

# 肺动脉高压肉鸡肺小动脉中膜 5-HT 量及其与肺血管重构的关系

李 英, 曾健滢, 韩前彪, 唐兆新, 李玉谷, 宁章勇, 潘家强\*

(华南农业大学兽医学院, 广州 510642)

**摘 要:** 静脉注射纤维素粒子复制肉鸡肺动脉高压模型, 观察肺小动脉中膜 5-羟色胺(5-HT)表达和肺小动脉管壁病理形态学变化, 探讨 5-HT 与肺血管重构的关系。80 羽科宝肉鸡分为对照组( $n=30$ )和试验组( $n=50$ )。20 日龄时, 试验组每羽鸡静脉注射 0.3 mL 的纤维素悬液; 对照组每羽鸡静脉注射等体积生理盐水。记录肺动脉高压综合征(PHS)发病率, 并分别于 21、28、35、42 d 从各组随机抽样, 测定右心室/全心室质量比(RV/TV)、红细胞压积(PCV)、血红蛋白(Hb)、肺小动脉管壁面积/管总面积(WA/TA)、平均中膜厚度(mMTPA)和肺厚壁末梢血管百分比(TWPV%); 采用免疫组化方法标记 5-HT, 并用病理图像分析软件检测肺小动脉 5-HT 的量。结果表明: 试验组肉鸡 PHS 发病率显著高于对照组( $P<0.05$ ); RV/TV 值在 35、42 d 时显著升高( $P<0.05$ ); PCV 在 28、35 d 时显著升高( $P<0.05$ ); Hb 值在 35 d 时显著升高( $P<0.05$ ); 血管 mMTPA、WA/TA 和 TWPV% 在 35、42 d 时均显著升高( $P<0.05$ ); 肺小动脉 5-HT 含量升高, 在各时间点均差异显著( $P<0.05$ ), 且 5-HT 含量与 mMTPA、WA/TA 和 TWPV% 呈正相关。上述结果表明: 5-HT 在肺动脉高压肉鸡肺血管重构发生过程中起着重要的作用。

**关键词:** 肺动脉高压; 5-羟色胺; 肺血管重构; 纤维素微粒; 肉鸡

中图分类号: S852.2; S858.316.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2011)08-1155-06

## 5-HT Content in Pulmonary Arteriola Media of Broiler with Pulmonary Hypertension and Its Relationship with Pulmonary Vascular Remodeling

LI Ying, ZENG Jian-ying, HAN Qian-biao, TANG Zhao-xin, LI Yu-gu,

NING Zhang-yong, PAN Jia-qiang

(College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** The present study was conducted to examine the 5-hydroxytryptamine (5-HT) content in pulmonary arterioles and the morphological changes of pulmonary arterioles of broiler with pulmonary hypertension induced by intravenous injection of cellulose particles, with the purpose to explore the relationship between 5-HT level and pulmonary vascular remodeling. Eighty broilers were randomized into control group ( $n=30$ ) and test group ( $n=50$ ). In the test group, each chicken was intravenously injected with 0.3 mL cellulose suspension on day 20; while in the control group, each chicken was intravenously injected with 0.3 mL of normal saline. The pulmonary hypertension syndrome (PHS) morbidity was recorded, and samples were taken randomly from each group on day 21, 28, 35 and 42. The right/total ventricular weight ratio (RV/TV), packed cell volume (PCV), hemoglobin (HB), the vessel wall area to vessel total area ratio (WA/TA), mean media thickness in pulmonary arterioles (mMTPA) and the percentage of thick-walled peripheral lung vessels (TWPV%) in pulmonary arterioles were measured respec-

收稿日期: 2011-01-11

基金项目: 国家自然科学基金(30600440)

作者简介: 李 英(1976-), 女, 湖南岳阳市人, 讲师, 博士, 主要从事畜禽营养代谢病研究, Tel: 020-85280248

\* 通讯作者: 潘家强, E-mail: chinapan3000@163.com

tively. The 5-HT content in pulmonary arterioles was determined by using immunohistochemical technique and Image-Pro Plus 4.0 graphic analysis system. The results showed that PHS morbidity in test group were significantly higher than that of control group ( $P < 0.05$ ); RV/TV values in experimental group rose significantly on day 35 and day 42 ( $P < 0.05$ ); PCV values rose significantly on day 28 and day 35 ( $P < 0.05$ ); Hb values were significantly elevated on day 35 ( $P < 0.05$ ); Vascular mMTPA, WA/TA and TWPV% rose significantly on day 35 and day 42 ( $P < 0.05$ ); The WA/TA value, mMTPA and TWPV% in experimental group were significantly higher than that in control group on day 35 and day 42 ( $P < 0.05$ ); 5-HT content in pulmonary arterioles of experimental group was significantly increased at each time point ( $P < 0.05$ ), and the 5-HT content was positively correlated with mMTPA, WA/TA and TWPV%. The results indicated that 5-HT played an important role in pulmonary vascular remodeling.

**Key words:** pulmonary hypertension; 5-HT; Pulmonary vascular remodeling; cellulose particles; Broiler

肉鸡肺动脉高压综合征(pulmonary hypertension syndrome, PHS)是发生于快速生长肉鸡的一种营养代谢性疾病,全世界每年因此病造成的损失高达 10 亿美元<sup>[1]</sup>。其病理学基础是以肺小动脉管壁肥厚和管腔狭窄为主要表现的肺血管重构<sup>[2-3]</sup>,而肺小动脉中膜平滑肌细胞增殖与凋亡的失衡是其主因<sup>[4]</sup>。研究报道,自然发病和人工诱发的 PHS 肉鸡均出现了肺血管重构的病理变化<sup>[5]</sup>。内皮素-1、血小板源生长因子、血管内皮生长因子和蛋白激酶 C $\alpha$ ,都可能是影响肺小动脉中膜平滑肌细胞增殖与凋亡失衡的因素<sup>[3,6-8]</sup>。在哺乳动物肺动脉高压研究中,5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)可通过 5-羟色胺转运体(5-hydroxytryptamine transporter, 5-HTT)进入平滑肌细胞,激活 RhoA/ROCK,促使肺动脉平滑肌细胞过度增殖,导致肺血管重构,5-HTT 抑制剂可减弱肺血管重构<sup>[9-10]</sup>。Chapman 等报道静脉注射纤维素微粒引起血浆 5-HT 升高,5-HT 的血管收缩作用超过其它血管舒张因子(如 NO),血管收缩而引起肺动脉压升高,而 5-HT 受体拮抗剂酮舍林可阻止 5-HT 诱导的肺动脉高压的发生<sup>[11-13]</sup>。5-HT 除了收缩血管引起肺动脉压升高以外,是否还引发了平滑肌细胞增殖过度,导致肺血管重构发生等这一系列问题均未见报道。

本试验采用静脉注射纤维素微粒方法诱导肉鸡肺动脉高压模型,观察 5-HT 在肺动脉高压肉鸡肺血管中的表达变化,探讨肺动脉高压肉鸡肺血管重构的发生机制,为临床防治 PHS 提供新的理论依据和思路。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物分组及处理

14 日龄科宝肉鸡 80 羽随机分为试验组和对照组;试验组( $n=50$ )在 20 d 通过翅静脉注射 CM-32 离子交换纤维素(Cellulose CM-32,平均颗粒直径 24~63  $\mu\text{m}$ , Whatman 公司,批号:4035010)悬液 0.3 mL·只<sup>-1</sup>。纤维素悬液为 0.02 g·mL<sup>-1</sup>纤维素、150 单位·mL<sup>-1</sup>的肝素生理盐水。对照组( $n=30$ )注射同体积生理盐水。

### 1.2 测定指标及方法

1.2.1 PHS 发病率 从 21 d 起,统计各组肉鸡 PHS 的发病率(PHS 的判断标准为腹部积液膨大,腹腔内出现黄色透明积液或胶冻样渗出物,右心/全心比值大于 0.25)<sup>[3,5]</sup>。

1.2.2 PCV、Hb、RV/TV 值 在肉鸡 21、28、35、42 d 时,从各组随机取 5 羽鸡,翅静脉采血 4 mL,肝素抗凝,温氏法测定红细胞压积(PCV),光电比色法测定血红蛋白(Hb)含量。颈椎脱位处死,采集心脏,按 Julian 等<sup>[14]</sup>的方法分别称量右心室和全心室的质量,并计算出右心室与全心室质量比(RV/TV)(单位为 g·g<sup>-1</sup>)。取左侧下 1/3 肺脏于中性甲醛中固定 24h 以上,梯度酒精脱水,二甲苯透明后石蜡包埋,连续切片,切片厚度 5  $\mu\text{m}$ 。

1.2.3 肺血管病理形态学观察 采用 Weigert's 套 Van Gieson's 法对石蜡切片染色,观察肺小动脉管壁的病理形态学变化<sup>[5]</sup>。以 Image-Pro Plus 4.0 型图像分析软件检测各组肉鸡肺动脉管壁面积与管总面积之比(WA/TA)、血管平均中膜厚度

(mMTPA) 及肺厚壁末梢血管百分比 (TW-PV%)<sup>[15]</sup>。每张切片随机挑取直径在 60  $\mu\text{m}$  以下的 10 条肺小动脉进行测定,以其平均值作为该片的代表值。

1.2.4 5-HT 免疫组织化学染色 采用 SABC 试剂盒进行免疫组织化学常规操作。一抗为 5-HT 兔多克隆抗体,稀释度为 1:100, DAB 显色(均购自武汉博士德生物工程有限公司)。各组均设阴性对照,以 PBS 液代替一抗。肺小动脉平滑肌细胞 5-HT 阳性表达部位呈棕黄色。采用 Image-Pro Plus 4.0 型图像分析软件测定肺小动脉 5-HT 阳性表达的光密度值(optical density, OD),以 OD 值代表 5-HT 的量。每张切片随机挑取直径小于 60  $\mu\text{m}$  的肺小动脉 10 条进行测定,取其平均值作为该片的代表值。

### 1.3 数据处理

应用 SAS 软件 *t* 检验进行组间差异显著性比较和变量间相关性分析。2 组间发病率比较采用卡方检验法。

## 2 结 果

### 2.1 PHS 发病率比较

对照组 30 只鸡有 1 只出现临床型 PHS,发病率为 3.33%,试验组 50 只鸡有 6 只发生临床型

PHS,发病率为 12%。经卡方检验,试验组发病率显著高于对照组。PHS 鸡表现为精神沉郁,可视黏膜发绀,腹部膨大,剖检腹腔内充满淡黄色漏出液,肝脏硬化,表面有硬的结节,肺脏出血和淤血,右心肥大和扩张。

### 2.2 PCV、Hb 和 RV/TV 的变化

PCV 增高和血红蛋白含量相对增加是 PHS 肉鸡的 2 个典型的血液学变化,表明机体发生体液流失和血液浓缩。本研究结果显示,28 和 35 d 龄试验组 PCV 值显著高于对照组( $P < 0.05$ )。35 d 龄试验组 HB 值显著高于对照组( $P < 0.05$ )。28 d 龄试验组 HB 值高于对照组,但统计学差异不显著( $P > 0.05$ )。RV/TV 值是诊断肉鸡 PHS 的最可靠的指标。试验组肉鸡 RV/TV 值在 35、42 d 龄均显著高于对照组( $P < 0.05$ )(表 1)。

### 2.3 血管重构指标

2.3.1 肺小动脉病理形态学观察 肺组织弹力纤维染色结果表明,从 28 d 起,试验组肉鸡肺小动脉发生明显肥厚。光镜下观察发现,28~42 d 试验组肉鸡肌性小动脉中膜普遍增厚(图 1A),直径 30~60  $\mu\text{m}$  的肺小动脉内膜增生、管壁肥厚、管腔变小,外膜胶原纤维增生(图 1B)。对照组肉鸡未表现出上述变化(图 1C)。

表 1 不同组间肉鸡 RV/TV、PCV 和 Hb 的比较( $n=5$ )

Table 1 Comparison of right/total ventricle(RV/TV),PCV and Hb in different groups

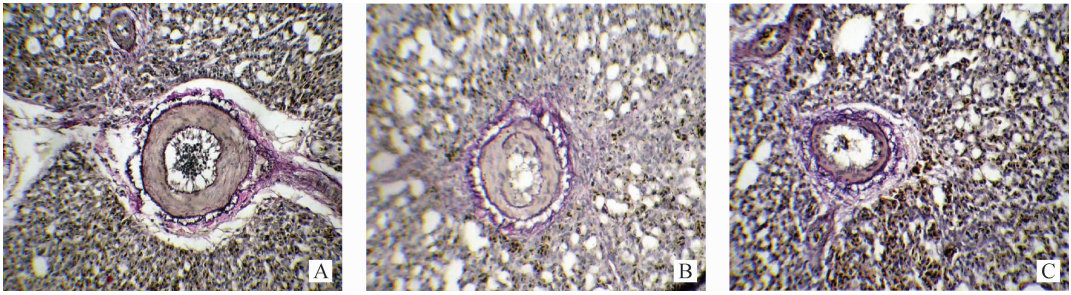
测定指标 Parameter	组别 Groups	日龄 Days of age			
		21	28	35	42
RV/TV	对照组 C	0.160±0.020	0.174±0.019	0.186±0.025	0.207±0.035
	试验组 T	0.169±0.011	0.218±0.069	0.219±0.025*	0.240±0.021*
PCV/%	对照组 C	33.20±2.05	37.40±2.30	35.60±3.78	34.40±1.67
	试验组 T	34.20±1.79	39.20±1.30*	38.60±2.30*	36.00±3.24
Hb/(g·L <sup>-1</sup> )	对照组 C	98.20±8.96	126.60±9.94	119.80±12.68	98.80±6.26
	试验组 T	100.40±7.83	134.20±12.83	135.4±11.3*	100.60±5.98

\* 表示与对照组差异显著 ( $P < 0.05$ ), \*\* 表示对照组差异极显著 ( $P < 0.01$ )。下同

\* Shows difference compared with control group ( $P < 0.05$ ). \*\* Shows significant difference compared with control group ( $P < 0.01$ ). The same as below

2.3.2 静脉注射纤维素对肉鸡肺小动脉 WA/TA、mMTPA 和 TWPV% 的影响 从表 2 可以看出,试验组肉鸡肺小动脉 mMTPA 和 WA/TA 值在 28、35、42 d 龄均高于对照组( $P < 0.05$ )。试验组肉

鸡 TWPV% 在 35、42 d 显著高于对照组;21、28 d 高于对照组,但差异不显著,表明静脉注射纤维素粒子诱发的肺动脉高压肉鸡发生了肺血管重构。



A. 试验组肉鸡肌性肺小动脉中膜增厚; B. 试验组肉鸡肺小动脉内膜增生,管壁肥厚,管腔狭窄,外膜胶原纤维增生; C. 对照组肉鸡肺小动脉

A. Pulmonary arteriole of a broiler from test group shows medial smooth muscle layer hypertrophy; B. Pulmonary arteriole of a broiler from test group shows endarterial muscular arteriole, the inner and outer layer of muscular arteriole show the complete elastic layer; C. Pulmonary arteriole of a broiler from control group.

图 1 肺动脉高压肉鸡肺小动脉病理形态学变化 (Weigert's-Van Gieson's 染色法, 200×)

Fig. 1 Morphopathological changes of the pulmonary arteriole of PAH broiler (Weigert's-Van Gieson's staining method, 200×)

表 2 不同组间 WA/TA、mMTPA 和 TWPV% 值 (n=5)

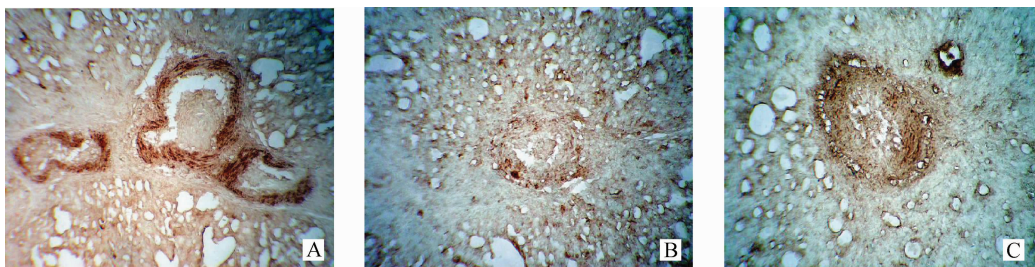
Table 2 The mean medial thickness in pulmonary arterioles (mMTPA), the average ratio of wall area to total area (WA/TA) and the percentage of thick-walled peripheral lung vessels (TWPV%) of broiler in different groups

测定指标 Parameter	组别 Groups	日龄 Days of age			
		21	28	35	42
WA/TA	对照组 C	0.547±0.073	0.533±0.028	0.558±0.062	0.591±0.027
	试验组 T	0.520±0.068	0.580±0.047*	0.632±0.041*	0.644±0.044*
mMTPA	对照组 C	0.328±0.055	0.319±0.033	0.357±0.048	0.355±0.026
	试验组 T	0.322±0.038	0.358±0.032*	0.400±0.020*	0.400±0.042*
TWPV%	对照组 C	0.47±0.11	0.46±0.04	0.44±0.10	0.46±0.08
	试验组 T	0.50±0.10	0.53±0.11	0.56±0.09*	0.57±0.10*

2.4 肺小动脉管壁 5-HT 含量

5-HT 主要分布于肺动脉中膜平滑肌细胞内 (图 2A); 对照组肉鸡肺小动脉平滑肌细胞浆内出现弥漫性阳性反应 (图 2B), 但试验组阳性反应强于对

照组 (图 2C)。图像分析结果表明, 试验组肉鸡肺小动脉平均光密度值较对照组升高, 在各试验时间点都差异显著 (P<0.05) (表 3)。



A. 5-HT 分布于肺动脉中膜平滑肌细胞; B. 对照组肺小动脉 5-HT 阳性着色较浅; C. 试验组肺小动脉 5-HT 呈强阳性着色

A. 5-HT is mainly distributed in pulmonary arteriole medial smooth muscular cells; B. 5-HT is weakly stained within the pulmonary arteriole from a bird in control group; C. 5-HT is strongly stained within the pulmonary arteriole from a bird in test group

图 2 肺小动脉 5-HT 免疫组织化学染色结果 200×

Fig. 2 5-HT immunohistochemical staining of the pulmonary arteriole (IHC, 200×)

表 3 不同组间肺小动脉平均光密度值(5-HT 含量)( $n=5$ )

Table 3 Values of mean optical density (OD, represents 5-HT content in the vessel wall of pulmonary arterioles) in different groups

组别 Group	日龄 Days of age			
	21	28	35	42
对照组 C	0.174±0.008	0.234±0.015	0.214±0.033	0.267±0.074
试验组 T	0.246±0.040**	0.312±0.063**	0.263±0.026*	0.372±0.096*

## 3 讨 论

### 3.1 肉鸡肺动脉高压模型的建立

缺氧是导致肉鸡发生肺动脉高压的直接原因。缺氧引起肉鸡心输出量增加、红细胞数量增多、血液黏滞度升高,导致肉鸡肺动脉压升高,最终引起肉鸡出现右心肥大和腹水等 PHS 的综合症状<sup>[16]</sup>。RV/TV 值升高是反应肺动脉压升高的可靠指标<sup>[14]</sup>。本试验结果表明,试验组肉鸡 RV/TV 值升高,其 PCV 和 Hb 升高,且 PHS 发病鸡数量增多,表明本试验静脉注射纤维素粒子成功诱发了肉鸡的肺动脉高压,这与 Wideman 等报道的结果一致<sup>[17]</sup>。静脉注射纤维素微粒会引起 5-HT<sub>1A</sub>、5-HT<sub>2B</sub>、内皮素-1 表达和血浆中 5-HT 量的增加,促使肺血管收缩,升高肉鸡肺动脉压<sup>[7,18-19]</sup>;另外,微粒阻塞的肺血管缺氧,血管平滑肌细胞增殖与凋亡失衡,肺血管发生重构而导致肺动脉高压<sup>[4]</sup>。

### 3.2 肺动脉高压肉鸡肺小动脉 5-HT 的变化

5-HT 作为一种促有丝分裂原,可促进肺动脉平滑肌细胞增殖,在肺动脉高压肉鸡的肺血管重构发生中发挥了重要作用,但它的促有丝分裂作用必须有 5-HTT 参与<sup>[20]</sup>。5-HTT 将 5-HT 由细胞外转运至细胞内,进入细胞内的 5-HT 激活 RhoA/ROCK 而促进肺动脉平滑肌细胞增殖。由此表明 5-HTT 的表达量与肺小动脉 5-HT 量呈正相关<sup>[21]</sup>。对哺乳动物研究的表明,肺动脉高压可引起肺动脉平滑肌细胞的 5-HTT 表达增加,内化的 5-HT 增多。Guilluy 等发现肺动脉高压患者 5-HTT 过度表达,内化的 5-HT 通过转酰胺基作用被转到肺动脉平滑肌细胞内的 RhoA/ROCK 发挥作用,这一作用可被 5-HTT 抑制剂氟西汀所阻止<sup>[9-10]</sup>,在野百合碱诱导的肺动脉高压大鼠中也有同样的发现<sup>[22]</sup>。本试验结果表明,在肉鸡肺动脉高压发生过程中,肺小动脉 5-HT 量增加,与哺乳动物肺动脉高压发生过程中 5-HT 变化相类似。

### 3.3 5-HT 与肺血管重构的关系

本试验结果表明,肺动脉高压肉鸡发生了以肺小动脉管壁增厚和管腔狭窄为特征的肺血管重构。

重构后的肺血管管壁增厚、管腔缩小、血流阻力增加,故极易导致肉鸡 PHS。多种因素参与了肺血管重构的病理过程,包括血管张力和血流剪切应力升高;内皮素-1、血小板源生长因子和血管内皮生长因子的表达/活性升高等<sup>[6-8]</sup>。近年来,5-HT 在肺血管重构中的作用越来越受到重视。本试验结果表明,在肉鸡肺动脉高压的发生过程中,5-HT 的表达与肺血管重构呈显著正相关,提示 5-HT 表达上调可能促进了肺血管重构的形成。5-HT 通过与其受体结合,激活磷脂酶 C,促进 Ca<sup>2+</sup> 内流,激活 *c-fos* 基因,细胞进入增殖周期<sup>[23]</sup>;另外,由 5-HTT 内化的 5-HT 促增殖作用是由 RhoA/ROCK 路径来完成的<sup>[24]</sup>。在低氧诱导肺动脉高压试验中发现,5-HTT(-/-)小鼠发生肺动脉高压和肺血管重构的数量明显少于 5-HTT(+/-)小鼠<sup>[25]</sup>。血浆中 5-HT 增多、合成 5-HT 的限速酶-色氨酸羟化酶 1、RhoA 以及 5-HTT、5-HT 受体的活性/表达上调均可能促进了哺乳动物肺血管重构的发生<sup>[10,26]</sup>,但肉鸡的肺血管重构是否也与这一系列因素存在有关还未见报道,尚需进一步研究。

## 4 结 论

静脉注射纤维素微粒诱发肉鸡 PHS 发生过程中,肺小动脉平滑肌细胞中的 5-HT 增多,促进平滑肌细胞过度增殖,发生了以肺血管管壁增厚,管腔变窄,血管顺应性降低为特征的肺血管重构,表明 5-HT 在肺动脉高压肉鸡肺血管重构发生过程中起着重要的作用。

## 参考文献:

- [1] MAXWELL M H, ROBERTSON G W. World broiler ascites survey 1996[J]. *Poult Inter*, 1997, 36(4): 16-30.
- [2] 刘健华, 梁礼成, 金久善. 肺血管结构重建与肉鸡肺动脉高压形成的关系[J]. *畜牧兽医学报*, 2003, 34(5): 515-520.
- [3] 李锦春, 王小龙, 孙卫东, 等. 肉鸡肺动脉高压综合征自然病例肺细小动脉病理改变的图象分析[J]. *中国兽医学报*, 1999, 19(5): 479-482.

- [4] TAN X, LIU Y J, LI J C, et al. Activation of PKC $\alpha$  and pulmonary vascular remodelling in broilers[J]. *Res Vet Sci*, 2005, 79(2): 131-137.
- [5] 李锦春, 潘家强, 谭 勋, 等. 间歇光照对肉鸡肺动脉高压综合征发病率及肺血管重构的影响[J]. *中国农业科学*, 2006, 39(7): 1480-1486.
- [6] 谭 勋, 刘艳娟, 潘家强, 等. 低温诱导的肺动脉高压肉鸡肺细小动脉 PKC $\alpha$  表达变化及其与肺血管重构的关系[J]. *中国农业科学*, 2005, 38(9): 1917-1922.
- [7] HAMAL K R, WIDEMAN R F, ANTHONY N B, et al. Differential expression of vasoactive mediators in microparticle challenged lungs of chickens that differ in susceptibility to pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2010, 298(1): R235-242.
- [8] LI J C, PAN J Q, HUANG G Q, et al. Expression of PDGF- $\beta$  receptor in broilers with pulmonary hypertension induced by cold temperature and its association with pulmonary vascular remodeling[J]. *Res Vet Sci*, 2010, 88(1): 116-121.
- [9] MARCOS E, ADNOT S, PHAM M H, et al. Serotonin transporter inhibitors protect against hypoxic pulmonary hypertension[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 168(4): 487-493.
- [10] GUILLY C, EDDAHIBI S, AGARD C, et al. RhoA and Rho kinase activation in human pulmonary hypertension; role of 5-HT signaling[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009, 179(12): 1151-1158.
- [11] 欧德渊, 乔 健, 刘文菊, 等. 两种组胺受体拮抗剂对肺动脉高压肉鸡右心功能的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2008, 39(11): 1588-1593.
- [12] CHAPMAN M E, WIDEMAN R F. Evaluation of the serotonin receptor blockers ketanserin and methiothepin on the pulmonary hypertensive responses of broilers to intravenously infused serotonin[J]. *Poult Sci*, 2006, 85(4): 777-786.
- [13] CHAPMAN M E, TAYLOR R L, WIDEMAN R F. Analysis of plasma serotonin levels and hemodynamic responses following chronic serotonin infusion in broilers challenged with bacterial lipopolysaccharide and microparticles[J]. *Poult Sci*, 2008, 87(1): 116-124.
- [14] JULIAN R J, MCMILLAN I, QUINTON M. The effect of cold and dietary energy on right ventricle hypertrophy, right ventricle failure and ascites in meat-type chickens[J]. *Avian Pathol*, 1989, 18(4): 675-684.
- [15] MORRELL N W, MORRIS K G, STENMARK K R. Role of angiotensin-converting enzyme and angiotensin II in development of hypoxic pulmonary hypertension[J]. *Am J Physiol*, 1995, 269(4 Pt 2): H1186-1194.
- [16] JULIAN R J. Ascites in poultry[J]. *Avian Pathol*, 1993, 22(3): 419-454.
- [17] WIDEMAN R F, ERF G F, CHAPMAN M E, et al. Intravenous micro-particle injections and pulmonary hypertension in broiler chickens: acute post-injection mortality and ascites susceptibility[J]. *Poult Sci*, 2002, 81(8): 1203-1217.
- [18] HAMAL K R, WIDEMAN R F, ANTHONY N B, et al. Differential gene expression of proinflammatory chemokines and cytokines in lungs of ascites-resistant and -susceptible broiler chickens following intravenous cellulose microparticle injection[J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2010, 133(2-4): 250-255.
- [19] CHAPMAN M E, WIDEMAN R F. Evaluation of the serotonin receptor blocker methiothepin in broilers injected intravenously with lipopolysaccharide and microparticles[J]. *Poult Sci*, 2006, 85(12): 2222-2230.
- [20] MARCOS E, FADEL E, SANCHEZ O, et al. Serotonin-induced smooth muscle hyperplasia in various forms of human pulmonary hypertension[J]. *Circ Res*, 2004, 94(9): 1263-1270.
- [21] EDDAHIBI S, FABRE V, BONI C, et al. Induction of serotonin transporter by hypoxia in pulmonary vascular smooth muscle cells. Relationship with the mitogenic action of serotonin[J]. *Circ Res*, 1999, 84(3): 329-336.
- [22] GUIGNABERT C, RAFFESTIN B, BENFERHAT R, et al. Serotonin transporter inhibition prevents and reverses monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats[J]. *Circulation*, 2005, 111(21): 2812-2819.
- [23] 董世山, 利 凯, 王迎春, 等. 钙信号转导与缺氧诱发肉鸡肺动脉平滑肌细胞癌基因 c-fos、c-myc 表达的关系[J]. *畜牧兽医学报*, 2006, 37(8): 824-828.
- [24] BROUGHTON B R, JERNIGAN N L, NORTON C E, et al. Chronic hypoxia augments depolarization-induced Ca<sup>2+</sup>-sensitization in pulmonary vascular smooth muscle through superoxide-dependent stimulation of RhoA[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2010, 298(2): L232-242.
- [25] EDDAHIBI S, HANOUN N, LANFUMEY L, et al. Attenuated hypoxic pulmonary hypertension in mice lacking the 5-hydroxytryptamine transporter gene[J]. *J Clin Invest*, 2000, 105(11): 1555-1562.
- [26] OKA M, FAGAN K A, JONES P L, et al. Therapeutic potential of RhoA/Rho kinase inhibitors in pulmonary hypertension[J]. *Br J Pharmacol*, 2008, 155(4): 444-454.