

9. Czerkowski J. W., Clapperton J. L.: Lab. Practice 17, 994, 1968.
 10. Daniels L.: Trends Biotechnol. 2, 91, 1984.
 11. Dejneka J., Zięba D.: Weterynaria, Wrocław 19, 177, 1965.
 12. Eckert R., Randall D.: Animal physiology. W. H. Freeman and Comp. San Francisco 1973, s. 476.
 13. Freund J. E.: Podstawy nowoczesnej statystyki. PWE, Warszawa 1971, s. 297.
 14. Jones N. L., Heigenhauser G. F., Campbell E. J. M.: Clin. Sc. Mol. Med. 53, 593, 1977.
 15. Krishna G., Razdan M. N., Roy S. N.: Indian J. Anim. Sci. 48, 366, 1978.
 16. Lustgarten J. A., Creno J. R., Byrd Ch. G., Wenk R. E.: Clin. Chem. 22, 374, 1976.
 17. Ryś R.: Normy żywienia zwierząt gospodarskich. PWRiL, Warszawa 1981, s. 33.
 18. Schmidt-Nielsen K.: Animal Physiology: Adaptation and environment. Cambridge Univ. Press, Cambridge 1979, s. 82.
 19. Wezler K., Thiuer R.: Zeitschrift d. ges. exper. Med. 108, 377, 1940.
 20. Wolin M.: Science 213, 1463, 1981.
 21. Zawadzki W.: Pol. Arch. wet. 27, 111, 1987.
 22. Zawadzki W., Kollek W.: Weterynaria, Wrocław 41, 93, 1984.
 23. Zawadzki W., Leroch Z.: Biul. VI Zjazdu PTNW, Wrocław I, 304, 1978.
 24. Zawadzki W., Zutucki G., Romański K., Muzyczuk J.: Biul. VI Zjazdu PTNW, Wrocław I, 303, 1978.
- Adres autora: dr Wojciech Zawadzki, ul. Barceiarelego 1

Завадский В., Романский К. — Содержание метана в артериальной и венозной крови у овец, кормленных разными кормовыми наборами

Исследования провели на 7 овцах возрастом 2—4 лет, имеющих хроническую фистулу рубца и изолированную общую сонную артерию, из которой брали артериальную кровь для анализов. Пробы крови венозной брали из внешней яремной вены.

Пробы крови и газов рубца брались непосредственно перед кормлением и через 4 часа после утреннего кормления и анализировались на газовых хроматографах (Perkin-Elmer и Pye-Unicam). Заметили, что уровни метана в пробах венозной крови были выше чем в артериальной крови при каждом из 6 применяемых кормовых наборов. Наивысшие уровни метана наблюдались во время кормления овец кормами. Не отметили существенных индивидуальных различий в уровнях метана в артериальной и венозной крови, ни тоже других углеводородов кроме метана.

Zawadzki W., Romański K. — The content of methane in arterial and venous blood in sheep fed with various feeding stuffs

The experiments were carried out on 7 sheep aging from 2 to 4 years with a chronic rumen fistula and the exteriorized common carotic artery for arterial blood samples collection. The venous blood was collected from the external jugular vein. Both blood and rumen gas samples were taken directly before the morning feeding and 4 h afterwards and the were analyzed using the gas chromatographs (Perkin-Elmer and Pye-Unicam). It was found that the level of methane in venous blood samples was higher than in the arterial blood during feeding of animals with all of 6 feeding stuffs. The highest level of methane was observed during feeding of sheep with a bulky feed. No significant individual differences in the level of methane both in arterial and venous blood as well as the presence of other hydrocarbons than the methane were found.

ANDRZEJ LEDWOŻYW

Zmiany w składzie fosfolipidów i kwasów tłuszczowych surfaktantu płucnego świni w czasie życia płodowego oraz we wczesnym okresie postnatalnym*)

Zakład Patofizjologii Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Delikatna struktura pęcherzyków płucnych musi posiadać wyspecjalizowany mechanizm zapewniający ich stabilność i ochronę przed szkodliwymi wpływami środowiska. Funkcję tę spełnia surfaktant płucny. Jest to zespół związków chemicznych absorbujących się na powierzchni pęcherzyków płucnych, na granicy faz gaz—ciecz, posiadających zdolność obniżania napięcia powierzchniowego. Podstawową substancją tego rodzaju jest dipalmitoilofosfatydylocholina, obecna na powierzchni pęcherzyków płucnych w złożonej mieszaninie innych lipidów i białek. Wraz z innymi dwunasyconymi fosfatydylocholinami, stanowi ona 41—58% ogólnej ilości lipidów surfaktantu (43). Mononasycone fosfatydylocholino stanowią 11—29% lipidów surfaktantu. Innym fosfolipidem występującym w niespotykaniu dużych ilościach w surfaktancie płucnym, w porównaniu z innymi tkankami i płynami ustrojowymi, jest fosfatydyloglicerol. Jego ilość może sięgać 10% (42). Dzięki swym właściwościom fizykochemicznym (niższa temperatura przejścia fazowego niż temperatura przejścia fazowego dwunasy-

conych fosfatydylocholin) ułatwia rozprzestrzenianie się tych ostatnich po powierzchni pęcherzyków płucnych w temperaturze ciała (22).

Uważa się, że surfaktant nie posiada właściwości obniżania napięcia powierzchniowego dopóty, dopóki nie istnieją szanse na to, że właściwość ta może być przydatna dla organizmu, zgodnie z zasadą ekonomii przyrody (7, 41). Surfaktant zapobiega też przyklepaniu się warstw śluzu w najdrobniejszych oskrzelikach, do ich ścian (31, 47). Zapewnia także transport zwrotny cząsteczek przedostających się do pęcherzyków płucnych z wdychanym powietrzem (35). Odgrywa też rolę w fagocytocie makrofagów pęcherzykowych (23).

Niewiele jest wiadomości na temat rozwoju ontogenetycznego surfaktantu płucnego u ssaków. U człowieka jego produkcja staje się wykrywalna między 25 a 30 tygodniem życia płodowego, zaś zdolności do obniżania napięcia powierzchniowego nabiera on między 33 a 36 tygodniem ciąży (51). Frakcja fosfatydyloglicerolu pojawia się między 35 a 38 tygodniem ciąży (39), u owiec zaś na 20—30 dni przed porodem (17). „Dojrzewanie” surfaktantu, czyli

*) Badania wykonane w ramach programu CPBP 05.06.4.

zmiany w jego składzie prowadzące do uzyskania zdolności obniżania napięcia powierzchniowego, polega na zwiększaniu się ilości fosfatydylocholine a w szczególności jej formy dwunasyconej (16, 38). Obserwowano też przejściowy wzrost ilości fosfatydyloinozytolu, zastępowanego w późniejszych okresach ciąży przez fosfatydyloglicerol (19).

W piśmiennictwie nie napotkano na dane dotyczące kształtowania się surfaktantu płucnego u dużych zwierząt gospodarskich w ich rozwoju ontogenetycznym, dlatego postanowiono prześledzić zmiany w składzie fosfolipidów i kwasów tłuszczowych dwu najważniejszych frakcji, tj. fosfatydylocholine i fosfatydyloglicerolu surfaktantu płucnego świni w czasie życia płodowego i we wczesnym okresie postnatalnym.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły płuca płodów, prosiąt 2-tygodniowych i 4-tygodniowych oraz dorosłych świń rasy wbp. Przebadano 94 płody, 12 prosiąt i 12 samic świń dorosłych, podzielonych na grupy wiekowe:

- A — 28—42 dni życia płodowego (14 sztuk)
- B — 43—56 dni życia płodowego (17 sztuk)
- C — 57—70 dni życia płodowego (16 sztuk)
- D — 71—84 dni życia płodowego (18 sztuk)
- E — 85—98 dni życia płodowego (14 sztuk)
- F — 99—114 dni życia płodowego (15 sztuk)
- G — prosięta 2-dniowe (6 sztuk)
- H — prosięta 4-tygodniowe (6 sztuk)
- I — samice dorosłe (12 sztuk)

Wiek płodów określono na podstawie pomiarów długości ciemieniowo-ogonowej (28). Płuca płodów i świń dorosłych uzyskiwano w miejscowych Zakładach Mięsnych, prosięta pochodziły z RSP w Sosnowicy.

Surfaktant płucny otrzymywano i oczyszczano wg Oultona i wsp. (37). Oczyszczoną frakcję zawieszano w 0,154 M NaCl i lipidy ekstrahowano wg Folcha i wsp. (15). Lipidy analizowano metodą dwukierunkowej chromatografii cienkowarstwowej używając mieszaniny diizobutylketon — kwas octowy — woda 8:5:1 obj. w pierwszym kierunku i układu chloroform — metanol — woda 65:25:4 obj. w drugim kierunku (50) na płytkach z żelazem krzemionkowym G (E Merck, Darmstadt, RFN). Chromatogramy uwidaczniano w parach jodu i poszczególne związki identyfikowano przez porównanie ich lokalizacji na chromatogramie z lokalizacją wzorców (Sigma, St. Louis, USA). Uwidocznione plamy zdrapywano z płytki i żel ekstrahowano 5 ml mieszaniny chloroform — metanol 2:1 obj. Ekstrakt odparowywano do sucha w próżni i w suchej pozostałości oznaczano fosfor wg Bartletta (5). Ilość dwunasyconej fosfatydylocholine oznaczano wg Masona i wsp. (32).

W równoległym doświadczeniu strefy żelu zawierające fosfatydylocholinę i fosfatydyloglicerol zdrapywano z płytki, żel ekstrahowano 2×5 ml mieszaniny chloroform — metanol 1:1 obj. połączone ekstrakty odparowywano do sucha w próżni i kwasy tłuszczowe zmydlało roztworem KOH w metanolu (2). Po zakwaszeniu 1 M HCl do pH=2,0 kwasy ekstrahowano eterem naftowym i przeprowadzano w estry metylole działaniem BF₃ w metanolu (Dr Theodor Schuchardt, Hohenbrunn, RFN) (36). Skład i ilość kwasów tłuszczowych oznaczano metodą chromatografii gazowej na aparacie Perkin Elmer F 30 (Perkin Elmer Ltd., Beaconsfield, Anglia) (21). Identyfikację poszczególnych składników przeprowadzano przez porównanie czasów ich retencji z czasami retencji wzorców (Applied Sciences, State College, USA). Jako standardu wewnętrznego użyto kwasu margarynowego. Statystyczną istotność różnic uzyskanych wyników

analizowano testem t-Studenta dla zmiennych niepołączonych lub testem znakowanych rang Wilcoxon.

Wyniki i omówienie

Tabela 1 przedstawia skład fosfolipidów surfaktantu płucnego świni od 28 dnia życia płodowego, prosiąt 2-dniowych i 4-tygodniowych oraz świń dorosłych. Ilość dwunasyconej fosfatydylocholine wzrastała stale w okresie życia płodowego, nagły wzrost obserwowano u prosiąt 2-dniowych. U prosiąt 4-tygodniowych ilość tego fosfolipidu obniżała się, osiągając wartość stwierdzoną u osobników dorosłych. Ilość fosfatydylocholine utrzymywała się na stałym poziomie do 85—98 dnia życia płodowego, natomiast w dwu ostatnich tygodniach życia wewnątrzmacicznego oraz w 2 dni po urodzeniu następowało gwałtowne zwiększenie się ilości tej frakcji. W późniejszym okresie (u prosiąt 4-tygodniowych) wystąpił niewielki spadek ilości tego fosfolipidu. Ilość fosfatydyloinozytolu rosła w okresie życia płodowego, osiągając najwyższy poziom u płodów 85—98 dniowych. U płodów w dwu ostatnich tygodniach życia płodowego ilość tego fosfolipidu obniżała się, a tendencja ta utrzymywała się także po urodzeniu. Ilość sfingomieliny zmniejszała się stale do 2 dnia po urodzeniu, natomiast u prosiąt 4-tygodniowych zanotowano wzrost ilości tej frakcji. Bardzo niskie stężenia fosfatydyloglicerolu stwierdzono dopiero u płodów 71—84 dniowych a jego ilość gwałtownie zwiększała się u prosiąt 2-dniowych i nadal rosła w późniejszym okresie.

Rycina 1 przedstawia ilość fosfatydylocholine surfaktantu płucnego badanych grup płodów, prosiąt i świń dorosłych. Do 71—84 dnia życia płodowego ilość jej była znikomą (około 10 µg/ml), w drugiej połowie ciąży obserwowano znaczny wzrost stężenia tego fosfolipidu: u prosiąt 2-dniowych jej poziom osiągał około 70 µg/ml. Podobnie kształtowały się zmiany ilości sfingomieliny, jednak najwyższe jej stężenia obserwowano w odstępach 2 tygodniowych przed urodzeniem (rycina 2).

Tabela 2 przedstawia skład kwasów tłuszczowych frakcji fosfatydylocholine surfaktantu płucnego w rozwoju ontogenetycznym świni. Ilość kwasu palmitynowego utrzymywała się na stałym poziomie do 98 dnia życia płodowego. Główny wzrost obserwowano u płodów 99—114 dniowych, jednak u prosiąt 2-dniowych następował ponowny spadek jego ilości. Zauważyć też należy spadek ogólnej ilości nienasyconych kwasów tłuszczowych z serii w3, w6 i w9, szczególnie wyraźnie widoczny w dwu ostatnich tygodniach życia płodowego, zastępowanych następnie przez nasycone kwasy tłuszczowe.

Tabela 3 przedstawia skład kwasów tłuszczowych frakcji fosfatydyloglicerolu surfaktantu płucnego badanych zwierząt. U płodów 14—16 tygodniowych obserwowano niewielki wzrost ilości kwasu palmitynowego i przejściowy wzrost

Tab. 1. Fosfolipidy surfaktantu płucnego (% molowy) świni w rozwoju ontogenetycznym ($\bar{x} \pm s$)

Fosfolipid	A(14)	B(17)	C(16)	D(18)	E(14)	F(15)	G(6)	H(6)	I(12)
DSPC	37,5 \pm 2,0 ^a	38,8 \pm 2,1 ^a	44,1 \pm 2,0 ^a	42,4 \pm 2,1 ^a	48,6 \pm 2,2 ^a	55,0 \pm 2,5	64,3 \pm 2,6 ^a	58,0 \pm 2,4	57,3 \pm 2,4
PC	64,1 \pm 2,2 ^a	65,4 \pm 2,3 ^a	66,3 \pm 2,2 ^a	68,4 \pm 2,4 ^a	71,5 \pm 2,5 ^a	75,3 \pm 2,5	80,4 \pm 2,6 ^b	77,3 \pm 2,5	76,4 \pm 2,1
PE	13,5 \pm 0,9 ^a	13,1 \pm 0,8 ^a	12,6 \pm 0,7 ^a	12,1 \pm 0,8 ^a	10,3 \pm 0,7 ^a	8,2 \pm 0,6 ^a	6,1 \pm 0,5 ^a	5,2 \pm 0,4 ^a	4,6 \pm 0,3
PS	6,7 \pm 0,5 ^a	6,6 \pm 0,5 ^a	6,3 \pm 0,5 ^a	6,2 \pm 0,4 ^a	5,3 \pm 0,4 ^a	4,1 \pm 0,3 ^a	2,1 \pm 0,2 ^a	1,7 \pm 0,2 ^a	1,4 \pm 0,2
PI	6,2 \pm 0,5 ^a	6,8 \pm 0,6 ^a	7,5 \pm 0,6 ^a	8,7 \pm 0,6 ^a	11,3 \pm 0,6 ^a	9,2 \pm 0,5 ^a	6,4 \pm 0,4 ^a	5,2 \pm 0,4 ^a	4,1 \pm 0,3
PG	—	—	—	0,4 \pm 0,1 ^a	0,5 \pm 0,1 ^a	1,4 \pm 0,1 ^a	3,5 \pm 0,3 ^a	4,1 \pm 0,3 ^a	6,5 \pm 0,5
Sph	9,5 \pm 0,5 ^a	8,1 \pm 0,5 ^a	7,3 \pm 0,5	4,2 \pm 0,2 ^a	1,1 \pm 0,1 ^a	1,8 \pm 0,2 ^a	1,5 \pm 0,1 ^a	6,5 \pm 0,5	7,0 \pm 0,5

Objaśnienia: w nawiasach podano liczebność grup. DSPC dwunasycona fosfatydylocholina, PC — fosfatydylocholina, PE — fosfatydyloetanolamina, PS — fosfatydyloseryna, PI — fosfatydyloinozytol, PG — fosfatydyloglicerol, Sph — sfingomielina, a — $p \leq 0,05$ (względem grupy I).

Tab. 2. Skład kwasów tłuszczowych frakcji fosfatydylocholino surfaktantu płucnego świni (% molowy) w rozwoju ontogenetycznym ($\bar{x} \pm s$)

łańcuch acylowy	A(14)	B(17)	C(16)	D(18)	E(14)	F(15)	G(6)	H(6)	I(12)
16:0	42,5 \pm 4,1 ^a	42,8 \pm 4,0 ^a	42,9 \pm 3,9 ^a	43,2 \pm 4,4 ^a	42,5 \pm 4,3 ^a	71,4 \pm 7,2 ^a	64,3 \pm 6,2	61,4 \pm 4,3	62,2 \pm 3,7
18:0	3,0 \pm 0,2	2,9 \pm 0,2	2,8 \pm 0,3	2,9 \pm 0,4	2,9 \pm 0,4	2,5 \pm 0,3 ^a	2,9 \pm 0,4	2,8 \pm 0,3	2,8 \pm 0,3
18:1 ω 9	7,2 \pm 0,6 ^a	7,3 \pm 0,6 ^a	7,2 \pm 0,5 ^a	7,1 \pm 0,8 ^a	6,8 \pm 0,7 ^a	3,5 \pm 0,4	2,4 \pm 0,4	3,3 \pm 0,4	3,2 \pm 0,4
18:2 ω 6	7,9 \pm 0,5 ^a	7,8 \pm 0,6 ^a	7,7 \pm 0,6 ^a	7,8 \pm 0,8 ^a	7,6 \pm 0,8 ^a	3,2 \pm 0,4 ^a	3,1 \pm 0,3 ^a	2,4 \pm 0,3	2,3 \pm 0,3
18:3 ω 3	5,7 \pm 0,5 ^a	5,7 \pm 0,6 ^a	5,8 \pm 0,5 ^a	5,9 \pm 0,6 ^a	6,4 \pm 0,7 ^a	1,4 \pm 0,2 ^a	1,4 \pm 0,2 ^a	1,3 \pm 0,2	1,2 \pm 0,2
20:3 ω 6	5,9 \pm 0,5 ^a	6,0 \pm 0,6 ^a	6,1 \pm 0,5 ^a	6,1 \pm 0,7 ^a	5,8 \pm 0,6 ^a	1,5 \pm 0,2	1,5 \pm 0,2	1,5 \pm 0,2	1,4 \pm 0,2
20:4 ω 6	4,8 \pm 0,4 ^a	4,8 \pm 0,4 ^a	5,0 \pm 0,4 ^a	5,0 \pm 0,5 ^a	5,1 \pm 0,6 ^a	0,4 \pm 0,04 ^a	0,3 \pm 0,03	0,3 \pm 0,04 ^a	0,2 \pm 0,03
liczne*	23,0 \pm 1,7 ^a	22,7 \pm 1,8 ^a	22,5 \pm 1,9 ^a	22,3 \pm 1,8 ^a	22,9 \pm 2,0 ^a	16,1 \pm 1,2 ^a	24,1 \pm 2,1 ^a	27,0 \pm 2,3	26,7 \pm 2,4
Ogółem ω 3	8,2 \pm 0,5 ^a	8,0 \pm 0,6 ^a	7,7 \pm 0,6 ^a	7,0 \pm 0,5 ^a	7,6 \pm 0,8 ^a	2,7 \pm 0,3	2,7 \pm 0,3	2,7 \pm 0,3	2,5 \pm 0,3
Ogółem ω 6	28,6 \pm 1,6 ^a	28,1 \pm 1,5 ^a	27,7 \pm 1,5 ^a	27,0 \pm 1,4 ^a	26,3 \pm 1,7 ^a	8,2 \pm 0,6 ^a	7,9 \pm 0,8 ^a	7,2 \pm 0,5	6,8 \pm 0,5
Ogółem ω 9	13,4 \pm 1,1 ^a	12,8 \pm 1,0 ^a	12,7 \pm 1,0 ^a	12,4 \pm 1,0 ^a	12,8 \pm 1,1 ^a	6,0 \pm 0,4	5,8 \pm 0,4 ^a	6,0 \pm 0,5	6,3 \pm 0,5

Objaśnienia: w nawiasach podano liczebność grup. Skróco ny zapis kwasów tłuszczowych: pierwsza liczba=liczba atomów węgla w łańcuchu acylowym, druga liczba=liczba podwójnych wiązań, trzecia liczba=liczba atomów węgla od końca metylowego do najbliższego podwójnego wiązania. Inne* obejmuje kwasy: 12:0, 14:0, 14:1 ω 5, 20:0, 20:1 ω 9, 20:2 ω 6, 20:4 ω 3, 22:0, 22:1 ω 9, 22:3 ω 6, 22:4 ω 6, 22:5 ω 6, 22:6 ω 3, 24:1 ω 9, a — $p < 0,05$ względem grupy I).

ilości kwasu olejowego w dwu ostatnich tygodniach ciąży i u prosiąt 2-dniowych. Zauważyć też można prawie 2-krotny wzrost ilości kwasu linolenowego po urodzeniu.

Surfaktant płucny powstaje w dużych komórkach, zwanych pneumocytami typu II (9). W komórkach tych obecne są tzw ciała lamellarne, będące miejscami magazynowania surfaktantu (4), chociaż wyniki pewnych badań wskazują na możliwość jego syntezy w tych organellach (30, 45). Zasadniczym jednak miejscem jego syntezy jest siateczka endoplazmatyczna gładka i aparat Golgiego (12, 33). Wyszogrodski i wsp. stwierdzili, że produkcja surfaktantu pozostaje pod kontrolą napięcia powierzchniowego w pęcherzykach płucnych, na drodze ujemnego sprężenia zwrótnego (53). Wyniki wielu badań wskazują na to, że surfaktant płucny dojrzewa dopiero w ostatnich dniach przed porodem. W

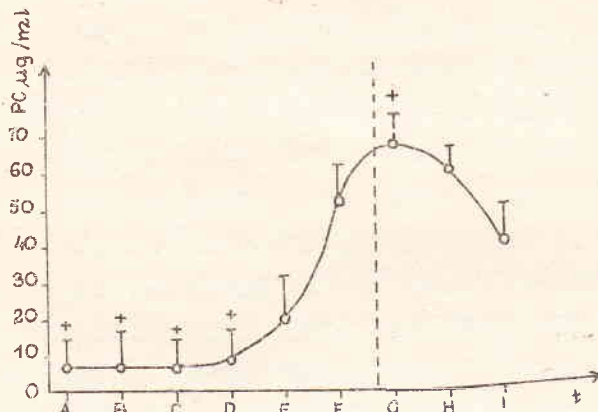
niniejszej pracy obserwowano znaczny wzrost ilości dwunasyconej fosfatydylocholino u prosiąt 2-dniowych w porównaniu z płodami 14—16 tygodniowymi, wzrastała też znacznie ilość fosfatydylocholino i fosfatydyloglicerolu. Także wartość stosunku fosfatydylocholino/sfingomielina była wyższa u prosiąt 2-dniowych, obniżając się znacznie u prosiąt 4-tygodniowych, u których osiągała poziom porównywalny z poziomem stwierdzonym u osobników dorosłych. U płodów w dwu ostatnich tygodniach życia wewnątrzmacicznego najwyższy był też stosunek ilości kwasów nasyconych do nienasyconych we frakcji fosfatydylocholino i fosfatydyloglicerolu surfaktantu płucnego.

Longmuir i wsp. stwierdzili, że wartość fosfatydylocholino w ciałkach lamellarnych izolowanych z płuc płodów króliczych w 21 dniu życia płodowego, jest znacznie niższa niż u oso-

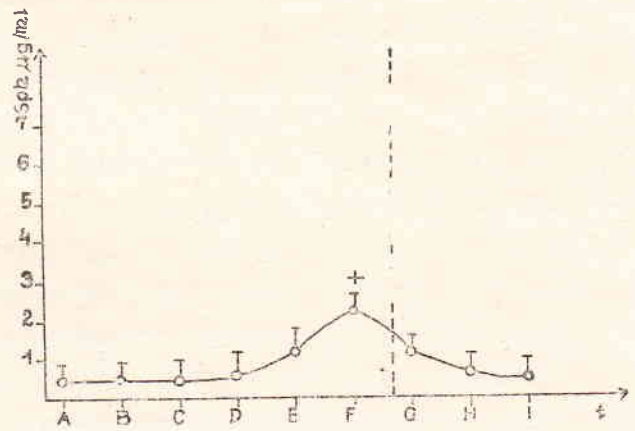
Tab. 3. Skład kwasów tłuszczowych frakcji fosfatydyloglicerolu surfaktantu płucnego świni (% molowy) w rozwoju ontogenetycznym ($\bar{x} \pm s$)

Wzrostek acylowy	D(18)	E(14)	F(15)	G(6)	H(6)	I(12)
16:0	42,6 ± 2,3 ^a	44,4 ± 2,5	45,2 ± 2,5 ^a	55,3 ± 3,1	55,4 ± 2,7	53,5 ± 2,7
18:0	5,7 ± 0,4	5,4 ± 0,4	6,2 ± 0,6	5,4 ± 0,5	5,1 ± 0,4	5,3 ± 0,6
18:1 9	18,3 ± 1,4	19,2 ± 1,6	21,3 ± 1,8 ^a	20,4 ± 1,6 ^a	18,4 ± 1,5	18,3 ± 1,4
18:2 6	2,2 ± 0,2 ^a	2,7 ± 0,3 ^a	3,3 ± 0,4	3,4 ± 0,4	3,5 ± 0,4	3,6 ± 0,4
18:3 3	0,7 ± 0,08 ^a	0,7 ± 0,08 ^a	0,8 ± 0,09 ^a	1,7 ± 0,2 ^a	1,8 ± 0,2 ^a	1,5 ± 0,1
20:3 6	0,4 ± 0,05	0,4 ± 0,05	0,5 ± 0,06	0,5 ± 0,05	0,5 ± 0,06	0,5 ± 0,05
20:4 6	0,1 ± 0,02 ^a	0,3 ± 0,03 ^a	0,7 ± 0,08 ^a	0,8 ± 0,08	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,09
Inne ^x	30,0 ± 2,1 ^a	26,9 ± 2,2 ^a	22,0 ± 2,0 ^a	12,5 ± 1,0 ^a	14,5 ± 1,1	16,5 ± 1,2
Ogółem 3	3,3 ± 0,4 ^a	3,1 ± 0,3 ^a	2,7 ± 0,3	2,4 ± 0,2	2,3 ± 0,3	2,2 ± 0,3
Ogółem 6	5,9 ± 0,4 ^a	6,2 ± 0,4	6,5 ± 0,5	6,6 ± 0,6	6,7 ± 0,8	6,6 ± 0,7
Ogółem 9	32,2 ± 1,5 ^a	33,5 ± 1,6 ^a	30,4 ± 1,5 ^a	24,8 ± 1,4	23,5 ± 1,5	24,2 ± 1,4

Objaśnienia: jak w tab. 2. Pozostałe uwagi jak do tab. 1



Ryc. 1. Stężenia fosfatydylocholiny (PC) w surfaktancie płucnym świni w rozwoju ontogenetycznym ($\bar{x} \pm s$). + — $p < 0,05$ (względem grupy I).



Ryc. 2. Stężenia sfingomieliny (Sph) w surfaktancie płucnym świni w rozwoju ontogenetycznym ($\bar{x} \pm s$). + — $p < 0,05$ (względem grupy I).

bników dorosłych, niższa też jest zawartość fosfatydyloglicerolu i dwunasyconej fosfatydylocholiny. Ciałka lamellarne izolowane z płuc króliczych w 23 dniu życia płodowego miały też o 30% niższą zawartość kwasu palmitynowego i o 50% niższą zawartość kwasu stearynowego, niż ciałka lamellarne izolowane z płuc osobników dorosłych (30). Rooney i wsp. stwierdzili, że wzmoczenie wbudowywania znakowanej radioaktywnie choliny do frakcji fosfatydylocholiny tkanki płuc królika następuje począwszy od 27 dnia życia płodowego (44). Między 21 a 28 dniem życia płodowego u królików zanotowano też spadek intensywności syntezy fosfatydyloinozytoli i wzrost syntezy fosfatydyloglicerolu (34). Patterson i wsp. wykazali, że najszybsze wbudowywanie substratów służących do syntezy poszczególnych składników surfaktantu do frakcji lipidowych płuc występuje w przededniu porodu i zbiega się w czasie z najszybszym wbu-

dywaniem choliny w dwunasyconą fosfatydylocholinę i maksymalnym jej stężeniem w tkance (40). Także w badaniach morfologicznych z użyciem mikroskopu elektronowego stwierdzono pojawianie się ciałek lamellarnych w pneumocytach typu II u królika w 27—28 dniu życia płodowego (27, 29).

Stwierdzono też, że u myszy dopiero surfaktant pochodzący od płodów 18-dniowych posiada zdolność obniżania napięcia powierzchniowego (8). Rozwój systemu surfaktantu nie kończy się w momencie urodzenia. Ishidate i Weinhold stwierdzili nagły wzrost ilości di- i triacylogliceroli w 1 dniu po urodzeniu u szczurów (24). Jobe i wsp. stwierdzili 2-krotny wzrost ilości fosfatydylocholiny w płucach królików między 12 a 300 godziną po urodzeniu (25). Ward i Roberts stwierdzili 2,5-krotny wzrost ilości fosfolipidów oraz wyraźny spadek ilości fosfatydyloinozytoli i fosfatydyloseryny między 6 a 96 go-

dziną po urodzeniu u królików (52). Inni autorzy także obserwowali wzrost ilości fosfolipidów w tkance płuc bezpośrednio po urodzeniu (26, 46). Oulton i wsp. stwierdzili wzrost ilości fosfolipidów w tkance płuc królików począwszy od 29 dnia życia płodowego; nagłe przyspieszenie wzrostu następowało w 1 dniu po urodzeniu, a ich ilość nadal wzrastała w późniejszym okresie. Ilość fosfatydylocholiney wzrastała 2,5-krotnie w 1 dniu po urodzeniu w porównaniu z płodami 27-dniowymi. Także poziom fosfatydyloglicerolu wzrastał od ilości niewykrywalnych u płodów 27-dniowych do 4% ogólnej ilości fosfolipidów u zwierząt 1-dniowych. W tym okresie zmniejszała się wyraźnie ilość fosfatydyloetanalaminy, fosfatydyloseryny i sfingomieliiny, w składzie kwasów tłuszczowych obserwowano natomiast wzrost ilości kwasu palmitynowego i palmitoleinowego we frakcji fosfatydylocholiney (37). Zmiany stwierdzone w niniejszej pracy w ogólnych zarysach są podobne do zmian opisywanych w cytowanym piśmiennictwie, zachodzą jednak w innych przedziałach czasowych, co jest związane z inną długością ciąży u świń.

U większości zwierząt wystarczająca ilość pęcherzyków płucnych tworzy się dopiero po urodzeniu (51). Dokładna analiza zjawisk anatomicznych zachodzących w płucach szczura w okresie postnatalnym wykazała, że rejon wymiany gazowej u noworodków tego samego gatunku jest zbudowany z dużych struktur o grubych ściankach, przypominających raczej woreczki niż pęcherzyki (10). W 3—4 dniu po urodzeniu woreczki te dzielą się na mniejsze podjednostki; proces ten kończy się w 14 dniu po urodzeniu. Zcieńczenie ścian pęcherzyków rozpoczyna się w drugim tygodniu po urodzeniu i kończy pod koniec tego okresu (11). Podobne zmiany zachodzą u królika i kota (14), myszy (3) oraz człowieka (6, 13), oczywiście w różnych skalach czasowych. Obserwowane w niniejszej pracy zmiany biochemiczne zachodzące w składzie surfaktantu płucnego po urodzeniu, prawdopodobnie także związane są z mającymi miejsce w tym czasie zmianami anatomicznymi.

W piśmiennictwie nie napotkano prac opisujących wcześniejsze stadia rozwoju surfaktantu płucnego. Gutherowi i wsp. nie powiodło się wyizolowanie surfaktantu płucnego z płuc płodów króliczych we wcześniejszych stadiach niż 26 dzień życia płodowego (18).

Fosfatydylocholina syntetyzowana jest w płucach na drodze fosforylacji choliny, sprzężanej następnie z diacyloglicerolem, lub na drodze metylacji fosfatydyloetanalaminy (17). Pierwsza z nich jest główną drogą syntezy fosfatydylocholiney i aktywność tego szlaku metabolicznego rozpoczyna się u człowieka w 35—36 tygodniu życia płodowego. Synteza fosfatydylocholiney na drodze metylacji fosfatydyloetanalaminy rozpoczyna się dużo wcześniej, bo w 22 tygodniu życia wewnątrzmacicznego. Płyn owod-

niowy w pierwszej połowie ciąży traktować można jako część przestrzeni pozakomórkowej płodu, od końca jednak tego okresu jego skład ulega zmianom na skutek wydzielania przez płód moczu i polykania płodowego (1). Pappas i wsp. stwierdzili obecność fosfatydylocholiney i sfingomieliiny w płynie owodniowym już od 18 tygodnia ciąży u człowieka (39). Fosfolipidy wytwarzane w płucach płodu wypłukiwane są z dróg oddechowych do płynu owodniowego (48, 49), tak że pod koniec ciąży około 40% puli surfaktantu znajduje się w płynie owodniowym (20).

W niniejszej pracy wykazano, że surfaktant płucny jest możliwy do uzyskania już u płodów świń w 10—12 tygodniu życia wewnątrzmacicznego. Niskie poziomy fosfatydylocholiney i sfingomieliiny obserwowano w popłuczynach płuc płodów począwszy od 4—6 tygodnia życia płodowego, obecność fosfatydyloglicerolu udało się jednak wykazać dopiero u płodów 10—12

Wnioski

1. Ilość dwunasyconej fosfatydylocholiney i ogólnej fosfatydylocholiney w surfaktancie płucnym świń znacznie wzrasta w dwu ostatnich tygodniach życia płodowego, osiągając najwyższy poziom u prosiąt 2-dniowych.

2. W surfaktancie płucnym płodów 85—98 dniowych obserwuje się przejściowy wzrost ilości fosfatydyloinozytolu.

3. Fosfatydyloglicerol pojawia się dopiero w surfaktancie płodów 71—84 dniowych, zaś gwałtowny wzrost ilości tego fosfolipidu obserwuje się w surfaktancie prosiąt 2-dniowych.

4. We frakcji fosfatydylocholiney surfaktantu płucnego następuje gwałtowny wzrost ilości kwasu palmitynowego w dwu ostatnich tygodniach życia płodowego, przy jednoczesnym spadku ilości nienasyconych kwasów tłuszczowych.

Piśmiennictwo

1. Abramovich D. R.: Amniotic fluid, Excerpta Medica, Amsterdam 1978, s. 31.
2. Allen K. G., MacGee J., Fellows C. E., Tornheim P. A., Wagner K. R.: J. Chromatogr. 309, 33, 1984.
3. Amy R. W. M., Bowes D., Burri P. H., Haines J., Thurlbeck F. M.: J. Anat. 124, 131, 1977.
4. Askin F. B., Kuhn C.: Lab. Invest. 25, 260, 1971.
5. Barlett G. R.: J. Biol. Chem. 234, 466, 1959.
6. Boyden E. A., Tompsett D. H.: Acta Anat. 61, 164, 1965.
7. Brunley G. W., Chernick V., Hodson W. A., Normand W. A., Fenner A., Avery M. E.: J. Clin. Invest. 46, 863, 1967.
8. Buckingham S., Avery M. E.: Nature 193, 698, 1962.
9. Buckingham S., Heinemann H. O., Sommers S. C., McBurri P. H.: Anat. Rec. 180, 77, 1974.
10. Burri P. H., Dbalý J., Weibel E. R.: Anat. Rec. 178, 711, 1974.
11. Dickie K., Massaro D.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 145, 154, 1974.
12. Dubreuil G., Lacoste A., Raymond R.: Bull. Histol. Appl. Physiol. Pathol. Techn. Microscop. 13, 235, 1936.
13. Engle S.: Acta Anat. 19, 353, 1953.
14. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. H.: J. Biol. Chem. 226, 497, 1957.
15. Gluk L., Kulovich M. V., Boree R. C., Brenner P. H., Anderson G. G., Spellacy W. M.: Am. J. Obstet. Gynecol. 109, 440, 1971.
16. Goerke J.: Biochim. Biophys. Acta 344, 241, 1974.
17. Guther G. R., Zackman R. D., Tsao F. H. L.: Lipids 14, 25, 1979.
18. Hallman M., Kulovich M. V., Kirkpatrick E., Sugerman R. G., Gluck L.: Am. J. Obstet. Gynecol. 125, 613, 1976.

20. Hallman M., Morrit T. A., Schneider H., Epstein B. L., Mannino F., Edwards D. K., Gluck L.: *Pediatrics* 71, 473, 1983.
21. Haug M., Dieterich J., Laubach C., Reinhardt D., Harzer G.: *J. Chromatogr.* 279, 549, 1983.
22. Henderson R. F., Pflieger R. C.: *Lipids* 7, 492, 1972.
23. Ischidate K., Weinholt P. A.: *Biochim. Biophys. Acta* 664, 133, 1981.
24. Hills B. A., Bryan-Brown C. W.: *Crit. Care Med.* 11, 951, 1983.
25. Jobe A., Ikegami M., Jacobs H.: *Biochim. Biophys. Acta* 664, 182, 1981.
26. Jobe A., Kirkpatrick E., Gluck L.: *Pediatr. Res.* 12, 669, 1978.
27. Kikkawa Y., Kalibara M., Motoyama E. K., Okrzelesi M. M., Cook C. F.: *Am. J. Pathol.* 64, 423, 1971.
28. Kolda J.: *Sravnovací anatomie zvířat domácích se srovnáním k anatomii člověka*, Niskla Novina, Brno 1936, s. 156.
29. Levine B. E., Johnson R. P.: *J. Appl. Physiol.* 19, 333, 1964.
30. Longmuir K. J., Resole-Tiden C., Sykes A.: *Biochim. Biophys. Acta* 833, 135, 1985.
31. Macklem P. T., Proctor D. F., Hogg J. C.: *Respir. Physiol.* 8, 191, 1970.
32. Mason R. J., Nellenbogen J., Clements J. A.: *J. Lipid Res.* 17, 281, 1976.
33. Massaro G. D., Massaro D.: *Am. Rev. Resp. Dis.* 105, 927, 1972. 834, 85, 1985.
34. Mendelson C. R., Snyder J. M.: *Biochim. Biophys. Acta* 35, *Morgenroth K., Bolz J.*: *Respiration* 47, 225, 1985.
35. Morrison W. R., Smith L. H.: *J. Lipid Res.* 5, 600, 1964.
36. Oulton M., Fraser M., Dolphin M., Yoon R., Faulkner G.: *J. Lipid Res.* 27, 602, 1986.
37. Oulton M., Martin T. R., Faulkner G. T., Stinson D., Johnson J. P.: *Pediatr. Res.* 14, 722, 1980.
38. Pappas A. A., Mullins R. E., Gadsden R. H.: *Ann. Clin. Lab. Sci.* 12, 304, 1982.
39. Patterson C. E., Koniki M. V., Gadsden R. H.: *Exp. Lung Res.* 10, 71, 1986.
40. Patte R. E.: *Proc. Roy. Soc. Ser. B*, 217, 1958.
41. Pflieger R., Henderson R. F., Waide J.: *Chem. Phys. Lipids* 9, 51, 1972.
42. Popjak G., Beekmans M.: *Biochem. J.* 47, 233, 1950.
43. Rooney S. A., Gobran L. I., Marino P. A., Maniscalco W.
44. Rooney S. A., Page-Roberts B. A., Motoyama E. K.: *M., Gross I.*: *Biochem. Biophys. Acta* 572, 64, 1979. *J. Lipid Res.* 16, 418, 1975.
45. Rooney S. A., Wai-Lee T. S., Gobran L., Motoyama E. K.: *Biochim. Biophys. Acta* 431, 447, 1976.
46. Sanderson R. J., Paul G. W., Vatter A. E., Filley G. F.: *Respir. Physiol.* 27, 379, 1976.
47. Scarpelli E.: *Pediatrics* 40, 951, 1967.
48. Setnikar I., Agostini E., Taglietti A.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 101, 842, 1959.
49. Skipski V. P., Barclay M.: *Meth. Enzymol.* 14, 530, 1969.
50. Thurlbeck W. M.: *Am. Rev. Resp. Dis.* 111, 803, 1975.
51. Ward J. A., Roberts R. J.: *Biol. Neonate* 46, 139, 1984.
52. Wyszogrodski J., Taesch H. W., Kyel-Abougye K., Avery M. E.: *Fed. Proc.* 33, 345, 1974.

Adres autora: dr Andrzej Ledwożyw, ul. Grażyny 29/13, 20-602 Lublin

Ледвожив А. — Изменения в составе фосфолипидов и жирных кислот легочного сурфактанта свиньи во

время эмбриональной жизни плода и в ранний постнатальный период

Исследовано изменения состава фосфолипидов и жирных кислот легочного сурфактанта свиньи в одногенетическом развитии. Исследования выполнены на 94 плодах возрастом 28—114 дней жизни плода в 2-недельных интервалах времени, 2-дневных и 4-дневных поросятах, а также взрослых самках. Состав фосфолипидных фракций исследовано методом тонкослойной хроматографии, состав же жирных кислот методом газовой хроматографии.

Отмечено постоянный рост количества двунасыщенного фосфатидилхолина во время жизни плода, резкий рост количества этой фракции наблюдался у 2-дневных поросят. В 2 последние недели внутриплодной жизни росло тоже резко количество фосфатидилхолина. До 98 дня жизни плода отмечался сильный рост количества пальмитиновой кислоты во фракциях фосфатидилхолина и фосфатидилглицерола легочного сурфактанта. Фосфатидилглицерол появлялся в сурфактанте 71—84-дневных плодов. Наблюдаемые изменения похожи на изменения, отмечаемые у других видов животных, протекают, однако, в иных интервалах времени.

Ledwożyw A. — Changes in the content of lung surfactant phospholipid and fatty acid in pigs during ontogenesis and in an early post-natal period

The changes in phospholipid and fatty acid content in lung surfactant during pig ontogenesis were investigated. The investigations were carried out on 94 pig foetuses (28—114 days of intrauterine life) in 2-week intervals. Two-day-old and 4-week-old sucklings were also investigated, as well as mature female pigs. Phospholipids and fatty acids were analyzed by the TLC and GLC methods, respectively.

It was stated that disaturated phosphatidylcholine increases linearly during foetal growth; the sharp rise in the content of this fraction was observed in 2-day-old piglets. During last 2 weeks of intrauterine life sharp increase in phosphatidylcholine content was observed, as well as in palmitic acid level in phosphatidylcholine and phosphatidylglycerol fractions. Phosphatidylglycerol was detectable in 71—84-day-old foetuses. The changes thus observed are parallel to those in other species.

NAGAHATA H., MAKINO S., TAKEDA S., TAKAHASHI H., NODA H.: Ocena czynności neutrofilów u krów w okresie okołoporodowym. (Assesment of neutrophil function in the dairy cow during the perinatal period). *J. Vet. Med. B* 35, 747—751, 1988 (10)

Neutrofile odgrywają ważną rolę w odporności przeciwbakteryjnej. Rolę tych komórek u krów w okresie okołoporodowym prześledzono na 10 krowach w wieku 3,5—8 lat w czasie 4 tygodni przed i 4 tygodni po wycieleniu. Aktywność neutrofilów określono w teście chemotaksji, chemiluminescencji zależnej od luminolu oraz na podstawie poziomu kortyzolu w plazmie krwi. Całkowita liczba leukocytów w badanym okresie wynosiła 4490 ± 1652 — $6470 \pm 2486/\mu\text{l}$, zaś liczba neutrofilów wynosiła 1573 ± 1119 — $2687 \pm 1035/\mu\text{l}$. Natomiast 3 tygodnia po wycieleniu była ona znacznie niższa ($1574 \pm 1119/\mu\text{l}$). Indeks chemotaktyczny neutrofilów, wynoszący $1,12 \pm 0,08$ na tydzień przed porodem, był znacznie niższy od wartości notowanej 4 tygodnie przed porodem ($1,27 \pm 0,14$) i 4 tygodnie po porodzie ($1,29 \pm 0,16$). Indeks chemiluminescencji wahał się w granicach $47,6 \pm 18,3$ — $75,1 \pm 49,2$. Stężenie kortyzolu w plazmie maksymalne w okresie wycielenia ($42 \pm 30,38 \text{ ng/ml}$) przekraczało 3-4 krotnie wartości notowane w pozos-

tałych okresach badawczych. Uzyskane wyniki wskazują na upośledzenie aktywności neutrofilów, co wyjaśnia podatność krów w okresie okołoporodowym na zakażenia bakteryjne.

G.

MERCY A. R., PEET R. L., ELLIS T. M., PARKINSON J.: Zakażenie świń wirusem encephalomyocarditis virus infection in pigs). *Aust. vet. J.* 65, 355, 1988 (11)

Zakażenie wirusem encephalomyocarditis (EMC) jest przyczyną padania świń w Australii. Z reguły padają prosiąt wykazało nagromadzenie w jamie brzusznej płynu koloru słomkowego rozlane ogniska zapalne w mięśniu serca, podtorebkowe wybroczyny w nerkach. Badaniem histologicznym stwierdza się ogniskowe nie-ropne zapalenie mięśnia serca połączone z naciekiem neutrofilowym. W pęcherzykach płucnych gromadzą się makrofagi, nerki i wątroba są przekrwione. Wirus EMC wyizolowano na jednowarstwowej hodowli BHK-21 z homogenatów mózgu. Miano swoistych przeciwciał neutralizujących dla wirusa EMC w surowicy dwóch macior wynosiło 128 i powyżej.

G.