

体外膜肺氧合支持下的急性呼吸窘迫综合征动物模型研究进展

李文莉^{1,2}, 刘燕青^{1,2}, 蔡金霞^{1,2}, 陈原森^{1,2}, 王海旺^{1,2}, 史源^{1,2}, 刘子泉^{1,2}, 樊毫军^{1,2}

【摘要】 急性呼吸窘迫综合征 (Acute Respiratory Distress Syndrome, ARDS) 是指由于肺内或肺外因素导致的急性、进行性低氧血症和呼吸窘迫。临床上 ARDS 患者死亡率很高, 发病机制尚未阐明, 体外膜肺氧合 (Extracorporeal Membrane Oxygenation, ECMO) 支持为重症 ARDS 患者的救治带来转机, 但是由于相关研究较少, 仍然存在撤机困难和术后并发症等问题, 严重影响 ARDS 患者的生存和生活质量。目前, 国内外已经建立相关的动物模型进行转化研究。本文就目前国内外 ECMO 支持下的 ARDS 动物模型的研究进展进行综述。

【关键词】 体外膜肺氧合; 支持; 急性呼吸窘迫综合征; 动物模型

【中国图书分类号】 R332

Research progress in animal models of acute respiratory distress syndrome supported by extracorporeal membrane oxygenation

LI Wenli^{1,2}, LIU Yanqing^{1,2}, CAI Jinxia^{1,2}, CHEN Yuansen^{1,2}, WANG Haiwang^{1,2}, SHI Yuan^{1,2}, LIU Ziquan^{1,2} and FAN Haojun^{1,2}. 1.

Institute of Disaster and Emergency Medicine, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2. Wenzhou Safety (Emergency) Institute, Tianjin University, Wenzhou 325000, China

Corresponding author: FAN Haojun, E-mail: fanhaojun999@126.com

【Abstract】 Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) is defined as acute and progressive hypoxemia and respiratory distress caused by intrapulmonary or extrapulmonary factors. ARDS are associated with high mortality in clinical patients, yet its precise pathogenesis remains unknown. Extracorporeal Membrane Oxygenation (ECMO) support has made treatment possible for severe ARDS patients. However, few relevant studies have been carried out, leaving weaning protocols and postoperative complications still standing in the way of the ARDS patients' survival and quality of life. At present, relevant animal models have been established at home and abroad for translational research. This article reviewed the research progress of ARDS animal models supported by ECMO at home and abroad.

【Key words】 extracorporeal membrane oxygenation; support; acute respiratory distress syndrome; animal model

急性呼吸窘迫综合征 (Acute Respiratory Distress Syndrome, ARDS) 于1967年由Ashbaugh首次发现, 是一种独特的低氧性呼吸衰竭, 以急性低氧血症、肺顺应性降低和非心源性肺水肿导致的弥漫性肺泡损伤为特征^[1]。如果不及时干预, ARDS将进展为多器官衰竭, 进而危及患者的生命。近年来体外膜肺氧合 (Extracorporeal Membrane Oxygenation, ECMO) 支持手段的应用为 ARDS 患者治疗原发性疾病争取了时间, 但是也存在出血、溶血、血栓形成、感染、神经系统损伤等并发症及代谢紊乱等问题, 因此, 很多研究开始通过动物实验探索相关的解决方案, 不同的动物模型对于研究 ECMO 支持过程中的并发症有着重要的意义。因此, 本文主要对目前国内外 ECMO 支持下的 ARDS 动物模型研究进展进

行综述。

1 ARDS 动物模型研究现状

动物模型在 ARDS 疾病研究中发挥着关键作用。近年来, 尽管我们对 ARDS 的病理生理学的研究取得了一定进展, 但目前患者的死亡率仍然很高, 在过去的十年中只有轻度的降低^[2]。研究发现, 一个可能的影响因素是未能将一些临床发现转化为有效的 ARDS 治疗策略^[3]。例如, 对重度 ARDS 患者采用 ECMO 支持可显著降低患者的死亡率, 但同时由于 ARDS 疾病的复杂性, ECMO 支持管理标准不统一等问题, 对于患者的治疗变得非常困难^[4]。因此, 我们可以通过动物模型实验验证临床新发现, 从而为指导重度 ARDS 患者的治疗开拓思路。目前, ARDS 动物模型研究已相当成熟。常见的造模方法有以下几种: 油酸 (Oleic Acid, OA) 或脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 静脉输注造成脓毒症诱发 ARDS, LPS 气管滴注造成肺炎诱发 ARDS, 另外还有盐水灌洗、缺氧、胸部挫伤和烟雾吸入等肺损伤诱发的 ARDS^[5]。ARDS 动物模

DOI: 10.13919/j.issn.2095-6274.2021.08.009

基金项目: 军队后勤开放研究项目 (BLB19J006); 深圳市医疗卫生三名工程资助项目 (SZSM201911007)

作者单位: 1. 300072 天津, 天津大学应急医学研究院; 2. 325000 浙江温州, 天津大学温州安全 (应急) 研究院

通信作者: 樊毫军, E-mail: fanhaojun999@126.com

型研究对象较多,一般是大鼠、小鼠、兔子、羊及猪等,其中大鼠和小鼠比较常用,由于其价格低廉,繁殖周期短,饲养方便及有多种已成熟的基因敲除模型等优点,被广泛应用于ARDS疾病分子生物学机制的研究。

2 ECMO支持在临床ARDS疾病中的应用现状

ECMO是一种先进的体外生命支持手段,可以改善患者血液氧合并排出血液中的二氧化碳,同时可通过低潮气量和低气道压力等保护性通气策略减轻呼吸机对肺的损伤,使发生病变的肺脏得以休息和修复,为治疗原发性疾病赢得了时间^[6]。研究表明,ECMO通常可用于暂时支持常规治疗难以治愈的严重ARDS患者^[7-8]。近年来,ECMO技术的应用在ARDS患者的临床治疗中有了大幅度的增长^[9],尤其是2019年新冠肺炎席卷全球以来,因新冠肺炎住院的患者中有5~20%发展为ARDS^[10-13],目前已造成全球四百余万感染者死于ARDS及其并发症,但是目前并无特效药治疗重症患者。因此,ECMO支持便成为了重症新冠肺炎患者生存的最后希望,通过其体外生命支持策略为治疗原发性疾病争取了宝贵的时间。

3 ECMO支持下的ARDS动物模型研究现状

目前ECMO支持下的ARDS动物模型研究较少,且以大动物(如猪)为主。例如,将ECMO支持的ARDS猪模型用于评估盐水灌洗和表面活性剂替代疗法的支气管镜干预实验平台^[14]。此外,临床上,由于在ECMO运行的过程中,血液与氧合器表面直接接触,易引发血小板、凝血因子和白细胞活化,继而导致机体产生不良反应。有研究通过盲肠结扎和穿刺的方法制作猪的脓毒症模型,在ECMO支持下观察猪的血液与氧合器接触后,是否会形成血凝块以判断氧合器的生物相容性^[15]。这个模型可用于检测和探索生物相容性更好的膜式氧合器,为接受ECMO支持的患者预防凝血和血栓等并发症开拓新思路。研究发现,通过盐水反复支气管灌洗合并有害通气诱导的猪ARDS模型,可通过静脉-静脉(Veno-Venous, V-V)ECMO成功救治,体外支持时间长达24 h并显著改善其生存率^[16]。虽然这些研究都为临床难题的解决开拓了思路,但是仍然存在无法大批量复制实验的问题。因此,开展小动物实验成为必然的发展趋势。然而,在小动物ARDS模型中,结合ECMO支持的研究较少,最近,有研究发现敲低巨噬细胞YTHDF1基因对ECMO支持下的重症脓毒症大鼠的免疫反应和机体有保护作用^[17]。也有研究使用3D打印的模拟氧合器建立并评估了新型大鼠ECMO支持模型^[18]。此外,大鼠的ECMO支持模型在心脏骤停和缺血再灌注损伤研究中也发挥着重要的作用^[19-20]。但是关于ECMO支持的小动物ARDS模型研究很少,只有早期一项研究表明在LPS诱

导的大鼠急性肺损伤早期进行ECMO支持干预,对肺脏有保护作用^[21]。

4 ECMO支持下的ARDS动物模型的局限性

4.1 重度ARDS动物模型标准不统一 动物模型是推进生物医学领域研究的关键,通常基于某种疾病提出的新假设和干预措施,首先可以利用动物模型进行临床前实验,以检验是否可以成功应用于临床。因此,如何建立一种有效的动物模型,更好的反映临床问题,完成医学转化,将是未来研究的重点。临床上,根据柏林定义和诊断策略,ARDS分为轻度、中度和重度三级标准,这个标准可用于判断ARDS患者的病情严重程度,并根据ARDS分级选择不同的治疗策略:当呼气末正压(Positive End-Expiratory Pressure, PEEP)或持续气道正压(Continuous Positive Airway Pressure, CPAP) ≥ 5 cmH₂O,氧合指数PaO₂/FiO₂ < 100 mmHg时为重度ARDS,此时需要ECMO支持^[22]。在临床上,这是一个明确的标准,但是在动物模型中,很少有研究根据上述公式计算的氧合指数标准来定义重度ARDS动物模型,在过去的研究中,只有少量研究针对氧合指数小于100 mmHg的肺损伤动物模型^[23-26]。目前ARDS模型主要依据炎症反应,肺组织病理学改变和毛细血管通透性的变化等指标判断肺损伤严重程度,因此无法模拟临床情况判断动物模型是否符合重度ARDS标准,是否需要ECMO支持。因此,未来的模型,特别是那些在ECMO支持下用于评估ARDS疾病干预措施动物模型,应该以复制有临床意义的肺损伤指征为目标^[27]。

4.2 实验研究对象单一且造价昂贵 目前已经有学者在ARDS动物模型中开展ECMO支持研究,油酸输注和脂多糖输注是诱导ARDS的最常见手段,进行ECMO支持的ARDS动物模型实验中,猪是主要的研究对象,大动物模型如猪因其体积大,循环血量多,心血管系统及皮肤与人类接近等原因,更适合ECMO支持的人类疾病和临床前转化研究,但存在造价昂贵,手术复杂,耗时长等缺点,不利于进行大批量成规模的研究和致伤机制的探索。因此,在ARDS动物模型中开展ECMO支持研究所用动物可以更多地采用小动物,不应该只有单一的大动物。因为小动物与大型动物相比更具有优势:如小动物比较廉价易得,操作简单方便,可以更快地进行批量实验,还可利用基因敲除技术开展相关信号通路以及作用机制的研究,使用大型动物无法使用的多种分析和成像技术等,但目前ECMO支持下的ARDS小动物模型鲜有研究报道^[28]。这提示我们要更多地利用如大鼠等的小动物,即探索和建立ECMO支持下的ARDS小动物模型,才能更快地找出ARDS疾病中ECMO支持下并发症的解决办法。

4.3 ECMO运行时间短 在ECMO支持的ARDS模型中,延长ECMO运行时间将有助于观察受损肺组织的修复规律,并

从体外支持中探索更好的撤机方法,提高 ARDS 患者体外支持后的成功率和生活质量。但现有的研究,用于 ECMO 支持的 ARDS 模型持续时间相对较短,一般都在 24 h 内,只有少数动物模型运行至 24 h^[16, 29-30],一方面是因为血液与管路长时间接触会导致血栓和炎症反应,将导致管路活动、静脉堵塞,继而加重肺损伤;另一方面,可能由于大型动物实验研究的工作强度和成本较高,难以长时间维持 ECMO 运行。若未来能解决小动物循环血量少而难支持较长时间的问题,采用 ARDS 小动物模型(如大鼠)建立 ECMO 支持研究,能很大程度上节约经济成本,可进行批量实验,也降低了工作强度,将可延长 ECMO 运行时间。

4.4 未进行保护性肺通气 在 ARDS 疾病模型中,ECMO 支持前仍需要进行保护性肺通气,这将对后期肺组织修复产生重要的作用。已有研究证实 ARDS 患者需要进行低潮气量的肺保护性通气^[31],但在基础研究中,很少有动物模型在 ECMO 运行之前实施肺保护性通气策略,仅有个别研究实施保护性通气策略^[32]。许多研究设定潮气量超过 8 ml/kg,这将会影响 ECMO 的救治效果^[28]。研究表明,机械通气在 ARDS 患者救治中非常重要,但同时也可加重肺损伤。因此,ECMO 支持下的 ARDS 动物模型应采用保护性肺通气策略,根据动物类型设置潮气量,减少机械通气对肺的损伤,从而更好地探索 ARDS 疾病中肺修复规律和治疗策略。

5 总结与展望

ARDS 作为常见的临床危重症,寻找有效的治疗方法和改善患者预后一直是临床研究的目标。目前,ECMO 疗法已经取得了一定的效果,但仍存在大量的术后并发症,需进一步完善相关研究。ECMO 支持下的 ARDS 动物模型为该课题研究开辟新道路,但是该模型研究并不多,其可能的原因是:ECMO 相关体外循环技术并不成熟,只有少量大动物模型可进行体外循环研究,无法大批量复制实验;目前建立的重度 ARDS 疾病动物模型尚不完善。

因此,我们应该进一步探索、建立 ECMO 支持下的 ARDS 小动物模型进行相关的研究,统一重度 ARDS 动物模型的标准,延长 ECMO 运行时间,同时注意肺保护性通气策略,从而为 ARDS 疾病研究提供更适合大批量开展实验且符合临床需求的动物模型。随着 ECMO 相关科学研究的深入和技术的创新,期待未来能通过大量的动物实验研究探索新的有前瞻性的治疗方向,为 ARDS 患者的临床治疗提供更好的方案。

【参考文献】

[1] Ashbaugh D G, Bigelow D B, Petty T L, *et al.* Acute respiratory distress in adults [J]. *Lancet*, 1967, 2 (7511): 319-323. DOI: 10.1016/s0140-6736(67)90168-7.

[2] M á ca J, Jor O, Holub M, *et al.* Past and Present ARDS Mortality Rates: A Systematic Review [J]. *Respir Care*, 2017, 62 (1): 113-122. DOI: 10.4187/respcare.04716.

[3] Pham T, Rubenfeld G D. Fifty Years of Research in ARDS. The Epidemiology of Acute Respiratory Distress Syndrome. A 50th Birthday Review [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2017, 195 (7): 860-870. DOI: 10.1164/rccm.201609-1773CP.

[4] Hasan Z. A Review of Acute Respiratory Distress Syndrome Management and Treatment [J]. *Am J Ther*, 2021, 28 (2): e189-e195. DOI: 10.1097/mjt.0000000000001343.

[5] Matute-Bello G, Frevert C W, Martin T R. Animal models of acute lung injury [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 295 (3): L379-399. DOI: 10.1152/ajplung.00010.2008.

[6] Jabaudon M, Blondonnet R, Audard J. Encou-RAGE-ing Lung Protection in Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome Under Extracorporeal Membrane Oxygenation [J]. *Crit Care Med*, 2019, 47 (11): 1654-1655. DOI:10.1097/ccm.0000000000003984.

[7] Schmidt M, Hodgson C, Combes A. Extracorporeal gas exchange for acute respiratory failure in adult patients: a systematic review [J]. *Crit Care*, 2015, 19 (1): 99. DOI: 10.1186/s13054-015-0806-z.

[8] Combes A, Hajage D, Capellier G, *et al.* Extracorporeal Membrane Oxygenation for Severe Acute Respiratory Distress Syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378 (21): 1965-1975. DOI: 10.1056/NEJMoa1800385.

[9] Raman L, Dalton H J. Year in Review 2015: Extracorporeal Membrane Oxygenation [J]. *Respir Care*, 2016, 61 (7): 986-991. DOI: 10.4187/respcare.04985.

[10] Guan W J, Ni Z Y, Hu Y, *et al.* Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382 (18): 1708-1720. DOI: 10.1056/NEJMoa2002032.

[11] Yang X, Yu Y, Xu J, *et al.* Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study [J]. *Lancet Respir Med*, 2020, 8 (5): 475-481. DOI: 10.1016/s2213-2600 (20) 30079-5.

[12] Cummings M J, Baldwin M R, Abrams D, *et al.* Epidemiology, clinical course, and outcomes of critically ill adults with COVID-19 in New York City: a prospective cohort study [J]. *Lancet*, 2020, 395 (10239): 1763-1770. DOI: 10.1016/s0140-6736 (20) 31189-2.

[13] Grasselli G, Pesenti A, Cecconi M. Critical Care Utilization for the COVID-19 Outbreak in Lombardy, Italy: Early Experience

- and Forecast During an Emergency Response [J]. *Jama*, 2020, 323 (16) : 1545–1546. DOI: 10.1001/jama.2020.4031.
- [14] Qaqish R, Watanabe Y, Galasso M, *et al.* Veno–venous ECMO as a platform to evaluate lung lavage and surfactant replacement therapy in an animal model of severe ARDS [J]. *Intensive Care Med Exp*, 2020, 8 (1) : 63. DOI: 10.1186/s40635–020–00352–w.
- [15] Bleilevens C, Grottke O, Groening S, *et al.* Septic porcine blood does not further activate coagulation during in vitro membrane oxygenation [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2017, 51 (3) : 449–456. DOI: 10.1093/ejcts/ezw345.
- [16] Araos J, Alegre í a L, Garc í a P, *et al.* Extracorporeal membrane oxygenation improves survival in a novel 24–hour pig model of severe acute respiratory distress syndrome [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8 (6) : 2826–2837.
- [17] Xing Y, Cheng D, Shi C, *et al.* The protective role of YTHDF1–knock down macrophages on the immune paralysis of severe sepsis rats with ECMO [J]. *Microvasc Res*, 2021, 137: 104178. DOI: 10.1016/j.mvr.2021.104178.
- [18] Umei N, Lai A, Miller J, *et al.* Establishment and evaluation of a rat model of extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) thrombosis using a 3D–printed mock–oxygenator [J]. *J Transl Med*, 2021, 19 (1) : 179. DOI: 10.1186/s12967–021–02847–w.
- [19] Ahmed N, Laghari A H, AlBkhor B, *et al.* Fingolimod Plays Role in Attenuation of Myocardial Injury Related to Experimental Model of Cardiac Arrest and Extracorporeal Life Support Resuscitation [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (24) . DOI: 10.3390/ijms20246237.
- [20] Wollborn J, Siemerling S, Steiger C, *et al.* Phosphodiesterase–4 inhibition reduces ECLS–induced vascular permeability and improves microcirculation in a rodent model of extracorporeal resuscitation [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2019, 316 (3) : H751–h761. DOI: 10.1152/ajpheart.00673.2018.
- [21] 张炳东, 陈燕桦, 梁东科, 等. 体外膜肺氧合对内毒素诱导大鼠急性肺损伤的早期干预效果 [J]. *山东医药*, 2011, 51 (8) : 46–48. DOI: 10.3969/j.issn.1002–266X.2011.08.023.
- [22] Ranieri V M, Rubenfeld G D, Thompson B T, *et al.* Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition [J]. *Jama*, 2012, 307 (23) : 2526–2533. DOI: 10.1001/jama.2012.5669.
- [23] Dembinski R, Kopp R, Henzler D, *et al.* Extracorporeal gas exchange with the DeltaStream rotary blood pump in experimental lung injury [J]. *Artif Organs*, 2003, 27 (6) : 530–536. DOI: 10.1046/j.1525–1594.2003.07152.x.
- [24] Kopp R, Bensberg R, Arens J, *et al.* A miniaturized extracorporeal membrane oxygenator with integrated rotary blood pump: preclinical in vivo testing [J]. *Asaio j*, 2011, 57 (3) : 158–163. DOI: 10.1097/MAT.0b013e31820bffa9.
- [25] Park M, Costa E L, Maciel A T, *et al.* Determinants of oxygen and carbon dioxide transfer during extracorporeal membrane oxygenation in an experimental model of multiple organ dysfunction syndrome [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (1) : e54954. DOI: 10.1371/journal.pone.0054954.
- [26] Pilarczyk K, Heckmann J, Lyskawa K, *et al.* Comparison of a New Miniaturized Extracorporeal Membrane Oxygenation System With Integrated Rotary Blood Pump to a Standard System in a Porcine Model of Acute Lung Injury [J]. *Artif Organs*, 2016, 40 (7) : 645–658. DOI: 10.1111/aor.12611.
- [27] Fan E, Brodie D, Slutsky A S. Acute Respiratory Distress Syndrome: Advances in Diagnosis and Treatment [J]. *Jama*, 2018, 319 (7) : 698–710. DOI: 10.1001/jama.2017.21907.
- [28] Millar J E, Bartnikowski N, von Bahr V, *et al.* Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) and the acute respiratory distress syndrome (ARDS) : a systematic review of pre–clinical models [J]. *Intensive Care Med Exp*, 2019, 7 (1) : 18. DOI: 10.1186/s40635–019–0232–7.
- [29] Song J, Palmer K, Sun B. Effects of inhaled nitric oxide and surfactant with extracorporeal life support in recovery phase of septic acute lung injury in piglets [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2010, 23 (2) : 78–87. DOI: 10.1016/j.pupt.2009.10.012.
- [30] Dubo S, Oviedo V, Garcia A, *et al.* Low Spontaneous Breathing Effort during Extracorporeal Membrane Oxygenation in a Porcine Model of Severe Acute Respiratory Distress Syndrome [J]. *Anesthesiology*, 2020, 133 (5) : 1106–1117. DOI: 10.1097/aln.0000000000003538.
- [31] Brower R G, Matthay M A, Morris A, *et al.* Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2000, 342 (18) : 1301–1308. DOI: 10.1056/nejm200005043421801.
- [32] Shekar K, Fung Y L, Diab S, *et al.* Development of simulated and ovine models of extracorporeal life support to improve understanding of circuit–host interactions [J]. *Crit Care Resusc*, 2012, 14 (2) : 105–111.

(2021-07-19 收稿 2021-08-09 修回)

(本文编辑 马延爱)