

Modèles expérimentaux d'agression pulmonaire aiguë

Experimental Models for Acute Lung Injury

A. Guillon · F. Pène · N. de Prost · pour la commission de la recherche translationnelle de la SRLF

Reçu le 11 juillet 2018 ; accepté le 27 novembre 2018
© SRLF et Lavoisier SAS 2018

Qu'est qu'un modèle ?

Un modèle est un dispositif expérimental qui permet de répliquer les caractéristiques clés d'une condition d'intérêt. C'est souvent une simplification de la réalité qui permet le contrôle des paramètres nécessaires au phénomène étudié. Il devient alors possible de manipuler une variable artificiellement pour mesurer son effet et d'établir une relation de cause à effet. Un modèle ne peut évidemment pas répliquer parfaitement la complexité de la situation clinique que l'on souhaite étudier. Il y a dans chaque modèle un degré de simplification et de facteurs confondants qui sont autant de limites qu'il faut connaître et prendre en compte dans l'interprétation des résultats. La phrase du statisticien Box résume très bien ce concept : « *all models are wrong, but some are useful* » [1]. La recherche expérimentale est dite translationnelle quand précisément les informations obtenues à partir des modèles expérimentaux ont une application clinique (« *bench-to bedside* » pour les Anglo-Saxons). Idéalement, un dialogue bidirectionnel se met en place :

- les observations cliniques nourrissent les nouvelles hypothèses qui seront vérifiées expérimentalement ;

- les résultats expérimentaux font progresser nos connaissances en termes de compréhension physiopathologique ou de développement thérapeutique.

L'agression pulmonaire aiguë est un très bon exemple de cette démarche scientifique. Les ponts créés entre la recherche fondamentale et la recherche clinique ont permis des avancées significatives de nos connaissances, finalement utiles au lit du malade [2,3]. En médecine, les modèles expérimentaux ont un spectre très large ; il existe en effet des modèles *in vitro*, des modèles animaux *ex vivo* ou *in vivo*, des modèles de volontaires sains humains, voire des modèles plus atypiques. Il est indispensable, pour un médecin réanimateur qui souhaite s'intéresser à cette littérature scientifique préclinique, d'avoir quelques notions simples sur les différents modèles expérimentaux et d'en connaître les avantages et limites.

Quels sont les différents types de modèles ?

Modèles d'études cellulaires

Ces modèles simples permettent une analyse fonctionnelle et une étude mécanistique du tête-à-tête entre l'hôte et l'agresseur. Les cultures cellulaires représentent probablement le modèle le plus réductionniste, puisque l'individu est résumé à un type cellulaire. L'intérêt est de s'affranchir de l'environnement complexe du système biologique dans son ensemble pour se focaliser sur un — ou parfois plusieurs — type(s) cellulaire(s) et d'étudier par exemple des voies de signalisation intracellulaire lors d'une infection ou d'une autre forme d'agression aiguë. Si cette démarche peut sembler caricaturale, elle a pourtant permis de nombreuses découvertes. On peut citer par exemple la voie de signalisation PD-L1 qui est en train de révolutionner la prise en charge de plusieurs cancers (et peut être bientôt celle du sepsis [4]) et qui a pourtant été découverte sur une lignée cellulaire de souris [5]. Les cellules sont généralement cultivées en incubateurs dans des conditions contrôlées de température (37 °C), d'humidité et

A. Guillon (✉)
Service de médecine intensive-réanimation,
CHRU de Tours, 2, boulevard Tonnellé,
F-37000 Tours, France
e-mail : antoine.guillon@univ-tours.fr

Inserm, UMR 1100,
Centre d'étude des pathologies respiratoires (CEPR),
faculté de médecine, université de Tours, France

F. Pène
Service de réanimation médicale, hôpital Cochin,
Assistance publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France

N. de Prost
Service de réanimation médicale, hôpital Henri-Mondor,
Assistance publique-Hôpitaux de Paris, Créteil, France

pour la commission de la recherche translationnelle de la SRLF
SFLF, 48 Avenue Claude Vellefaux, F-75010 Paris, France

de teneur en CO₂. En fonction de la nature du type cellulaire étudié, les cellules sont cultivées dans leur milieu nutritif, en suspension (ex. : macrophage) ou sur des surfaces permettant leur adhésion (ex. : cellules épithéliales).

Il existe différents modèles de cultures cellulaires. On distingue principalement les cellules primaires des lignées cellulaires immortalisées (Fig. 1). Les cellules primaires proviennent du tissu pulmonaire après des étapes de dissociation et de sélection. Leur avantage principal est de partir directement du tissu d'intérêt (sain ou malade) et donc de garantir une certaine proximité morphologique et fonctionnelle avec les cellules in situ. Cependant, des phénomènes de sénescence et d'inhibition de contact conduisent ces cellules à dégénérer après un certain nombre de passages. Les lignées cellulaires sont immortalisées de par leur provenance initiale (tissu cancéreux) ou bien par transfection virale et sont de culture plus simple et plus pérenne. L'inconvénient de ces lignées est la translation finale des résultats obtenus sur ces cellules modifiées ou par nature pathologiques. À titre d'exemple, si on souhaite étudier les conséquences d'une agression sur l'épithélium respiratoire, il est possible de travailler sur des modèles de cultures cellulaires primaires à partir de biopsie pulmonaire ou de pièces d'exérèse chirurgicale. Il est également possible d'utiliser des lignées d'épithélium respiratoire, comme par exemple les cellules Beas-2B ou 16HBE14O- (cellules clonées à partir d'épithélium humain bronchique normal et transfectées par adénovirus

12-SV40) ou les cellules A549 (cellules épithéliales alvéolaires humaines issues initialement d'un adénocarcinome) [6]. Enfin, des modèles de culture cellulaire 3D permettent probablement de mieux reproduire la complexité de l'organe [7]. Ainsi, des cellules sont mises en culture en interface air-liquide pour reproduire la fonction de barrière ou sur des surfaces sphéroïdes pour permettre la coculture avec d'autres types cellulaires. Il est également possible de mettre en culture des coupes de tissu pulmonaire. Par exemple, la culture de coupes transversales de bronche permet d'étudier la contractilité en réponse à certaines agressions.

Modèles animaux

Les modèles animaux permettent de reproduire plus fidèlement la complexité biologique, mais au prix d'un fossé anatomique et physiologique avec l'homme. Il convient d'emblée de souligner que l'expérimentation animale est soumise à des contraintes réglementaires et éthiques particulièrement strictes.

Les modèles animaux d'agression pulmonaire aiguë concernent donc uniquement les mammifères et présentent chacun des avantages et des inconvénients (Fig. 2). On peut schématiquement les classer en trois catégories : les petits rongeurs (ex. : souris), les gros rongeurs (ex. : rat, cobaye, lapin) et les gros mammifères (ex. : primate non humain, porc, mouton). La souris est l'animal le mieux connu sur le

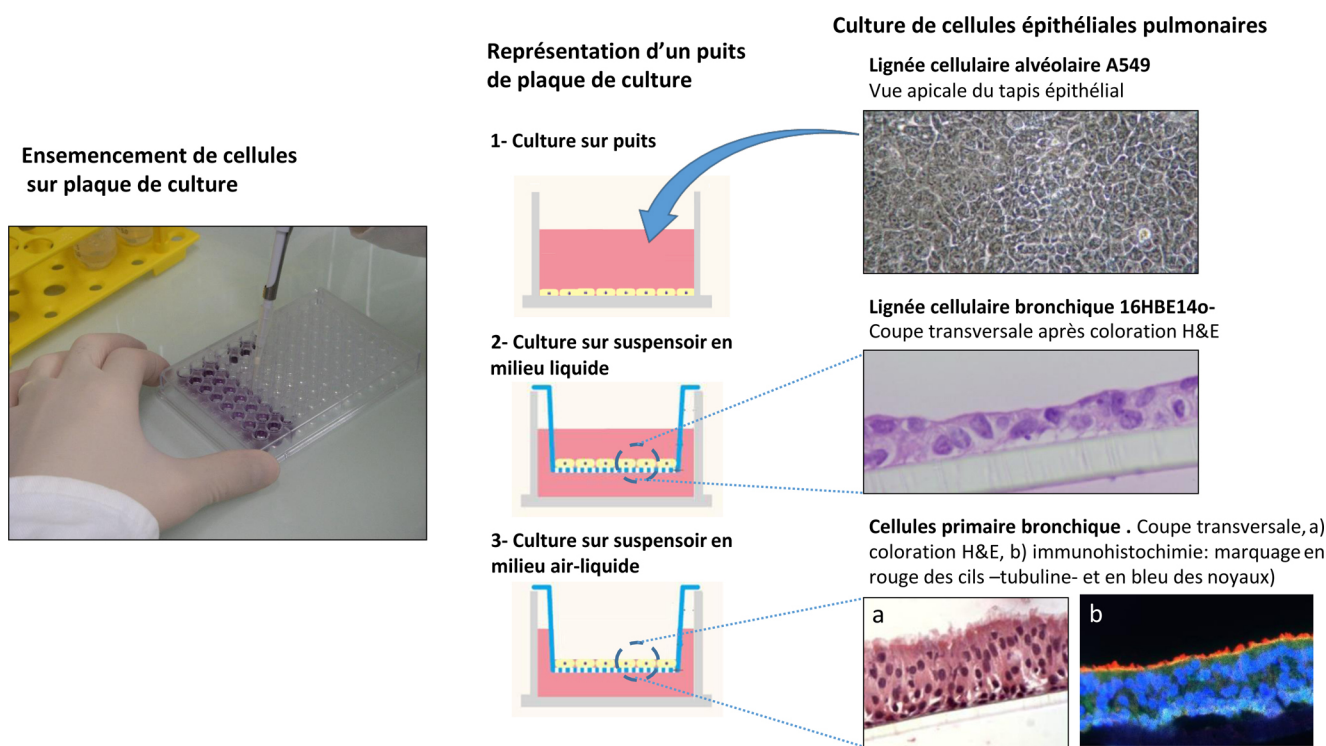


Fig. 1 Différents exemples de cultures de cellules d'épithélium respiratoire

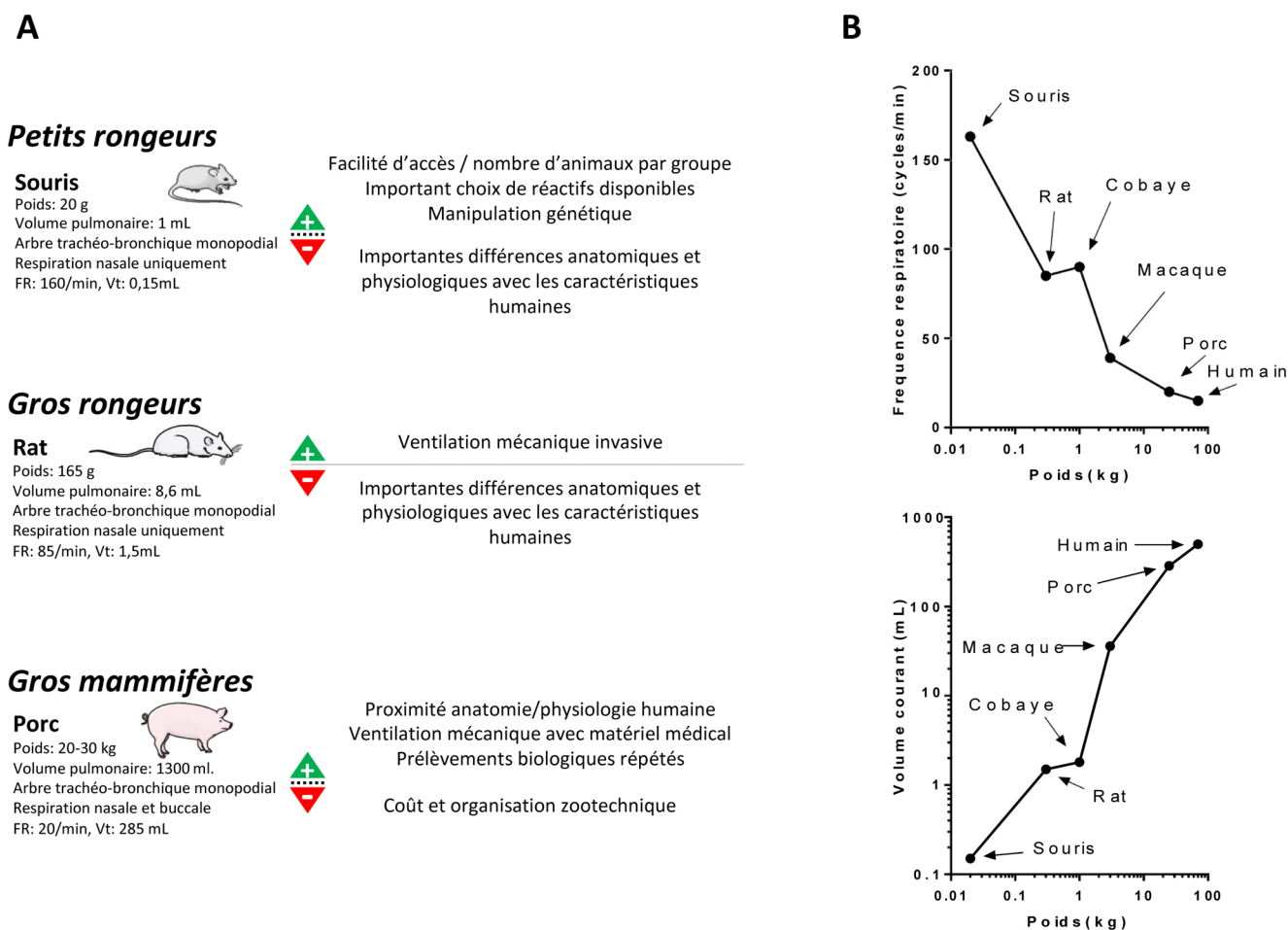


Fig. 2 Principaux modèles animaux d'agression pulmonaire aiguë. A. Synthèse des avantages et limites. B. Illustration des variations des paramètres de physiologie respiratoire en fonction des modèles étudiés. Les valeurs indiquées correspondent aux âges où les animaux sont généralement utilisés

plan de la biologie, notamment depuis que l'intégralité de son génome est devenue accessible en 2002 [8]. Ainsi, il existe une homologie de 90 % des génomes murins et humains. Les modèles murins sont représentés par différentes lignées des souris généralement consanguines sur 20 générations, ce qui permet d'effacer considérablement les variabilités interindividuelles et de rendre les lignées très stables. Les manipulations génétiques permettent de moduler l'expression de protéines d'intérêt par délétion (*knock-out*) ou insertion (*knock-in*) génique et de comparer le phénotype obtenu par rapport à des souris de génotype sauvage (*wild-type*). Il est également possible de rendre l'expression d'un gène fluorescente pour étudier les conditions qui conduisent à son expression. Les modèles murins sont largement utilisés pour investiguer des mécanismes immuno-inflammatoires. Il faut néanmoins garder en mémoire que les réponses à l'agression peuvent être très variables au niveau transcriptomique d'une espèce de souris à l'autre, ce qui rend leur interprétation parfois difficile. Pour notre discipline, les modèles de gros ron-

geurs ont un intérêt tout particulier, car leurs poids intermédiaires permettent la mise en place d'une ventilation artificielle invasive plus aisément que chez la souris pour des raisons techniques évidentes. Ils ont été notamment très utilisés pour établir le concept de lésion pulmonaire induite par la ventilation mécanique ou *ventilator-induced lung injury* [2]. Les plus gros mammifères ont l'avantage de présenter une proximité avec la physiopathologie pulmonaire humaine, mais imposent d'importants moyens financiers et zootechniques. Les modèles primates sont particulièrement pertinents pour la translation vers la médecine respiratoire pédiatrique. Ils sont également extrêmement précieux pour la recherche sur les anticorps thérapeutiques [9,10]. Les gros mammifères présentent l'avantage notable de pouvoir être ventilés avec du matériel et des réglages superposables à ceux utilisés chez l'homme [11-14], et sont ainsi particulièrement adaptés à la modélisation de certaines situations cliniques communes de réanimation, comme le syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) ou la pneumonie acquise sous ventilation

mécanique. La taille de ces animaux permet également aux expérimentations d'avoir une durée de plusieurs jours (ex. : étude de l'effet d'une modalité ventilatoire dans un modèle d'agression pulmonaire aiguë donné), ce qui leur apporte une pertinence clinique évidente.

Les caractéristiques anatomiques du système respiratoire et les paramètres physiologiques diffèrent considérablement parmi les mammifères et doivent être connus et considérés lors de l'exercice de translation chez l'homme [9]. Ces différences sont illustrées dans la figure 2. Par exemple, les petits rongeurs sont incapables de respirer par la bouche et respirent donc uniquement par le nez comme les humains en période néonatale. La taille de la cavité thoracique et celle des poumons varient selon les espèces. Ainsi, le ratio surface respiratoire/poids du corps est de 54 cm²/g chez la souris, 33 cm²/g chez le rat et 7 cm²/g chez l'homme. Le volume courant et la fréquence respiratoire sont généralement corrélés avec les poids des différents modèles animaux (Fig. 2). La forme globale des voies aériennes est également différente. Notre arbre trachéobronchique correspond à un modèle dichotomique de type fractale (chaque branche mère donne naissance à deux branches filles), alors que les rongeurs ont un modèle monopodial (comme une plante, la branche mère progresse et donne naissance à plusieurs branches filles sur tout son long). Les rongeurs n'ont pas de bronchioles respiratoires. La taille et le nombre d'alvéoles pulmonaires augmentent généralement avec la taille du mammifère. Enfin, la lobulation pulmonaire est différente selon les espèces. Citons par exemple l'absence de lobulation pulmonaire gauche chez la souris, ou bien la naissance trachéale du lobe supérieur droit du porc [11]. Les caractéristiques immunitaires comportent également des différences puisque ces différentes espèces (incluant l'homme) se sont adaptées par pression de sélection exercée par des environnements microbiens différents [15]. Ainsi par exemple, les *toll-like receptors* (TLR), qui sont des récepteurs membranaires capables de reconnaître des molécules d'origine microbienne et qui sont extrêmement conservés parmi les espèces, présentent des différences entre l'homme et la souris : 10 TLRs chez l'homme (TLR1-10) et 13 chez la souris (TLR1-9 et TLR11-13) [16].

Modèles alternatifs et perspectifs

Des modèles beaucoup plus complexes de cultures cellulaires ont été créés plus récemment ou sont en développement [17]. Il est maintenant quasiment possible de recréer un organisme humain multicellulaire *in vitro*. La technique du *lung-on-chip* consiste à construire sur une puce une structure tridimensionnelle composée de deux couches de cultures cellulaires (épithéliales et endothéliales) communiquant entre elles par un système de microfluides [18]. La technique des organoïdes consiste à la création *in vitro* de la version sim-

plifiée et miniaturisée d'un organe à partir de cellules souches embryonnaires cultivées en 3D dans des gels permettant de reproduire des phénomènes de morphogenèse [19]. Il est également possible d'étudier le poumon en dehors de l'organisme, ce qui correspond aux techniques dites *ex vivo* [20]. Des modèles de pneumonie sur des poumons humains *ex vivo* ventilés et perfusés ont été décrits [21]. Il n'y a pas donc de réelle limite dans le cadre qui pourrait définir ces modèles expérimentaux de pathologie pulmonaire aiguë. Par exemple, l'hypoxie aiguë a été étudiée chez des volontaires sains pendant l'ascension de l'Everest [22], mais également chez des éléphants de mer lors de plongées profondes dans l'océan Pacifique [23].

Quels sont les différents types d'agressions ?

Les dessins expérimentaux sont extrêmement divers. *In vitro*, il est possible de reproduire des agressions de type infectieux et d'en étudier les conséquences avec différentes échelles d'analyse (expression de gènes ou de peptides/proteïnes [24], modification du fonctionnement cellulaire, etc.). Il est également possible de mimer ces infections en administrant seulement un facteur de virulence microbien [25] ou au contraire un motif antigénique (exemple : pathogène inactivé par la chaleur ou agoniste de TLR [26]) pour décrypter les mécanismes de réponse sans qu'il y ait de destruction cellulaire. Des situations pathologiques peuvent également être recréées, comme l'exposition à la fumée de cigarette [27] ou un environnement hypoxique. L'agression pulmonaire qu'est la ventilation mécanique peut également être mimée *in vitro* notamment par des systèmes d'étirements cycliques appliqués à des cultures cellulaires [28]. Il a d'ailleurs été montré que l'application de ce type de stress mécanique induisait un phénotype pro-inflammatoire aux cellules stimulées ainsi que des conditions plus favorables à la multiplication bactérienne dans le surnageant de ces cellules [28,29]. *In vivo*, les conditions expérimentales d'agression pulmonaire aiguë sont également extrêmement nombreuses, et il n'est pas possible d'en faire une liste exhaustive [30]. Les plus habituelles sont résumées dans le tableau 1.

Conclusion

Aucun des modèles expérimentaux ne permet de reproduire l'intégralité des caractéristiques d'une situation d'agression pulmonaire aiguë humaine, mais chacun a une pertinence particulière pour un aspect limité. L'intégration des forces et faiblesses de ces différents modèles permet d'approfondir notre compréhension de la pathologie humaine de manière complémentaire aux observations cliniques, comme cela a été largement démontré dans notre discipline.

Tableau 1 Modèles d'agression pulmonaire aiguë	
Dénomination	Description
Acide oléique	Administration intraveineuse d'acide oléique induisant des embolies lipidiques pulmonaires et des lésions épithéliales
Bléomycine	Administration de bléomycine induisant une inflammation pulmonaire et des lésions de fibroses secondairement réversibles
Hyperoxie	Exposition à des conditions d'hyperoxie induisant des lésions épithéliales
Instillation d'acide	Administration de liquide acide induisant des lésions épithéliales et une rupture de la barrière alvéolocapillaire
Ischémie/perfusion pulmonaire	Ligature vasculaire augmentant la perméabilité de la vascularisation pulmonaire et induisant une réponse inflammatoire pulmonaire
Lavage alvéolaire	Déplétion du surfactant par lavage alvéolaire altérant la compliance pulmonaire et les échanges gazeux
LPS	Administration intrapulmonaire de LPS induisant la production de cytokines pro-inflammatoires et un recrutement pulmonaire de neutrophiles
Ovalbumine	Administration intrapéritonéale d'ovalbumine permettant une sensibilisation, puis inhalation secondaire d'ovalbumine induisant une hyperréactivité bronchique et une réponse cytokinique de type Th2
Pneumonie infectieuse	Administration par voie intranasale ou intratrachéale d'agents pathogènes induisant une réponse inflammatoire variable en fonction du pathogène utilisé
Sepsis extrapulmonaire	Administration systémique (intraveineuse ou intrapéritonéale) d'agent pathogène, ou bien induction d'une péritonite polymicrobienne par ligature et ponction caecale induisant une réponse inflammatoire pulmonaire
Ventilation mécanique	Réglages ventilatoires induisant des lésions alvéolaires et une inflammation pulmonaire

Remerciements Nous souhaitons remercier Christelle Coraux qui nous a généreusement fourni certaines des iconographies utiles à la construction de la figure 1

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt.

Références

- Box GEP, (1979) Robustness in the Strategy of Scientific Model Building. In: Launer RL, Wilkinson GN (eds) Robustness in statistics. Academic Press, pp 201–236
- Laffey JG, Kavanagh BP, (2017) Fifty years of research in ARDS. Insight into acute respiratory distress syndrome. From models to patients. *Am J Respir Crit Care Med* 196: 18–28
- Tremblay LN, Slutsky AS, (2006) Ventilator-induced lung injury: from the bench to the bedside. *Intensive Care Med* 32: 24–33
- Patil NK, Guo Y, Luan L, Sherwood ER, (2017) Targeting immune cell checkpoints during sepsis. *Int J Mol Sci* 18. pii: E2413. doi: 10.3390/ijms18112413
- Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honjo T, (1992) Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J* 11: 3887–3895
- Forbes B, Ehrhardt C, (2005) Human respiratory epithelial cell culture for drug delivery applications. *Eur J Pharm Biopharm* 60: 193–205
- Zscheppang K, Berg J, Hedtrich S, Verheyen L, Wagner DE, Sutorp N, Hippenstiel S, Hocke AC, (2018) Human pulmonary 3D models for translational research. *Biotechnol J* 13. doi: 10.1002/biot.201700341. Epub 2017 Sep 20
- Mouse Genome Sequencing Consortium; Waterston RH, Lindblad-Toh K, Birney E, Rogers J, Abril JF, Agarwal P, Agarwala R, Ainscough R, Alexandersson M, An P, Antonarakis SE, Attwood J, Baertsch R, Bailey J, Barlow K, Beck S, Berry E, Birren B, Bloom T, Bork P, Botcherby M, Bray N, Brent MR, Brown DG, Brown SD, Bult C, Burton J, Butler J, Campbell RD, Carninci P, Cawley S, Chiaromonte F, Chinwalla AT, Church DM, Clamp M, Clee C, Collins FS, Cook LL, Copley RR, Coulson A, Couronne O, Cuff J, Curwen V, Cutts T, Daly M, David R, Davies J, Delehaunty KD, Deri J, Dermitzakis ET, Dewey C, Dickens NJ, Diekhans M, Dodge S, Dubchak I, Dunn DM, Eddy SR, Elnitski L, Emes RD, Esvara P, Eyras E, Felsenfeld A, Fewell GA, Flicek P, Foley K, Frankel WN, Fulton LA, Fulton RS, Furey TS, Gage D, Gibbs RA, Glusman G, Gnerre S, Goldman N, Goodstadt L, Grafham D, Graves TA, Green ED, Gregory S, Guigó R, Guyer M, Hardison RC, Haussler D, Hayashizaki Y, Hillier LW, Hinrichs A, Hlavina W, Holzer T, Hsu F, Hua A, Hubbard T, Hunt A, Jackson I, Jaffe DB, Johnson LS, Jones M, Jones TA, Joy A, Kamal M, Karlsson EK, Karolchik D, Kasprzyk A, Kawai J, Keibler E, Kells C, Kent WJ, Kirby A, Kolbe DL, Korf I, Kucherlapati RS, Kulbokas EJ, Kulp D, Landers T, Leger JP, Leonard S, Letunic I, Levine R, Li J, Li M, Lloyd C, Lucas S, Ma B, Maglott DR, Mardis ER, Matthews L, Mauceli E, Mayer JH, McCarthy M, McCombie WR, McLaren S, McLay K, McPherson JD, Meldrim J, Meredith B, Mesirov JP, Miller W, Miner TL, Mongin E, Montgomery KT, Morgan M, Mott R, Mullikin JC, Muzny DM, Nash WE, Nelson JO,

- Nhan MN, Nicol R, Ning Z, Nusbaum C, O'Connor MJ, Okazaki Y, Oliver K, Overton-Larty E, Pachter L, Parra G, Pepin KH, Peterson J, Pevzner P, Plumb R, Pohl CS, Poliakov A, Ponce TC, Ponting CP, Potter S, Quail M, Reymond A, Roe BA, Roskin KM, Rubin EM, Rust AG, Santos R, Sapojnikov V, Schultz B, Schultz J, Schwartz MS, Schwartz S, Scott C, Seaman S, Searle S, Sharpe T, Sheridan A, Shownkeen R, Sims S, Singer JB, Slater G, Smit A, Smith DR, Spencer B, Stabenau A, Stange-Thomann N, Sugnet C, Suyama M, Tesler G, Thompson J, Torrents D, Trevaskis E, Tromp J, Ucla C, Ureta-Vidal A, Vinson JP, Von Niederhausen AC, Wade CM, Wall M, Weber RJ, Weiss RB, Wendl MC, West AP, Wetterstrand K, Wheeler R, Whelan S, Wierzbowski J, Willey D, Williams S, Wilson RK, Winter E, Worley KC, Wyman D, Yang S, Yang SP, Zdobnov EM, Zody MC, Lander ES, (2002) Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature* 420: 520–562
9. Guillon A, Sécher T, Dailey LA, Vecellio L, Monte M de, Si-Tahar M, Diot P, Page CP, Heuzé-Vourc'h N, (2018) Insights on animal models to investigate inhalation therapy: Relevance for biotherapeutics. *Int J Pharm* 536: 116–126
 10. Guillemainault L, Azzopardi N, Arnoult C, Sobilo J, Hervé V, Montharu J, Guillon A, Andres C, Herault O, Le Pape A, Diot P, Lemarié E, Paintaud G, Gouilleux-Gruart V, Heuzé-Vourc'h N, (2014) Fate of inhaled monoclonal antibodies after the deposition of aerosolized particles in the respiratory system. *J Control Release* 196: 344–354
 11. Mankikian J, Ehrmann S, Guillemainault L, Le Fol T, Barc C, Ferrandière M, Boulain T, Dequin PF, Guillon A, (2014) An evaluation of a new single-use flexible bronchoscope with a large suction channel: reliability of bronchoalveolar lavage in ventilated piglets and initial clinical experience. *Anaesthesia* 69: 701–706
 12. Guillon A, Mercier E, Lanotte P, Haguenoer E, Darrouzain F, Barc C, Sarradin P, Si-Tahar M, Heuzé-Vourc'h N, Diot P, Vecellio L, (2015) Aerosol route to administer teicoplanin in mechanical ventilation: In vitro study, lung deposition and pharmacokinetic analyses in pigs. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv* 28: 290–298
 13. Guillon A, Vecellio L, Monte M de, (2016) Pulmonary delivery of dry powders during invasive mechanical ventilation: innovations are required. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv* 29: 215–216
 14. Guillon A, Montharu J, Cormier B, Vecellio L, Diot P, Monte M de, (2011) New insights into the pathophysiology of aspiration pneumonia. *Br J Anaesth* 106: 608–609
 15. Ernst PB, Carvunis AR, (2018) Of mice, men and immunity: a case for evolutionary systems biology. *Nat Immunol* 19: 421–425
 16. Kawai T, Akira S, (2011) Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity* 34: 637–650
 17. Zscheppang K, Berg J, Hedtrich S, Verheyen L, Wagner DE, Suttorp N, Hippenstiel S, Hocke AC, (2018) Human pulmonary 3D models for translational research. *Biotechnol J* 13. doi: 10.1002/biot.201700341. Epub 2017 Sep 20
 18. Huh D, Matthews BD, Mammoto A, Montoya-Zavala M, Hsin HY, Ingber DE, (2010) Reconstituting organ-level lung functions on a chip. *Science* 328: 1662–1668
 19. Lee J-H, Bhang DH, Beede A, Huang TL, Stripp BR, Bloch KD, Wagers AJ, Tseng YH, Ryeom S, Kim CF, (2014) Lung stem cell differentiation in mice directed by endothelial cells via a BMP4-NFATc1-thrombospondin-1 axis. *Cell* 156: 440–455
 20. Hocke AC, Suttorp N, Hippenstiel S, (2017) Human lung ex vivo infection models. *Cell Tissue Res* 367: 511–524
 21. Lee JW, Krasnodembskaya A, McKenna DH, Song Y, Abbott J, Matthay MA, (2013) Therapeutic effects of human mesenchymal stem cells in ex vivo human lungs injured with live bacteria. *Am J Respir Crit Care Med* 187: 751–760
 22. Grocott MPW, Martin DS, Levett DZH, McMorrow R, Windsor J, Montgomery HE, Caudwell Xtreme Everest Research Group, (2009) Arterial blood gases and oxygen content in climbers on Mount Everest. *N Engl J Med* 360: 140–149
 23. Meir JU, Champagne CD, Costa DP, Williams CL, Ponganis PJ, (2009) Extreme hypoxic tolerance and blood oxygen depletion in diving elephant seals. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 297: R927–R939
 24. Baranek T, Morello E, Valayer A, Aïmar RF, Bréa D, Henry C, Besnard AG, Dalloneau E, Guillon A, Dequin PF, Nami-Mancinelli E, Vivier E, Laurent F, Wei Y, Paget C, Si-Tahar M, (2017) FHL2 Regulates natural killer cell development and activation during *Streptococcus pneumoniae* infection. *Front Immunol* 8: 123
 25. Guillon A, Brea D, Morello E, Tang A, Jouan Y, Ramphal R, Korkmaz B, Perez-Cruz M, Trottein F, O'Callaghan RJ, Gosset P, Si-Tahar M, (2017) *Pseudomonas aeruginosa* proteolytically alters the interleukin 22-dependent lung mucosal defense. *Virulence* 8: 810–820
 26. Guillon A, Jouan Y, Brea D, Gueugnon F, Dalloneau E, Baranek T, Henry C, Morello E, Renaud JC, Pichavant M, Gosset P, Courty Y, Diot P, Si-Tahar M, (2015) Neutrophil proteases alter the interleukin-22-receptor-dependent lung antimicrobial defence. *Eur Respir J* 46: 771–782
 27. Gueugnon F, Thibault VC, Kearley J, Petit-Courty A, Vallet A, Guillon A, Si-Tahar M, Humbles AA, Courty Y, (2016) Altered expression of the CCN genes in the lungs of mice in response to cigarette smoke exposure and viral and bacterial infections. *Gene* 586: 176–183
 28. Pugin J, Dunn-Siegrist I, Dufour J, Tissières P, Charles PE, Comte R, (2008) Cyclic stretch of human lung cells induces an acidification and promotes bacterial growth. *Am J Respir Cell Mol Biol* 38: 362–370
 29. Charles PE, Tissières P, Barbar SD, Croisier D, Dufour J, Dunn-Siegrist I, Chavanet P, Pugin J, (2011) Mild-stretch mechanical ventilation upregulates toll-like receptor 2 and sensitizes the lung to bacterial lipopeptide. *Crit Care Lond Engl* 15: R181
 30. Matute-Bello G, Frevert CW, Martin TR, (2008) Animal models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 295: L379–L399