

## 内皮素在肺动脉高压综合征肉鸡中的作用

万春云<sup>1</sup>, 郭定宗<sup>2\*</sup>, 周东海<sup>2</sup>, 杨世锦<sup>2</sup>, 沈亚菊<sup>2</sup> (1. 长江大学 动物科技学院, 湖北 荆州 434025;  
2. 华中农业大学 动物医学院, 湖北 武汉 430070)

**摘要:** 通过急性试验确定内皮素(Endothelin, ET)对试验肉鸡肺动脉压的升压作用及其量效关系; 在肉鸡快速生长期长时间给予ET, 观察试验鸡发病率变化。结果表明: (1) 在25 ng/kg 剂量静脉给予时, 可引起肉鸡肺动脉压升高并达到与发病鸡相近的水平。(2) 长期给予ET 后, 试验组30 d 发病率为6.7%, 44 d 发病率13.3%, 对照组发病率为0。同时, 试验组红细胞压积(PCV)、腹水心脏指数(AHI)亦显著高于对照组。此结果表明, ET-1 可通过缩血管效应引起肺动脉压升高, 是致发肉鸡腹水综合征的一个重要因素。

**关键词:** 肉鸡; 肺动脉高压综合征; 内皮素

中图分类号: S858.31

文献标识码: A

文章编号: 1005-4545(2007)04-0564-04

## Effects of endothelin on pulmonary hypertension syndrome in broilers

WAN Chun-yun<sup>1</sup>, GUO Ding-zong<sup>2\*</sup>, ZHOU Dong-hai<sup>2</sup>, YANG Shi-jin<sup>2</sup>, SHEN Ya-ju<sup>2</sup>

(1. Veterinary Medical College, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China;

2. Veterinary Medical College, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract** To clarify the action of ET-1 on PHS broiler, clinical PHS cases were divided into groups with age. An acute experiment was used to confirm the effect of endothelin (ET) on experiment broiler and its relevance of effect with the dose on broiler. ET-1 had been administered into broilers for 2 weeks from 15 days to 30 days of age. Results showed: (1) The mean pulmonary artery pressure (PA Pm) of broilers administered with 25 ng/kg by iv had arrived at the level of those in natural cases. (2) The incidence rates of broilers treated with 25 ng/kg ET-1 for 2 weeks were 6.7% and 13.3% respectively at the age of 30 d and 44 d. The packed cell volume and ascites heart index in test broiler were significant higher than in control. All of these demonstrated that PA Pm incidence rates was obvious increased after treated with ET-1. ET-1 was proved to be a necessary factor to induce PHS.

**Key words:** broiler; pulmonary hypertension syndrome; endothelin

\* Corresponding author

肉鸡肺动脉高压综合征(pulmonary hypertension syndrome, HPS), 又称肉鸡腹水综合征(ascites syndrome of broiler, ASB), 是快速生长肉鸡的一种常见疾病, 肺动脉压升高是本病的重要特点, 以明显的腹水和心肺功能衰竭等症状为特征, 此病在我国存在相当普遍, 并且发病后多以死亡告终, 给肉鸡养殖业带来了巨大损失<sup>[1-2]</sup>。一般认为, 肺动脉压升高这一过程在本病发生中起着关键作用。内皮素(Endothelin, ET)是一种重要的缩血管因子, 可以引起病理性肺动脉压升高<sup>[3]</sup>。试验证明, 在本病发生中

存在明显的肺动脉压升高, 升高幅度在20%左右<sup>[4]</sup>; 且我们发现在发病肉鸡体内存在ET水平的明显升高<sup>[5]</sup>; 投给ET的拮抗剂——一氧化氮的诱导物L-精氨酸, 可以使本病发生率下降<sup>[6]</sup>。那么, 我们只要找到一个ET剂量水平和给予方式, 能引起正常肉鸡肺动脉压升高到引起肉鸡发病的肺动脉压水平, 再用此剂量水平长期给予肉鸡, 观察肉鸡发病率是否增加, 就可以确定ET在本病发展中是否具有关键的诱导作用, 从而为本病的发病机理提供新的解释。目前, 还未见有用ET诱导肉鸡肺动脉高压的相关报道, 也还没有ET在本病发生作用的相关论述。

收稿日期: 2005-09-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30270997)

作者简介: 万春云(1978-), 男, 硕士。

\* 通讯作者

## 1 材料与方法

**1.1 主要仪器与试剂** 内皮素购自 sigma 公司, 配制成  $40\ \mu\text{g/L}$  备用; LM S-2A 型二道生理记录仪, 成都仪器厂生产; 外径  $9\ \text{mm}$  的聚乙烯塑料软管, 由中国医学科学院基础研究所生理室提供; YP100 型压力传感器, 高碑店市新航机电设备有限公司生产。麻醉剂, 戊巴比妥钠购自成都化学试剂厂; 生理盐水配成 2% 浓度; 10% EDTA; 分析纯乙醇购自上海振兴化工厂。

**1.2 动物** 试验在湖北武汉市一肉鸡养殖场, 30 日龄常规饲养条件下眼观正常且无腹水的艾维因商品代肉鸡为试验动物。

后期试验在该鸡场内直接隔离场地, 取眼观正常且无腹水肉鸡 100 只, 分为 2 组, 15 日龄起, 每日称重, 试验组静脉给予 ET-1  $25\ \text{ng/kg}$ , 对照组给予生理盐水, 每日 1 次, 常规饲养管理, 于隔离场地内饲养至 30 日龄给药结束, 从 30 日龄起, 每周取样测平均肺动脉压 (mean pulmonary artery pressure, PA Pm), 红细胞压积 (packed cell volume, PCV), 腹水心脏指数 (ascites heart index, AHI), 统计腹水阳性率。

### 1.3 主要检测指标及检测方法

**1.3.1 PCV 测定** 取抗凝血, 加至 PCV 测定管刻度 100 处,  $3\ 000\ \text{r/min}$  离心 30 min, 读取 PCV 值, 再离心 5 min, 如读数无变化, 记录该值, 否则, 继续离心至读数稳定。

**1.3.2 AHI 测定** 取完整心脏, 拭净, 除去淤血, 沿心冠脂肪剪去心房, 称取全心室重 (U), 紧贴横隔与纵隔处沿剪下右心室壁, 称重 (u),  $u/U$  之值即为 AHI。

**1.3.3 肺动脉压测定** 试验鸡按  $6, 12, 25, 36\ \text{ng/kg}$  剂量通过静脉注射、腹腔注射、气管注射和肌肉

注射等方式分别给予 ET-1, 测定在给药后肉鸡肺动脉压的变化。

肉鸡肺动脉压测定时, 试验肉用鸡戊巴比妥钠  $20\ \text{mg/kg}$  静脉注射麻醉。仰卧保定于手术台上, 剪开颈部皮肤, 分离颈静脉, 先在离心端用线结扎, 然后在向心端剪开一小口, 插管, 缓缓前进, 经前腔静脉、右心房、右心室进入肺动脉, 待其稳定后显示的血压即为肺动脉压, 插管所在的位置根据波形判断。

**1.4 数据处理** 对每组内处理组鸡与对照组鸡的 PCV、AHI、NOS 之间做差异显著性分析。

## 2 结果

### 2.1 不同剂量给予时肉鸡 PA Pm 的变化

**2.1.1  $6\ \text{ng/kg}$  剂量给予时肉鸡 PA Pm 的变化** 见图 1。

**2.1.2  $12\ \text{ng/kg}$  剂量给予时肉鸡 PA Pm 的变化** 见图 2。

**2.1.3  $25\ \text{ng/kg}$  剂量给予时肉鸡 PA Pm 的变化** 见图 3。此剂量水平时, 因肌肉注射时其效应不稳定, 故将其淘汰。

**2.1.4 各种剂量不同给药方式间效应的比较**  $6\ \text{ng/kg}$  时, 各种给药方式的效应均呈下降趋势, 这是因为在低剂量时 ET 引起血压降低的结果。  $12\ \text{ng/kg}$  时, 4 种给药方式中肌肉注射和腹腔注射 2 种方式的效应呈上升趋势, 静脉注射和气管注射的效应呈下降趋势。同时, 肌肉注射、腹腔注射和静脉注射 3 种方式上升的幅度最大值分别为  $34.0\%$ 、 $9.6\%$ 、 $11\%$ ; 气管注射方式下降的幅度最大值为  $7.2\%$ 。  $25\ \text{ng/kg}$  时, 腹腔注射、静脉注射和气管注射 3 种给药方式的效应均呈上升趋势, 且上升幅度最大值分别为  $45.2\%$ 、 $32\%$ 、 $22.4\%$ 。静脉给予 ET-1 效果最稳定, 波动图线比较规则。在后期试验中选取静脉给予方式。

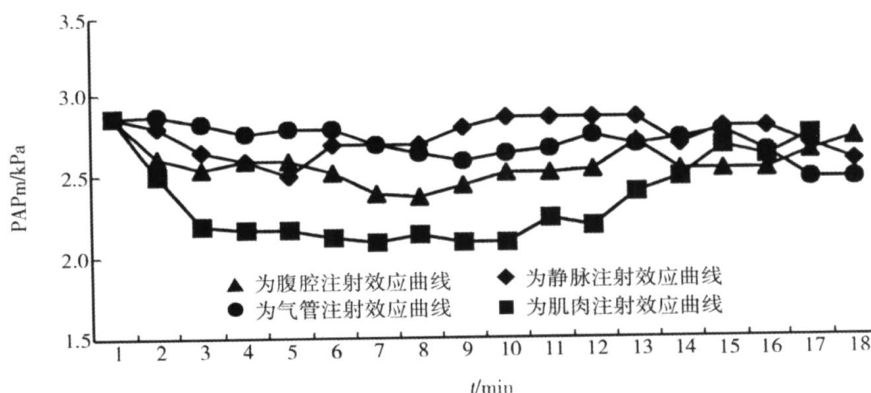


图1  $6\ \text{ng/kg}$  剂量时的效应

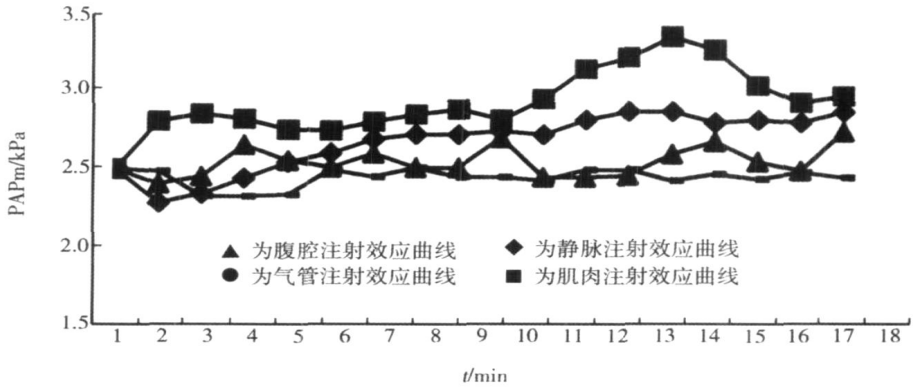


图 2 12 ng/kg 剂量时的效应

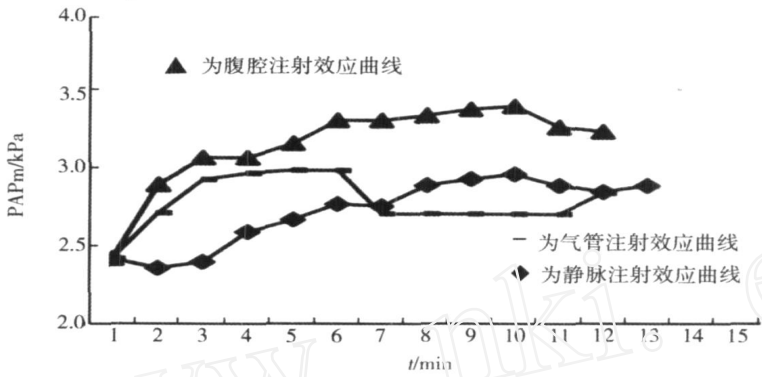


图 3 25 ng/kg 剂量时的效应

2.2 ET 诱导 PHS 试验结果 在 ET-1 长期静脉给予 ET 后, 肉鸡肺动脉高压综合征的发生通过 3 个指标来判定, 即腹水阳性率、PCV、AHI, 这 3 个指标是目前公认的肉鸡肺动脉高压综合征判定指标。

2.2.1 试验组长期给予 ET-1 后腹水阳性率的变化 见表 1。腹水阳性率是肉鸡发生肺动脉高压综合征的一个基本指标, 以出现明显腹腔积水或心包积水, 且涂片镜检为无菌者判定为腹水阳性。

2.2.2 试验组长期给予 ET-1 后 PCV 的变化 见表 2。

2.2.3 试验组长期给予 ET-1 后 AHI 的变化 见表 3。

表 1 ET-1 长期给予时各组腹水阳性率 (n = 30) %

组 别	30 d	37 d	44 d
T	6.7	6.7	13.3
C	0	0	0

注: 1. T 为试验组; 2. C 为对照组。下同

表 2 ET-1 长期给予时各组 PCV %

组别	30 d (n = 4)	37 d (n = 6)	44 d (n = 5)
T	35.2 ± 0.28	35.5 ± 2.24	35.3 ± 0.76
C	28.4 ± 2.26**	32.3 ± 3.56*	35.0 ± 2.00

注: 同日龄组内比较, \* 示  $P < 0.05$ ; \*\* 示  $P < 0.01$ 。下同

表 3 ET-1 长期给予时各组 AHI %

组别	30 d (n = 4)	37 d (n = 6)	44 d (n = 5)
T	21.6 ± 0.57	24.9 ± 1.22	21.9 ± 0.59
C	16.7 ± 0.99**	20.0 ± 3.64**	21.1 ± 1.85

3 讨论

3.1 ET 对试验肉鸡肺动脉压的影响 外源性 ET 在 12 ng/kg 剂量水平可以引起试验肉鸡肺动脉压的明显升高, 但是达不到我们所需要的压力数值。根据我们之前的试验, 一般发病肉鸡的肺动脉压水平比正常高 20% 以上。在 25 ng/kg 剂量条件下, 通过静脉注射的方式, 肉鸡肺动脉压可以稳定在 20% 水平以上 (32%)。

3.2 给予外源性 ET-1 后对肉鸡肺动脉高压综合征发生率的影响 判断肉鸡是否发生本病的依据有 3 个指标, 即 PCV、AHI 和腹水阳性率。AHI 一方面反映右心肥大的程度, 另一方面间接反映肺动脉压的高低, 故称腹水心脏指数是学术界公认的参数, PCV 的增大可以增加肺动脉高压的程度, 他们是一组反映本病发生的早期指标, 同时也在本病发展中一直存在。腹水阳性率则是本病最直观的指标。

本试验结果显示, 试验鸡在给药结束后, 腹水阳性率为6.7%, 继续饲养到44日龄, 腹水阳性率则达到13.3%, 对照组鸡的发病率为0%。同时, 该鸡场内环境、温度控制较好, 空白对照鸡群的发病率也极低, 只有不足1.5%, 试验组鸡出现了明显腹水阳性率。PCV值在停止给药初期, 试验相互间的差异较大, 估计不同个体之间对ET-1长期给予后耐受力有差异, 试验组和对照组也存在极显著差异, 但这2种差异在后期都逐渐减小, 最终差异不明显。AHI的变化与PCV值接近, 前期组间差异较大, 后期逐渐缩小。并且在停止给药早期, 试验鸡的PCV、AHI值与发病鸡的水平很接近。在ET-1停止给予后, 由于ET-1作用时间较短, 肉鸡在失去外源性增高肺动脉压的因素后, 逐渐代偿而恢复为正常水平估计是后期组间差异不明显的原因。

本试验说明, ET在25 ng/kg剂量水平下可以引起试验肉鸡肺动脉压水平显著升高; 在试验鸡给予外源性ET-1后, 可引起肉鸡PHS发病率的增加。根据之前提出的假设, 此试验可以证明, 在肉鸡肺动

脉高压综合征发病过程中, ET是一个极其重要的诱导因子。

(感谢华中农业大学动物医学院基础教研室伍小雄老师, 临床教研室邓干臻老师, 还有提供田间实验场地的朱劲松场长)

## 参考文献:

- [1] 李锦春, 王小龙, 孙卫东. 高钠所致肺动脉高压肉鸡毛细小动脉病理改变的图像分析[J]. 畜牧兽医学报, 2000, 31(5): 441-447.
- [2] 周东海, 郭定宗, 杨世锦, 等. 心钠素在肉鸡腹水综合征发生发展中的作用[J]. 中国兽医学报, 2006, 26(5): 554-557.
- [3] Steward D J, Levy R D, Cernace K P. Increased plasma endothelin-1 in pulmonary hypertension marker or mediator of disease[J]. Am Intern Med, 1991, 114: 464-469.
- [4] 万春云, 郭定宗, 沈亚菊. 肉鸡肺动脉高压综合征自然病例肺动脉压的动态变化[J]. 华中农业大学学报, 2004, 23(3): 320-322.
- [5] 周东海, 郭定宗, 杨世锦, 等. 内皮素对肺动脉高压综合征肉鸡的影响[J]. 中国农业科学, 2004, 37(6): 912-916.
- [6] 王金勇, 王小龙, L-精氨酸对肉鸡肺动脉压和腹水综合征发生的影响[J]. 南京农业大学学报, 2001, 24(2): 98-101.

(上接563页)

在明显的钙超载现象。目前, 在人类医学, 维拉帕米已被广泛用于治疗人的肥大型心脏病。可缓解心室舒张功能异常。在本试验表明, 在28、36和44日龄, 维拉帕米缓解右心肥大。28、36和44日龄, 低温组的AHI>25%发生右心肥大。维拉帕米组AHI分别不同程度的低于低温组AHI, 心肌肥大, 但并没有严重肥大, 低温缺氧可能刺激其它信号转导系统导致心肌细胞肥大。在本试验中维拉帕米具一定降低腹水发病率的作用。可能与其缓解右心肥大有关。

右心肥大是右心舒张功能障碍的重要因素, 可使右心室的顺应性降低, 僵硬程度升高, 最终导致右心灌注减少, 舒张压升高。本试验中, 在28、36和44日龄, 维拉帕米与低温组比不同程度降低RVSP, 我们可以推测维拉帕米阻止了 $Ca^{2+}$ 内流, 降低心肌收缩力, 28和36日龄, 维拉帕米组RVDP分别极显著低于低温组( $P < 0.01$ );

钙拮抗剂阻滞经钙通道之 $Ca^{2+}$ 内流, 降低胞浆内的游离 $Ca^{2+}$ 浓度, 故心肌收缩力相应减弱而呈负性肌力作用。钙离子内流抑制使心肌细胞兴奋-收缩偶联中钙离子的利用减低, 影响收缩蛋白的活动, 心肌收缩减弱<sup>[7]</sup>。从数据显示, 维拉帕米有利于维护肉鸡右心功能的收缩和舒张功能。可能与其阻滞钙通道 $Ca^{2+}$ 内流, 降低心肌细胞胞浆内的游离钙浓度有

关。

从试验结果可以看出, 维拉帕米可有效的预防AS肉鸡右心功能的衰竭, 并可不同程度缓解右心肥大。这一方面说明维拉帕米的确参与了低温诱发肉鸡腹水综合征的发病过程, 另一方面说明维拉帕米能够有效预防肉鸡腹水综合征的发生发展。

## 参考文献:

- [1] Odom T W. Ascites Syndrome: Overview and update[J]. Poultry Dig, 1993, 1: 14-22.
- [2] Shlosberg A, Bendheim U, Emsan B, et al. The effect of poor ventilation, low temperatures, type of feed and sex of bird on the development of ascites in broilers, Physiopathological factors[J]. Avian Pathol, 1991: 369-382.
- [3] 乔健, 李树春, 李连海, 等. 复方中药哈特维(腹水消)对肉鸡腹水综合征的预防作用研究[J]. 中国农业大学学报, 1999, 3(1): 110-112.
- [4] Olkowski A A, Classen H L. Echocardiographic evaluation of heart function in normal chickens and chickens with heart failure and ascites[J]. Poultry Sci, 1999, 78: 250.
- [5] Odom T W, Hargis B M, Lopez CC, et al. Use of electrocardiographic analysis for investigation of ascites syndrome in broiler chicken[J]. Avian Dis, 1991, 35: 738-744.
- [6] 董世山, 利凯, 王迎春, 等. 肉鸡腹水综合征患鸡右心组织钙含量的研究[J]. 畜牧兽医学报, 2005, 36(11): 202-205.
- [7] 苏定冯. 心血管药理学[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 227-237.