

脂多糖诱导急性呼吸窘迫综合征小型猪模型的构建与评估

王创业¹, 王冉¹, 张健¹, 邱凌霄¹, 卿斌¹, 尤恒¹, 刘锦程¹, 王斌¹, 王南博¹, 李嘉玉¹, 刘兴¹, 王霜¹, 胡晋¹, 文健¹, 李权¹, 黄小鸥¹, 赵焜¹, 刘双林¹, 刘刚¹, 王美菊¹, 向青¹, 吴红梅¹, 孙晓容¹, 谷涛², 张冬², 李琦¹, 徐智^{1*}

¹陆军军医大学第二附属医院呼吸与危重症医学科/重大呼吸疾病精准诊疗与防控重庆市重点实验室/呼吸疾病研究重庆市高校重点实验室, 重庆 400037; ²陆军军医大学第二附属医院放射影像科, 重庆 400037

[中图分类号] R563.8 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.2025.0624

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 王创业, 王冉, 张健, 等. 脂多糖诱导急性呼吸窘迫综合征小型猪模型的构建与评估[J]. 解放军医学杂志, 2025, 50(9): 1154-1161.

[收稿日期] 2025-03-05 [录用日期] 2025-05-06 [上线日期] 2025-06-24

[摘要] **目的** 建立稳定、可靠、贴近临床实际的内毒素性猪急性呼吸窘迫综合征(ARDS)模型。**方法** 10只8月龄雄性巴马香猪充分镇静后予有创机械通气及心电监护, 静脉泵注射600 μg/(kg·h)脂多糖(LPS)3 h, 随后以15 μg/(kg·h) LPS维持泵注。动态监测巴马香猪在注射LPS后5个时间点(0、1、3、5、8 h)的动脉血气、胸部CT影像, 经气管镜活检肺组织行病理检查(HE染色和透射电镜检查), 综合上述指标评估动物模型建立是否成功。**结果** 在给予LPS 5 h后, 共有8只巴马香猪出现皮肤发绀、体温升高、呼吸窘迫等症状, 氧合指数降至<300 mmHg, 胸部CT示双肺弥漫性浸润影, 病理结果提示肺泡水肿、透明膜形成, 电镜下观察到肺气血屏障破损、肺泡Ⅱ型细胞板层小体排空、炎性细胞浸润, 以及血浆蛋白、纤维素渗出等。与LPS 0 h相比, LPS 8 h时氧合指数和动脉血pH值明显降低($P<0.001$), 血乳酸、血钾水平明显升高($P<0.05$), 血钙、碱剩余明显降低($P<0.05$); 病理检查结果显示, 肺损伤评分明显增高($P<0.01$)。**结论** 持续静脉注射LPS建立的猪ARDS模型可动态模拟临床脓毒症性ARDS的病理生理特征及典型病理表现, 是研究脓毒症性ARDS发病机制和防治策略的有效工具。

[关键词] 急性呼吸窘迫综合征; 猪; 动物模型; 脂多糖

Establishment and evaluation of a lipopolysaccharide-induced acute respiratory distress syndrome model in minipigs

Wang Chuang-Ye¹, Wang Ran¹, Zhang Jian¹, Qiu Ling-Xiao¹, Qing Bin¹, You Heng¹, Liu Jin-Cheng¹, Wang Bin¹, Wang Nan-Bo¹, Li Jia-Yu¹, Liu Xing¹, Wang Shuang¹, Hu Jin¹, Wen Jian¹, Li Quan¹, Huang Xiao-Ou¹, Zhao Kun¹, Liu Shuang-Lin¹, Liu Gang¹, Wang Mei-Ju¹, Xiang Qing¹, Wu Hong-Mei¹, Sun Xiao-Rong¹, Gu Tao², Zhang Dong², Li Qi¹, Xu Zhi^{1*}

¹Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the Second Affiliated Hospital of Army Medical University/Chongqing Key Laboratory of Precision Medicine and Prevention of Major Respiratory Diseases/Key Laboratory of Respiratory Disease Research at Universities in Chongqing, Chongqing 400037, China

²Department of Radiology, the Second Affiliated Hospital of Army Medical University, Chongqing 400037, China

*Corresponding author, E-mail: xuzhihxk@tmmu.edu.cn

This work was supported by the Natural Science Foundation of Chongqing (CSTB2023NSCQ-LZX0165)

[Abstract] **Objective** To establish a stable, reliable, and clinically relevant porcine model of endotoxin-induced acute respiratory distress syndrome (ARDS). **Methods** Ten 8-month-old male Bama minipigs were deeply sedated, followed by invasive mechanical ventilation and electrocardiographic monitoring. Lipopolysaccharide (LPS) was intravenously pumped at 600 μg/(kg·h) for 3 hours, then maintained at 15 μg/(kg·h) thereafter. Dynamic monitoring was performed at five time points after LPS injection

[基金项目] 重庆市自然科学基金创新发展联合基金项目(CSTB2023NSCQ-LZX0165)

[作者简介] 王创业, 硕士研究生, 主要从事急性呼吸窘迫综合征方面的研究

[通信作者] 徐智, E-mail: xuzhihxk@tmmu.edu.cn

(LPS 0, 1, 3, 5, and 8 h), including arterial blood gas analysis and chest computed tomography (CT) scans. Pathological examination of lung tissues obtained via bronchoscopic biopsy (HE staining and transmission electron microscopy) was conducted. These indicators were comprehensively used to evaluate the success of the animal model. **Results** At 5 hours after LPS administration, 8 minipigs developed symptoms such as skin cyanosis, elevated body temperature, and respiratory distress. The oxygenation index decreased to <300 mmHg. Chest CT scans showed diffuse pulmonary infiltrates. Histopathology revealed alveolar edema and hyaline membrane formation. Transmission electron microscopy demonstrated disruption of pulmonary blood-air barrier, depletion of lamellar bodies in type II pneumocytes, inflammatory cell infiltration, and exudation of plasma proteins and fibrin. Compared with LPS 0 h, at LPS 8 h, the oxygenation index and arterial blood pH were significantly decreased ($P<0.001$), while blood lactic acid and serum potassium were significantly increased ($P<0.05$); serum calcium and base excess were significantly decreased ($P<0.05$), and the lung injury score based on HE-stained lung sections was significantly increased ($P<0.01$). **Conclusion** The porcine ARDS model established by continuous LPS injection can dynamically simulate the pathophysiological characteristics and typical pathological manifestations of clinical septic ARDS, making it an effective tool to study the pathogenesis, prevention, and treatment strategies of septic ARDS.

[Key words] acute respiratory distress syndrome; pig; animal models; lipopolysaccharide

急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS)是由肺内外因素导致肺部严重炎症反应的临床综合征,其在影像学上表现为双肺弥漫性渗出和浸润影,病理特征是弥漫性肺泡上皮和毛细血管内皮细胞的损伤,临床表现为严重的肺水肿和顽固的低氧血症^[1-4]。自1967年首次定义ARDS以来,其治疗手段不断增多,例如小潮气量、呼气终末正压(positive end-expiratory pressure, PEEP)通气^[5],俯卧位通气^[6],体外膜肺氧合(extracorporeal membrane oxygenation, ECMO)^[7]等策略都取得了一定进展,但ARDS的病死率仍居高不下。一项来自5个国家491个重症监护室的多中心研究显示,ARDS病死率达34.9%~46.1%^[8]。一项依据柏林定义的ARDS回顾性队列研究显示,因重症感染入住ICU的患者ARDS发病率为19.9%^[4]。为深入研究重症感染致ARDS发生及发展的病理生理机制和研发评估新的诊断治疗方法,建立一个可模拟人体生理和解剖特征、贴近临床的脓毒性ARDS动物模型具有重要价值^[9-11]。

小型猪由于其生理和解剖特征与人类相似,其肺泡表面积值接近人类(70~80 m²/kg),能较好地模拟人类ARDS的病理生理特征,具备高度的生理相似性和可验证性^[12]。鉴于猪具有较大的体型,其生理结构与人类相似,因此可作为连接心电监护和呼吸机等医疗设备的理想载体,以监测和记录各项生命体征及呼吸动力学参数。该特性使其成为研究和验证新的重症监护治疗方案和技术的优选实验对象,特别是在ARDS的研究领域中具有重要的应用价值^[13]。但是,在造模过程中如何最大程度模拟人类患者在临床中的实际情况,以及如何评估猪ARDS模型的成功建立,仍需克服多项关键难题^[14]。为此,本研究旨在提供一套猪ARDS大动物模型的建立方法及该模型的评估标准。

1 材料与方法

1.1 主要试剂 来源于大肠杆菌O111:B4的脂多糖(lipopolysaccharide, LPS; 货号L2660)购自美国Sigma公司。丙泊酚(力蒙欣, 20 ml:0.2 g)、芬太尼(瑞捷, 5 mg:1 mg)等购自陆军军医大学第二附属医院,戊巴比妥钠(25 g, 上海研易宝医药科技有限公司)及相关的试剂耗材购自官方试剂购买平台。

呼吸机品牌型号为中国迈瑞SV800; 血气检测仪器品牌型号为美国GEM3000; 高分辨率CT(HRCT)仪器品牌型号为德国西门子SOMATOM Definition Flash 640排; 电子支气管镜品牌型号为中国优亿EB-200R。电子显微镜品牌型号为日本日立HT7700。

1.2 实验动物及分组 10头8月龄雌性巴马香猪,体重27~32 kg,购自重庆沃森生物技术有限公司,饲养于陆军军医大学第二附属医院动物房,在适宜的温度、湿度和通风条件下,由专业饲养人员负责日常饲养和管理,以保证猪的清洁卫生及健康状况。本研究获陆军军医大学实验动物福利伦理委员会审批(AMUWEC20235109)。

实验设计采用自身前后对照,共设5个时间点,分别为泵注LPS后0、1、3、5、8 h。动态监测巴马香猪在这5个时间点的动脉血气、胸部HRCT,经气管镜活检肺组织行病理检查(HE染色和透射电镜检查),综合上述指标评估动物模型建立是否成功。

1.3 实验流程 每只巴马香猪均依次接受麻醉、气管切开置管并链接呼吸机和动、静脉置管,上述操作结束(LPS 0 h)后立即采集机械通气参数、心电监护参数、胸部HRCT、动脉血气,纤维支气管镜钳取肺组织;随即开始泵注LPS,分别于泵注LPS后1、3、5、8 h采集上述指标。

1.3.1 麻醉及镇静镇痛维持 参照临床重症患者镇痛镇静方案,初始使用3%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉

巴马香猪，待建立耳缘静脉通道后持续泵注 40~80 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ 丙泊酚和 0.45~0.60 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{h})$ 芬太尼，维持麻醉和镇痛。

1.3.2 呼吸支持 对麻醉后的巴马香猪行气管切开置管，连接呼吸机给予呼吸支持，并记录呼吸机上的数据。通气模式为容量辅助/控制通气(V-A/C)；潮气量初始设置为 10~15 ml/kg，根据动脉血气和气道平台压动态调整至 6~8 ml/kg(以减轻呼吸机相关性肺损伤)；呼吸频率 25~35 次/min，吸呼比(I:E)为 1:2；呼气终末正压(PEEP)为 4~6 cmH_2O (根据氧合指数逐步上调至 8~10 cmH_2O 以维持肺泡复张)；吸入氧浓度百分比(FiO_2)从 21% 逐步上调至 100%(根据 PaO_2 调整)。

1.3.3 静脉置管及动脉血气采集及分析 对左下肢股动、静脉分别进行动、静脉置管，并作为动脉血气采集通道及静脉输液通道。血气分析的指标包括血钾离子(K^+)、血 pH、动脉血氧分压(PaO_2)、动脉血二氧化碳分压(PaCO_2)、氧合指数、乳酸盐。

1.3.4 ARDS 猪模型的建立 在实验准备结束后 2 h，将 600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 LPS 溶于 10 ml 生理盐水，通过股静脉持续泵注约 3 h，此后 LPS 按照 15 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{h})$ 的方式维持泵注，并根据动脉血气中的 PaO_2 和 FiO_2 计算氧合指数($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$)，当氧合指数 $<300 \text{ mmHg}$ 且胸部 HRCT 显示双肺浸润视为造模成功。在泵注 LPS 约 8 h 后，对猪进行安乐死，之后对收集到的所有样本、数据进行检测、分析。本研究的 LPS 剂量参考了多项前期研究^[10,14]，并结合预实验结果，选择了当前的 LPS 剂量方案。

1.4 实验性 ARDS 诊断标准 依据 ARDS 的柏林定义^[15]，进行胸部 CT 检查显示双侧肺弥漫性浸润影，不能完全由心脏衰竭或液体过载解释，并排除心源性或非心源性肺水肿的可能，同时氧合进行性下降，并根据氧合指数分为三个严重程度级别：(1)轻度，PEEP 或持续气道正压通气(CPAP) $\geq 5 \text{ cmH}_2\text{O}$ 时， $200 \text{ mmHg} < \text{氧合指数} \leq 300 \text{ mmHg}$ ；(2)中度，PEEP 或 CPAP $\geq 5 \text{ cmH}_2\text{O}$ 时， $100 \text{ mmHg} < \text{氧合指数} \leq 200 \text{ mmHg}$ ；(3)重度，PEEP 或 CPAP $\geq 5 \text{ cmH}_2\text{O}$ 时，氧合指数 $\leq 100 \text{ mmHg}$ 。

1.5 肺组织病理学检查 通过纤维支气管镜获取的肺组织(约 1 mm^3 大小)样本固定、脱水、透明化、石蜡浸渍等处理，然后使用切片机制成薄片，进行 HE 染色。由两名病理科医师对 LPS 0 h 和 LPS 8 h HE 染色的肺切片采用 Smith 评分法^[16-17]进行肺损伤评分，取猪肺组织切片，并对视野内的肺水肿、肺泡，以及间质炎症、肺泡及间质出血、肺不张和透明膜形成分别进行评定(各单项分值 0~4 分)；无损伤为 0 分，病变范围 $<25\%$ 为 1 分，病变范围占 25%~ $<50\%$

为 2 分，病变范围占 50%~75% 为 3 分，病变 $>75\%$ 为 4 分；肺损伤总评分为上述各单项评分之和。

1.6 肺组织透射电镜观察 通过纤维支气管镜获取肺组织(约 1 mm^3 大小)在 1 min 内置于戊二醛中固定 6~12 h，在病理电镜室行固定和脱水、树脂浸透和包埋、切片，置于透射电镜下观察样本。

1.7 安乐死 迅即静推戊巴比妥钠 180 mg/kg 。当猪心率停止、瞳孔散大、血压无法测出、肌肉松弛无张力时，可确诊完全死亡。动物尸体送至陆军军医大学第二附属医院动物实验中心进行无害化处理。

1.8 统计学处理 采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析，Graphpad10.0 软件作图。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组间比较采用重复测量方差分析，进一步两两比较采用 SNK- q 检验；不符合正态分布的计量数据以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示，组间比较采用 Friedman 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

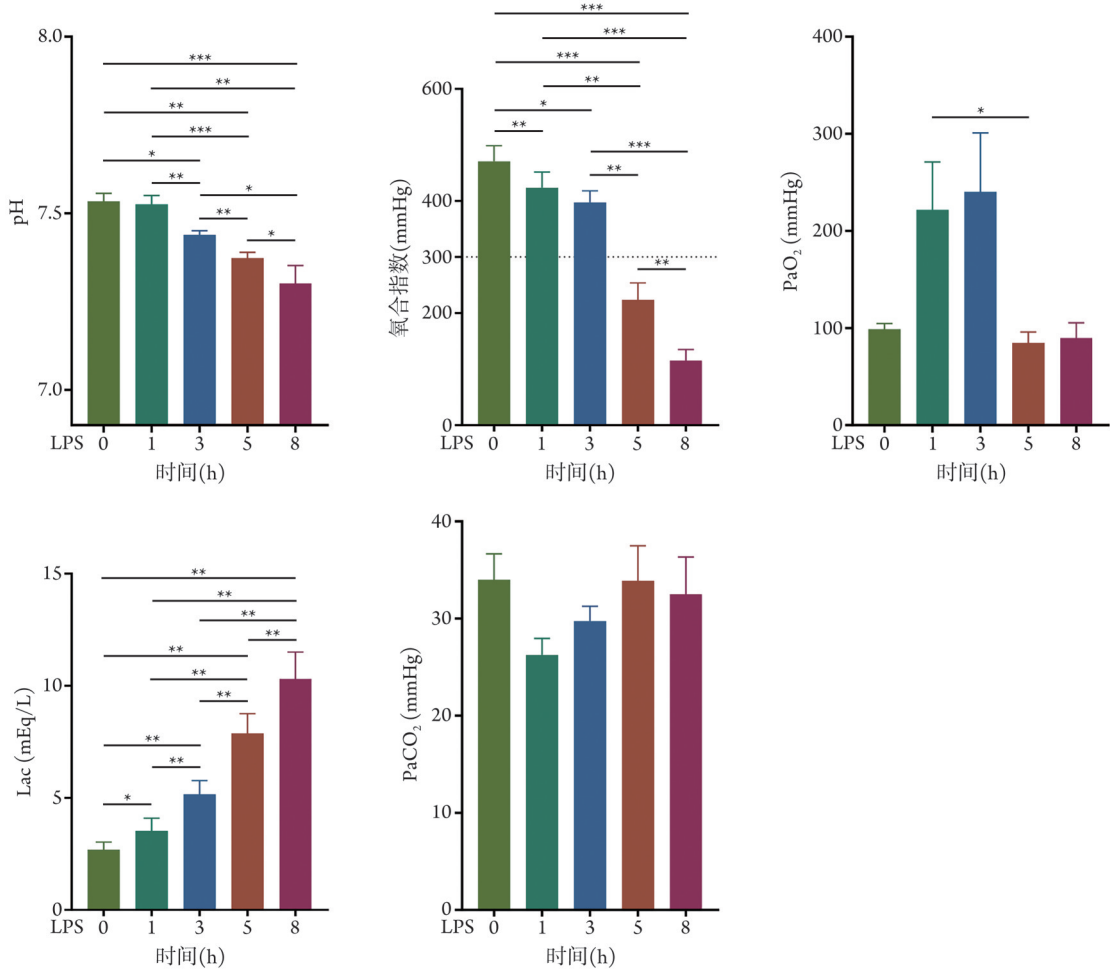
2.1 ARDS 猪模型的成模结果 本研究共使用 10 只猪作为实验对象，其中 8 只成功复制 ARDS；1 只在实验结束前因严重的血流动力学不稳定和气体交换障碍而死亡；1 只猪泵注 LPS 后未发生 ARDS。

2.2 LPS 泵注后猪的生命体征改变 麻醉后，实验猪生命体征维持在其正常生理范围：心率 120~140 次/min，平均动脉压 120~150 mmHg ，氧合指数 $>300 \text{ mmHg}$ ，皮肤、眼睑颜色正常，胸部 CT 未见异常。泵注 LPS 1 h 后，实验猪出现呼吸窘迫，口鼻分泌粉红色泡沫样液体，双下肺可闻及湿啰音；2 h 后，皮肤出现发绀，体温升至 37.8~39.0 $^{\circ}\text{C}$ ，有带血溏稀便和褐色尿；3 h 后，发绀加重，呼吸窘迫明显，心率最高 200 次/min，眼睑充血，双下肺湿啰音加重；4~5 h 后，氧合指数 $<300 \text{ mmHg}$ ，心率 170~200 次/min，平均动脉压 50~100 mmHg 。

2.3 LPS 泵注后猪动脉血气指标的变化

2.3.1 LPS 泵注后猪氧合状态的变化 动脉血气分析结果显示，随着 LPS 的不断泵注，LPS 5 h 和 8 h 时血 pH 和氧合指数值明显低于 LPS 0、1 和 3 h ($P < 0.01$)； PaO_2 短暂上升后，LPS 5 h 和 8 h 的 PaO_2 与 LPS 0 h 比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；LPS 5 h 和 8 h 的乳酸盐水平明显高于 LPS 0、1 和 3 h ($P < 0.01$)；各时间点 PaCO_2 比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$ ，图 1)。

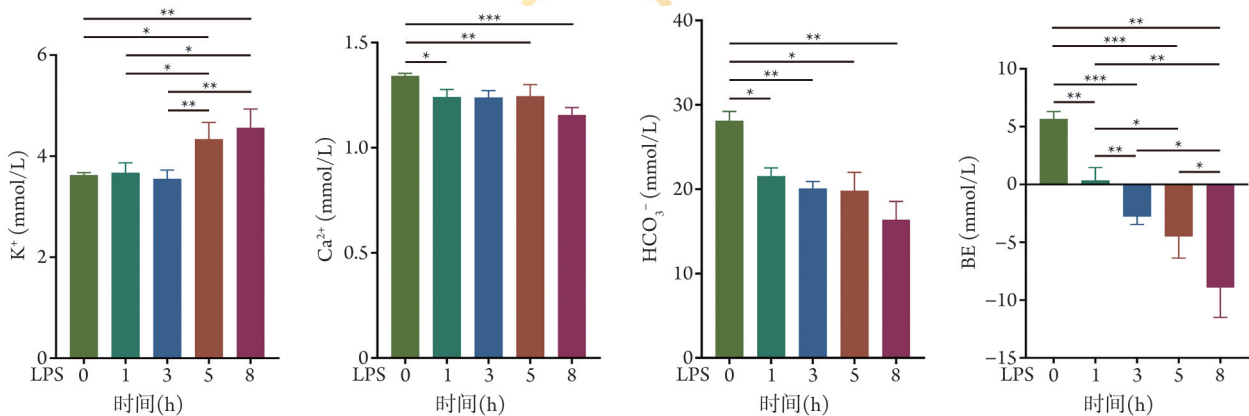
2.3.2 LPS 泵注后猪的代谢指标变化 随着 LPS 的不断泵注，LPS 5 h 和 8 h 的血 K^+ 水平明显高于 LPS 0、1 和 3 h ($P < 0.001$)；LPS 5 h 和 8 h 的血清钙离子(Ca^{2+})和碳酸氢盐(HCO_3^-)水平明显低于 LPS 0 h ($P < 0.05$)，LPS 5 h 和 8 h 的碱剩余(BE)均明显低于 LPS 0 和 1 h ($P < 0.05$ ，图 2)。



pH. 血液酸碱度; PaO₂. 动脉血氧分压; Lac. 血乳酸盐; PaCO₂. 动脉血二氧化碳分压; *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

图1 脂多糖(LPS)泵注后猪氧合状态的变化

Fig.1 Oxygenation state of pigs after lipopolysaccharide (LPS) infusion



K⁺. 血钾离子; Ca²⁺. 血钙离子; HCO₃⁻. 血碳酸氢根离子; BE. 碱剩余; *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

图2 脂多糖(LPS)泵注后猪代谢指标的变化

Fig.2 Metabolic disorder in pigs after lipopolysaccharide (LPS) infusion

2.4 LPS泵注后猪肺CT影像改变 造模过程中,对巴马香猪连续多次拍摄胸部HRCT(层厚0.625 mm)。胸部HRCT影像显示,在LPS 0h时间点,正常的双肺的密度均匀、血管纹路清晰;在LPS 1h,肺的重力依赖区(下肺部)出现磨玻璃影和肺结节影;在

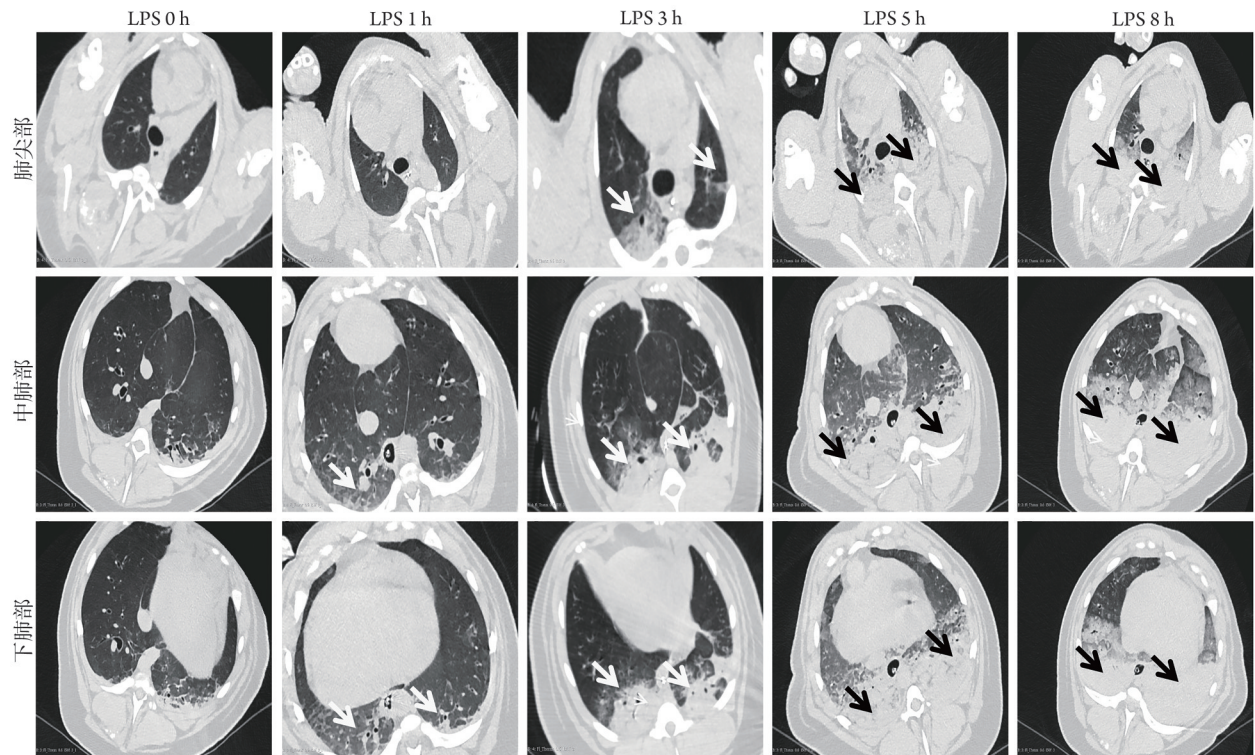
LPS 3h,肺部磨玻璃影逐渐弥漫至单侧肺尖区,中、下肺出现实变和肺不张等;在LPS 5h,双肺渗出影增多、肺尖部双侧均出现斑片状渗出影和磨玻璃影,中、下肺的间质逐渐增厚,并出现水肿;与LPS 1h和3h相比,LPS 5h和8h的猪双侧肺出现不同程度的

弥漫性浸润影、斑片状影、磨玻璃影,其中LPS 8 h 双肺弥漫渗出影和实变影达全肺的80%以上(图3)。

2.5 LPS泵注后猪肺组织病理改变及评分 LPS 0 h 时可见肺泡组织结构完整,未见小叶间隔增厚及炎症细胞浸润;LPS 8 h 时肺组织有严重损伤,肺泡内可见较为明显的透明膜形成,肺泡结构破坏,大量炎症细胞浸润(图4)。基于HE染色的肺切片的肺损

伤评分结果显示,LPS 8 h 的肺损伤总分明显高于LPS 0 h ($P < 0.01$, 表1)。

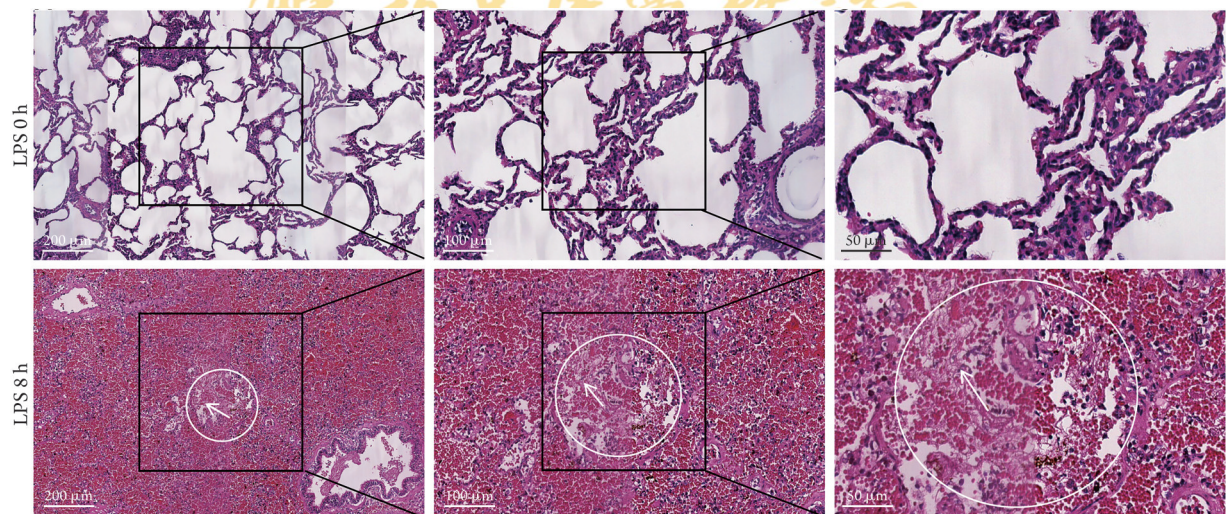
2.6 LPS泵注后猪肺组织电镜观察变化 LPS 0 h 时在电镜下可观察到肺组织中的完整肺泡及正常的小叶间隔(图5A—C);LPS 8 h 时在电镜下可观察到肺泡膜破损(图5D),内皮细胞增生、水肿(图5E),肺泡腔内炎症细胞、血浆蛋白浸润(图5F),肺泡Ⅱ型



LPS 0 h, 双肺实质密度均匀、血管纹理清晰,支气管管壁光滑、管腔通畅,胸膜光滑、无积液;LPS 1 h, 肺间隔增厚、肺血管周围渗出,出现斑片状渗出阴影(白色箭头示);LPS 3 h, 小叶间隔内网状影,双下肺不同程度渗出影,肺体积下降(白色箭头示);LPS 5 h, 双下肺磨玻璃影、左肺渗出明显,肺体积下降(黑色箭头示);LPS 8 h, 双下肺磨玻璃影和双肺渗出明显,肺体积进一步下降(黑色箭头示)

图3 脂多糖(LPS)泵注后猪肺尖部、中肺部和下肺部CT影像改变

Fig.3 Changes in apical, middle, and lower lung CT imaging in pigs after lipopolysaccharide (LPS) infusion



呼吸窘迫综合征(ARDS)透明膜形成(白色圆圈内箭头示)

图4 脂多糖(LPS)泵注后猪肺组织病理改变(HE染色)

Fig.4 Pathology of lung tissue in pigs after lipopolysaccharide (LPS) infusion (HE staining)

表1 脂多糖(LPS)泵注后猪肺组织损伤评分[分, $M(Q_1, Q_3)$]
Tab.1 Assessment of lung injury in pigs after lipopolysaccharide (LPS) infusion [score, $M(Q_1, Q_3)$]

评分项目	LPS 0 h (n=8)	LPS 8 h (n=8)
气道上皮脱落/肺泡破裂	0	1.00(1.00, 2.00) ⁽²⁾
气道上皮水肿	0	1.00(0.25, 2.00) ⁽²⁾
气道和间质组织炎性细胞浸润	1.00(1.00, 1.00)	1.00(1.00, 1.00)
血管增加	0	2.00(0.50, 3.00) ⁽¹⁾
肺泡性肺不张	0	0.50(0.00, 1.00) ⁽¹⁾
肺损伤总分	1.00(1.00, 1.00)	6.50(5.00, 7.00) ⁽²⁾

与LPS 0h比较, (1) $P < 0.05$, (2) $P < 0.01$

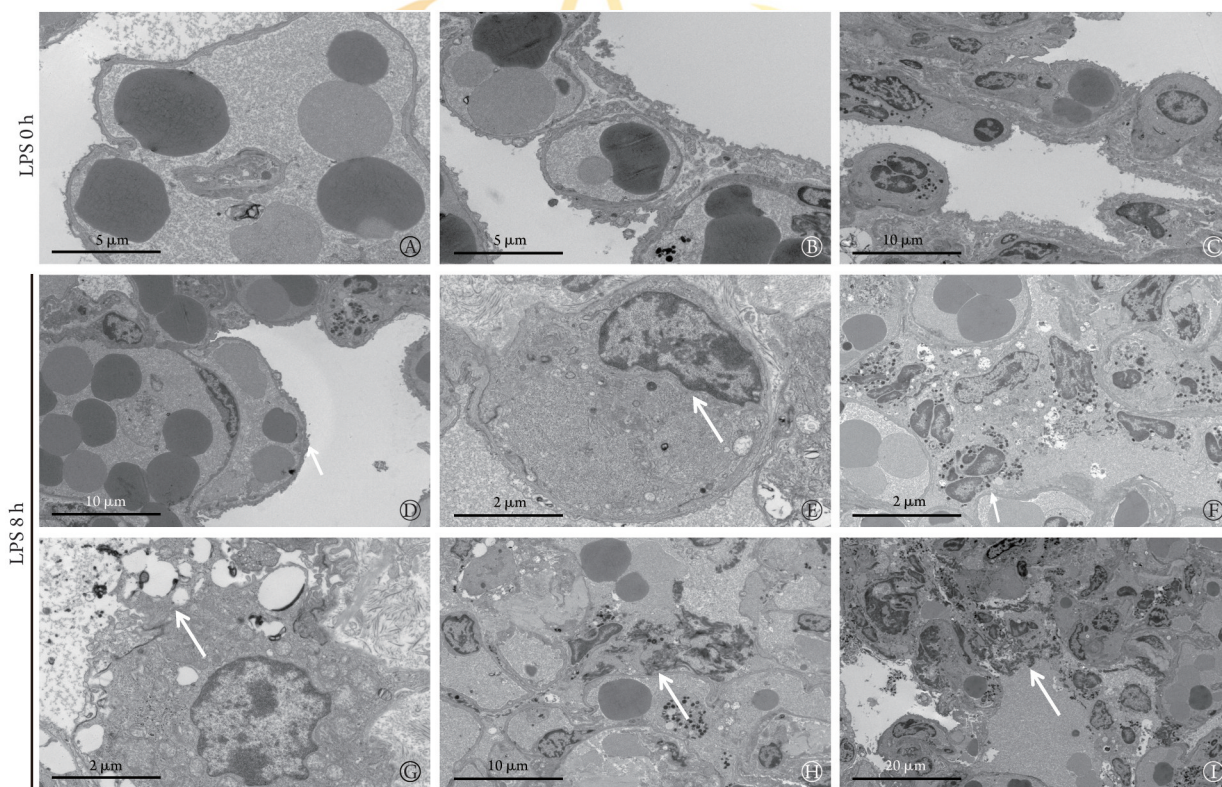
细胞板层体排空并出现空腔(图5G), 肺泡腔内充满炎症细胞、肺泡基底膜破损、肺泡间质内有巨噬细

胞(图5H), 大量炎症细胞在肺泡腔内及血管内浸润、纤维素渗出等(图5I)。

3 讨论

ARDS的病因大致可分为肺内因素(吸入有害物质、误吸、肺炎等)和肺外因素(严重感染、创伤等), 其病理生理机制复杂, 核心机制是弥漫性肺泡-毛细血管膜损伤后导致弥散功能下降^[15]。为贴近临床患者的实际情况, ARDS的相关研究需要可模拟患者接受医疗监护、救治措施的理想动物模型^[18-19]。如前文所述, 小型猪肺的生理和解剖特征与人类相似, 因此, 本研究采用小型猪制作ARDS动物模型。

近年来, 国内外相关研究常采用静脉注射油酸,



肺泡膜破损(白色箭头示); 内皮细胞增生水肿(白色箭头示); 肺泡腔内炎性细胞浸润、血浆蛋白渗出(白色箭头示); 肺泡Ⅱ型细胞板层体排空(白色箭头示); 肺泡腔内炎症细胞浸润, 肺泡间质见巨噬细胞以及肺泡基底膜破损(白色箭头示); 大量炎症细胞在肺泡腔内及血管内浸润, 纤维素渗出(白色箭头示)

图5 脂多糖(LPS)泵注后猪肺组织病理改变(电镜观察)

Fig.5 Pathology of lung tissue in pigs after lipopolysaccharide (LPS) infusion (Electron microscopy)

或肺泡反复灌洗及通过气管内灌注胃液后, 再使用高压力或高容量的机械通气来加剧肺泡过度牵张和氧化应激, 导致屏障破坏和炎症扩散等方式来快速建立ARDS模型^[20-22]; 但这些模型的致伤因素和临床实际情况并不一致。临床上感染因素导致的ARDS主要与内毒素持续入血、诱发肺部失控的炎症反应有关, 而非油酸或肺泡灌洗等导致的非特异性损伤^[21]。同时, 临床感染是一个动态过程, 而泵注LPS可通过调节剂量与输注时间, 模拟内毒素血症

的渐进性发展, 便于观察不同阶段的干预效果^[23]。因此, 内毒素性ARDS模型能较好地模拟这一病理生理过程。

研究显示, 通过泵注LPS来建立ARDS模型仍存在较大难度, 尤其是LPS的剂量和泵注持续时间存在较大差异; 在长时间泵注LPS过程中如何保持动物安静、避免过激和挣扎影响实验数据也是需要解决的关键难题^[10]。本研究采取与临床一致的麻醉、镇痛、镇静方案, 并予以LPS连续泵注, 以确保建

模过程顺利进行；同时，在致伤前后5个时间点采集CT影像学、动静脉血及气管介入等，保持动脉血气分析和CT扫描时间的一致性，相比国内外类似研究，本研究的建模方法和监测方式更精细、更接近临床实际^[24-25]。

本研究构建的小型猪ARDS模型的症状、体征均符合ARDS患者的临床表现。在泵注LPS 1 h后，动物出现呼吸窘迫伴粉红色泡沫痰，肺部可闻及湿啰音，提示发生肺泡水肿，并进一步发生循环功能障碍，如平均动脉压下降、心动过速、全身炎症反应(发热、发绀、多器官损伤)等^[3,15]。本模型成功复现了临床ARDS的进行性低氧血症与血气屏障损伤的病理进程，可较好地模拟临床上因严重感染而卧床插管的重症ARDS患者，并在一般生理状况、肺部影像表现、动脉血气及组织病理等方面保持较高的一致性。

在临床上，ARDS患者常表现出代谢性酸中毒和高分解代谢特征^[26-27]。在此次造模过程中，通过检测造模前后的动脉血气连续性变化，可观察到模型猪的多项生理参数的变化与ARDS的代谢性酸中毒紧密相关。造模成功后氧合指数随着LPS的不断泵注而逐渐下降，且各个时间点差异均有统计学意义，提示肺泡弥散功能逐渐发生障碍，最终致使组织缺氧和代谢性酸中毒，符合ARDS的典型特征^[28]。另外，血气分析结果显示血K⁺水平升高、Ca²⁺水平降低及乳酸盐水平持续升高，这些改变都与能量代谢紊乱有关，且电解质失衡可影响细胞和器官的功能，进一步加重器官功能障碍，也符合ARDS的临床检验结果，提示该模型较可靠。

目前CT影像结合动脉血气分析是临床上诊断ARDS的重要依据^[29]。本研究在造模前后的5个时间点采集猪肺部CT影像，动态观察猪肺部影像学连续性改变，结果显示，该模型呈现了ARDS形成过程中肺部CT影像学的典型变化，包括从最初的局限性浸润影发展为弥漫性浸润影，最终呈现现实变影。国内一项多中心回顾性研究通过收集928例ICU患者胸部CT扫描图像，开发了一个基于深度学习的框架，使用UNETR(U-Net with transformers)模型进行肺病变分割和ARDS早期预测^[30]。本研究构建的猪ARDS模型肺部影像动态变化可为ARDS的诊断和病理研究提供重要的影像学依据，有望为ARDS的无创预警和诊断提供基础^[31]。

ARDS患者肺组织的核心病理表现为肺泡-毛细血管屏障受损，可导致血管内液体渗漏而出现肺水肿^[32]。本研究在猪肺组织切片中观察到肺泡上皮细胞和内皮细胞的损伤，包括肺泡上皮细胞坏死或脱落，以及内皮细胞肿胀和损伤，伴有炎症细胞浸润、

肺泡水肿和出血，同时还观察到ARDS的特征性病理改变——透明膜形成。本研究采用Smith评分表从5个维度对猪肺组织切片进行的病理损伤评分结果显示，LPS 8 h的评分明显高于LPS 0 h，提示本模型肺病理损伤非常显著。本研究进一步验证了血气屏障破坏在ARDS中的关键作用^[17,22]。

本研究高倍电镜下观察到血气屏障破损和炎症细胞浸润等现象，并在多个视野中可见细胞形态和亚细胞结构的变化，其中猪肺泡II型上皮细胞的板层小体排空现象明显，细胞内出现空泡化；这一结果从细胞水平和亚细胞超微结构上显示了ARDS的病理损伤特征，与多项研究结果一致。例如，Smith等^[17]在ARDS模型中观察到肺泡II型细胞的板层小体排空和肺泡表面活性物质(PS)分泌减少，与本研究的电镜结果高度一致。此外，René等^[22]在比较不同ARDS模型时也指出，PS减少是ARDS模型构建成功的重要标志之一。

肺泡上皮细胞和内皮细胞凋亡是导致血气屏障破坏的重要机制，而细胞凋亡的激活可能与氧化应激、内质网应激及线粒体功能障碍有关^[33]。本研究通过电镜观察到猪肺泡II型上皮细胞的板层小体排空和空泡化现象，提示细胞凋亡在ARDS的发生发展中起关键作用^[17]。

LPS通过激活Toll样受体4(TLR4)信号通路，诱导炎症因子[如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL-6)、IL-1 β]过度释放，形成炎症因子风暴，这种失控的炎症反应是ARDS的核心病理机制之一^[27]。在本研究中，猪在LPS泵注后逐渐出现呼吸窘迫、低氧血症和代谢性酸中毒，这些变化与炎症因子过度释放密切相关。通过动态监测动脉血气和CT影像，可观察到ARDS的病理进展与炎症因子风暴的动态变化高度一致。这些机制的深入研究有望为ARDS的治疗提供新的靶点。

本研究也存在一定的局限性：首先，研究样本量相对较小，并且动物实验对象之间存在生物学差异，这可能会对研究结果的普适性产生影响；其次，实验是在严格控制的环境下进行的，这与临床实践中复杂且多变的环境存在差异；第三，由于缺乏对模型的长期跟踪观察，难以对ARDS的长期病理生理变化及其预后进行准确评估。因此，未来的研究应当增加样本量，并实施长期跟踪观察，同时开展治疗干预试验，以提高研究的临床转化潜力。

本研究在持续镇静、镇痛、肌松及机械通气条件下，通过持续静脉泵注LPS，并结合胸部HRCT、动脉血气分析及病理检查、电镜观测，成功建立猪ARDS模型。该模型能较好地模拟患者在严重感染后逐步发展为ARDS的临床病程，与重症感染后卧床、

接受有创机械通气患者的脓毒症性ARDS病理状态高度相似, 可为脓毒症性ARDS发生发展机制研究及新的治疗策略探索提供重要的工具和平台。

【参考文献】

- [1] Jayasimhan D, Matthay MA. Definitions of acute respiratory distress syndrome: present recommendations and challenges[J]. *Clin Chest Med*, 2024, 45(4): 785-795.
- [2] Cardinal-Fernández P, Ortiz G, Blanch L. Global definition of acute respiratory distress syndrome: an epidemiology perspective[J]. *Med Intensiva (Engl Ed)*, 2025, 49(2): 69-71.
- [3] Matthay MA, Arabi Y, Arroliga AC, et al. A new global definition of acute respiratory distress syndrome[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2024, 209(1): 37-47.
- [4] Anesi GL, Ramkillawan A, Invernizzi J, et al. Operationalizing the new global definition of ARDS: a retrospective cohort study from South Africa[J]. *Chest Crit Care*, 2024, 2(4): 100103.
- [5] Briel M, Meade M, Mercat A, et al. Higher vs lower positive end-expiratory pressure in patients with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: systematic review and meta-analysis [J]. *JAMA*, 2010, 303(9): 865-873.
- [6] Guérin C, Reignier J, Richard JC, et al. Prone positioning in severe acute respiratory distress syndrome[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(23): 2159-2168.
- [7] Australia and New Zealand Extracorporeal Membrane Oxygenation (ANZ ECMO) Influenza Investigators, Davies A, Jones D, et al. Extracorporeal membrane oxygenation for 2009 influenza a(H1N1) acute respiratory distress syndrome[J]. *JAMA*, 2009, 302(17): 1888-1895.
- [8] Bellani G, Laffey JG, Pham T, et al. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries[J]. *JAMA*, 2016, 315(8): 788-800.
- [9] Borges AM, Ferrari RS, Thomaz LDGR, et al. Challenges and perspectives in porcine model of acute lung injury using oleic acid [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2019, 59: 101837.
- [10] 张英谦, 李涛. 内毒素致急性肺损伤幼猪模型建立的研究[J]. *中国全科医学*, 2008, 11(12): 1052-1054.
- [11] 李赋, 张志明, 张茂福, 等. 肺泡巨噬细胞自噬在急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征中的研究进展[J]. *中国急救医学*, 2024, 44(11): 1002-1006.
- [12] Bruun CS, Jensen LK, Leifsson PS, et al. Functional characterization of a porcine emphysema model[J]. *Lung*, 2013, 191(6): 669-675.
- [13] Lossi L, D'Angelo L, De Girolamo P, et al. Anatomical features for an adequate choice of experimental animal model in biomedicine: II. Small laboratory rodents, rabbit, and pig[J]. *Ann Anat*, 2016, 204: 11-28.
- [14] Tiba MH, McCracken BM, Leander DC, et al. A novel swine model of the acute respiratory distress syndrome using clinically relevant injury exposures[J]. *Physiol Rep*, 2021, 9(9): e14871.
- [15] ARDS Definition Task Force, Ranieri VM, Rubenfeld GD, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin definition[J]. *JAMA*, 2012, 307(23): 2526-2533.
- [16] Powers K. Acute respiratory distress syndrome[J]. *JAAPA*, 2022, 35(4): 29-33.
- [17] Smith KM, Mrozek JD, Simonton SC, et al. Prolonged partial liquid ventilation using conventional and high-frequency ventilatory techniques: gas exchange and lung pathology in an animal model of respiratory distress syndrome[J]. *Crit Care Med*, 1997, 25(11): 1888-1897.
- [18] 陶一帆, 田方敏, 郭向阳, 等. 不同剂量脂多糖在不同作用时间下诱导小鼠急性肺损伤的效果评价[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2015, 22(2): 142-146.
- [19] Wick KD, Ware LB, Matthay MA. Acute respiratory distress syndrome[J]. *BMJ*, 2024, 387: e076612.
- [20] Golding R, Braun RK, Miller L, et al. Differential changes in expression of inflammatory mRNA and protein after oleic acid-induced acute lung injury[J]. *Exp Lung Res*, 2024, 50(1): 96-105.
- [21] Alvis BD, Brophy C, Cheung-Flynn J, et al. A porcine model of acute respiratory failure with a continuous infusion of oleic acid[J]. *J Vis Exp*, 2024. doi: 10.3791/65963
- [22] Rissel R, Renz M, Mohnke K, et al. Comparison of two porcine acute lung injury models: a post-hoc analysis[J]. *Intens Care Med*, 2022, 10(1): 37.
- [23] Seemann S, Zohles F, Lupp A. Comprehensive comparison of three different animal models for systemic inflammation[J]. *J Biomed Sci*, 2017, 24(1): 60.
- [24] Meers CM, De Wever W, Verbeken E, et al. A porcine model of acute lung injury by instillation of gastric fluid[J]. *J Surg Res*, 2011, 166(2): e195-e204.
- [25] Barbata E, Arrieta M, Motos A, et al. A long-lasting porcine model of ARDS caused by pneumonia and ventilator-induced lung injury[J]. *Crit Care*, 2023, 27(1): 239.
- [26] 刘洋洋, 姚杰然, 林佳颖, 等. 急性肺损伤炎症反应失控所致的系统代谢紊乱及其发生机制[J]. *中国临床医学*, 2022, 29(4): 565-571.
- [27] Font MD, Thyagarajan B, Khanna AK. Sepsis and septic shock - basics of diagnosis, pathophysiology and clinical decision making [J]. *Med Clin North Am*, 2020, 104(4): 573-585.
- [28] 钱桂生. 急性呼吸窘迫综合征患者酸碱失衡与电解质紊乱[J]. *解放军医学杂志*, 1998, 23(1): 3-4.
- [29] 金发光, 陈键, 赵淇. 急性呼吸窘迫综合征基础研究与临床救治新进展[J]. *空军军医大学学报*, 2025, 46(6): 701-707.
- [30] Zhou Y, Mei S, Wang J, et al. Development and validation of a deep learning-based framework for automated lung CT segmentation and acute respiratory distress syndrome prediction: a multicenter cohort study[J]. *Eclinicalmedicine*, 2024, 75: 102772.
- [31] Conrad AM, Zimmermann J, Mohr D, et al. Quantification of pulmonary edema using automated lung segmentation on computed tomography in mechanically ventilated patients with acute respiratory distress syndrome[J]. *Intens Care Med Exp*, 2024, 12(1): 95.
- [32] 钱桂生. 急性肺损伤和急性呼吸窘迫综合征研究现状与展望[J]. *解放军医学杂志*, 2003, 28(2): 97-101.
- [33] Cao SS, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in cell fate decision and human disease[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 21(3): 396-413.

(责任编辑: 蒋铭敏)