

# 盐酸灌注联合机械通气诱导的 ARDS 大鼠模型



扫码阅读电子版

杨宝欣 李曼殊 徐永昊 黄勇波 毛璞 梁杰 许智恒 刘晓青 何为群  
黎毅敏 张海波

广州医科大学附属第一医院重症医学科 呼吸疾病国家重点实验室 广州呼吸健康  
研究院 510120

通信作者: 黎毅敏, Email: dryiminli@vip.163.com

**【摘要】** **目的** 采用盐酸 (HCl) 灌注联合机械通气双重打击的方法, 建立急性呼吸窘迫综合征大鼠模型。**方法** 将 SD 大鼠随机分为 7 组: 生理盐水 (NS) 24 h 组、HCl 24 h 组、NS 7 d 组、HCl 7 d 组、HCl+低吸气峰压通气 (LP) 组、HCl+高吸气峰压通气 (HP) 组和博来霉素 (BLM) 组。各组大鼠麻醉后, 进行经口气管插管, 分别向气管内灌注 NS (1 ml/kg)、HCl (pH=1, 1 ml/kg) 或 BLM (1 g/L, 1 ml/kg)。24 h 后, 对 NS 24 h 组和 HCl 24 h 组大鼠进行动脉血气分析, 若氧合指数 < 300 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa), 大鼠将进行 LP 或 HP 2 h。大鼠复苏后观察至第 7 天, 取左肺组织进行 HE 染色和 Masson's trichrome 染色, 评估肺部损伤及纤维化程度。**结果** HCl 24 h 组大鼠颈动脉血的氧合指数为 (213.400±27.318) mmHg; HE 染色可见明显的肺组织出血、水肿及炎性细胞浸润, 肺损伤评分显著高于 NS 24 h 组 ( $t = -8.549, P < 0.05$ )。HCl 7 d 组、HCl+HP 组及 BLM 组出现不同程度的胶原沉积, 肺纤维化评分与 NS 7 d 组比较差异均有统计学意义 ( $P$  值均 < 0.05); HCl+LP 组肺纤维化评分与 NS 组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 与 HCl 7 d 组相比, HCl+HP 组肺纤维化程度更重 ( $P < 0.05$ )。**结论** HCl 灌注联合高吸气峰压机械通气可诱导大鼠发生急性肺损伤, 加重肺纤维化, 为研究急性呼吸窘迫综合征及其相关性肺纤维化的机制和治疗提供了可靠的动物模型。

**【关键词】** 急性肺损伤; 模型, 动物; 博来霉素

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (81770079); 广东省自然科学基金项目 (2017A030313781)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2019.21.005

## A rat model of acute respiratory distress syndrome induced by hydrochloric acid instillation combined with mechanical ventilation

Yang Baoxin, Li Manshu, Xu Yonghao, Huang Yongbo, Mao Pu, Liang Jie, Xu Zhiheng, Liu Xiaoqing, He Weiqun, Li Yimin, Zhang Haibo

Department of Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, the State Key Laboratory of Respiratory Disease, Guangzhou Institute of Respiratory Health, Guangzhou 510120, China

Corresponding author: Li Yimin, Email: dryiminli@vip.163.com

**【Abstract】 Objective** To establish a two-hit model of acute respiratory distress syndrome in rats with hydrochloric acid (HCl) instillation followed by mechanical ventilation. **Methods** SD rats were randomly divided into seven groups: normal saline (NS) at 24 h group, HCl at 24 h group, NS at day 7 group, HCl at day 7 group, HCl+low peak inspiratory pressure (LP) group, HCl+high peak inspiratory pressure (HP) group, and bleomycin (BLM) group. After anesthesia, orotracheal intubation was performed, and NS (1 ml/kg), HCl (pH=1, 1 ml/kg) or BLM (1 g/L, 1 ml/kg) were respectively instilled intratracheally. After 24 hours, if oxygenation index was less than 300 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa), the rats were subjected to mechanical ventilation (LP or HP) for two hours. The rats were observed for up to seven days. The left lobes of lungs were collected to

assess pulmonary injury and fibrosis using hematoxylin-eosin stain and Masson's trichrome stain respectively. **Results** At 24 hours after HCl stimulation, the oxygenation index of rats was ( $213.400 \pm 27.318$ ) mmHg, hematoxylin-eosin stain showed more alveolar hemorrhage, edema and inflammatory cell infiltration in lung tissue. The lung injury score in HCl at 24 h group was significantly higher than that in NS at 24 h group ( $t = -8.549$ ,  $P < 0.05$ ). HCl at day 7 group, HCl+HP group, and BLM group showed more lung collagen deposition as well as higher lung fibrosis score compared to NS at day 7 group (all  $P < 0.05$ ). There was no significant difference in lung fibrosis score between HCl+LP group and NS at day 7 group ( $P > 0.05$ ). The lung fibrosis of HCl+HP group was worse than that of HCl at day 7 group ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** HCl combined with mechanical ventilation (HP) induces acute lung injury and aggravates pulmonary fibrosis in rats, providing a reliable animal model to study the mechanism and therapeutic approaches of acute respiratory distress syndrome and its related pulmonary fibrosis.

**【Key words】** Acute lung injury; Models, animal; Bleomycin

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81770079); Natural Science Foundation of Guangdong Province (2017A030313781)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2019.21.005

ARDS 是 ICU 中极为常见的危及患者生命的疾病,以肺泡上皮细胞损伤和血管通透性增高为病理基础,尽管有着数十年的研究基础,目前尚无针对肺损伤本身有确切疗效的药物<sup>[1]</sup>。全球流行病学调查数据显示,在住院患者中,重症患者的 ARDS 发病率为 10.4%,ARDS 病死率达 34.9%~46.1%,与疾病的严重程度呈正相关<sup>[2]</sup>。机械通气是目前救治 ARDS 的重要手段,近年来提出的保护性通气策略有效降低了 ARDS 的病死率。然而,患者的个体性差异和疾病的异质性决定了呼吸机临床应用的复杂性<sup>[3-5]</sup>。若机械通气的参数设置不当,会加重原有的肺损伤,导致肺纤维化发生,进而影响 ARDS 患者的预后。已有研究指出,肺部进行性纤维增殖与 ARDS 的高病死率、通气时间延长和生存质量下降相关<sup>[6-12]</sup>。因此,早期有效地控制肺纤维化的发生、发展将是治疗 ARDS、改善患者预后的重要突破点。目前国内尚无关于 ARDS 相关性肺纤维化的动物模型报道。本研究旨在建立一个稳定、可靠的呼吸机相关的 ARDS 肺纤维化动物模型,为 ARDS 相关领域的进一步研究奠定基础。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 33 只 SPF 级 SD 大鼠,雄性,4~6 周龄,体质量 120~150 g,购自广东省医学实验动物中心,许可证号:SCXK(粤)2013-0002。随机分为 7 组:生理盐水(normal saline, NS)24 h 组、盐酸(hydrochloric acid, HCl)24 h 组、NS 7 d 组、HCl 7 d 组、HCl+低吸气峰压通气(low peak inspiratory pressure, LP)组、

HCl+高吸气峰压通气(high peak inspiratory pressure, HP)组和博来霉素(bleomycin, BLM)组。实验动物的使用经本中心实验动物伦理委员会审查通过。

**1.2 仪器与试剂** Servo i 通用型呼吸机:德国 MAQUET 公司;光纤冷光源:瑞沃德公司;i-STAT 300 血气分析仪:美国雅培公司;G3<sup>+</sup>血气分析测试卡:美国雅培公司;HCl:广州工业化学试剂厂;BLM:美国 Sigma 公司。

## 1.3 实验方法

**1.3.1 ARDS 模型建立** HCl 24 h 组和 NS 24 h 组大鼠经腹腔注射 3%戊巴比妥钠(60 mg/kg)麻醉后,经门齿悬挂固定于垂直板上。使用冷光源照射颈部皮肤,将大鼠舌头向一侧拉出,暴露声门。将 14G 血管留置针套管的长度修剪至约 2 cm,经声门插入至气管内,固定插管,用 1 ml 注射器经插管分别灌入 1 ml/kg HCl (0.1 mol/L, pH = 1)、NS (1 ml/kg)。随即连接 Servo i 呼吸机通气 5 min,使 HCl 或 NS 在肺内分布均匀。参数设置如下:吸入氧浓度为 50%,呼气末正压为 3 cmH<sub>2</sub>O (1 cmH<sub>2</sub>O = 0.098 kPa),呼气末正压以上的压力控制为 10 cmH<sub>2</sub>O,呼吸频率为 60 次/min,吸呼比为 1:2。撤机后,将大鼠置于纯氧环境中至其苏醒,拔除气管插管,放回鼠笼正常饲养。24 h 后检测颈动脉血气以及肺组织病理改变,进行肺损伤评分。

**1.3.2 ARDS 呼吸机相关性肺纤维化模型建立** NS 7 d 组、HCl 7 d 组、HCl+LP 组、HCl+HP 组大鼠麻醉后经口气管插管灌入 NS 或 HCl,24 h

后, HCl+LP 组、HCl+HP 组大鼠再次麻醉, 经气管插管, 连接呼吸机, 按随机分组进行 LP 或 HP 2 h。参数设置如下, LP: 吸入氧浓度为 50%, 呼气末正压为 3 cmH<sub>2</sub>O, 呼气末正压以上的压力控制为 10 cmH<sub>2</sub>O, 呼吸频率为 60 次/min, 吸呼比为 1:2; HP: 吸入氧浓度为 50%, 呼气末正压为 0 cmH<sub>2</sub>O, 呼气末正压以上的压力控制为 22 cmH<sub>2</sub>O, 呼吸频率为 40 次/min, 吸呼比为 1:2。通气结束后置于纯氧环境中至其苏醒, 拔除气管插管, 放回鼠笼正常饲养至第 7 天, 检测肺组织病理改变, 进行肺纤维化评分。

**1.3.3 BLM 诱导肺纤维化模型** BLM 粉剂溶于 NS, 配制成浓度为 1 g/L 的溶液, 过滤后 4 °C 保存备用。大鼠麻醉后, 经气管插管, 灌入 1 ml/kg 的 BLM, 连接呼吸机通气 5 min, 使 BLM 在肺内分布均匀, 撤机后置于纯氧环境中至其苏醒, 拔除气管插管, 正常饲养观察至第 7 天, 检测肺组织病理改变, 进行肺纤维化评分。

**1.3.4 血气分析检测** 大鼠麻醉后, 行气管切开置管, 连接呼吸机通气, 参数设置如下: 吸入氧浓度为 100%, 呼气末正压为 3 cmH<sub>2</sub>O, 呼气末正压以上的压力控制为 10 cmH<sub>2</sub>O, 呼吸频率为 60 次/min, 吸呼比为 1:2。用 20G 动脉留置针行右侧颈动脉置管术, 抽取颈动脉血约 0.1 ml, 使用便携式 i-STAT 300 血气分析仪检测血气, 间隔 5 min 再次抽取动脉血进行第 2 次检测。分别计算氧合指数, 取 2 次结果的平均值进行统计分析。

**1.3.5 组织病理学检测** 腹腔注射 3% 戊巴比妥钠 (180 mg/kg) 处死大鼠, 开胸解剖分离出气管和肺, 夹闭右侧支气管后, 用 4% 多聚甲醛以 22 cmH<sub>2</sub>O 的压力灌注左肺叶, 结扎并分离出左肺叶浸泡于 4% 多聚甲醛中固定, 用于制作病理切片、HE 染色和 Masson's trichrome 染色。由 1 位不参与本实验的病理科医师对病理结果进行肺损伤评分和肺纤维化评分。

**1.3.6 肺损伤评分** 对肺组织的以下改变进行评分: 肺泡塌陷, 血管周围出血, 肺泡出血, 血管周围水肿, 血管充血, 肺泡多形核白细胞浸润, 透明膜形成, 肺泡水肿, 巨噬细胞浸润, 支气管上皮损坏。每一项的损伤评分为 0~3 分。0 分: 正常; 1 分: 轻度; 2 分: 中度; 3 分: 重度<sup>[13]</sup>。在 200 倍视野下, 每个切片随机选取 5 个视野分别对以上 10 项进行评分, 计算每一个视野的肺损伤总分后取 5 个视野评分的平均值作为该切片的肺损伤

评分。

**1.3.7 肺纤维化评分** 将肺纤维化分为 8 级。0 级: 正常; 1 级: 肺泡壁或支气管壁有轻度的增厚; 3 级: 肺泡壁或支气管壁有中度的增厚, 不伴有明显的肺部结构破坏; 5 级: 肺部结构破坏明显且伴有纤维条带或小的纤维灶形成; 7 级: 肺部结构破坏严重且伴有大片纤维化区域, 或者出现蜂窝样肺; 8 级: 纤维化改变充满整个视野。程度介于 1 级和 3 级之间定义为 2 级, 依次类推定义 4 级和 6 级<sup>[14]</sup>。在 200 倍视野下, 每个切片随机选取 5 个视野进行评分, 取 5 个视野评分的平均值作为该切片的肺纤维化评分。

**1.4 统计学分析** 采用 SPSS 15.0 软件对数据进行统计分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 2 组样本采用 *t* 检验进行比较, 多组样本采用单因素方差分析进行比较。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

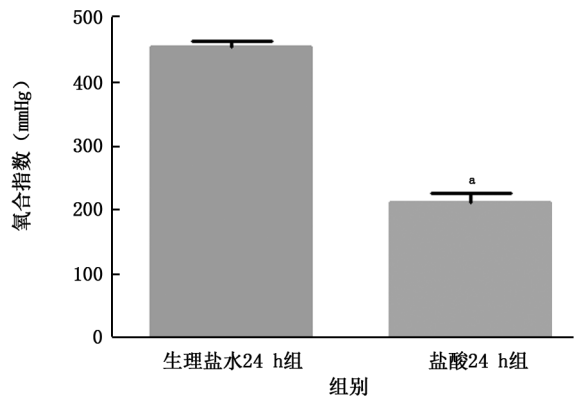
**2 结果**

**2.1 血气分析及肺损伤评估** 经气管灌入 HCl 24 h 后, 大鼠动脉血氧合指数 < 300 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa), 较 NS 24 h 组显著降低 (*t* = 15.421, *P* < 0.05)。见表 1、图 1。

表 1 2 组大鼠氧合指数及肺损伤评分的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数	氧合指数 (mmHg)	肺损伤评分 (分)
生理盐水 24 h 组	5	455.000 ± 21.932	4.400 ± 1.517
盐酸 24 h 组	5	213.400 ± 27.318	12.600 ± 1.517
<i>t</i> 值		15.421	-8.549
<i>P</i> 值		0.000	0.000

注: 1 mmHg=0.133 kPa



注: 1 mmHg=0.133 kPa; 与生理盐水 24 h 组比较, \**P* < 0.05

图 1 2 组大鼠氧合指数的比较

肺组织 HE 染色可见, HCl 24 h 组大鼠肺泡腔内有淡红色均质状水肿液渗出, 红细胞及炎症细

胞浸润明显 (图 2)。HCl 24 h 组肺损伤评分显著高于 NS 24 h 组 ( $t = -8.549, P < 0.05$ ), 见表 1、图 3。

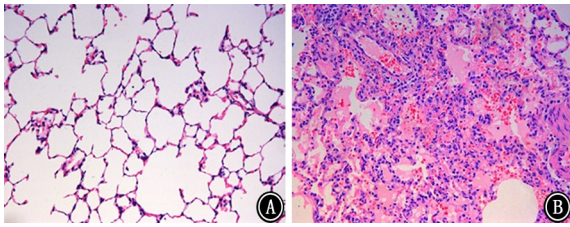
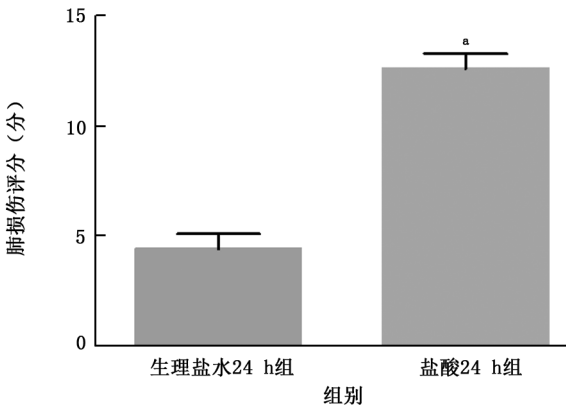


图 2 2 组大鼠左肺组织病理表现 HE  $\times 200$  A: 生理盐水 24 h 组; B: 盐酸 24 h 组



注: 与生理盐水 24 h 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$

图 3 2 组大鼠肺损伤评分的比较

**2.2 肺纤维化评估** 大鼠肺组织 Masson's trichrome 染色可见, 与 NS 7 d 组相比, HCl 7 d 组、HCl+HP 组及 BLM 组肺部有不同程度的胶

原沉积 (图 4)。HE 染色可见, HCl 7 d 组、HCl+LP 组、HCl+HP 组及 BLM 组肺泡出血、水肿及中性粒细胞浸润较 HCl 24 h 组减轻 (图 5)。

HCl 7 d 组、HCl+HP 组及 BLM 组肺纤维化评分与 NS 7 d 组比较差异均有统计学意义 ( $P$  值均  $< 0.05$ ); HCl+LP 组肺纤维化评分与 NS 7 d 组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 与 HCl 7 d 组相比, HCl+HP 组肺纤维化程度更重 ( $P < 0.05$ )。见表 2、图 6。

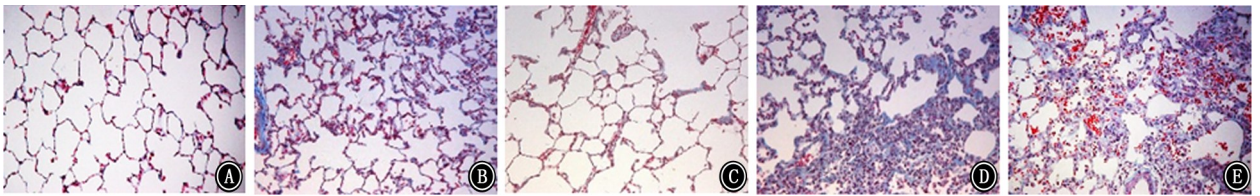
表 2 各组大鼠肺纤维化评分的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数	肺纤维化评分 (分)
生理盐水 7 d 组	5	0.200 $\pm$ 0.447
HCl 7 d 组	5	1.800 $\pm$ 0.837 <sup>a</sup>
HCl+低吸气峰压通气组	5	1.000 $\pm$ 1.000
HCl+高吸气峰压通气组	5	3.800 $\pm$ 1.643 <sup>ab</sup>
博来霉素组	3	4.333 $\pm$ 1.155 <sup>a</sup>
F 值		12.503
P 值		0.000

注: HCl 为盐酸; 与生理盐水 7 d 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 HCl 7 d 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$

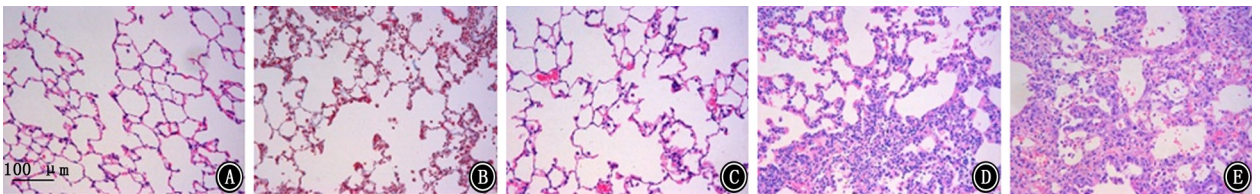
### 3 讨论

ARDS 是由各种肺内、肺外因素导致的急性进行性低氧性呼吸衰竭, 病死率高达 40%。尽管近年来对 ARDS 发生的病理生理、诊断及治疗方面的研究不断深入并取得一定的进步, 但其中的基本机制尚未完全阐明, 而模拟疾病临床发生、发展进程的动物模型是促进疾病基础研究发展的重要手段。



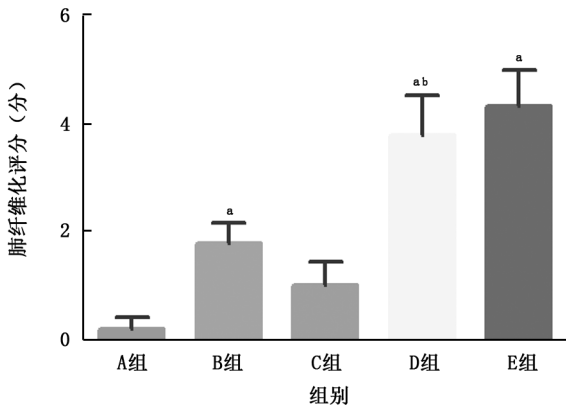
注: HCl 为盐酸

图 4 各组大鼠左肺组织的病理表现 Masson's trichrome 染色  $\times 200$  A: 生理盐水 7 d 组; B: HCl 7 d 组; C: HCl+低吸气峰压通气组; D: HCl+高吸气峰压通气组; E: 博来霉素组



注: HCl 为盐酸

图 5 各组大鼠左肺组织的病理表现 HE  $\times 200$  A: 生理盐水 7 d 组; B: HCl 7 d 组; C: HCl+低吸气峰压通气组; D: HCl+高吸气峰压通气组; E: 博来霉素组



注: HCl 为盐酸; A 组为生理盐水 7 d 组; B 组为 HCl 7 d 组; C 组为 HCl+低吸气峰压通气组; D 组为 HCl+高吸气峰压通气组; E 组为博来霉素组; 与生理盐水 7 d 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 HCl 7 d 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$

图 6 各组大鼠肺纤维化评分的比较

ARDS 的主要病理特征包括: 肺泡-毛细血管上皮屏障的破坏、肺泡上皮细胞损伤、炎症细胞浸润、凝血系统的激活和纤溶系统的抑制<sup>[15-16]</sup>。其临床病程大致分为: 渗出期、增殖期以及纤维化期, 3 个阶段序贯或重叠发生。ARDS 的造模方法相当多, 根据 ARDS 致病因素主要分为 2 种, 一是直接肺损伤模型 (肺内源性), 如反复肺泡灌洗、HCl 灌注、机械通气损伤以及油酸静脉注射; 二是间接肺损伤模型 (肺外源性), 包括严重创伤、射线等物理打击, 盲肠结扎或脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 腹腔注射诱发脓毒症以及缺血-再灌注损伤等<sup>[17-19]</sup>。目前国内外常用的建模方法是使用腹腔注射 LPS、气管灌注 LPS 或气管灌注 HCl。采用的刺激因素和途径不同, 所建立的模型也会表现出不一样的病理生理特征。经腹腔注射 LPS 引起的全身性炎症反应重, 肺局部的炎症反应以及肺泡-毛细血管上皮的损伤较轻<sup>[20]</sup>。经气管灌注 LPS 可以导致肺内大量炎症细胞浸润, 但肺水肿的程度则相对较轻<sup>[21]</sup>。而 HCl 是一种刺激性强的化学物质, 经气管灌注入肺后, 直接损伤肺泡-毛细血管上皮屏障, 引起肺泡-毛细血管上皮细胞通透性增加, 大量富含蛋白质的液体渗出到肺泡腔以及肺间质中, 造成显著的肺水肿<sup>[22]</sup>。

在肺保护通气策略的实施下, 与传统潮气量通气相比, 接受小潮气量通气的 ARDS 患者病死率下降 8.8%<sup>[3]</sup>。随着 ARDS 患者的病死率较前改善, 对于 ARDS 存活患者远期生存质量的关注越来越多。现有的 ARDS 动物模型的应用大多局限于 ARDS 急性期研究, 不能够满足目前对 ARDS 基础研究的需求。已有研究表明, 肺纤维化的发生

是导致 ARDS 患者病死率增加以及存活患者远期生活质量降低的重要因素<sup>[6,9,23-24]</sup>。而机械通气作为 ARDS 患者不可或缺的辅助治疗措施, 与肺纤维化的发生、发展息息相关<sup>[25-26]</sup>。

因此, 本研究拟采用 HCl 灌注联合机械通气的方法, 建立一个更贴近临床的 ARDS 模型, 体现呼吸机相关的 ARDS 肺纤维化的发生。研究结果显示, 使用 HCl 经气管灌注到大鼠肺内 24 h 后, 动脉血气分析显示  $\text{PaO}_2$  显著降低, 氧合指数为 150~250 mmHg, 同时左肺组织病理染色显示明显的肺出血、水肿以及多种炎症细胞浸润, 符合 ARDS 的基本病理生理特征。在此基础上使用高吸气峰压机械通气作为二次打击, 在成功撤机后第 7 天, 左肺组织出现不同程度的肺泡间隔增厚和胶原沉积病灶, 纤维化评分较 NS 7 d 组及 HCl 7 d 组显著增高。该结果表明, 对大鼠进行 HCl 灌注联合高吸气峰压机械通气后, 成功建立了 ARDS 大鼠模型, 且高吸气峰压机械通气加重了 ARDS 大鼠肺纤维化的发生。该模型是目前为数不多的可以重现 ARDS 疾病进程 3 个阶段的动物模型, 能够复制出 ARDS 的肺水肿、出血、炎症细胞浸润等主要病理生理特征, 体现出 ARDS 肺部急性渗出、肺泡间隔增厚及纤维化的改变。胃内容物误吸是临床上常见的 ARDS 诱发因素, HCl 灌注是模拟临床患者的胃内容物误吸; 在 HCl 灌注诱导 ARDS 的基础上加上呼吸机人工通气, 更符合临床 ARDS 患者的实际情况。

综上所述, HCl 灌注联合高吸气峰压机械通气可诱导大鼠急性肺损伤, 加重肺纤维化, 为 ARDS 及其相关性肺纤维化的机制和治疗的基础研究提供了可靠的动物模型。该模型可应用于 ARDS 动态性、长期的实验研究, 对降低 ARDS 病死率和改善 ARDS 存活患者的生活质量具有重要的科学意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参 考 文 献

- [1] ARDS Definition Task Force, Ranieri VM, Rubenfeld GD, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition[J]. JAMA, 2012, 307(23): 2526-2533. DOI: 10.1001/jama.2012.5669.
- [2] 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. DOI: 10.1001/jama.2016.0291.
- [3] Acute Respiratory Distress Syndrome Network, Brower RG, Matthay MA, 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.
- [4] Ochiai R. Mechanical ventilation of acute respiratory distress syndrome [J]. *J Intensive Care*, 2015, 3(1): 25. DOI: 10.1186/s40560-015-0091-6.
- [5] Villar J, Kacmarek RM, Pérez-Méndez L, et al. A high positive end-expiratory pressure, low tidal volume ventilatory strategy improves outcome in persistent acute respiratory distress syndrome: a randomized, controlled trial [J]. *Crit Care Med*, 2006, 34 ( 5 ): 1311-1318. DOI: 10.1097/01.CCM.0000215598.84885.01.
- [6] Herridge MS, Tansey CM, Matté A, et al. Functional disability 5 years after acute respiratory distress syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(14): 1293-1304. DOI: 10.1056/NEJMoa1011802.
- [7] Bienvenu OJ, Colantuoni E, Mendez-Tellez PA, et al. Depressive symptoms and impaired physical function after acute lung injury: a 2-year longitudinal study [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 185 ( 5 ): 517-524. DOI: 10.1164/rccm.201103-0503OC.
- [8] Herridge MS, Cheung AM, Tansey CM, et al. One-year outcomes in survivors of the acute respiratory distress syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2003, 348(8): 683-693. DOI: 10.1056/NEJMoa022450.
- [9] Masclans JR, Roca O, Muñoz X, et al. Quality of life, pulmonary function, and tomographic scan abnormalities after ARDS [J]. *Chest*, 2011, 139 ( 6 ): 1340-1346. DOI: 10.1378/chest.10-2438.
- [10] Heyland DK, Groll D, Caesar M. Survivors of acute respiratory distress syndrome: relationship between pulmonary dysfunction and long-term health-related quality of life [J]. *Crit Care Med*, 2005, 33(7): 1549-1556.
- [11] Orme J Jr, Romney JS, Hopkins RO, et al. Pulmonary function and health-related quality of life in survivors of acute respiratory distress syndrome [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167 ( 5 ): 690-694. DOI: 10.1164/rccm.200206-542OC.
- [12] Wilcox ME, Patsios D, Murphy G, et al. Radiologic outcomes at 5 years after severe ARDS [J]. *Chest*, 2013, 143 ( 4 ): 920-926. DOI: 10.1378/chest.12-0685.
- [13] Vaschetto R, Kuiper JW, Chiang SR, et al. Inhibition of poly ( adenosine diphosphate-ribose ) polymerase attenuates ventilator-induced lung injury [J]. *Anesthesiology*, 2008, 108 ( 2 ): 261-268. DOI: 10.1097/01.anes.0000299434.86640.15.
- [14] Ashcroft T, Simpson JM, Timbrell V. Simple method of estimating severity of pulmonary fibrosis on a numerical scale [J]. *J Clin Pathol*, 1988, 41(4): 467-470.
- [15] Uchida T, Shirasawa M, Ware LB, et al. Receptor for advanced glycation end-products is a marker of type I cell injury in acute lung injury [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 173 ( 9 ): 1008-1015. DOI: 10.1164/rccm.200509-1477OC.
- [16] de Hemptinne Q, Rimmelink M, Brimiouille S, et al. ARDS: a clinicopathological confrontation [J]. *Chest*, 2009, 135 ( 4 ): 944-949. DOI: 10.1378/chest.08-1741.
- [17] Bastarache JA, Blackwell TS. Development of animal models for the acute respiratory distress syndrome [J]. *Dis Model Mech*, 2009, 2(5-6): 218-223. DOI: 10.1242/dmm.001677.
- [18] Liu KD, Matthay MA. Advances in critical care for the nephrologist: acute lung injury/ARDS [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2008, 3(2): 578-586. DOI: 10.2215/CJN.01630407.
- [19] Reiss LK, Uhlig U, Uhlig S. Models and mechanisms of acute lung injury caused by direct insults [J]. *Eur J Cell Biol*, 2012, 91(6-7): 590-601. DOI: 10.1016/j.ejcb.2011.11.004.
- [20] Wang HL, Akinci IO, Baker CM, et al. The intrinsic apoptotic pathway is required for lipopolysaccharide-induced lung endothelial cell death [J]. *J Immunol*, 2007, 179 ( 3 ): 1834-1841.
- [21] Borron P, McIntosh JC, Korfhagen TR, et al. Surfactant-associated protein A inhibits LPS-induced cytokine and nitric oxide production in vivo [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2000, 278 ( 4 ): L840-L847. DOI: 10.1152/ajplung.2000.278.4.L840.
- [22] Zarbock A, Singbartl K, Ley K. Complete reversal of acid-induced acute lung injury by blocking of platelet-neutrophil aggregation [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116 ( 12 ): 3211-3219. DOI: 10.1172/JCI29499.
- [23] Burnham EL, Hyzy RC, Paine R, et al. Chest CT features are associated with poorer quality of life in acute lung injury survivors [J]. *Crit Care Med*, 2013, 41(2): 445-456. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31826a5062.
- [24] Papazian L, Doddoli C, Chetaille B, et al. A contributive result of open-lung biopsy improves survival in acute respiratory distress syndrome patients [J]. *Crit Care Med*, 2007, 35(3): 755-762. DOI: 10.1097/01.CCM.0000257325.88144.30.
- [25] Bulpa PA, Dive AM, Mertens L, et al. Combined bronchoalveolar lavage and transbronchial lung biopsy: safety and yield in ventilated patients [J]. *Eur Respir J*, 2003, 21(3): 489-494.
- [26] Martin C, Papazian L, Payan MJ, et al. Pulmonary fibrosis correlates with outcome in adult respiratory distress syndrome. A study in mechanically ventilated patients [J]. *Chest*, 1995, 107(1): 196-200.

(收稿日期: 2019-01-17)