acad Emerg Med*; 2007, 14(8): 761.

34. Stehr S, Ziegeler J, Pexa A, Oertel R, Deussen A, Koch T, Hübler M. The effects of lipid infusion on myocardial function and bioenergetics in l-bupivacaine toxicity in the isolated rat heart. *Anesth Analg*; 2007, 104 (1): 186-92.

35. Picard J, Meek T. Lipid emulsion to treat overdose of local anaesthetic: the gift of the glob. *Anaesthesia*; 2006, 61(2): 107-109.

36. Turner-Lawrence D, Kerns W. Intravenous fat emulsion: a potential novel antidote. *J Med Toxicol*; 2008, 4(2): 109-114.

37. Mazoit J, Le Guen R, Beloeil H, Benhamou D. Binding of long-lasting local anesthetics to lipid emulsions. *Anesthesiology*; 2009, 110(2): 380-386.

38. Niiya T, Litonius E, Petäjä L, Neuvonen P, Rosenberg P. Intravenous lipid emulsion sequesters amiodarone in plasma and eliminates its hypotensive action in pigs. *Ann Emerg Med*; 2010, 56(4): 402-408.e2.

39. Weinberg G, Laurito C, Geldner P, Pygon B, Burton B. Malignant ventricular dysrhythmias in a patient with isovaleric acidemia receiving general and local anesthesia for suction lipectomy. *J Clin Anesth*; 1997, 9(8): 668-670.

40. Driscoll D. Lipid injectable emulsions: pharmacopeial and safety issues. *Pharm Res*; 2006, 23(9):1959-1969.

41. Venus B, Smith R, Patel C, Sandoval E. Hemodynamic and Gas Exchange Alterations during Intralipid Infusion in Patients with Adult Respiratory Distress Syndrome. *Chest*; 1989, 95: 1278-1281.

42. Lekka M, Liokatis S, Nathanail C, Galani V, Nakos G. The Impact of Intravenous Fat Emulsion Administration in Acute Lung Injury. *Am J Respir Crit Care Med*; 2004, 169: 638-644.