

Potenziale ruolo delle membrane adsorbitive TORAY in pazienti con CKD, AKI o MOF affetti da COVID-19

Immunoprotezione | Immunomodulazione | Adsorbimento



I dati ad oggi disponibili in merito ai pazienti ospedalizzati a seguito di positività a SARS-CoV-2, mostrano come alcune comorbidità come il diabete mellito, l'ipertensione, le malattie cardiovascolari ed un'età avanzata rappresentino fattori di rischio di un decorso più grave e necessità di ricovero in terapia intensiva.

Il paziente uremico, acuto o cronico, che necessita di trattamento emodialitico è di per sé un paziente fragile affetto da un quadro di immunodeficienza-compromissione che potenzialmente va ad aggiungere un ulteriore fattore di rischio nel momento di avvenuta infezione a SARS-CoV-2.

È del tutto razionale andare a considerare una strategia emodialitica che al contempo risulti efficace sia come trattamento di supporto renale sia come attività di immunoprotezione e immunomodulazione attraverso la rimozione di mediatori dell'infiammazione generati dalle cellule immunitarie che diventano determinanti nell'avanzamento di patologie quali gravi forme di Acute Respiratory Failure (ARF), date da sviluppo di Polmoniti Interstiziali e/o Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS), come nel caso del paziente COVID-19.

I dispositivi per emodialisi con **membrana in PMMA**, sia per dialisi intermittente sia per continua, sono riconosciuti per la loro unica biocompatibilità data in primis dalla non-attivazione del sistema del complemento durante il contatto tra compartimento ematico e materiale artificiale. Inoltre, la capacità di adsorbimento, in aggiunta ai meccanismi di diffusione e convezione, permette la rimozione di molecole a medio-alto peso molecolare, non rimuovibili per filtrazione, tra cui mediatori dell'infiammazione IL-6, IL-8 e HMGB-1 particolarmente elevati nei processi di sviluppo di insufficienza respiratoria acuta grave (ARF).

Nei pazienti che abbiano sviluppato un'insufficienza multiorgano grave, ricoverati in terapia intensiva, e che non risultino responsivi, un'ulteriore proposta di trattamento extracorporeo basato sull'**adsorbimento** può essere quella di **Polymyxin B Hemoperfusion**. L'azione nota di Polymyxin B Hemoperfusion è quella di neutralizzare l'endotossina circolante e legata ai monociti; in merito a questo i primi dati in letteratura mostrano la possibilità di una sintomatologia enterica nei pazienti affetti da COVID-19, così come sono sempre più descritte le interazioni 'gut-lung' dovute alle trasmigrazioni batteriche e/o loro componenti per intercorsa variazione della membrana intestinale. In aggiunta, Polymyxin B Hemoperfusion potrebbe risultare un ulteriore importante ausilio nella gestione di pazienti affetti da ARF e/o ARDS positivi a COVID-19 grazie alle capacità di adsorbimento diretto di cellule attivate (monociti, neutrofilii, linfociti) e di conseguente riduzione di mediatori dell'infiammazione quali IL-6, HMGB-1, PAI-1 ed altri.

Immunoprotezione

**Extracorporeal
organ support**

Immunomodulazione

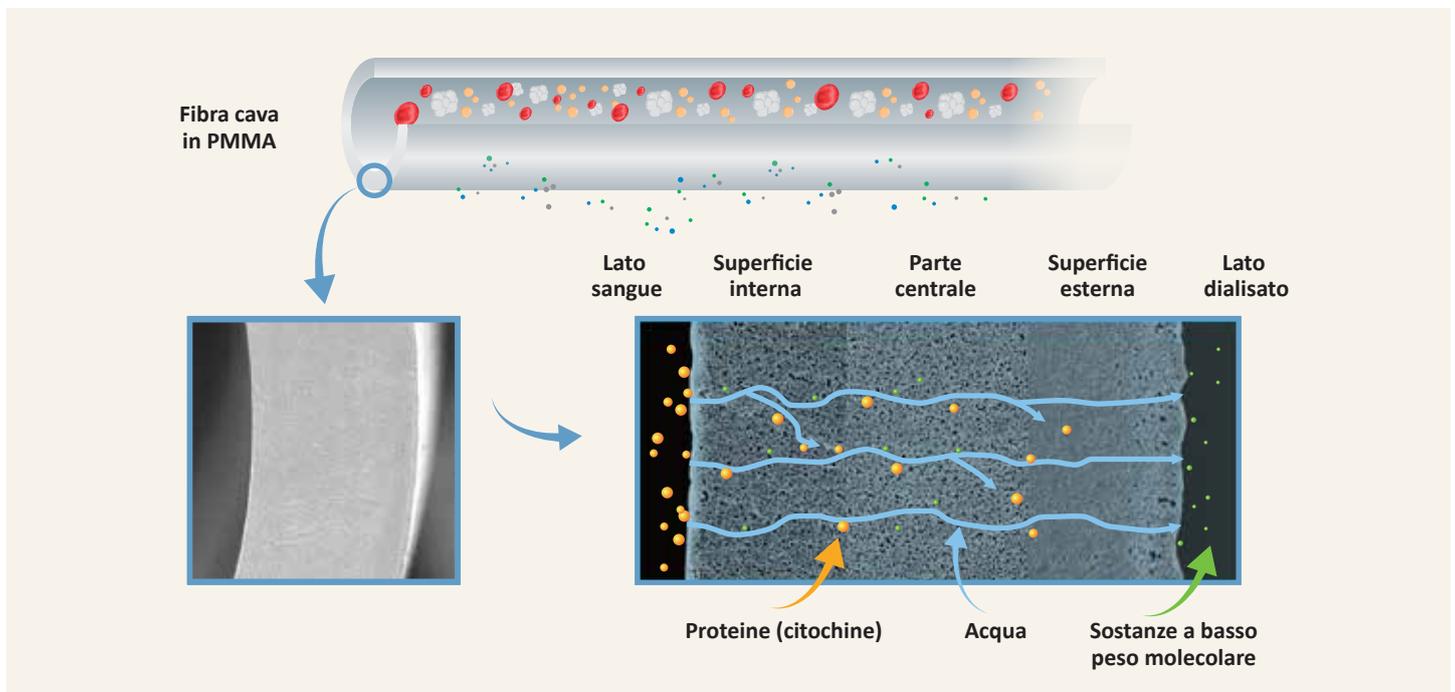


Figura 1. La membrana in PMMA ha una struttura simmetrica e la misura dei pori è progettata per ottimizzare l'adsorbimento delle citochine oltre a offrire la migliore sostituzione renale.

Il PMMA - un materiale unico

I dializzatori a fibre cave in polimetilmetacrilato (PMMA) sono da sempre riconosciuti come i dispositivi più eme e biocompatibili per la proposta di trattamento sostitutivo renale intermittente in un paziente CKD-HD.

Un primo aspetto dell'emocompatibilità unica delle membrane in PMMA si basa sulla intrinseca struttura chimica; l'assenza di gruppi idrossilici comporta la non-stimolazione del sistema del complemento, la cui attivazione data dal contatto tra compartimento ematico e materiale artificiale come sempre avviene considerando i materiali per membrane dialitiche più comuni e diffusi, comporta sia disequilibrio immunitario sia iperattivazione della risposta infiammatoria e coagulativa, comorbidità che da short term diventano in molti casi long term [1].

Biocompatibilità unica

Diversi studi hanno mostrato che la membrana PMMA ha un'ottima biocompatibilità [2, 3], migliora i parametri nutrizionali [4] e aiuta ad abbassare il livello delle varie tossine uremiche che portano alle complicanze tipiche per il paziente uremico.

Recenti pubblicazioni mostrano come un'attivazione intra-dialitica del complemento già dopo 30 minuti dall'inizio della sessione dialitica sia correlata ad un maggior numero di eventi cardiovascolari sfavorevoli nei pazienti HD; questi eventi erano associati all'utilizzo di membrane in polisulfone [5].

Già diversi anni fa, vi erano evidenze della capacità di

PMMA di limitare la risposta infiammatoria acuta con conseguente rilascio di mediatori dell'infiammazione nei pazienti HD da stimolo di contatto con materiale artificiale e compartimento ematico, tipicamente in termini di attivazione di IL-6, IL-8 e HMGB-1 [6, 7, 8].

Altra caratteristica fondamentale delle membrane in PMMA è quella di essere completamente simmetrica tridimensionalmente e priva di polivinilpirrolidone (PVP); a differenza del Polisulfone (PS) e suoi derivati, PMMA non necessita di PVP per avere proprietà di idrofilità.

Invece nelle membrane in PS e PES, il *layer* del capillare che viene a contatto con il compartimento ematico è proprio quello costituito da PVP, copolimero necessario per costituire caratteristiche di idrofilità a PS/PES scarsamente biocompatibile, soprattutto se non vi sono procedimenti di fissaggio stabile di questo copolimero durante il processo produttivo, con rischio di eluizione nel compartimento ematico.

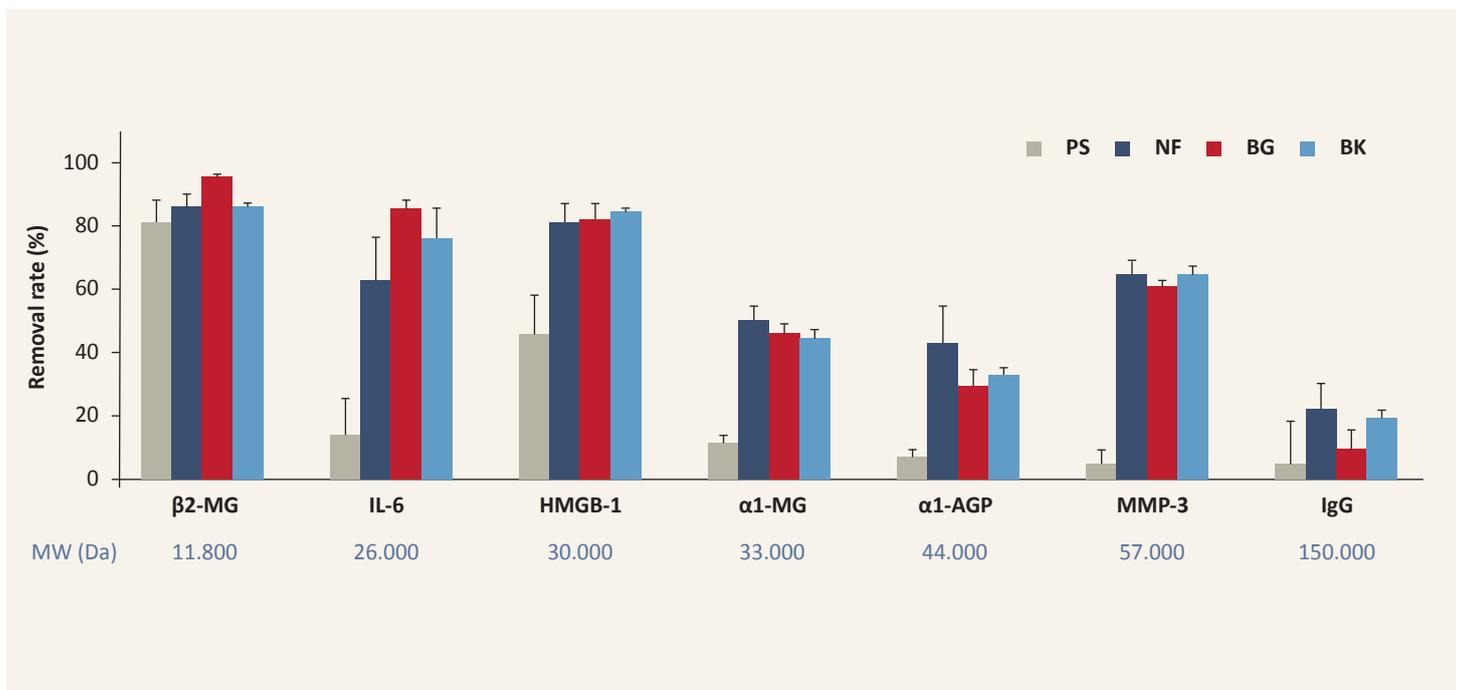


Figura 2. L'esperimento è stato condotto utilizzando un mini modulo in condizioni di emofiltrazione aggiungendo fluido di sostituzione. Il plasma umano è stato fatto circolare per 4 ore. Dati interni.

Capacità adsorbitiva

A differenza delle classiche membrane dialitiche che sfruttano i fenomeni di diffusione e convezione come meccanismi di depurazione, PMMA ha inoltre un'attività adsorbente; questo terzo meccanismo di azione consente la rimozione di molecole non filtrabili dato il loro alto peso molecolare (HMW > 55 kDa) e tipicamente tossine uremiche ad alto peso molecolare anche legate a proteine (PBUT).

La sua completa simmetria tridimensionale ottimizza al meglio le capacità di adsorbimento e di rimozione dei soluti sull'intero spessore di membrana (20-30 μ m)

Questa caratteristica strutturale massimizza le performance di rimozione diffusive-convettive e adsorbitive poiché tutto lo spessore della membrana interagisce attivamente con i soluti da rimuovere, intrappolandoli per via meccanica o in determinati casi anche con l'ausilio di interazioni elettrostatiche determinate dalla presenza di carica leggermente anionica sulla parete del singolo capillare, come nel caso della serie BG.

Tra le molecole di interesse dal punto di vista clinico difficilmente filtrabili, la letteratura recente ha mostrato le ampie proprietà da parte di PMMA nell'agire grazie all'adsorbimento sul complesso CD40/CD40L [9, 10] così come l'azione specifica per alcune molecole coinvolte nel processo infiammatorio in essere, tipicamente citochine pro-infiammatorie e altri mediatori dell'infiammazione.

Vi è più di un'evidenza della capacità delle **serie BG-U e BK-F**, nell'andare ad adsorbire in modo efficace alcuni fattori infiammatori di interesse tra cui le citochine, in particolar modo **IL-6, IL-8, TNF- α** e **HMGB-1** [7, 8, 11].

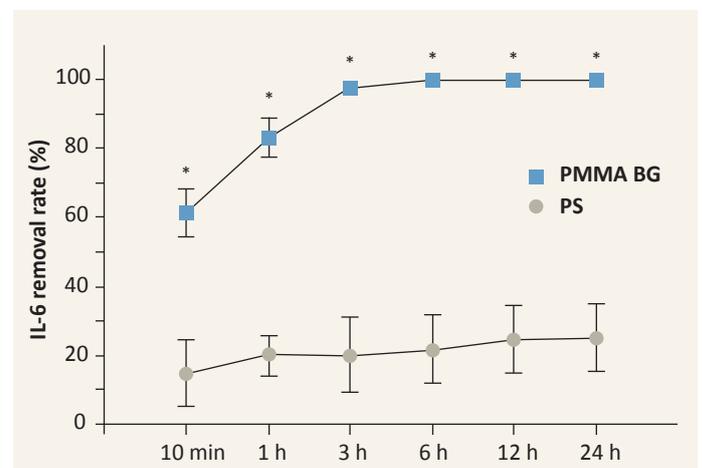


Figura 3. Variazioni nel tempo della quantità di rimozione di IL-6 per ciascun emofiltro. Confronto ad ogni tempo di misurazione: *p < 0.05, PMMA BG vs. PS. I valori sono espressi come media \pm SD (n=6) [12].

Le serie PMMA Filtryzer®

BK-F è una serie di PMMA, caratterizzata per essere priva di carica anionica sulla superficie e per avere una dimensione di poro ultra-larga (pori fino a 100 Angstrom) e può essere utilizzata in **modalità BHD**. Nella famiglia dei Protein Leaking Dialyser si è contraddistinta nel tempo per la rimozione di molecole con elevato peso molecolare di interesse clinico anche con azione immuno-modulante senza tuttavia condurre a perdita significativa di albumina nel paziente nell'arco della seduta dialitica.

BG-U è una serie di PMMA caratterizzata per avere una carica superficiale leggermente anionica e per avere una dimensione di poro di 70 Angstrom uniformemente distribuita; questo consente a tale serie di essere utilizzata in **modalità BHD** e **aHDF** (Adsorption Hemodiafiltration), con buone doti di scambio fino a 4L/ora in regime di post-diluizione.

In questi termini, oltre alle capacità uniche di Adsorbimento, si massimizzano le rimozioni delle medie molecole attraverso il meccanismo della convezione.

NF-H è la serie più recente, con leggera carica anionica sulla superficie e che ha una dimensione di poro di 80 Angstrom. Questa serie può essere usata in **modalità BHD** e si caratterizza per le ulteriori capacità del materiale di non stimolare il sistema del complemento così come di inibire attivazione piastrinica ed endoteliale, prefigurandosi così come membrana ideale per il paziente candidato al trapianto in corso di emodialisi così come nelle fasi post-trapianto in cui vi è presenza di *delayed graft function* (DGF), complicanza che, come ben noto, è determinata da ischemia-riperfusion e in cui il sistema del complemento e la cascata coagulativa rappresentano due fattori scatenanti di questo danno.

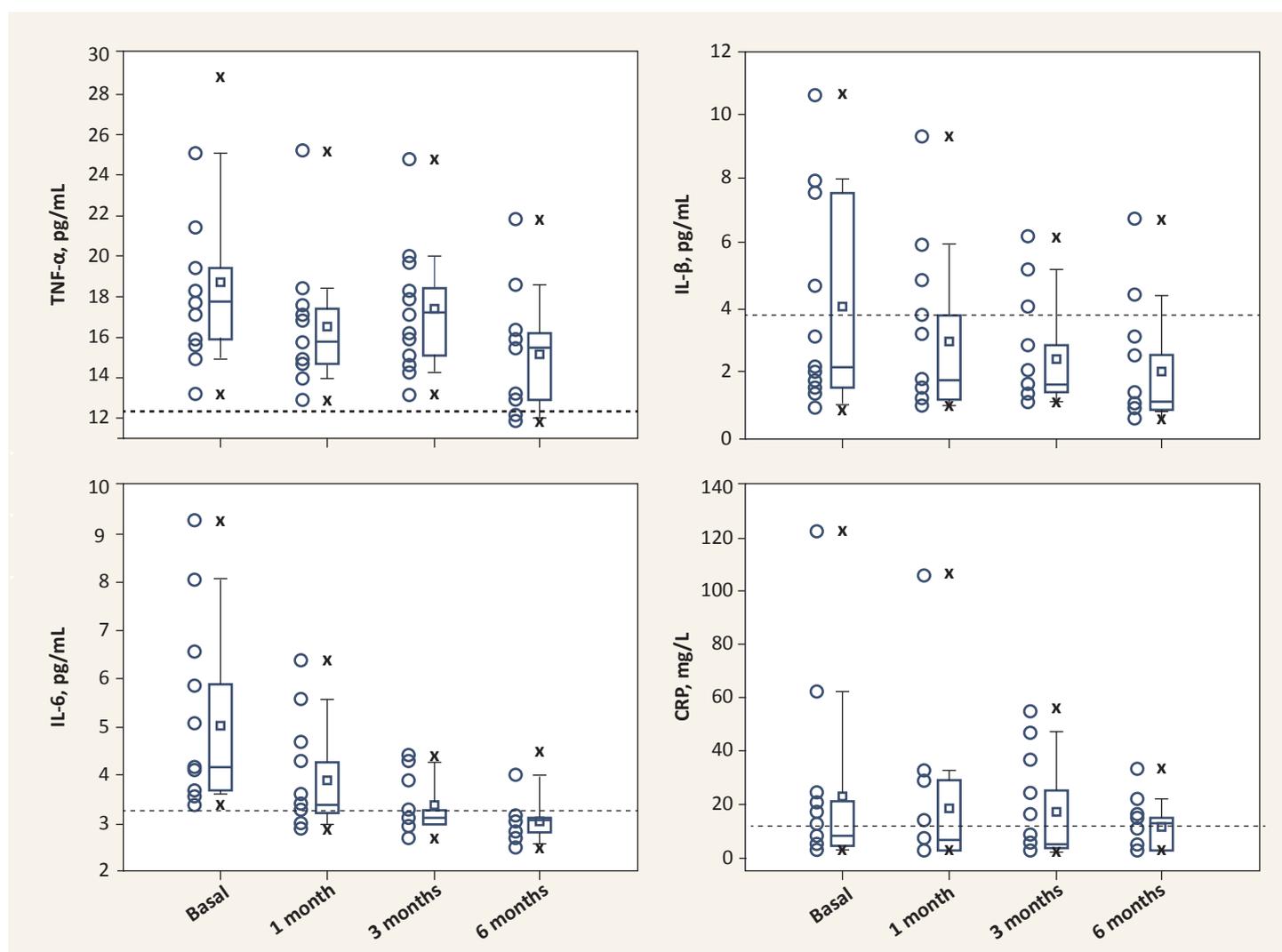


Figura 4. Livelli plasmatici di TNF- α (in alto a sinistra), IL-1 β (in alto a destra), IL-6 (in basso a sinistra) e PCR (in basso a destra) in pazienti in trattamento con membrana PMMA. Le linee tratteggiate orizzontali rappresentano i valori medi + 1 SD dei livelli osservati nel gruppo di controllo sano. Vengono mostrati i singoli dati e il diagramma a riquadro per ciascun parametro misurato al basale e dopo 1, 3 e 6 mesi di trattamento. Nel simbolo quadrato del diagramma a riquadro, la linea orizzontale nella casella, i limiti superiore e inferiore della casella, e i due asterischi rappresentano rispettivamente i limiti di confidenza mediana, media, dal 25% al 75% e l'intervallo. Le linee tratteggiate orizzontali nei pannelli mostrano i valori di controllo salutare medi della concentrazione delle proteine sieriche [11].

Paziente CKD/AKI richiedente terapia sostitutiva renale intermittente

Pertanto, nello scenario del paziente uremico cronico (CKD-HD) e acuto (AKI) che necessita di trattamento sostitutivo renale intermittente in cui è presente o si sospetta l'ingenerarsi di un processo infiammatorio e conseguente sindrome da rilascio citochinico, **PMMA** può rappresentare una scelta terapeutica specifica e un trattamento emodialitico ideale.

Infatti, le caratteristiche uniche del materiale determinano:

1. **NON-attivazione intra-dialitica del sistema del complemento**
2. **NON-stimolazione della produzione di fattori pro-infiammatori (citochine e altri mediatori) dati dal contatto tra compartimento ematico e materiale artificiale.**
3. **RIMOZIONE significativa di mediatori dell'infiammazione presenti in circolo come IL-6, IL-8, TNF- α e HMGB-1.**
4. **RIMOZIONE significativa di molecole coinvolte nei processi immunologici/infiammatori e associati a rischio ed eventi cardiovascolari come il complesso sCD40/sCD40L.**

A

Pazienti con CKD in emodialisi e affetti da COVID-19

TERAPIA DIALITICA

In pazienti sottoposti ad emodiafiltrazione (HDF) la proposta di utilizzo di **adsorption hemodiafiltration (aHDF)** attraverso membrana con **PMMA serie BG-U** potrebbe risultare una valida proposta in questo specifico paziente.

In pazienti sottoposti a Bicarbonato Dialisi (BHD), la proposta di utilizzo di **PMMA serie BG-U** o **BK-F** potrebbe risultare valida e specifica in termini di rimozione di molecole a medio alto peso molecolare inclusi i mediatori dell'infiammazione e di ulteriore protezione del paziente non attivando ulteriore risposta infiammatoria e immuno-compromissione del paziente.

B

Pazienti con AKI e affetti da COVID-19 richiedente terapia sostitutiva renale intermittente

TERAPIA DIALITICA

Per pazienti affetti da AKI che necessitano emodialisi intermittente l'utilizzo del filtro in **PMMA serie BG-U** in modalità HD o HDF, o della **serie BK-F** in modalità HD potrebbe risultare valida e specifica in termini di rimozione di molecole a medio alto peso molecolare inclusi i mediatori dell'infiammazione e di ulteriore protezione del paziente non attivando ulteriore risposta infiammatoria e immuno-compromissione del paziente. In aggiunta l'associazione della massima emocompatibilità su un paziente che richiede per la prima volta trattamento sostitutivo potrebbe risultare determinante.

Paziente con AKI richiedente terapia di sostituzione renale continua

C

Pazienti COVID-19 con Acute Kidney Injury (AKI) richiedente terapia sostitutiva renale continua (CRRT)

In pazienti in cui la condizione clinica peggiora e che sviluppano un quadro di AKI stadio 3 che necessita di trattamento sostitutivo renale continuo con o senza terapia a base di Tocilizumab, il trattamento di Continuous Renal Replacement attraverso membrana **PMMA HEMOFEEL** contribuisce in modo significativo come dimostrato da più lavori in letteratura alla rimozione di mediatori dell'infiammazione quali IL-6, IL8, IL-10, HMGB-1 [13, 14] e ulteriori mediatori e pertanto potrebbe risultare altamente specifico e indicato in questa tipologia di pazienti, che comunque necessitano di trattamento sostitutivo renale.

Paziente COVID-19 richiedente extracorporeal organ support

D

Pazienti COVID-19 richiedente Extracorporeal Organ Support per non-responsività al trattamento

In pazienti in cui la condizione clinica peggiora e che sviluppano un quadro di grave insufficienza respiratoria e/o ARDS che abbiano ricevuto o meno il trattamento con Tocilizumab e che risultano non-responsivi, un ulteriore supporto extracorporeo quale **Polymyxin B Hemoperfusion** potrebbe essere considerato.

L'azione molto nota di **Polymyxin B Hemoperfusion** è quella di potente neutralizzazione di endotossina circolante e legata ai monociti; in merito a questo i primi dati in letteratura mostrano la possibilità di una sintomatologia enterica nei pazienti affetti da COVID-19, così come sono sempre più descritte le interazioni 'gut-lung' dovute alle trasmigrazioni batteriche e/o loro componenti per intercorsa variazione della membrana intestinale.

In aggiunta a questo, **Polymyxin B Hemoperfusion** potrebbe risultare un ulteriore importante ausilio nella gestione di pazienti affetti da ARF grave positivi a COVID-19 grazie alle capacità di adsorbimento diretto di cellule attivate (monociti, neutrofilo, linfociti) [15] e di conseguente riduzione di mediatori dell'infiammazione quali IL-6, HMGB1, PAI-1 ed altri [16].

In particolare, il ruolo dei neutrofilo nelle ARDS è determinante; durante la marginazione (adesione degli stessi alla parete del vaso sanguigno) dal capillare polmonare nel parenchima e poi a seguire nell'interstizio, i neutrofilo si attivano (priming), generando così il rilascio di tutta una serie di mediatori dell'infiammazione tra cui citochine, proteasi, specie reattive dell'ossigeno e mediatori lipidici.

Sono descritte in letteratura le azioni di **Polymyxin B Hemoperfusion (PMX-HP)** nella rimozione di neutrofilo attivati. Diverse esperienze cliniche ad oggi sono descritte in letteratura in merito all'utilizzo di PMX-HP in pazienti con quadri complicati di insufficienza respiratoria grave causata da influenza virale (H1N1/H5N1).

HEMOFEEL - PMMA per CRRT

HEMOFEEL™ è la nuova membrana per il supporto renale continuo in PMMA. Questa serie è caratterizzata per essere priva di carica anionica sulla superficie e ha una dimensione di poro di circa 70 Angstrom.

La prima fondamentale specifica di una membrana ideata per **blood purification therapy** è quella di garantire la massima emocompatibilità, tale da indurre la minore attivazione della risposta infiammatoria dell'ospite. In caso di AKI, la risposta infiammatoria generata dal contatto del compartimento ematico con il materiale artificiale può condurre a instabilità emodinamica, immuno-disregolazione e ritardo nel recupero della funzionalità renale.

•Immunoprotezione

•Immunomodulazione:

Adsorbimento di citochine e altri mediatori specifici dell'infiammazione:

IL-1 β – IL-6 – IL-8 – TNF α – HMGB-1

↳ **Inibizione del complemento attivato**

•Supporto renale innovativo

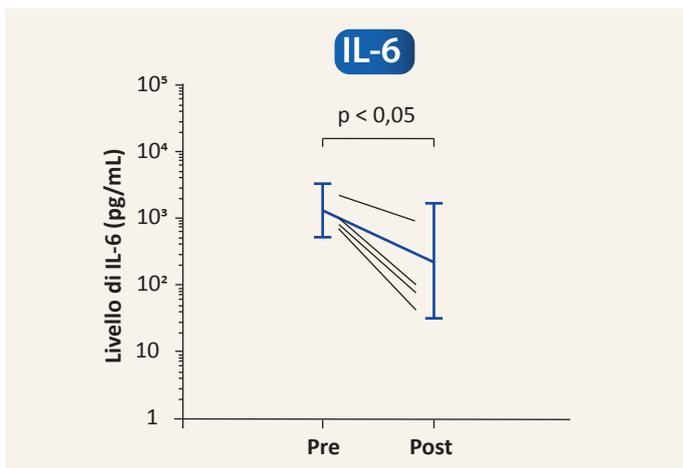


Figura 5. I livelli serici di IL-6 dopo tre giorni di trattamento con Hemofeel™ in 4 pazienti. I dati sono espressi come la media \pm SD [13].

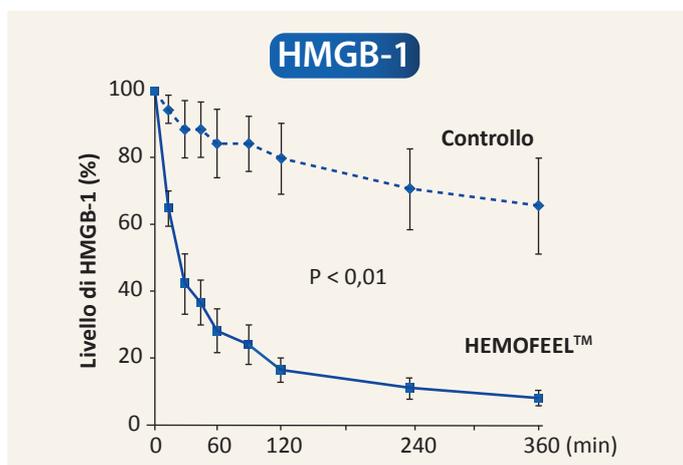


Figura 6. Studio in vitro sui livelli di HMGB-1 durante l'emofiltrazione. I risultati sono mostrati come media \pm SD su quattro esperimenti. I valori al tempo 0 rappresentano il 100%. La linea tratteggiata mostra i dati del tubo (controllo). Le due curve sono significativamente diverse l'una dall'altra ($P < 0,01$) [14].

TORAYMYXIN - Polymyxin B hemoperfusion

Ci sono diverse esperienze cliniche ad oggi disponibili in letteratura in merito all'utilizzo della terapia di PMX-HP in pazienti con forme di Insufficienza Respiratoria Grave (ARF) e/o ARDS sviluppate in presenza di infezione virale (H1N1/H5N1) [17, 18, 19, 20].

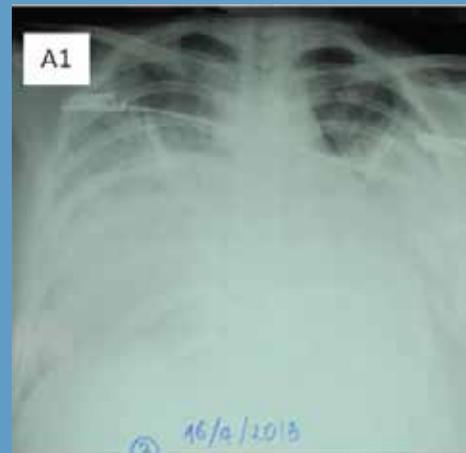
L'azione molto conosciuta di **Polymyxin B Hemoperfusion** è quella di potente neutralizzazione di endotossina e di monociti attivati dall'endotossina stessa.

Diverse recenti pubblicazioni mostrano come siano possibili interazioni "gut-lung" nei pazienti affetti da insufficienza respiratoria, dove vi è trasmigrazione batterica e/o di sue componenti dal compartimento gastrointestinale [21, 22].

Inoltre, recenti dati pubblicati mostrano come ci possa essere nei pazienti positivi a COVID19 sintomatologia enterica.

In aggiunta, **Polymyxin B Hemoperfusion** ha un'azione di **aferesi di cellule immunitarie attivate** tra cui neutrofili e mediatori dell'infiammazione, importanti fattori nell'ingerarsi del danno polmonare acuto.

Chest radiograph at the time of ICU admission showing diffuse infiltration



Chest radiograph at the time of discharge from ICU showing resolution of shadows



Figura 7. Radiografia (RX) del torace di un paziente affetto di ARDS a seguito di influenza virus H1N1/09 prima di PMX-HP e dopo [17].

Caratteristiche cliniche di COVID-19

Il decorso clinico si sviluppa in tre fasi distinte:

1. Fase iniziale, caratterizzata da una robusta replicazione virale accompagnata da febbre, tosse, ed altri sintomi, molti di questi placati in pochi giorni.
2. Febbre alta, ipossiemia, e progressione verso sintomi simili ad un quadro di polmonite interstiziale, nonostante un progressivo declino del titolo virale.
3. La polmonite può aggravarsi provocando accumulo di liquido nei polmoni e riduzione eccessiva di ossigeno.



In uno studio di 20 pazienti adulti con infezione da SARS-CoV sono stati osservati aumenti marcati di Th1 e citochine infiammatorie (IFN- γ , IL-1, IL-6 e IL-12) per più di 2 settimane, insieme ad aumenti marcati di chemochine come la proteina 10 inducibile dall'IFN- γ (IP-10), IL-8 e la MCP-1 [23].

Inoltre una percentuale rilevante di pazienti con COVID-19 gravemente malati può presentare sindromi da disfunzione d'organo aggiuntiva. Ciò è stato, almeno in parte, correlato a una sindrome simile alla sepsi indotta da un'attivazione cellulare con rilascio di citochine proinfiammatorie. In tali circostanze, mentre gli scambi polmonari sono compromessi e dominano lo scenario clinico, possono anche manifestarsi lesioni renali acute.

La disregolata attivazione cellulare con conseguente rilascio di citochine può essere indotta da una sindrome settica sovrapposta o dall'effetto diretto del virus sull'ospite infetto. In passato, l'esperienza maturata con l'influenza H1N1, la SARS e la MERS ha suggerito che la gravità della malattia dipendeva dalle comorbilità e dall'immuno-competenza dell'individuo. In situazioni gravi, tuttavia, uno stato infiammatorio non controllato o una successiva / simultanea immuno-paralisi è la diretta conseguenza degli effetti endocrini delle citochine pro e antinfiammatorie che si riversano nella circolazione sistemica.

In particolare, nelle ARF da COVID-19 c'è un'iperattività del sistema immunitario e IL-6 sembra essere quella più importante perché determina tra le altre cose shock ipotensivo e distress respiratorio; infatti in questi casi la sua concentrazione aumenta a livello polmonare.

Riferimenti

1. Abe, M., et al., Effect of dialyzer membrane materials on survival in chronic hemodialysis patients: Results from the annual survey of the Japanese Nationwide Dialysis Registry. *PLoS One*, 2017a. 12(9): p. e0184424.
2. Biasioli, S., et al., Role of cellulosic and noncellulosic membranes in hyperhomocysteinemia and oxidative stress. *ASAIO J*, 2000. 46(5): p. 625-34.
3. Hakim, R.M., et al., Effect of the dialysis membrane on mortality of chronic hemodialysis patients. *Kidney Int*, 1996b. 50(2): p. 566-70.
4. Kreusser, W., et al., Effect of different synthetic membranes on laboratory parameters and survival in chronic haemodialysis patients. *NDT Plus*, 2010. 3(suppl 1): p. i12-i19.
5. Poppelaars, F., et al., Intradialytic Complement Activation Precedes the Development of Cardiovascular Events in Hemodialysis Patients. *Front Immunol*, 2018. 9: p. 2070.
6. Pertosa, G., et al., Interleukin-6, interleukin-8 and monocyte chemoattractant peptide-1 gene expression and protein synthesis are independently modulated by hemodialysis membranes. *Kidney Int*, 1998. 54(2): p. 570-9.
7. Memoli, B., et al., Role of different dialysis membranes in the release of interleukin-6-soluble receptor in uremic patients. *Kidney Int*, 2000. 58(1): p. 417-24.
8. Mayeur, N., et al., Kinetics of plasmatic cytokines and cystatin C during and after hemodialysis in septic shock-related acute renal failure. *Crit Care*, 2010. 14(3): p. R115.
9. Cantaluppi, V., et al., Biological effects of polymethylmethacrylate (PMMA) membrane on serum levels of soluble CD40 ligand, a middle molecule involved in atherogenic inflammation and cardiovascular mortality of hemodialysis patients, in ERA-EDTA. 2016: Vienna, Austria. p. SP609.
10. Contin-Bordes, C., A. Lacraz, and V. Precigout, Potential role of the soluble form of CD40 in deficient immunological function of dialysis patients: new findings of its amelioration using polymethylmethacrylate (PMMA) membrane. *NDT Plus*, 2010. 3 [Suppl 1]: p. i20-i27.
11. Galli, F., et al., Glycoxidation and inflammatory markers in patients on treatment with PMMA-based protein-leaking dialyzers. *Kidney Int*, 2005. 67(2): p. 750-9.
12. Hirayama, Y., et al., Comparison of interleukin-6 removal properties among hemofilters consisting of varying membrane materials and surface areas: an in vitro study. *Blood Purif*, 2011. 31(1-3): p. 18-25.
13. Nakamura, M., et al., The role of hypercytokinemia in the pathophysiology of tumor lysis syndrome (TLS) and the treatment with continuous hemodiafiltration using a polymethylmethacrylate membrane hemofilter (PMMA-CHDF). *Transfus Apher Sci*, 2009d. 40(1): p. 41-7.
14. Yumoto, M., et al., In vitro evaluation of high mobility group box 1 protein removal with various membranes for continuous hemofiltration. *Ther Apher Dial*, 2011. 15(4): p. 385-93.
15. Nishibori, M., et al., Specific Removal of Monocytes from Peripheral Blood of Septic Patients by Polymyxin B-immobilized Filter Column. *Acta Med Okayama*, 2009. 63(1): p. 65-9.
16. Esteban, E., et al., Immunomodulation in sepsis: the role of endotoxin removal by polymyxin B-immobilized cartridge. *Mediators Inflamm*, 2013. 2013: p. 507539.
17. Binh, N.G., et al., Polymyxin-B-immobilized-fiber column hemoperfusion with oseltamivir treatment for ARDS due to influenza H1N1/09. *Respirol Case Rep*, 2015. 3(2): p. 57-60.
18. Kudo, K., et al., Clinical preparedness for severe pneumonia with highly pathogenic avian influenza A (H5N1): experiences with cases in Vietnam. *Respir Investig*, 2012. 50(4): p. 140-50.
19. Kushi, H., et al., Early hemoperfusion with an immobilized polymyxin B fiber column eliminates humoral mediators and improves pulmonary oxygenation. *Crit Care*, 2005a. 9(6): p. R653-61.
20. Araki, T., H. Ogawa, and A. Nakashima, Endotoxin adsorption therapy for a patient with severe pneumonia resulting from novel influenza A (H1N1) virus infection. *Therapeutic apheresis and dialysis : official peer-reviewed journal of the International Society for Apheresis, the Japanese Society for Apheresis, the Japanese Society for Dialysis Therapy*, 2011. 15(2): p. 207-208.
21. Doughty, L., et al., A role for IFN-alpha beta in virus infection-induced sensitization to endotoxin. *J Immunol*, 2001. 166(4): p. 2658-64.
22. Openshaw, P.J., Crossing barriers: infections of the lung and the gut. *Mucosal Immunol*, 2009. 2(2): p. 100-2.
23. Zumla, A., et al., Reducing mortality from 2019-nCoV: host-directed therapies should be an option. *Lancet*, 2020. 395(10224): p. e35-e36.