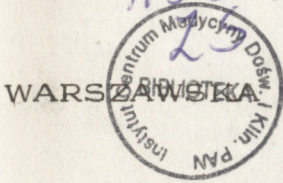


158 H3113



WARSZAWA AKADEMIA MEDYCZNA

Michał Walski

BADANIA ULTRASTRUKTURALNE
ROZWOJU BARIERY KREW-POWIETRZE
W PŁUCACH KRĘGOWCÓW
ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM
SYSTEMU SURFAKTANTU



Warszawa 1986

P r a c a h a b i l i t a c y j n a
z Zakładu Biologii Ogólnej i Parazytologii
Instytutu Biostruktury Akademii Medycznej w Warszawie

Powielono w Dziale Wydawnictw Akademii Medycznej w Warszawie

1986 r.

zam.91/86

nakład 50 egz.

Wielce Szanownemu Panu Profesorowi
dr hab. Januszowi Groniowskiemu,
mojemu wieloletniemu nauczycielowi
pragnę złożyć serdeczne podziękowanie
za opiekę nad powstaniem mojej pracy

Michał Walski

S P I S T R E Ś C I

	Str.
WSTEP	1
MATERIAŁ I METODY	4
PŁAZ	
Podstawowe dane o układzie oddechowym	7
Wyniki badań	10
Podsumowanie i omówienie wyników	14
GAD	
Podstawowe dane o układzie oddechowym	21
Wyniki badań	24
Podsumowanie i omówienie wyników	27
PTAK	
Podstawowe dane o układzie oddechowym	35
Wyniki badań	38
Podsumowanie i omówienie wyników	41
SSAK	
Podstawowe dane o układzie oddechowym	46
Wyniki badań	49
Podsumowanie i omówienie wyników	54
DYSKUSJA	62
WNIOSKI	71
PISMIENICTWO	73
DOKUMENTACJA PRACY	

W S T Ę P

Regulacja napięcia powierzchniowego przez substancję złożoną z szeregu fosfolipidów, a w tym z najbardziej powierzchniowo czynnych dwupalmitynianu fosfatydylocholiny oraz fosfatydyloglicerolu, umożliwia nawet w najgłębszym wydechu utrzymanie powietrzności miąższu płucnego. Znajduje to zresztą swój wyraz w mianie: czynnik przeciwniedodmowy, które to miano jest synonimem surfaktanta. Sprawna regulacja napięcia powierzchniowego pęcherzyków płucnych stanowi punkt węzłowy w czynności płuc. Surfactant jest produkowany na miejscu przez wyspecjalizowane komórki nabłonka pęcherzykowego tzw. pneumocyty ziarniste. Jak się okazało, istnieje bardzo duża rezerwa biologiczna surfaktanta w pęcherzykach płucnych u ssaków. Nie mniej jednak istnieją stany patologiczne, w których produkcja nie zachodzi bądź jest znacznie ograniczona, a rezerwa jest wyczerpana. Ma to miejsce chociażby w tzw. zespole błon szklistych płuc noworodków czy w tzw. płucu wstrząsowym.

Struktura morfologiczna bariery dyfuzyjnej w płucach ssaków została poznana już w pierwszych latach po wprowadzeniu techniki mikroskopowo-elektronowej dla badań biologicznych. Szereg lat trzeba było jednak czekać na poznanie ultrastruktury zewnątrzkomórkowej wyściółki pęcherzyków płucnych, która jest nośnikiem substancji regulującej napięcie powierzchniowe pęcherzyków płucnych. Przyczyną tego były trudności zachowania w czasie przy-

gotowania materiału tkankowego dla badań w mikroskopie elektronowym tej nadzwyczaj delikatnej struktury, znajdującej się na granicy fazy powietrznej i płynnej. Wprowadzenie w początku lat siedemdziesiątych utrwalania perfuzyjnego płuc przy kontrolowanej inflacji /36/ oraz metoda prefiksacji w parach osmu, zastosowana po raz pierwszy w naszym laboratorium, przyczyniły się w znacznym stopniu do poznania ultrastruktury zewnątrzkomórkowej wyściółki pęcherzyków płucnych u ssaków. Rozpoczęła się korelacja obrazu makromolekularnego z wynikami badań biochemicznych i fizykochemicznych, które były już wówczas znacznie zaawansowane, wszakże rozpoczęły się już w połowie lat pięćdziesiątych.

Zwrócenie uwagi na system surfaktanta w aspekcie patologii klinicznej płuc wytyczyło w zasadzie dwa kierunki badań. Pierwszy kierunek dotyczył metabolizmu komórek odpowiedzialnych za wytwarzanie, gromadzenie i wydzielanie surfaktanta, a jednocześnie poznania regulacji, czy stymulacji pracy tych komórek. Drugi kierunek dotyczył badania możliwości wytwarzania substancji zastępczych, które umożliwiałyby sztuczną regulację napięcia powierzchniowego pęcherzyków, przy niedoborze czy braku surfaktanta. Pierwszy kierunek badań pozwolił między innymi poznać regulację hormonalną metabolizmu pneumocytów ziarnistych, a jednocześnie wykorzystał te wyniki w profilaktyce niedoczynności tych komórek w klinice. W wyniku drugiego kierunku badań zaproponowano szereg sposobów substytucji surfaktanta substancją wytworzoną laboratoryjnie. Rezultaty uzyskane są zachęcające, jednak są jeszcze dalekie od pełnej skuteczności..

W naszej pracowni od wielu lat w trakcie badań systemu surfaktanta zwraca się uwagę na nie-lipidowe składniki znajdujące się w zewnątrzkomórkowej wyściółce pęcherzyków płucnych ssaków, a mianowicie na glikoproteiny oraz reszty cukrowe /45, 47, 48, 50, 52, 53, 54, 55/. Wydaje się bowiem, iż te właśnie związki chemiczne, choć bezpośrednio niezaangażowane w regulacji napięcia powierzchniowego mają istotną rolę in situ. Podjęcie badań porównawczych bariery krew-powietrze, a w szczególności zewnątrzkomórkowej wyściółki w części oddechowej płuc u niższych kręgowców, mogłoby stworzyć płaszczyznę dla ewentualnej weryfikacji powyższych koncepcji. To jest podstawowe założenie przedsięwziętych tu badań. Celem bezpośrednim są obserwacje rozwoju filogenetycznego systemu surfaktanta w miarę kształtowania się bariery krew powietrze.

MATERIAŁ I METODY

Badania prowadziłem na zwierzętach reprezentujących cztery grupy taksonomiczne kręgowców, a mianowicie na: płazach bezogonowych /*Rana temporaria*, *Rana esculenta*; łącznie 17 zwierząt/, gadach /*Lacerta virialis*, *Lacerta viviparus*, *Lacerta agilis*; łącznie 15 zwierząt/, ptakach /*Gallus domesticus*; 20 zwierząt/, ssakach /szczury rasy Wistar; 50 zwierząt/.

Zwierzęta usypiano stosując różne środki nasenne i podając je w odmienny sposób dla każdej grupy. Płazy usypiano przez zanurzenie w naczyniu z wodą, do którego dodano uprzednio 10% roztwór MS-222 /triciaine methanesulfonate-Ciba/ w soli fizjologicznej. Gady usypiano podaniem dootrzewnowo 10% roztworu MS-222 w soli fizjologicznej. Ptaki usypiano pentabarbitalem sodu podanym dootrzewnowo. Ssaki usypiano dootrzewnowym podaniem eunarkonu.

Materiał pobierano od trzech grup zwierząt w obrębie każdej jednostki taksonomicznej z zastosowaniem odmiennych technik utrwalania. Różnice metodyczne dotyczyły ilości utrwalacza i ciśnienia, pod którym był podawany dotchawczo.

Grupa I. Wstępne utrwalanie przeprowadzono w parach osmu, stosując dwie różne procedury.

1. Uśpione zwierzęta umieszczono w zamkniętym naczyniu o pojemności 5 litrów, do którego wprowadzono 20 ml 5% wodnego

roztworu czterotlenku osmu. Utrwalanie przeprowadzono przez 15 minut w temperaturze $+20^{\circ}\text{C}$. Następnie płuca wydobyte przy zamkniętej tchawicy utrwalano przez 18 godzin w mieszaninie 2.5% glutaraldehydu i 2% paraformaldehydu w 0.1 M buforze kakodylanowym o pH 7.4 w temperaturze $+20^{\circ}\text{C}$.

2. Druga procedura polegała na pobieraniu z mięszu płucnego uśpionych zwierząt wycinków tkankowych o objętości od 3 do 5 mm^3 . Wycinki te wstępnie utrwalano w parach osmu. Utrwalanie to prowadzono w szklanej strzykawce o objętości 20 ml, która była ściśle połączona z naczyniem zawierającym nasycony roztwór wodny czterotlenku osmu. Wycinek tkankowy umocowany na tłoku strzykawki poddawany był działaniu osmu w podciśnieniu około $-5\text{ cm H}_2\text{O}$. Utrwalanie to prowadzono przez 10 minut w temperaturze $+20^{\circ}\text{C}$. Następnie wycinki tkankowe utrwalano w mieszaninie 2.5% glutaraldehydu i 2% paraformaldehydu w 0.1 M buforze kakodylanowym o pH 7.4 przez 4 godziny w temperaturze $+20^{\circ}\text{C}$.

Dotrwalanie małych wycinków o objętości 0.5 mm^3 , które wstępnie utrwalone były przy pomocy jednej z powyższych procedur, prowadzono w 1% czterotlenku osmu w 0.1 M buforze kakodylanowym przez 2 godziny w temperaturze $+4^{\circ}\text{C}$.

Grupa II. Do wypreparowanej tchawicy uśpionych zwierząt podawano utrwalacz: płazom - około 3 ml pod ciśnieniem $10\text{ cm H}_2\text{O}$, gadom - około 2 ml pod ciśnieniem $10\text{ cm H}_2\text{O}$, ptakom - około 10 ml pod ciśnieniem $20\text{ cm H}_2\text{O}$, ssakom - około 6 ml pod ciśnieniem $20\text{ cm H}_2\text{O}$. Następnie zamknięto tchawicę i cały blok

płucny utrwalano przez 2 godziny w temperaturze 20°C. Stosowanym utrwalaczem był roztwór 0.8% glutaraldehydu, 0.65% paraformaldehydu i 0.75% OsO₄ w 0.1 M buforze kakodylanowym o pH 7.4. Następnie wycinki tkankowe o objętości 0.5 mm³ barwiono w 0.5% wodnym roztworze octanu uranylu przez 1 godzinę.

Grupa III. Utrwalacz złożony z 1% paraformaldehydu, 1.25% glutaraldehydu oraz 1% czerwieni rutenu w 0.1 M buforze kakodylanowym o pH 7.4 podawany był dotchawczo podobnie jak w grupie II. Małe wycinki tkankowe utrwalano przez 2 godziny w wyżej wymienionym utrwalaczu o temperaturze +20°C. Następnie materiał płukano czterokrotnie w 0.1 M buforze kakodylanowym. Dotrwalanie prowadzono w roztworze 1.8% czterotlenku osmu, 1% czerwieni rutenu w 0.1 M buforze kakodylanowym o pH 7.4, w temperaturze +20°C przez 3 godziny.

Materiał uzyskany od wszystkich trzech grup zwierząt szybko odwadniano w szeregach etanolu oraz w tlenku propylenu /15 min/ i zatapiano w żywicach Epon 812 lub Spurr. Ultracienkie skrawki barwiono cytrynianem ołowiu i wodnym roztworem octanu uranylu. Obserwacje prowadzono w mikroskopie elektronowym JEM 7A.

Do badania w mikroskopie świetlnym z każdej grupy zwierząt pobierano wycinki płucne i utrwalano w 5% roztworze formaliny. Skrawki parafinowe barwiono hematoksyliną i eozyną. Również oceniano 5 μm skrawki zatapiane w żywicy Epon 812, dobarwiane 1% roztworem błękitu toluidyny.

P Ł A Z

PODSTAWOWE DANE O UKŁADZIE ODDECHOWYM

W rozwoju ewolucyjnym kręgowców nastąpiło wyjście zwierząt z wody na ląd, co spowodowało przestawienie się ich na oddychanie powietrzem atmosferycznym. U płazów wymiana gazowa może zachodzić przez skórę, płuca, błonę śluzową jamy gębowej oraz skrzela co uwarunkowane jest ziemnowodnym trybem życia /16, 71, 96/. Wszystkie płazy bezogonowe, które w tej grupie systematycznej stoją ewolucyjnie najwyżej, posiadają płuca. Badania nad fizjologią wymiany gazowej płazów bezogonowych wykazały, że oddychanie skórne odgrywa ważną rolę, a jego intensywność jest stała niezależnie od pory roku /108/. Oddychanie płucne ulega natomiast dużym wahaniom; zmniejsza się w okresie obniżonej aktywności biologicznej /jesień, zima/. Uważa się, że płuca żab odgrywają znaczną rolę w wymianie gazowej dopiero w okresie zwiększonego zapotrzebowania tlenowego, tj. w okresie wiosenno-letnim /16/.

Płuca płazów bezogonowych mają kształt krótkich, kulistych worków, bezpośrednio zespolonych ze ścianą klatki piersiowej. Nie mają opłucnej, a krótkie żebra płazów nie sięgają do mostka. Przepływ powietrza umożliwiony jest dzięki zsynchronizowanej pracy tłoczni jamy gębowej, krtani oraz płuc. Za zmianę objętości samych worków płucnych odpowiedzialne są mięśnie gład-

kie występujące w ścianach płuc i ich licznych pofałdowaniach. Płuca oddzielone są od gardzieli krótkim odcinkiem dróg oddechowych zwanych tchawico-krtanią /Ryc. 1/. Wewnętrzna powierzchnia ściany płuc tworzy rozbudowany system fałdów. Fałdy te nie wypełniają całkowicie wnętrza płuca, lecz dochodzą do obszernego, owalnego przewodu zwanego praoskrzelelem /Ryc. 2/. Praoskrzelele stanowi przestrzeń "martwą", tzn. nie bierze udziału w wymianie gazowej. Wymiana gazowa zachodzi w komorach, zwanych workami płucnymi, które są utworzone przez wspomniane powyżej fałdy. Sąsiadujące ze sobą worki płucne, są porozdzielane przegrodami oddechowymi, noszącymi też nazwę przegród powietrznych /16/. Przegrody te mają przy obu swoich powierzchniach naczynia włosowate, co sprzyja znacznemu zwiększeniu powierzchni wymiany gazowej, w miarę wypełnienia sieci naczyniowej krwią /Ryc. 3/.

Mimo licznych badań dotyczących morfologii i fizjologii układu oddechowego budowa mikroskopowa płuc płazów nie jest jeszcze w pełni wyjaśniona. Nie mniej jednak już w 1934 r. Węśław /161/ wykazał istnienie nabłonka wyściełającego płuca płazów i innych kręgowców. Komórki te charakteryzowały się obecnością lipidowych ziarnistości, stąd ich nazwa komórki ziarniste. Użycie do badań mikroskopu elektronowego potwierdziło obecność jednego typu komórek nabłonkowych wyściełających przegrody oddechowe w płucach płazów /5, 7, 32, 100/. Wykazano, że w komórkach nabłonkowych płuc płazów obecne są struktury lamelarne, charakterystyczne dla nabłonka oddechowego wszystkich wyższych kręgowców, zwane zwykle w badaniach

mikroskopowo-elektronowych ciałami lamelarnymi /9, 135, 156/. W przebiegu ewolucji, poczynając od płuca ryby dwudysznej i jego homologa jakim jest pęcherz pławny u współczesnych ryb, poprzez płazy, gady, ptaki i ssaki, struktury te związane są zawsze z organami biorącymi udział w transporcie gazów i mają uderzająco podobną budowę /8, 25, 72, 73, 132/. Pewne ich zróżnicowanie morfologiczne wynika z technik utrwalania /15, 141, 151/. Niektórzy badacze sądzą jednak, iż podyktowane jest ono różnicą gatunkową /9, 115, 116/. Ciała lamelarne odpowiadają ziarnistościom komórek nabłonkowych płuc opisanym przez Węśliwą. Zawierają one substancję lipidową regulującą napięcie powierzchniowe pęcherzyków płucnych /49, 51, 98, 137, 138/.

Odrębnym zagadnieniem, dotyczącym płuc płazów jest możliwość stabilizacji powietrznej dużych worków płucnych. W piśmiennictwie zwraca się uwagę na znaczny udział w tym względzie włókien mięśni gładkich przegród powietrznych płuc płazów /20, 77/. Nieliczne są natomiast prace dotyczące regulacji napięcia powierzchniowego w workach płucnych płazów ogonowych i bezogonowych /9, 33, 34, 117, 154/. Badania fizjologiczne stwierdzają pewną zależność funkcji surfaktanta od poziomu rozwoju filogenetycznego /14, 69, 70, 114/. Uwidocznienie struktury morfologicznej systemu surfaktanta płuc płazów napotkało na wiele trudności, dlatego też dotychczasowe wiadomości na ten temat są wrywkowe, a niekiedy nawet rozbieżne /19, 34, 76, 143, 154/. W mojej pracy do badań przegród oddechowych oraz struktur związanych z układem surfaktantu u płazów zastosowałem utrwalanie, które dało dobre rezultaty w

analizie ultrastrukturalnej płuc ssaków /12, 44, 99, 151/. Sposób podawania płynów utrwalających dostosowałem do warunków anatomicznych zwierzęcia. Przeprowadzone reakcje cytochemiczne miały być pomocne przy próbie określenia składników chemicznych odpowiedzialnych za regulację napięcia powierzchniowego na tak niskim szczeblu rozwoju filogenetycznego.

WYNIKI BADAŃ

Jednostki oddechowe płuc żaby składają się z dużych worków płucnych o średnicy od 150 do 600 μm oddzielonych od siebie przegrodami /Ryc. 4/. W przegrodach sieć naczyń włosowatych związana jest mostkami utworzonymi przez włókienka kolagenowe, sprężyste i mięśnie gładkie. Worki płucne wysłane są komórkami nabłonkowymi, których części centralne wpuklają się w przegrody między naczynia włosowate /Ryc. 5/. Wypustki cytoplazmatyczne tych komórek opłaszczają włókniczki, z którymi tworzą podstawową jednostkę wymiany gazowej /Ryc. 6/.

Komórki śródbłonkowe tworzą wąski pas wyściełający światło naczyń włosowatych /Ryc. 7/. Wypustki cytoplazmatyczne komórek śródbłonkowych zachodzą na siebie dachówkowato na stosunkowo długiej przestrzeni. Są one w wielu miejscach ściśle zespolone poprzez desmosomy. Jądra niewielkie, owalne, często położone są asymetrycznie w brzeżnej części komórek. W cytoplazmie zaobserwowano wiele pęcherzyków elektronowo-przeziernych oraz mniej liczne ciała osmofilne tej samej wielkości. Uformowane

pęcherzyki endocytarne przylegają do błon plazmatycznych zarówno od strony światła naczynia włosowatego, jak i krawędzi zwróconej do blaszki podstawnej /Ryc. 8/. Blaszka podstawna od strony błony plazmatycznej komórek śródbłonkowych tworzy pokład elektronowo-przezierny o różnej szerokości. Widoczny jest w nim drobnowłókienkowy materiał oraz liczne włókienka kolagenu. Blaszka elektronowo-gęsta ma na swoim przebiegu zmienną szerokość. Na odcinkach, gdzie przegroda oddechowa stanowi wąski pas, blaszka gęsta jest wąska, oddzielona elektronowo-przezierną warstwą od komórek nabłonkowych. W miejscu przylegania do siebie naczyń włosowatych, blaszka podstawna jest pogrubiła i nieregularna. Oddzielona jest od komórek śródbłonkowych bogatym zrębem łącznotkankowym. Obserwowano w nim fragmenty fibroblastów i komórki mięśni gładkich.

Komórki nabłonkowe wyściełające światło przestrzeni powietrznej worków płucnych reprezentowane są przez jeden typ komórek. Centralne części komórek położone są w niszach worków płucnych, utworzonych przez bogaty zręb łącznotkankowy oraz przylegające do niego naczynia włosowate /Ryc. 9/. Obwodowe części komórki nabłonkowej w postaci długich wypustek cytoplazmatycznych leżą wzdłuż długiej osi włóścińcek. Komórki są połączone ściśle ze sobą na niewielkich odcinkach. Od obecnych tu desmosomów rozchodzą się promieniście filamenty do otaczającej cytoplazmy. Wolną powierzchnię komórek nabłonkowych pokrywają mikrokosmki. Należy zaznaczyć, iż na długich wypustkach cytoplazmy jest ich znacznie mniej niż na częściach perikarialnych komórki. W obrębie cytoplazmy mikrokosm-

ków widoczne są biegnące równolegle wzdłuż ich długiej osi pojedyncze delikatne filamenty o grubości podobnej do włókienek leżących w obrębie pozostałej części cytoplazmy komórek i wynoszącej około 3 nm.

Części przyjądrowe komórek są wpukłone w nische łącznotkankowe, oddzielające sąsiednie naczynia włosowate. Duże jądra o regularnych kształtach zlokalizowane są u podstawy komórek. W cytoplazmie okołojądrowej obserwowano struktury kompleksu Golgiego, kanały siateczki śródplazmatycznej szorstkiej i gładkiej. Liczne były mitochondria oraz zgrupowania cząstek glikogenu. W części przyjądrowej komórek nabłonkowych występują liczne obłonione ciała lamelarne o zróżnicowanej budowie. Zastosowane utrwalanie infuzyjne mieszaniną czterotlenku osmu, glutaraldehydu oraz paraformaldehydu umożliwiło wyodrębnienie trzech typów ciał lamelarnych otoczonych błoną elementarną /Ryc. 10/. Pierwszy typ charakteryzuje się elektronowo-gęstą, homogenną macierzą; drugi typ ciał elementarnych posiada ciemny rdzeń, naokoło którego koncentrycznie ułożone są blaszki; ciała lamelarne trzeciego typu wypełnione są blaszkami osmofilnymi. Blaszki te grubości od 4 do 5 nm ułożone są koncentrycznie bądź też równolegle względem siebie. Ciała lamelarne trzeciego typu spotykano najczęściej od strony światła worków płucnych, pod błoną plazmatyczną. W ciałach tych obserwowano rozwarstwienie się blaszek, co pociągało za sobą zmiany w ich rysunku /Ryc. 11/. Blaszki osmofilne występowały się dość regularnie z ciał lamelarnych do światła worka. Błona plazmatyczna miała wówczas przerwana ciągłość

/Ryc. 12, 13/. Również w długich wypustkach cytoplazmy komórek nabłonkowych, obserwowano sporadycznie ciała lamelarne /Ryc. 14/.

Zastosowana metoda przyżyciowego wstępnego utrwalania tkanki płucnej w parach osmu umożliwiła ujawnienie zewnątrzkomórkowej wyściółki w wielu fragmentach worków płucnych /Ryc. 15/. Wyściółka ta oddzielona była od przestrzeni powietrznej niezwykle cienką, osmofilną strukturą błonkową /Ryc. 16/. Stanowiła ona granicę między fazą powietrzną i fazą płynną wyściółki zewnątrzkomórkowej. Uzasadnione wydaje się przeto określenie granicznej, osmofilnej struktury mianem epifazy, w odróżnieniu od pozostałej fazy płynnej czyli subfazy. Szeroki pas subfazy miał zmienne wymiary mieszczące się w granicach od 50 do 300 nm, a nawet większe. W fragmentach dobrze zachowanych obserwowane były w subfazie struktury tubularne zbudowane z błon elementarnych. W zależności od uzyskanego przekroju tworzyły one układy równoległych do siebie, periodycznie rozmieszczonych błon. Na przekrojach poprzecznych tworzyły one charakterystyczną siatkę czworokątnych tubulmielinowych. Pola tych kwadratów były elektronowo-przeziernie. Przeciętna grubość błon obrzeżających wynosiła 7 nm, natomiast odległość między błonami 52 nm /Ryc. 17/. Niekiedy w subfazie można było spotkać zwoje rozsznurowującego się materiału pochodzącego z ciał lamelarnych, który to miał postać błon pozostających w bezpośrednim kontakcie z uformowanymi strukturami tubularnymi. Należy podkreślić, iż opisane tu osmofilne struktury tubularne mielinowe nie były tak bardzo regularne

na swoim przebiegu jak to miało miejsce w analogicznych strukturach u ssaków /Ryc. 18/.

Zastosowana metoda utrwalania z czerwienią rutenu ujawniła składniki węglowodanowe w wyściółce worków płucnych /Ryc. 19/. Produkt reakcji powlekał też od wewnątrz błonę graniczną tych struktur lamelarnych, które zlokalizowane były w części komórki zwróconej do przestrzeni powietrznej. Błona plazmatyczna komórek nabłonka od strony światła worka płucnego, obwiedziona była droбноziarnistym materiałem ruteno-pozytywnym, tworzącym pokład sięgający 30 nm /Ryc. 20/. Szczególnie obfity był on na odcinkach perikarialnych obfitujących w mikrokosmki. Struktury tubularne w tej metodzie utrwalania nie były zachowane, natomiast w świetle worków widoczne były liczne owalne struktury błoniaste, pokryte produktem reakcji /Ryc. 21, 22/. Należy przypuszczać, iż utrwalanie połączone z postępowaniem mającym na celu ujawnienie reszt węglowodanowych, powoduje uszkodzenie delikatnej struktury subfazy.

PODSUMOWANIE I OMOWIENIE WYNIKÓW

Przeprowadzone obserwacje wskazują, iż na powierzchni oddechowej płuc żaby występuje tylko jeden rodzaj komórek nabłonkowych. Spostrzeżenia takie pokrywają się z wynikami większości innych badaczy /3, 74, 100, 157/. Istnieją jednak również prace, których autorzy rozróżniają dwa typy komórek /110, 136/. Rozbieżność w poglądach spowodowana jest tym, iż

wyraźnie wyodrębniona część centralna komórki przypomina opisywaną u ssaków komórkę ziarnistą /komórka nabłonkowa pęcherzyków typu II/, natomiast jej części obwodowe odpowiadają płaskim komórkom wyściółki nabłonkowej /komórka typu I/ płuc gadów i ssaków /16, 74, 97/. Pneumocyty ziarniste, których budowa morfologiczna i funkcja została najlepiej poznana w płucach ssaków, odpowiedzialne są za produkcję substancji powierzchniowo czynnej /surfaktant/. Posługując się metodą złożonego utrwalania mieszaniną aldehydów i osmu, a następnie dobarwiania octanem uranylu, można było ujawnić fosfolipidy będące główną składową ziarnistości pneumocytów /133, 151/. Zaobserwowane przeze mnie różnice w budowie ziarnistości polegające na intensywności wysycenia osmem i sukcesywnym tworzeniu się blaszek, mogą świadczyć o stopniowym formowaniu się ciał lamelarnych. Znajduje to pewne potwierdzenie zarówno w piśmiennictwie, jak również przemawia za tym lokalizacja poszczególnych form ciał lamelarnych w stosunku do światła worka płucnego. Struktury o homogennym rdzeniu przypominają opisywane przez Williams ziarnistości w komórkach płucnych płodów ssaków /162/, przez Hughesa i Weibla w płucach ryby dwudysznej /76/. Te ostatnie struktury są bogate w nienasycone kwasy tłuszczowe i fosfolipidy, stanowią prekursorzy ciał lamelarnych /139, 162/. Zaobserwowano, iż z ciemnego rdzenia powstają koncentrycznie ułożone blaszki o okresie 4 do 6 nm. W moim materiale ziarnistości leżące pod błoną plazmatyczną, od strony światła worków płucnych są w całości wypełnione tworami blaszkowatymi ułożonymi równolegle do

siebie. Odpowiadają one formom najbardziej rozwiniętym, a ich budowa jest analogiczna do opisywanych uprzednio u ssaków /9, 157/.

Obserwowana w moim materiale ewakuacja zawartości ciał lamelarnych do światła worka poprzedzona była zespoleniem się błon ograniczających poszczególne ciała lamelarne z błoną plazmatyczną. Droga wydzielania samych blaszek prowadziła przez stopniowo powiększające się fenestracje zlokalizowane z reguły pomiędzy mikrokosmkami ulegającymi wówczas wydłużeniu. Potwierdza to rozważania Groniowskiego, że mikrokosmki są zaangażowane w wydzielaniu struktur lamelarnych do przestrzeni powietrznych oraz w formowaniu struktur tubularnych subfazy /54/. Przemawiać może za tym również fakt, że występowaniu licznych mikrokosmków w określonych częściach powierzchni pneumocytów, towarzyszy gromadzenie się ciał lamelarnych w sąsiadującej cytoplazmie. Można sądzić, że wydzielanie ziarnistości do światła, poprzedzone jest nie tylko przemieszczeniem ich do części obwodowych komórki, ale przede wszystkim dojrzewaniem morfologicznym i funkcjonalnym. Mikrokosmkom pneumocytów przypisuje się również funkcje absorbcyjną w sytuacji gromadzenia się płynu przesiękowego w subfazie /143/. Mikrokosmki stanowiąc mogą również "rezerwę błony plazmatycznej" /100, 139, 142/. Ta rezerwowa błona mogłaby być wykorzystana u płazów nie tylko w trakcie sekrecji komórkowej, ale również przy zwiększaniu się ciśnienia dodatniego w workach płucnych podczas tłoczenia powietrza /9, 105/. Wywierane duże ciśnienie na ściany worków ma swoje odzwierciedlenie morfolo-

giczne w silnych połączeniach desmosomalnych komórek nabłonkowych i śródbłonkowych przegrody oddechowej.

Odrębne zagadnienie stanowi ultrastruktura i skład chemiczny substancji powierzchniowo czynnej w prymitywnym płucu płoża. Badania biochemiczne popłuczyn płuc żab, wykazały istnienie substancji zmniejszającej napięcie powierzchniowe, której główną składową jest fosfatydylcholina i fosfatydylglicerol /70, 149, 150/. Stosunkowo długo brak było wykładników morfologicznych potwierdzających istnienie anatomicznej struktury surfaktanta w przestrzeni oddechowej płuc płożów. Dierichs /9/ stosując utrwalanie izolowanych płuc żaby w parach osmu ujawnił cienki pokład zewnątrzkomórkowy o wzorze sieci. Zdaniem tego autora ultrastruktura ta miała na celu niwelowanie zagłębień między zachyłkami utworzonymi przez mikrokosmki. Obecność fragmentów zewnątrzkomórkowej wyściółki o budowie "sieciorowej" w płucach żaby stwierdzili Hughes i Weibel, stosując perfuzję dożylną trzema kolejnymi utrwalaaczami pod kontrolą ciśnienia /76/. Są to pierwsze doniesienia w piśmiennictwie stwierdzające obecność tubul mielinowych u płożów. W moich badaniach zastosowana metoda z utrwalaniem przyżyciowym w parach osmu dała znacznie lepsze rezultaty /154/. Uwidoczniony pokład zewnątrzkomórkowej wyściółki worków płucnych, zbudowany z tubul mielinowych, tworzył ciągłą, grubą wyściółkę na powierzchni komórek nabłonkowych. Pokład ten od przestrzeni powietrznej odgraniczony był elektronowo-gęstą błoną, która odpowiada epifazie uwidocznionej na powierzchni subfazy w pęcherzykach płucnych ssaków. W odróżnieniu jednak

od tubularnych struktur mielinowych opisanych u ssaków, w płucach płazów nie udało się wykazać w świetle struktur tubularnych formacji^{cylicydrycznych}, które mają odpowiadać glikoproteinom /46, 56, 60/. Ta odmienność submikroskopowej budowy tubul mielinowych subfazy płaza z pewnością wynika z różnic ilościowych, względnie jakościowych dotyczących składników fosfolipidowych, co częściowo zostało wykazane w analizach biochemicznych /13, 70, 117, 150/.

Zastosowana w moich badaniach technika utrwalania z czerwieniem rutenu ujawniła reszty węglowodanowe po wewnętrznej stronie błony obrzeżającej ciała lamelarne, na fragmentach błon pochodzących z uszkodzonych tubul mielinowych oraz w stosunkowo znaczniejszej ilości na błonie plazmatycznej nabłonka, na mikrokosmkach. Podobne obserwacje zostały poczynione w pęcherzykach płucnych u ssaków /45, 53/. Badania te mogłyby wskazywać na to, że reszty węglowodanowe znajdujące się na błonie plazmatycznej pneumocytów są źródłem węglowodanów dla tubul mielinowych, co więcej, są pomocne w transformowaniu lameli w tubule /54, 55, 60/. Obecność produktu reakcji na błonach stanowiących fragmenty tubul mielinowych, świadczy o zintegrowaniu komponenty węglowodanowej z fosfolipidową.

Nasuwa się pytanie, czy tak labilna struktura jaką jest zewnątrzkomórkowa wyściółka płuc płaza może regulować w pełni napięcie powierzchniowe tak dużego worka płucnego. Badania fizyczne popłuczyn płuc płazów wykazują, że nie mają one wystarczających właściwości dla należytego zmniejszania

napięcia powierzchniowego /117, 149/. W homogenacie płuc płazów badanym elektroforetycznie stwierdzono, że tylko pierwsza frakcja posiadająca największy stosunek fosfolipidów do białek, wykazuje aktywność powierzchniową, natomiast pozostałe dwie jej nie posiadają. W analogicznych preparatach uzyskanych z homogenatów płuc ssaków aktywność powierzchniowa była we wszystkich frakcjach /37, 69/. Wykazano również różnice w ilości niespecyficznych esteraz, które są markerem dla surfaktanta. W płucach płazów mniej jest esteraz karboksylowych w stosunku do tychże esteraz w płucach ssaków. W płucach płazów ilościowo przeważają esterazy cholinowe /70, 101/. Zewnątrzkomórkowej wyściółce płuc płaza przypisuje się natomiast inne ważne funkcje, a mianowicie ochronę worków płucnych przed zlepianiem się /127/, ochronę nabłonka przed toksycznym działaniem tlenu oraz zapobieganie przed przesiekaniem płynu do przestrzeni powietrznej /116, 143/. Słabo wyrażone właściwości płynu popłuczynowego bądź homogenatu płucnego płazów w regulowaniu napięcia powierzchniowego mogą być wykładnikiem niewykształconej w pełni wymiany gazowej drogą płuc, która jak wiemy jest wspomagana wydalaniem CO_2 przez skórę tych zwierząt /16, 108/. Dierichs /20/ uważa, iż system komórek mięśniowych gładkich w obrębie przegród płucnych żaby pozwala na zmniejszenie objętości worków płucnych podczas wydechu. Spostrzeżenia poczynione w badanym przeze mnie materiale stanowią pełne poparcie wysuniętych powyżej przypuszczeń. Należy tu również zwrócić uwagę na stosunkowo bogaty zrąb łącznotkankowy pomiędzy naczyniami włosowatymi przegrody oddechowej w płucach żaby.

W przestrzeni oddechowej jak również w ścianie przegrody oddechowej nie zaobserwowano makrofagów. Komórki te stosunkowo często widywane są w płucach ssaków tworząc integralną część przegrody międzypęcherzykowej /57, 58/. Również Meban zwraca uwagę, iż w tkance płucnej oraz w przestrzeni oddechowej płaza nie występują makrofagi. Meban sugeruje, iż same komórki nabłonkowe mogą mieć właściwości żerne /100, 101/. Obserwowane w badanym materiale niewielkie ciała elektronowo-gęste w komórkach nabłonkowych oraz śródbłonkowych mogą być tego wykładnikiem. Wtórnie reabsorbowany przez te komórki materiał podlegałby tu enzymatycznej degradacji, a następnie drogą naczyń krwionośnych byłby ewakuowany z tkanki płucnej. Nie można jednak wykluczyć możliwości, że wydalanie degradowanych składników zewnątrzkomórkowej wyściółki worków dokonuje się drogą naturalną, przewodami oddechowymi.

Z przeprowadzonych rozważań wynika, iż jednostka oddechowa, którą u płazów stanowi worek płucny, nie jest w pełni przystosowana do wymiany gazowej. Również system regulujący napięcie powierzchniowe w płucach w postaci anatomicznej struktury będącej nośnikiem surfaktanta, nie odgrywa tak doniosłej roli jak w pęcherzyku płucnym ssaka. Jest to ewidentny dowód ewolucji w trakcie przejścia od bytowania w środowisku wodnym do życia lądowego i oddychania powietrzem atmosferycznym.

G A D

PODSTAWOWE DANE O UKŁADZIE ODDECHOWYM

Gady są pierwszą grupą zwierząt kręgowych, które w rozwoju filogenetycznym uzyskały możliwość całkowitej wymiany gazowej na drodze płucnej. Keratynizacja skóry gadów wpłynęła na udoskonalenie systemu wymiany gazowej w tkance płucnej. Również zmieniły się parametry anatomiczne decydujące o pracy płuc. U większości form gadów występuje krtań, tchawica, dwa oskrzela oraz oskrzela niższych rzędów. Doszło do wydłużenia szyi, powstała klatka piersiowa z systemem mięśni wspomagających aktywnie wymianę gazową w płucach /30, 91, 165/. Nieliczni tylko autorzy opisywali tkankę płucną gadów.

Klasyczne płuca gadzie spotyka się u jaszczurek i żmij. Leżą one w przedniej części jamy opłucnowo-otrzewnowej, a część szczytowa płuca graniczy z osierdziem, natomiast część dolna dotyka wątroby. W górnej części wnęk, płuca są zrosnięte na niewielkim odcinku ze ścianą śródpiersia. Pozostała część płuc przymocowana jest do przegrody śródpiersiowej błoną, zwaną mezopneumonium, która to odchodzi od grzbietowej części płuc. Takie zamocowanie płuc zabezpiecza je przed nadmiernymi ruchami w kierunku dogłowym i w stronę jamy brzusznej oraz zapobiega zapadnięciu się płuc. Wdech związany jest z pracą przepony, pociągającej za sobą "ogon wątroby" w dół,

natomiast podczas wydechu, na skutek pracy mięśni poprzecznych brzucha wątroba przesuwana jest ku przodowi. Tak więc za ruchomość oddechową klatki piersiowej odpowiada w głównej mierze zmiana pozycji wątroby, natomiast żebra pozostają prawie nieruchome.

Płuca większości gadów, w tym jaszczurek i żmij są parzyste i przypominają swoim kształtem jednolite worki /ryc. 23/, których wewnętrzna ściana jest silnie pofałdowana. Fałdy te wypełniają najczęściej całe wnętrze płuca i tworzą gąbczastą, beleczkowaną strukturę, przez którą biegnie oskrzele główne /Ryc. 24/. Rozgałęzienia się ono dalej na oskrzela niższych rzędów o stopniowo zmniejszającej się średnicy. Najbardziej dystalne rozgałęzienia kończą się woreczkami płucnymi /Ryc. 27, 28/. Na ich poziomie zachodzi wymiana gazowa. Podczas ruchów oddechowych woreczki są rozciągane lub obkurczone za pomocą włókien mięśniowych gładkich będących jednym z zasadniczych elementów ich zrębu /Ryc. 26/. Włókna te tworzą mięsień, który zamocowany jest w szczytowej części płuca. Budowa mikroskopowa, a tym bardziej budowa submikroskopowa miąższu płucnego gadów nie jest jeszcze dokładnie poznana. Miąższ płucny gadów porównywany jest do plastra miodu /23/, jego oczka odpowiadają woreczkom płucnym. Woreczki stanowią wczesną formę ewolucyjną pęcherzyków płucnych ssaków. Ich średnica waha się od 100 do 400 μm . W ścianach woreczków płucnych, znajduje się sieć naczyń włosowatych, która graniczy z powierzchnią wymiany gazowej. Pierwsze prace mikroskopowo-elektronowe dotyczące budowy woreczków płucnych wykazują wyraźne zróżnicowanie komórek

wyściółki nabłonkowej /3, 111/. Prace Mebana /102, 104/ prowadzone na żółwiach i padalcach wnoszą wiele informacji o budowie nabłonka oddechowego płuc gadów. Opisane dwa rodzaje komórek nabłonkowych stanowią analogię do I i II typu komórek nabłonkowych w pęcherzykach płucnych ssaków. Meban /102/ sugeruje, że komórki typu II u gadów mogą brać udział w produkcji materiału, który może tworzyć surfaktant. Pattle i Hopkins /112/ na podstawie badań biochemicznych pierwsi postulowali, że woreczki płucne gadów są powleczone filmem regulującym napięcie powierzchniowe. Meban /104/, w świetle woreczków płucnych padalca wykrył niewielkie fragmenty materiału błoniastego, reprezentującego zapewne substancję regulującą napięcie powierzchniowe. Autor sugerował, że surfaktant płucny gadów różni się zarówno jakościowo, jak i ilościowo od analogicznej substancji u ptaków i ssaków. Wetstein i wsp. /160/ stosując techniki zatrzymujące w tkance obok lipidów również i węglowodany, wykazali w płucach jaszczurek obecność zewnątrzkomórkowej wyściółki o budowie lamelarnej. Według tych autorów jest ona podobna do obserwowanej w płucach ptaków, natomiast w niczym nie przypomina tubularnych struktur mielinowych subfazy u ssaków i płazów. Cytowane powyżej prace, dotyczące struktury zewnątrzkomórkowej wyściółki w woreczkach płucnych gadów, nie mieszczą się w konsekwentnym ciągu ewolucji narządów oddychania. Wszakże już u płazów, które są zwierzętami filogenetycznie młodszymi, stwierdzono w workach płucnych obecność tubularnych struktur mielinowych. Prowadzone przeze mnie badania struktur przegro-

dy oddechowej i nośnika substancji stabilizującej napięcie powierzchniowe w płucach gadów miało przeto również na celu wyjaśnienie powyższej sprzeczności.

WYNIKI BADAŃ

Utrwalanie infuzyjne płuc jaszczurek umożliwiło pełną ocenę wszystkich składników morfologicznych przegród oddzielających woreczki płucne. Część środkowa przegrody oddzielającej woreczki płucne zbudowana jest z tkanki łącznej. Tkanka ta reprezentowana jest przez komórki fibroblastyczne, komórki mięśni gładkich, włóknienka kolagenowe oraz elastyczne. Po obu stronach pasa łącznotkankowego położone są naczynia włosowate oddzielone regularnym pasmem blaszki podstawnej od komórek nabłonkowych. Ostatnie trzy struktury są wykładnikiem morfologicznym bariery krew-powietrze /Ryc. 25/. Światło naczyń włosowatych obrzeżały spłaszczone komórki śródbłonkowe. Posiadały one niewielką strefę perikarialną i rozległą płaską płytkę cytoplazmatyczną /Ryc. 29/. W strefie przyjądrowej widywano niewielkie mitochondria, kanały siateczki śródplazmatycznej i cysterny aparatu Golgiego. W płytkach cytoplazmatycznych znajdowały się liczne pęcherzyki pinocytarne. W świetle naczyń włosowatych widywano stosunkowo często duże komórki o dość regularnym owalnym jądrze. W ich cytoplazmie widoczne były rozbudowane kanały siatki śródplazmatycznej gładkiej, cysterny aparatu Golgiego oraz liczne fagolisosomy /Ryc. 30/. Niejednokrotnie można też było wyróżnić fagosomy

zawierające formacje błonowe oraz materiał lipidowy zwakuolizowany /Ryc. 31/. W zrębie łącznotkankowym, przylegającym do tych naczyń, widywano również komórki przypominające swoją budową makrofagi. W ich cytoplazmie widoczne były liczne elektronowo-gęste ciała lizosomalne.

Nabłonek powierzchni oddechowej reprezentowany był przez dwa rodzaje komórek: komórki typu I i II. Komórki typu I o długich wypustkach cytoplazmatycznych pokrywały przeważającą część powierzchni oddechowej woreczka. Komórki typu II miały kształt kubiczny, niekiedy spłaszczony i pokrywały stosunkowo niewielką powierzchnię woreczka. W komórkach typu I można wyróżnić niewielką strefę perikarialną oraz rozległą płytkę cytoplazmatyczną. W dobrze upowietrzonych odcinkach płuc, powierzchnie komórek nabłonkowych zwrócone do obszarów powietrznych były wygładzone /Ryc. 32/. Natomiast w miejscach niedodmowych obserwowano wydłużone, nieregularne pofałdowania błon plazmatycznych /Ryc. 33/. W cytoplazmie obserwowano niewielkie mitochondria, kanały siateczki śródplazmatycznej oraz cienkie filamenty o średnicy nie przekraczającej 5 nm. Przy błonie plazmatycznej, po stronie zwróconej do przestrzeni powietrznej obserwowano pojedyncze pęcherzyki endocytarne, natomiast przy błonie przylegającej do blaszki podstawnej pęcherzyki te były bardzo liczne. Komórki typu I swoimi długimi wypustkami obejmowały nieco przypłaszczone komórki typu II. Błony plazmatyczne przylegających do siebie komórek tworzyły labiryntowate układy szczelin. Obserwowano między tymi błonami połączenia desmosomalne /Ryc. 34/. Części podstawowe komórek

typu II osadzone były na bogatym zrębie łącznotkankowym. Utworzony on był z włókienek kolagenowych oraz licznych komórek mięśni gładkich. Centralną część komórek typu II zajmowało jądro o regularnym kształcie. W cytoplazmie okołojądrowej widoczne były kanały siateczki śródplazmatycznej szorstkiej, siateczki gładkiej, cysterny aparatu Golgiego oraz ciała wielopęcherzykowe. Obecne też były liczne obłonione ziarnistości. Wnętrze ich wypełniały ściśle przylegające do siebie lamele grubości do 8 nm o układzie wzajemnie równoległym lub koncentrycznym /Ryc. 35/. Widywano też ciała lamelarne, których błony obrzeżające ulegały fuzji z błoną plazmatyczną komórek nabłonkowych, a rozwarstwiony materiał błonowy był wydzielany do przestrzeni powietrznej /Ryc. 36/. Wolna powierzchnia komórek typu II pokryta była cylindrycznymi mikrokosmkami. W świetle woreczków płucnych, na powierzchni komórek nabłonkowych typu I, typu II obserwowano nieliczne fragmenty błon lipidowych.

Utrwalenie płuc jaszczurek w parach osmu pozwoliło na ujawnienie zewnątrzkomórkowej wyściółki woreczków płucnych. Na niewielkich odcinkach przylegała ona do komórek nabłonkowych, częściej jednak duże jej fragmenty, oddzielone od tych komórek, leżały luźno w świetle woreczków /Ryc. 37/. Zewnątrzkomórkowa wyściółka złożona była z epifazy i płynnej, elektrownowo-przeziernej subfazy. W subfazie obecne były regularne struktury tubularne mielinowe zbudowane z błon elementarnych grubości około 7 nm. Na przekrojach poprzecznych tubule te miały formę regularnych kwadratów o bokach równych około 50 nm

/Ryc. 38/. W polach tych kwadratów zaobserwowano delikatny drobnoziarnisty materiał przylegający do błon tworzących ich ściany /Ryc. 39/. W subfazie znajdowano również koncentryczne struktury błoniaste, które leżały w bezpośrednim kontakcie z uformowanymi strukturami tubularnymi.

Utrwalenie z użyciem czerwieni rutenu uwidoczniało na powierzchni błon plazmatycznych komórek nabłonkowych zarówno typu I jak i typu II drobnoziarnisty materiał rutenopozytywny. Liczne mikrokosmki na powierzchni komórek nabłonkowych typu II pokryte były stosunkowo grubą warstwą produktu reakcji /Ryc. 40/. Wyznakowany produktem reakcji płaszcz powierzchniowy przypominał swoją budową otoczkę "fuzz coat" składającą się z drobnowłókienkowych, nitkowatych struktur, prostopadłych do błony plazmatycznej. Produkt reakcji był widoczny również na wewnętrznej powierzchni błon obrzeżających ciała lamelarne; dotyczyło to w szczególności ciał lamelarnych położonych w pobliżu światła woreczka /Ryc. 41/. W tej metodzie utrwalania struktury tubularne mielinowe nie były zachowane. Obserwowano natomiast w świetle woreczków płucnych liczne fragmenty błon, niektóre w postaci obłych struktur mielinowych. Na powierzchni wszystkich tych fragmentów występował produkt reakcji z czerwiecią rutenu /Ryc. 42/.

PODSUMOWANIE I OMOWIENIE WYNIKÓW

Porównawcze badania płuc kręgowców wykazują, że płuca gadów w rozwoju ewolucyjnym zajmują pozycję pośrednią między płazami i ssakami. Podstawowym elementem anatomicznym ograni-

czającym przestrzeń powietrzną płuc gada jest woreczek płucny. Jest on funkcjonalnie analogiczny do pęcherzyka płucnego ssaków /102, 103, 119/. Woreczki płucne badanych jaszczurek wyszczelone były zróżnicowanymi pod względem budowy komórkami nabłonkowymi typu I i typu II. Budowa komórek nabłonkowych części oddechowej płuc u różnych jednostek taksonomicznych gadów jest podobna /103, 116, 126/. Wydaje się jednak, że użycie różnych technik utrwalania do badań w mikroskopie elektronowym daje pewne rozbieżności ultrastrukturalne. Scheuerman i wsp. /131/ opisują w płucach żółwia trzy typy komórek nabłonkowych, gdzie typ III, nazwany komórkami szczoteczkowymi, miałyby mieć cechy zarówno komórek typu I jak i typu II. Te informacje nie są potwierdzone przez innych badaczy, komórek typu III nie spotkałem również w moim materiale /74, 102/.

Komórki nabłonkowe typu I tworzyły ciągłą warstwę wyszczelkową obszernych woreczków płucnych. Wypustki cytoplazmatyczne tych komórek przylegały do siebie na długich przestrzeniach, tworząc ścisłe połączenia. Bartels i Welch /4/ wykazali, że ilość owych ścisłych połączeń na jednostkę powierzchni nabłonka jest stosunkowo niewielka, czego powodem są ich duże wymiary liniowe /10, 120/. Perry /119/ uważa, że nabłonek typu I gadów odpowiada płaskim pneumocytom płuc ssaków, stanowiącym integralną część bariery krew-powietrze. W cytoplazmie komórek nabłonkowych typu I obserwowałem obecność cienkich filamentów cytoskeletonu. Również Meban /102/ opisywał filamenty w komórkach nabłonka płuc u żółwia. Uważa on

za Woodem i Lenfantem /165/, że zmiany konfiguracji filamentów cytoskeletonu można wiązać z cyklem oddechowym płuc gadów. W moim materiale utrwalonym imersyjnie obserwowałem niekiedy na powierzchni komórek nabłonkowych typu I liczne mikrokosmki. Mogłoby to stanowić pewne poparcie dla powyższych przypuszczeń. Wypustki plazmatyczne komórek nabłonkowych typu I przylegają szeroko do komórek typu II, pokrywając ich boczne krawędzie.

Komórki nabłonkowe typu II odbiegają swym wyglądem od analogicznych komórek u ssaków. Komórki typu II u gadów są wyraźnie spłaszczone i posiadają krótkie wypustki. Natomiast ich ciała lamelarne w swojej budowie są podobne do ciał lamelarnych obserwowanych w płucach ssaków /74, 102/. Potwierdzone to zostało w moich badaniach ultrastrukturalnych dzięki metodzie utrwalania, którą z powodzeniem stosowałem już uprzednio /151/. Podobne wyniki uzyskałem też po zastosowaniu utrwalacza glutaraldehydowego z kwasem taninowym /84, 139/. Obserwowany przeze mnie proces wydzielania zawartości ciał lamelarnych do światła woreczków płucnych u gadów przebiegał w sposób analogiczny do sekrecji ciał lamelarnych do pęcherzyków płucnych u ssaków /24, 59, 60/. Należy przypuszczać, że zbieżności wyników uzyskanych w badaniach płuc gadów i ssaków, są związane z podobną budową chemiczną ciał lamelarnych /37, 116/.

Budowa i funkcja zewnątrzkomórkowej wyściółki pęcherzyków płucnych u ssaków doczekały się gruntownych opracowań /59, 60, 157/. Natomiast nieliczni tylko autorzy wskazują na istnie-

nie tej struktury w woreczkach płucnych gadów. Pattle i Hopkins /112/ wykazali, że film powierzchniowy redukuje napięcie powierzchniowe u ssaków i ptaków, a w stosunkowo niewielkim stopniu u gadów i płazów. Clements i wsp. /13/ wykazali metodami chemicznymi udział dipalmitylo-fosfatydylocholinoły w surfaktancie płuc żółwia. Meban /102, 104/ wykrył obecność materiału złożonego z błon osmofilnych w obrębie woreczków płucnych u zaskrońca i żółwia greckiego. Stosowana przeze mnie metoda wstępnego utrwalania płuc w parach osmu dała dobre rezultaty. Posługując się tą metodą można było stabilizować w pewnych obszarach płucnych zewnątrzkomórkową wyściółkę przed usunięciem powietrza przez płynne utrwalacze /44/. Uwidocznione zostały w ten sposób duże fragmenty zewnątrzkomórkowej wyściółki woreczków płucnych z dobrze zachowanymi strukturami tubul mielinowych. Tubule mielinowe u gadów, w porównaniu z analogicznymi strukturami u płazów występują częściej i mają bardziej regularny kształt. Są one pod tym względem podobne do tubul mielinowych subfazy ssaków /152/. Co więcej, można było zaobserwować delikatny materiał rozmieszczony na błonach tworzących tubule mielinowe. Na przekrojach podłużnych materiał ten rozmieszczony był regularnie, podobnie jak to opisali Hassett i wsp. /66/ i Groniowski /60/ na tubulach mielinowych w płucach ssaków oraz Goniakowska w płucach płazów /34/. Hassett i wsp. sugerują, że cząstki te biorą udział w przekształcaniu ciał lamelarnych w struktury subfazy /66/.

Dyskusyjną jest rola surfaktanta w obszernych woreczkach płucnych gada /29, 116/. Wiadomym jest, że za stabilizację powietrzną woreczków płucnych gadów odpowiedzialne są w głównej mierze mięśnie łączące ściany przegród powietrznych z mięśniami międzyżebrowymi /23, 29, 31, 64, 165/. Rola surfaktanta w płucach gadów jest pod tym względem drugoplanowa. W związku z powyższym należy doszukiwać się innych jeszcze funkcji pełnionych przez zewnątrzkomórkową wyściółkę w płucach gadów. Burggern /10/ stwierdził, że ciśnienie hydrostatyczne krwi w płucach gadów jest 5 krotnie wyższe niż u ssaków. W związku z tym może łatwo dochodzić do upośledzenia krążenia płynu tkankowego i do jego zalegania w przestrzeni pozanaczyńnicowej. Konsekwencją tego jest przedostawanie się płynu do przestrzeni powietrznej. W rozważaniach tych można przeto przyjąć, że surfaktant w woreczkach powietrznych gadów działa jako czynnik przeciwprzesiękowy, czy też osuszający. Kattle /118/ sugeruje, że taką właśnie rolę pełni surfaktant w przedstonkach przewodów powietrznych u ptaków, u których nie tylko jest on odpowiedzialny za regulację napięcia powierzchniowego lecz bierze również czynny udział w tworzeniu bariery zabezpieczającej przedostawaniu się płynu do światła przewodów. Sanderson i wsp. /127/ przypisują surfaktantowi u ssaków właściwości przeciwzlepne. W pęcherzykach płucnych bez należytego zabezpieczenia łatwo dochodzić mogłoby do adhezji. Biorąc wszystkie przytoczone powyżej dane, można przyjąć, że surfaktant w woreczkach płucnych gadów nie tyle jest odpowiedzialny za regulację napięcia powierzchniowego, ile pełni

przede wszystkim rolę czynnika zabezpieczającego woreczki płucne przed zlepianiem się w stanach ograniczonego upowietrzenia.

Oprócz wymienionych funkcji, surfaktantowi płuc gadów przypisuje się znaczenie obronne /39/. Zaobserwowano między innymi zwiększoną zawartość surfaktanta w przestrzeni powietrznej po wprowadzeniu do płuc węża boa /*Boa constrictor*/ subfrakcji działających chemotaktycznie /lipopolisacharydy bakteryjne i N-formylmethionylfenylalanina/ /39/. Rola ochronna surfaktanta sprowadzałaby się zarówno do właściwości obniżających napięcie powierzchniowe, jak również do jego właściwości przeciwpresiękowych i przeciwbakteryjnych /18, 144/. Produkcja surfaktanta w płucach gadów jest czynnością stosunkowo młodą ewolucyjnie. Stąd rola ochronna zewnątrzkomórkowej wysięki w tkance płucnej gadów. Poczynione przeze mnie obserwacje wskazują na stałą obecność komórek fagocytarnych /fagocyty jednojądrowe pochodzenia monocytarnego/ w naczyniach włosowatych przegrody powietrznej płuc gadów. Makrofagi widywałem również w tkance łącznej przegród, poza światłem naczyń włosowatych. We wnętrzu fagolizosomów tych komórek obserwowano liczne fragmenty blaszek, bądź struktur mielinowych. Podobne struktury opisywano w makrofagach zlokalizowanych w subfazie, na powierzchni pneumocytów płuc ssaków /57, 58/ 157/. Ich zdaniem było między innymi usuwanie materiału lipoproteinowego surfaktanta z pęcherzyków płucnych /93, 144/. W badanym materiale nie obserwowałem makrofagów, ani w świetle woreczków, ani w subfazie. Poczynione obserwacje mogą sugerować, że

ewakuacja zużytego materiału surfaktanta, pochodzącego chociażby z uszkodzonych tubul mielinowych, dokonuje się przez kanały naturalne, bądź też drogą naczyń krwionośnych. Niektórzy badacze przypisują pneumocytom pęcherzyków płucnych ssaków funkcje fagocytarne /87, 144/. Według nich komórki te mogą mieć pewien udział w oczyszczaniu światła pęcherzyków płucnych z zalegających zanieczyszczeń i następnie przekazywaniu ich do krwionośnych naczyń włosowatych oraz dróg limfatycznych tkanki płucnej. Dermer /18/, po wyznakowaniu surfaktanta, zaobserwował związany produkt reakcji nie tylko na powierzchni pęcherzyków płucnych, ale również w komórkach śródbłonkowych i w świetle naczyń włosowatych. Poczynione przeze mnie obserwacje pozwalają przypuszczać, że surfaktant w płucach gadów jest usuwany "wstecznie" do naczyń krwionośnych i tam internalizowany przez komórki makrofagalne.

Produkt reakcji z czerwienią rutenu był obserwowany na powierzchni komórek nabłonkowych oraz na stronie wewnętrznej błon otaczających ciała lamelarne. Był on też zintegrowany z błonami należącymi do struktur surfaktanta. Użycie czerwieni rutenu umożliwiło ujawnienie reszt węglowodanowych subfazy w płucach ssaków /48, 53, 68/. Owe grupy węglowodanowe odgrywają istotną rolę w formowaniu struktur powierzchniowych oraz wchodzi w skład molekularnego kompleksu tubul mielinowych /49, 52, 54/. Można przyjąć z dużym prawdopodobieństwem, że podobny jest mechanizm formowania tubul mielinowych w woreczkach płucnych gadów, oraz udział grup węglowodanowych w tym procesie.

Woreczek płucny u gada jest strukturą homologiczną do pęcherzyka płucnego ssaka i pełni analogiczne funkcje. Pewne różnice wykazane na poziomie ultrastrukturalnym wynikają z szczebla rozwoju ewolucyjnego. Natomiast istotne podobieństwa wskazują, że płuco gada jest protoplastą płuca ssaka.

P T A K

PODSTAWOWE DANE O UKŁADZIE ODDECHOWYM

Narząd oddechowy ptaków odbiega znacznie swoją budową od budowy płuc pozostałych kręgowców. Składa się on u ptaków ze znacznie rozbudowanych dróg oddechowych oraz stosunkowo małych, sztywnych płuc. Płuca są wpuklone między żebra piersiowe, a w części grzbietowej zrosnięte z klatką piersiową. U ptaków brak jest jamy opłucnowej. Płuca swoją podstawą spoczywają na dwóch przeponach, zwanych płucną i brzusznią. Brzegi przepon przymocowane są pasmami mięśni do żeber. W czasie wdechu klatka piersiowa zwiększa swoją objętość głównie dzięki ruchom mostka, a w mniejszym stopniu dzięki ruchom żeber. Podczas wydechu następuje kurczenie się przepon i mięśni międzyżebrowych.

Drzewo oskrzelowe stanowi system przewodów, tworzących obieg zamknięty, a nie kończących się ślepo pęcherzykami płucnymi /Ryc. 44/. Tchawica ptaków tworzy dwa oskrzela główne, pierwszorzędowe. Oskrzela pierwszorzędowe dzielą się na drugorzędowe, a te znowu dają początek szeregom generacji rozgałęzień oskrzeli trzeciorzędowych. Wymiar średnicy oskrzeli trzeciorzędowych na całej ich długości nie podlega większym zmianom. W swym najbardziej dystalnym odcinku zespół oskrzeli trzeciorzędowych daje początek dużym zbiornikom powietrza,

znanym jako worki powietrzne /Ryc. 43/. Worki powietrzne nie biorą udziału w wymianie gazowej, przyjmuje się, że usprawniają one wentylację płuc. Oskrzela trzeciorzędowe łączą się między sobą licznymi przewodami powietrznymi. Posiadają one największą krzywiznę w stosunku do pozostałych elementów przewodowych /118/. Przewody powietrzne oplecione są bogatą siecią włosowatych naczyń krwionośnych. Na tym właśnie poziomie zachodzi wymiana gazowa /116, 118/. Taka budowa płuc ptaka zapewnia dłuższy kontakt powietrza z krwią podczas wymiany gazowej. Tym samym wymaga ona mniejszej niż u ssaka wentylacji płuc dla uzyskania należytych parcialnych ciśnień gazów /21, 22, 23, 89/. Na podstawie badań anatomicznych i fizjologicznych opracowany został model systemu oddechowego ptaka /109, 124, 129, 130/. Sprowadza się on do równolegle biegnących względem siebie przewodów powietrznych, wzdłuż których ułożone są naczynia włosowate. Na tym poziomie dochodzi do wymiany gazowej. Podobny model został zaproponowany dla wymiany gazowej w łożysku ludzkim /128/. Podobne zasady wymiany gazowej istnieją w narządach oddechowych ryb, to jest w skrzelach. W tym przypadku utlenowana woda obmywa równolegle ułożone względem siebie filamenty skrzelowe, poprzez które przechodzą naczynia krwionośne /75, 78/.

Podane powyżej spostrzeżenia anatomiczne i fizjologiczne były przyczyną licznych badań nad submikroskopową budową elementów związanych z wymianą gazową u ptaków /1, 82, 92, 118/. Lambson i Cohn /92/ opisali w ścianie oskrzeli trzeciorzędowych swoiste kieszonki, które nazwali przedsionkami. Prowadzą

one bezpośrednio do przewodów powietrznych. Komórki nabłonkowe, wyścielające przedstonki są jednorodne morfologicznie, a swoją budową przypominają komórki ziarniste /komórki typu II/ płuc ssaków /9, 82, 118/. Obecne w nich liczne ciała lamelarne biorą udział w formowaniu i gromadzeniu, a następnie wydzielaniu do przestrzeni powietrznej materiału złożonego z osmofilnych blaszek /82, 122, 160/. Na powierzchni komórek nabłonkowych wykazano obecność pojedynczych bądź też nawarstwiających się blaszek /122, 123, 147/. Struktury te są nośnikiem związków fosfolipidowych, odpowiedzialnych za regulację napięcia powierzchniowego. Poszczególne blaszki są zbudowane z przylegających do siebie dwóch błon o budowie elementarnej "unite membrane". Przewody powietrzne płuc ptaków są wysłane spłaszczonymi komórkami nabłonkowymi, które odpowiadają komórkom płaskim pęcherzyków płucnych ssaków. Komórki te od strony światła pokrywa pokład osmofilny, złożony z szeregu warstw błon elementarnych /89, 123, 160/. Przyjmuje się, że pokład ten wytwarzany jest przez komórki nabłonkowe przewodów powietrznych oraz przez komórki wyścielające przedstonki /1, 118, 121/. Nieliczni tylko badacze podjęli badania biochemiczne substancji regulującej napięcie powierzchniowe w płucu ptaka /122, 123, 160/. Petrik i Riedel stwierdzili lipoproteinowy charakter zewnątrzkomórkowej wyściółki oraz twierdzą, że nie zawiera ona zupełnie polisacharydów /123/. Jednak ostatnio prowadzone badania przez Wetzsteina i wsp. /160/ wykazały obecność reszt węglowodanowych między warstwami błon fosfolipidowych.

WYNIKI BADAŃ

Część płuca ptaka przeznaczona do wymiany gazowej, zbudowana jest ze zlokalizowanych w ścianie oskrzeli trzeciorzędowych "kieszonek", zwanych przedsionkami oraz z przewodów powietrznych, którym towarzyszy rozbudowana sieć naczyń włosowatych /Ryc. 45/. Struktura przedsionków i przewodów powietrznych stanowiła przedmiot moich badań. Oskrzela trzeciorzędowe oraz przedsionki, które tworzą anatomiczne przejście do przewodów powietrznych, wyścielone są nieco spłaszczonymi komórkami nabłonkowymi jednego typu /Ryc. 46, 47 i 48/. Komórki nabłonkowe wyściełające przedsionki leżą na zrębie łącznotkankowym, który oddziela je od komórek śródbłonka włosowatych naczyń krwionośnych /Ryc. 49/. Zrąb ten utworzony jest z włókienek kolagenowych, wśród których widoczne są fibroblasty, natomiast nie zawiera on komórek mięśni gładkich, występujących w dużo bogatszym zrębie łącznotkankowym oskrzeli trzeciorzędowych. Błony plazmatyczne sąsiadujących ze sobą komórek nabłonkowych tworzą palczaste połączenia, wzmacniane na długich odcinkach desmosomami. W centrum komórek wyściełających przedsionki znajdują się duże jądra, o brzeźnie naogół rozmieszczonej heterochromatynie. W cytoplazmie ich widoczne są liczne agregaty polirybosomów, cząstek glikogenu, aparat Golgiego oraz kanały szorstkiej i gładkiej siateczki śródplazmatycznej. Rozbudowane kanały siateczki szorstkiej wypełnione są materiałem drobnowłóknikowym. Kanały siateczki gładkiej, w których obserwowano osmofilne błony typu elemen-

tarnego, uchodziły pomiędzy rozbudowanym systemem mikrokosmków do światła przestrzeni powietrznej /Ryc. 50 i 51/. W cytoplazmie tych komórek obserwowano też liczne ciała lamelarne, zawierające koncentrycznie ułożone blaszki. Struktury te pod błoną plazmatyczną, od strony przestrzeni powietrznej oraz w sąsiedztwie głębokich zachyłków utworzonych przez mikrokosmki, traciły swoją regularność i rozwarstwiały się /Ryc. 52/. Na powierzchni komórek nabłonkowych znajdowały się liczne mikrokosmki oraz wpuklenia błony plazmatycznej w głąb komórek. W tych wpukleniach znajdowano pojedyncze, a niekiedy zwielokrotnione układy podwójnych błon typu elementarnego, tworzących blaszki o grubości około 15 nm /Ryc. 53/. Blaszkki te wydzielane do światła przestrzeni powietrznej stanowiły na powierzchni komórek nabłonkowych wielowarstwową wyściółkę, tworzącą pokład o grubości do 2 μm /Ryc. 54/.

Odmianą budowę morfologiczną obserwowano w obrębie przewodów powietrznych. Przewody te mają stosunkowo mały promień krzywizny, wynoszący około 5 μm . Wysłane są komórkami nabłonka płaskiego, z centralnie umiejscowionymi jądrami. Rozległe wypustki cytoplazmatyczne tworzyły wyściółkę przewodów /Ryc. 55/. W cytoplazmie widoczne były agregaty polirybosomów oraz rozbudowane kanały siateczki śródplazmatycznej, której światło często wypełnione było strukturami błoniastymi /Ryc. 56/. Podobnie jak miało to miejsce w komórkach wyściełających przedsionki, kanały siateczki niejednokrotnie dochodziły do powierzchni komórek i otwierały się do światła przewodów powietrznych, a materiał błonowy był wydzielany na zewnątrz

nabłonka. Powierzchnia komórek nabłonkowych przewodów powietrznych posiadała zewnątrzkomórkową wyściółkę zbudowaną z ciągłej, osmofilnej blaszki, złożonej z przylegających do siebie dwóch błon typu elementarnego, o grubości rzędu 15 nm /Ryc. 57/. Komórki nabłonkowe oddzielone były od śródbłonków cienką blaszką podstawną. Śródbłonki tworzyły ciągłą wyściółkę naczyń włosowatych. Często zachodziły one na siebie wypustkami cytoplazmatycznymi, tworząc charakterystyczne połączenia dachówkowate. Obserwowano liczne pęcherzyki endocytarne od strony światła przewodów powietrznych. W komórkach śródbłonkowych widywano pojedyncze obłonione ciała elektronowo-gęste. W przegrodach łącznotkankowych oddzielających wyściółkę nabłonkową przewodów powierzchniowych od włósniczek zaobserwowano pojedyncze komórki zawierające fagolizosomy. W ich wnętrzu znajdował się materiał błoniasty w postaci luźno leżących lameli lub figur mielinowych /Ryc. 58/.

Procedura z czerwienią rutenu ujawniała w oskrzelach trzeciorzędowych, przedsionkach oraz na powierzchni przewodów powietrznych obecność reszt cukrowców. Błony plazmatyczne komórek nabłonkowych przedsionków wraz z licznymi mikrokosmkami obwiedzione były produktem reakcji /Ryc. 59 i 60/. Błony otaczające ciała lamelarne miały również na swojej wewnętrznej powierzchni produkt reakcji. Błona plazmatyczna komórek nabłonkowych otaczających przewody powietrzne pokryta była warstwą rutenopozytywną o grubości 15-20 nm. Bezpośrednio na tej rutenopozytywnej warstwie rozpostarta była zewnątrzkomórkowa, blaszkowata wyściółka, obrzeżająca światło przedsionków

/Ryc. 61/. Również od strony światła blaszkowata wyściółka pokryta była drobnoziarnistym produktem reakcji /Ryc. 62/. Blaszkowata zewnątrzkomórkowa wyściółka była w pełni zintegrowana z wielocukrowym pokładem błony plazmatycznej nabłonka /Ryc. 63 i 64/. W świetle naczyń krwionośnych oraz na powierzchni erytrocytów odczyn reakcji z czerwienią rutenu był znacznie uboższym

PODSUMOWANIE I OMÓWIENIE WYNIKÓW

Płuca ptaków różnią się bardzo znacznie swoją budową od płuc innych kręgowców. Budowa płuc ptaka zapewnia dłuższy kontakt powietrza z krwią, podczas wymiany gazowej, co w konsekwencji pozwala na osiągnięcie prawidłowych ciśnień parcjalnych gazów we krwi przy odpowiednio mniejszej wentylacji /21, 109, 146/.

W płucach ptaka wymiana gazowa zachodzi w przedsionkach oskrzeli trzeciorzędowych oraz w bezpośrednio z nimi związanymi przewodach powietrznych /22, 124, 130/. Powyższe struktury były przedmiotem prowadzonych przeze mnie badań. Przed-sionki oskrzeli trzeciorzędowych wyścielone były komórkami nabłonkowymi o jednakowym wyglądzie i przypominały one pneumocyty typu II płuc ssaków /109, 151/. Pomimo pewnych różnic w budowie tych komórek, pełniły one podobną funkcję dotyczącą produkcji fosfolipidów. Komórki nabłonkowe wyścielające przed-sionki tworzyły ciągły pokład i posiadały liczne połączenia desmosomalne. Leżały one na bogatym zrębie łącznotkankowym,

w którym rozproszone były włókna mięśniowe gładkie. Taka budowa zapewniała dużą stabilność oraz małą podatność przedsiionków na rozciąganie. Ciśnienie powietrza wywierane na ściany oskrzeli trzeciorzędowych doprowadziło do wytworzenia silnych połączeń międzykomórkowych /82, 118/.

Komórki nabłonkowe przedsiionków zawierały ciała lamelarne, które miały budowę podobną do analogicznych struktur opisywanych w pneumocytach typu II płuc ssaków. Koncentrycznie ułożone lamele ulegały rozwarstwieniu, a następnie były wydzielane do światła przedsiionków. Rozbudowany system kanałów siateczki śródplazmatycznej i aparatu Golgiego był bezpośrednio zaangażowany w produkcji oraz sekrecji materiału zawierającego osmofilne lamele. Według Pattle, wydzielaniu temu towarzyszyło częściowe przerwanie ciągłości błony plazmatycznej komórek nabłonkowych /116, 118/. Produkt sekrecji wydawał się być przesuwany pomiędzy długimi mikrokosmkami, co przemawiałoby za udziałem tych ostatnich w wydzielaniu, a przede wszystkim w formowaniu surfaktanta na powierzchni przedsiionków. Opisany tu mechanizm jest więc podobny do tego, który ma miejsce w płucach ssaków /54, 98, 141/. Wydaje się, że za tworzenie blaszkowatej wyściółki zewnątrzkomórkowej komórek przedsiionków odpowiedzialne są bezpośrednio nie tylko ciała lamelarne, ale również wspomniany system kanałów siateczki śródplazmatycznej. Problem ten był również dyskutowany przez innych autorów /1, 82, 153/.

Leżący na powierzchni przedsiionków pokład, złożony z wielowarstwowego układu osmofilnych blaszek, całkowicie odbiegał

swoją budową morfologiczną od zewnątrzkomórkowej wyściółki pęcherzyków płucnych ssaków. Istnieją również pewne różnice ilościowe w składzie zewnątrzkomórkowego pokładu płuc ptaków. Badania biochemiczne wykazały, że u ptaków fosfatydylocholina stanowi 86% wszystkich fosfolipidów, natomiast u szczura jest jej 80% /4, 83/. Wykazano też, że fosfatydylocholina u ptaków zawiera około 93% nasyconych kwasów tłuszczowych, stosunkowo więcej niż u ssaków. Wykazano, że stosunek lipidów do białek w surfaktancie płuc ptaka wynosi 10:1, natomiast u ssaka stosunek ten ma się jak 5:1 /26/. Te różnice w budowie chemicznej surfaktanta ptaka i ssaka decydują zapewne o odmienności morfologicznej ich wyściółek zewnątrzkomórkowych, a tym samym są przyczyną obecności lub braku tubul mielinowych. Struktura i funkcja blaszkowatej wyściółki zewnątrzkomórkowej przedsionków są przedmiotem licznych dyskusji morfologów i fizjologów /82, 113, 114/. Uzyskana wartość minimalnego napięcia powierzchniowego z popłuczyn przedsionków oskrzeli trzeciorzędowych wynosiła około 24 dyny/cm /24 mN/m/, co wskazuje na funkcjonalne podobieństwo tej substancji do surfaktanta ssaków /26/. Niemniej jednak Stratton uważa, że surfaktant płuc ssaków posiada większą efektywność w zmniejszaniu napięcia powierzchniowego, co wiąże on ze strukturą makromolekularną zewnątrzkomórkowej wyściółki /140, 141/. Wymiana gazowa w płucach ptaka dokonuje się na poziomie przewodów powietrznych, wysłanych pokładem płaskich komórek nabłonkowych. Na powierzchni tych komórek uwidoczniono blaszkowatą zewnątrzkomórkową wyściółkę, którą Pattle opisał jako "substancję trójblaszkową" /118/. Według

moich obserwacji wyściółka ta jest wytwarzana na miejscu przez wymienione płaskie komórki nabłonkowe. W piśmiennictwie postuluje się, iż materiał wyściółki jest produkowany przez komórki nabłonkowe przedsionków, a następnie jest on transportowany do przewodów powietrznych /1, 82/. Jednakże obserwacje, na podstawie których wysuwa się to przypuszczenie nie są w pełni przekonujące.

Oдноśnie roli zewnątrzkomórkowej wyściółki blaszkowatej przewodów powietrznych ptaka, poglądy również nie są w pełni uzgodnione. Wydaje się, że przewody powietrzne o średnicy wahającej się w granicach od 5 do 10 μm nie wymagają stałej regulacji napięcia powierzchniowego, natomiast surfaktant może pełnić rolę wspomagającą. Przyjmuje się natomiast dość powszechnie, że surfaktant pełni pewną rolę w zapobieganiu przechodzenia płynu z włosniczek do przestrzeni powietrznych, oraz bierze udział w mechanizmach obronnych płuc ptaka /89, 118/.

Badania ultrahistochemiczne z zastosowaniem czerwieni rutenu w celu ujawnienia reszt węglowodanowych w płucach ssaków wykazały ścisły związek tych związków chemicznych z surfaktantem /45, 53, 160/. U ptaków, na rozbudowanej powierzchni komórek nabłonkowych przedsionków oraz na nabłonku przewodów powietrznych wykazano obecność stosunkowo grubej warstwy produktu reakcji z czerwiecią rutenu. Wyznacznik ten był ściśle związany zarówno z błoną plazmatyczną nabłonka jak również z osmo-filnymi blaszkami zewnątrzkomórkowego pokładu znajdującego się w świetle przedsionków i przewodów powietrznych. Badania biochemiczne wykazały obecność glikoprotein bogatych w kwas

sialowy, mannozę, galaktozę i fukozę zarówno w ciałach lamelarnych, jak również w popłuczynach z płuc kurczaka /6/. Autorzy sugerują, że glikoproteiny obecne w płucach ptaka są produkowane przez płaskie komórki nabłonkowe przewodów powietrznych. Uważa się, że u ssaków reszty węglowodanowe są odpowiedzialne w dużej mierze za formowanie się struktur tubularnych subfazy /53, 141/. Jak jest mi wiadomo, dotychczas w piśmiennictwie nie podjęto dyskusji na temat roli składników węglowodanowych w surfaktancie płuc ptaka.

W przeciwieństwie do części oddechowej płuc ssaków, w świetle przedsionków i przewodów powietrznych płuc ptaka nie stwierdzono obecności makrofagów /58, 160/. Makrofagi zaobserwowano natomiast w ścianie przewodów powietrznych. Zawierały one materiał osmofilny blaszkowaty, nagromadzony w licznych fagolizosomach. Na tej podstawie można przypuszczać, że podobnie jak u ssaków makrofagi odpowiedzialne są za degradację zmienionego surfaktanta. Na ten temat dotychczas nie wypowiedziano się jednak w piśmiennictwie.

S S A K

PODSTAWOWE DANE O UKŁADZIE ODDECHOWYM

Dolny odcinek dróg oddechowych ssaków złożony jest z tchawicy, oskrzeli głównych, które dzielą się na oskrzela płatowe i segmentowe, od których odchodzą dzielące się widełkowato generacje oskrzeli niższych rzędów. Parzyste płuca ssaka odznaczają się własną, znaczną ruchomością oddechową i leżą w jamach opłucnowych, umożliwiającą przesuwanie się ich bez tarcia. Obecność jamy opłucnowej umożliwia wytworzenie w niej ujemnych ciśnień, co odgrywa ważną rolę w mechanizmie oddechowym. Za ruchy oddechowe klatki piersiowej odpowiada oddzielająca ją od jamy brzusznej przepona oraz dodatkowe mięśnie oddechowe.

W samym miąższu płuc drogi oddechowe są bardzo rozbudowane na skutek wielokrotnych podziałów oskrzelików końcowych. Wymiana gazowa rozpoczyna się na wysokości oskrzelików oddechowych, w ich ścianie formują się bowiem pierwsze pęcherzyki płucne /Ryc. 65/. Oskrzeliki oddechowe dzielą się w dalszym ciągu widełkowato na przewody pęcherzykowe, od których odchodzą gromadnie pęcherzyki płucne, tworzące powierzchnię oddechową. Rozgałęzienia tętnicy płucnej towarzyszą rozgałęzieniom drzewa oskrzelowego. Bardzo znacznie rozbudowana sieć naczyń włosowatych ściany pęcherzyków płucnych zabezpiecza wymianę gazową.

W płucu ssaka pęcherzyk stanowi przeto podstawową jednostkę strukturalną i funkcjonalną wymiany gazowej. Protoplastą jego w rozwoju filogenetycznym był worek powietrzny pierwotnych ryb dwudysznych /72, 96, 113/. Na przykładzie płuc współczesnych płazów i gadów można prześledzić ewolucję kształtowania się doskonalszych jednostek wymiany gazowej związanych z przystosowaniem się ssaków do oddychania wyłącznie powietrzem atmosferycznym /71, 74, 76, 113/.

Pęcherzyki płucne ssaków wyścielone są komórkami nabłonkowymi, zróżnicowanymi pod względem budowy i funkcji. Komórki typu I, wyraźnie spłaszczone, biorą udział w dyfuzji gazów /155, 156, 159/. Komórki nabłonkowe typu II, mają kształt kubiczny, a w swej cytoplazmie posiadają charakterystyczne ziarnistości, zwane ciałami lamelarnymi. Komórkom tym przypisuje się funkcje wytwarzania, magazynowania oraz wydzielania do światła pęcherzyka płucnego substancji fosfolipidowych regulujących napięcie powierzchniowe /60, 97, 164/. Badania Granela /38/ prowadzone nad komórkami nabłonka płucnego przy użyciu Sudanu III, po raz pierwszy wykazały istnienie w tych komórkach ciał tłuszczowych. Stosując utrwalacz osmowy, Węśław /161/ obserwował "kuleczki lipidowe" o ciemniejszym zabarwieniu. Struktury te pojawiają się po raz pierwszy w komórkach nabłonka płucnego płodów ludzkich w drugiej połowie życia płodowego, a w dziewiątym miesiącu ciąży komórki te są już obficie obładowane kuleczkami lipidowymi. Węśław obserwował również obecność tych kuleczek w płucach niższych kręgowców przypisując im nieznaną, lecz zapewne doniosłą funkcję fizjologiczną.

Komórkom zawierającym struktury lipidowe, Macklin /94/ przypisywał zasadniczą rolę w wytwarzaniu "mikrofilmu" wysięciającego pęcherzyki płucne. Badając świeży oraz utrwalony materiał z płuc ssaków przy pomocy mikroskopu świetlnego i fazowo-kontrastowego, stwierdził on, iż film wysięcikowy zawiera kwaśne mukopolisacharydy oraz materiał "mielinogeny". Stosując modyfikację metody Hale'a, Groniowski i Biczyskova /42/ uwidocznili w obrazach mikroskopowo-elektronowych ciągłą wysięciwkę pokrywającą pęcherzyki płucne. Obecność substancji Hale-dodatniej świadczącej o obecności reszt glikozaminoglikanowych stwierdzili wyżej wymienieni autorzy również w ciałkach lamelarnych komórek typu II. Zaobserwowali oni "opróżnianie się" ciał lamelarnych oraz przechodzenie ich zawartości do światła pęcherzyka płucnego /43/. Dalsze badania ultrahistologiczne ujawniły substancje lipidowe na powierzchni nabłonka pęcherzyków płucnych oraz zidentyfikowały opisywane uprzednio kuleczki lipidowe jako ciała lamelarne /84, 90, 148/. Wyniki te znalazły potwierdzenie w badaniach biochemicznych, które wykazały istnienie dominującej komponenty fosfolipidowej, a zwłaszcza fosfatydylocholiny, w zewnątrzkomórkowej wysięciwie pęcherzyków płucnych ssaków /65, 148/. Wprowadzenie nowych technik dla utrwalania miąższu płucnego do badań mikroskopowo-elektronowych umożliwiło ujawnienie dobrze zachowanej struktury zewnątrzkomórkowej wysięciwki pęcherzyków płucnych, łącznie z jej charakterystyczną strukturą tubularną /2, 12, 36/. Istnienie struktury tubularnej w wysięciwie zewnątrzkomórkowej pęcherzyków płucnych in vivo zostało potwierdzone za pomocą technik

stosujących rozłupywanie szybko zamrożonych tkanek /96, 164/. W badaniach prowadzonych w naszym laboratorium uzyskaliśmy obrazy struktur tubularnych mielinowych w subfazie zewnątrzkomórkowej wyściółki pęcherzyków płucnych, stosując utrwalanie płuc szczurzych oraz małych wycinków tkankowych płuc ludzkich /biopsja/ w parach kwasu osmowego lub aldehydu glutarowego /44, 47/. Metoda wstępnego utrwalania w parach wyżej wymienionych związków pozwoliła również na prowadzenie badań ultrahistochemicznych zewnątrzkomórkowej wyściółki pęcherzyków płucnych /47, 53, 55/. W obecnej mojej pracy płuco ssaka stanowi pewnego rodzaju układ odniesienia dla badań ultrastrukturalnych wykładników ewolucji układu surfaktanta w części oddechowej płuc u niższych kręgowców.

WYNIKI BADAŃ

Obrzeżone nabłonkiem pęcherzyki płucne stanowią właściwą część oddechową płuc. Oddzielone są one między sobą przegrodami, w których znajduje się bardzo gęsta sieć włosowatych naczyń krwionośnych. Wąski przedział znajdujący się między światłem pęcherzyka i naczyń włosowatego zwany jest barierą dyfuzyjną /bariera krew-powietrze/ /Ryc. 66, 67 i 68/. Naczynia włosowate wysłane są spłaszczonymi komórkami śród błonkowymi, tworzącymi ciągłą wyściółkę. Cytoplazma tych komórek uboga jest w organelle. W pobliżu jądra komórkowego znajdują się mitochondria, kompleks Golgiego i kanały siateczki śródplazmatycznej. Zarówno od strony światła naczynia jak i od

strony jego blaszki podstawnej widywane są zwykle dość liczne pęcherzyki mikropinocytarne. Wypustki cytoplazmatyczne komórek śródbłonkowych przylegają do siebie tworząc ścisłe połączenia lub zachodzą na siebie dachówkowato. Naczynia włosowate są oddzielone od nabłonka pęcherzyków płucnych blaszkami podstawnymi zarówno komórek nabłonka jak i śródbłonka /Ryc. 69/. Nieliczne elementy łącznotkankowe w postaci włókienek kolagenowych i sprężystych spotykane są niekiedy u podstawy komórek nabłonkowych typu II pęcherzyków płucnych oraz w miejscach rozwidleń włósniczek /Ryc. 70/. Pojedyncze miofibroblasty obecne są na poziomie przewodów pęcherzykowych.

Pęcherzyki płucne wysłane są komórkami nabłonkowymi o zróżnicowanej budowie. Komórki nabłonkowe określane jako komórki typu I, tworzą właściwą, wyciągniętą nabłonkową pęcherzyków. W części przyjądrowej tych komórek obserwuje się pojedyncze, małe mitochondria, kompleks Golgiego oraz pojedyncze cysterny siatki cytoplazmatycznej. Pozostała część komórki tworzy rozległą, pozbawioną prawie zupełnie organelli, cienką blaszkę cytoplazmatyczną. Widuje się w niej pęcherzyki mikropinocytarne /Ryc. 71/.

Kubiczne komórki nabłonkowe typu II znacznie odbiegają swoją budową od spłaszczonych komórek typu I /Ryc. 72/. Na ich powierzchni zwróconej do światła pęcherzyka widoczne są liczne mikrokosmki o różnej długości. W cytoplazmie mikrokosmków, przy należytej zdolności rozdzielczej stwierdza się obecność filamentów /Ryc. 73/. Filamenty te mają grubość 3-4 nm. Ułożone wiązki biegną równolegle do długiej osi mikrokosmków

/Ryc. 74/. W sąsiedztwie dużego, centralnie położonego jądra obserwuje się duże mitochondria, dobrze rozwinięte kanały siateczki śródplazmatycznej z licznymi rybosomami, kompleks Golgiego oraz ciała wielopęcherzykowe. Znamienną cechą tych komórek jest obecność w cytoplazmie charakterystycznych ziarnistości zwanych ciałami lamelarnymi. Ciała te otoczone są błoną. W ich wnętrzu znajduje się silnie osmofilny materiał przechodzący w wieloblaszkowe formy lamelarne /Ryc. 75 i 76/. Odległości między tymi lamelami, mierzone w regularnie przebiegających odcinkach, są rzędu 4 do 5 nm /Ryc. 77/. Obserwuje się niekiedy fuzje błon otaczających ciała lamelarne i przemieszczanie się osmofilnych lamel w obrębie tych ciał /Ryc. 78/. W zwróconej do światła pęcherzyka części komórek obserwowano niekiedy ciała lamelarne przylegające do błony plazmatycznej. Błony obrzeżające ciała lamelarne łączyły się z błoną plazmatyczną komórek /uległy fuzji/, a lamelarny materiał wydzielany był do światła pęcherzyka płucnego /Ryc. 79/.

Największa ilość obserwacji zewnątrzkomórkowej wyściółki pęcherzyków płucnych została poczyniona na materiale, który był wstępnie utrwalany w parach czterotlenku osmu /Ryc. 80/. Wyściółka ta w sposób ciągły pokrywała nabłonek pęcherzyków płucnych. Zbudowana była z osmofilnego filmu leżącego na granicy fazy powietrznej oraz epifazy /Ryc. 81/. Film ten niekiedy ulegał zwielokrotnieniu tworząc lamelarny pokład, a niekiedy brak było jego ciągłości. Pod epifazą widoczna była subfaza grubości w granicach 30-250 nm, a czasami większych /Ryc. 82 i 83/. Subfaza zawierała tubule mielinowe o bardzo regularnej

budowie; ich profile obserwowano na przekrojach podłużnych i poprzecznych /Ryc. 84/. Tubule mielinowe zbudowane były z błon elementarnych, grubości rzędu 8 nm. Na przekrojach poprzecznych tubule mielinowe tworzą regularną siatkę, w której odległość pomiędzy przeciwległymi ścianami wynosi około 45 nm. We wnętrzu oczek siatki obserwowano materiał rozpraszający elektrony, tworzący zarys pierścienia /Ryc. 85/. Na przekrojach podłużnych, światło tubul wypełnione materiałem, jest drobnoziarnistym $\sqrt{0}$ niewielkiej gęstości elektronowej.

Przy posiłkowaniu się utrwalaczem osmowo-glutaraldehydowo-paraformaldehydowym, również zostały uwidocznione fragmenty wyściółki zewnątrzkomórkowej pęcherzyków płucnych. Przeważnie jednak fragmenty te nie były ściśle związane z powierzchnią komórek nabłonkowych, a leżały luźno w świetle pęcherzyków płucnych. W materiale płucnym przygotowanym w podany tu sposób na przekrojach poprzecznych, we wnętrzu tubul mielinowych zaobserwowano okrągłe cząstki o średnicy 8 nm. Były one regularnie rozłożone w kątach utworzonych przez przecięcia błon elementarnych tworzących ściany tubul /Ryc. 86/.

W celu uwidocznienia reszt węglowodanowych w płucach badanych zwierząt zastosowano czerwień rutenu. Produkt reakcji z tym wyznacznikiem obserwowano na powierzchni błon plazmatycznych komórek nabłonkowych typu I i II /Ryc. 87 i 88/. Tworzył on drobnoziarnisty lub drobnowłókienkowy pokład o grubości 20-30 nm /Ryc. 89 i 90/. Znacznie delikatniejszy pokład produktu reakcji obserwowano na powierzchni wewnątrz-

nej błon obrzeżających ciała lamelarne oraz na zachowanych fragmentach lamel /Ryc. 91/. Stosowana technika utrwalania z równoczesnym "barwieniem" przy pomocy czerwieni rutenu pozwoliła na uwidocznienie fragmentów zewnątrzkomórkowej wyściółki pęcherzyków /Ryc. 92/. Na powierzchni błon tubul mielinowych obserwowano drobnoziarnisty produkt reakcji ściśle zespolony z ich profilami /Ryc. 93/.

W badanym materiale płuc szczurów obserwowano komórki będące makrofagami płucnymi. Najczęściej występowały one w ścietle pęcherzyków płucnych. Swoimi długimi wypustkami cytoplazmatycznymi przylegały one do powierzchni spłaszczonej komórek nabłonkowych typu I /Ryc. 94 i 95/. W sąsiedztwie komórek typu II, wypustki cytoplazmatyczne makrofagów upodabniały się swym kształtem do mikrokosmków, "wciskając się" pomiędzy te struktury /Ryc. 96/. W cytoplazmie makrofagów pęcherzykowych obserwowano liczne mitochondria, kanały siateczki śródplazmatycznej, rozbudowany kompleks Golgiego oraz liczne lizosomy. Widywano niekiedy we wnętrzu tych komórek duże fragmenty wyściółki pęcherzykowej, izolowane od cytoplazmy makrofagów strukturą błonową. Część tej wyściółki zachowywała rysunek struktury tubul mielinowych /Ryc. 97/. Obserwacje te wskazują na zintegrowanie makrofagów z zewnątrzkomórkową wyściółką pęcherzyków płucnych.

PODSUMOWANIE I OMÓWIENIE WYNIKÓW

Badania płuc ssaka przeprowadzone na materiale pobranym od szczurów dotyczyły części oddechowej, a w szczególności elementów komórkowych ściany pęcherzyków i przegród międzypęcherzykowych oraz budowy zewnątrzkomórkowej wyściółki pęcherzyków płucnych.

W rozwoju filogenetycznym płuc kręgowców obserwuje się zmianę w organizacji komórkowej prowadzącą do powstawania budowy o optymalnych parametrach morfologicznych dla transportu gazów /74, 96, 107/. Procesowi temu towarzyszy progresywna rozbudowa sieci naczyń włosowatych przegrody międzypęcherzykowej, co prowadzi do zwiększenia ich pojemności. Stosując metodę morfometryczną, Hughes /74/ wykazał, iż u ryb dwudysznych naczynia włosowate stanowią 3.5% całości tkanki płucnej, natomiast u szczura - 14.1%.

U ssaków, w stanie pełnego upowietrzenia płuc, powierzchnia pęcherzyków prawieże bez reszty służy wymianie gazowej. Tylko bardzo nikły stosunkowo odsetek powierzchni zajmowany jest przez komórki typu II. Jest to możliwe na skutek rozbudowy gęstej sieci naczyń włosowatych w ścianie pęcherzyków. W przegrodzie międzypęcherzykowej płuc ssaków komórki śródbłonkowe naczyń włosowatych są ze sobą ściśle połączone. W komórkach tych obserwowano pęcherzyki pinocytarne przylegające do błon plazmatycznych lub leżące wolno w cytoplazmie. Przypisuje się im funkcje związane z transportem makromolekuł "w obie strony" przez komórki śródbłonkowe. W głównej mierze

dotyczy to tych naczyń, w których śródbłonki nie mają fenestracji /86, 134/. Weibel /159/ przyrównywał budowę i funkcje kapilar mięszu płucnego do kapilar krwionośnych zaopatrujących komórki mięśni poprzecznie prążkowanych. Komórki śródbłonkowe kapilar przegrody międzypęcherzykowej oddzielone są od komórek nabłonkowych pęcherzyków płucnych wąskim pasem blaszek podstawnych łączącym powierzchnie błon obu typów pokładów komórkowych. W miejscach przylegania do siebie kapilar obserwowano w badanym materiale włókienka kolagenowe i sprężyste. Według Weibla /157/ włókienka te tworzą rodzaj szkieletu w przegrodzie międzypęcherzykowej. Miofibroblasty zlokalizowane są przede wszystkim na wysokości oskrzelików oddechowych, a tylko wyjątkowo występują na poziomie przewodów pęcherzykowych. Kapanci i wsp. /85/ w płucach dorosłych szczurów na poziomie przegród międzypęcherzykowych obserwowali miofibroblasty. Sugerują oni, że komórki te mogą w przypadku rozedmy i niedodmy pełnić rolę wspomagającą regulację napięcia przegród międzypęcherzykowych podczas wentylacji i perfuzji.

Nabłonek pęcherzykowy płuc szczura reprezentowany jest w zasadzie przez dwa typy komórek o różnej strukturze i funkcji. Komórki typu III, opisane przez nielicznych badaczy, nazwane są komórkami szczoteczkowymi i mają przypuszczalnie funkcje receptorowe /59, 107, 157/. Są one tylko wyjątkowo spotykane, zaś w prowadzonych badaniach nie zająłem się ich relacją do komórek typu I i II.

Rozległe cienkie płytki cytoplazmatyczne komórek typu I tworzą nabłonkową wyściółkę pęcherzyków płucnych. Generalny

plan budowy tych komórek jest bardzo podobny do komórek śródbłonkowych kapilar płucnych. Komórki nabłonkowe typu I oraz komórki śródbłonkowe kapilar są zasadniczymi elementami morfologicznymi bariery dyfuzyjnej krew-powietrze /155, 156, 159/. Małe ssaki mają znacznie szybszą przemianę materii i energii w porównaniu do dużych zwierząt, a tym samym zwiększone zapotrzebowanie tlenowe. Dlatego też, w przypadku małych zwierząt, bariera krew powietrze jest cieńsza.

U niższych kręgowców, ryb dwudysznych i płazów, prymitywne worki płucne wysłane są jednym typem komórek nabłonkowych, spełniającym równocześnie funkcje wyściółki tych worków oraz czynność sekrecyjną substancji lipidowych do przestrzeni powietrznej /9, 72, 116/. Długie wypustki plazmatyczne tych komórek swoją budową odpowiadają komórkom nabłonkowym typu I płuc ssaków i najprawdopodobniej są ich protoplastami w rozwoju ewolucyjnym. Już u gadów obserwuje się zróżnicowanie komórek nabłonkowych na typ I i II. Zwierzęta, w związku z keratynizacją skóry i przejściem do życia lądowego, musiały udoskonalić płucny system wymiany gazowej i z tym najprawdopodobniej związana jest specjalizacja budowy komórek nabłonkowych /71, 74/.

Komórki nabłonkowe typu II w płucach ssaków w sposób zasadniczy różnią się swoją budową od komórek typu I. Najbardziej charakterystyczną cechą tych komórek jest obecność ziarnistości obrzeżonych błoną i wypełnionych elektronowo-gęstym homogennym lub lamelarnym materiałem. Ziarnistości te, zwane obecnie ciałami lamelarnymi, były przedmiotem rozważań wielu bada-

czy co do ich struktury i funkcji /84, 138, 139, 151/. Dziś wiadomym jest powszechnie, iż gromadzi się w nich substancja regulująca napięcie powierzchniowe, co ma miejsce po wydzieleniu zawartości ciał lamelarnych na powierzchnię nabłonka. Brooks /8, 9/ wykazał, iż ciała lamelarne mają podobną budowę nie tylko w komórkach nabłonkowych płuc ssaków, ptaków, gadów i płazów, ale również w komórkach wyściełających pęcherze pławne ryb. Uważał on, iż podobieństwo budowy tych struktur wynika z pełnienia przez nie podobnych funkcji /9/. W płucu szczura ciała lamelarne zbudowane są z regularnie ułożonych zespołów błon elementarnych. Niekiedy towarzyszy im obecność mniej dojrzałych ziarnistości wypełnionych homogennym materiałem. Obserwacje te poczyniono stosując utrwalacz osmowo-glutaraldyhydowo-paraformaldydy a następnie dotrwalając octanem uranylu. Zastosowanie utrwalacza z kwasem taninowym umożliwiło zachowanie nasyconych fosfolipidów w ciałach lamelarnych /84, 139/.

Sprawą dyskusyjną w piśmiennictwie jest sam mechanizm wydzielania materiału błonowego do światła pęcherzyków płucnych, a zwłaszcza dalsza jego transformacja w tubule mielinowe /49, 54/. W badanym materiale obserwowano obecność ciał lamelarnych, których błony limitujące uległy fuzji z błoną plazmatyczną komórek typu II i następowała sekrecja materiału błonowego do światła pęcherzyka płucnego. Groniowski /60/ uważa, iż fuzja błon obrzeżających ciała lamelarne z błonami plazmatycznymi komórek nabłonkowych pozwala na przejście zawartości błonowej w subfazę z równoczesnym formowaniem tubul

mielinowych. Przeprowadzone badania biochemiczne wykazują, iż skład lipidów ciał lamelarnych oraz tubul mielinowych wyściółki zewnątrzpęcherzykowej jest podobny /36, 65/. Wyniki te potwierdzają tym samym morfologiczne spostrzeżenia, iż tubule mielinowe wywodzą się z ciał lamelarnych /54, 88/.

Zewnątrzkomórkowa wyściółka pęcherzyków płucnych w badanych płucach szczurów została uwidoczniiona dzięki wstępnemu utrwalaniu w parach osmu. Przedstawia ona obraz ciągłej struktury wyściełającej pęcherzyki płucne, złożonej z powierzchniowej epifazy i leżącej głębiej subfazy. Epifaza jest osmofilną błonką powierzchniową stanowiącą granicę pomiędzy powietrzem w pęcherzyku płucnym, a znajdującą się pod nią subfazą. Czasami ta delikatna błonka ulegała uszkodzeniu podczas procedury utrwalania, co manifestowało się przerwaniem jej ciągłości lub agregacji osmofilnego filmu. Obraz najlepiej zachowanego filmu powierzchniowego uzyskali Gil i Weibel /36/ stosując metodę perfuzyjnego utrwalania płuc pod kontrolowanym ciśnieniem.

Subfaza jest reprezentowana w płucach szczura przez tubularne figury mielinowe. Odległość pomiędzy błonami limitującymi tubule mielinowe wynosi w przypadku badanych zwierząt około 45 nm. Stosując inne techniki utrwalania analogicznego materiału uzyskano podobne wartości /96, 157/. U różnych ssaków wartości te podlegają wyraźnym wahaniom co przemawiać może za specyfiką gatunkową tworzywa tubul mielinowych /140, 141/. Na przekrojach poprzecznych, we wnętrzu tubul mielinowych obserwuje się owalne struktury o zamkniętych profilach,

lub ich fragmenty, o mniejszej gęstości elektronowej niż profile błon tubul. Uważa się, iż struktury te mają charakter białkowy /56, 60/. Dane biochemiczne wskazują, iż źródłem białek w tubulach mielinowych po większej części nie są ich prekursorzy - ciała lamelarne /37/. Przedstawiony przez Groniowskiego /46, 59/ model makromolekularnej budowy zewnątrzkomórkowej wyściółki pęcherzyków płucnych implikuje udział glikoprotein błony plazmatycznej komórek typu II w tworzeniu struktur tubularnych subfazy. Stosując w obecnej pracy inną metodę utrwalania płuc polegającą na dotchawiczej wlewce glutaraldehydu, paraformaldehydu i czterotlenku osmu również uwidoczniono tubule mielinowe. W ich wnętrzu w kątach utworzonych na przecięciach błon tubul, obserwowano okrągłe, małe cząstki. Podobne obserwacje zostały poczynione przez Williams /163/ oraz Hassetta i wsp. /66/ po zastosowaniu perfuzyjnego utrwalania płuc szczurów w mieszaninie kwasu taninowego^Z aldehydem glutarowym. Goniakowska-Witalińska /34/ obserwowała obecność takich cząstek na powierzchni błon mielinowych płuc płazów oceniając ich średnicę na 8 do 13 nm. Uważa się, iż cząsteczki te są białkami, a funkcja ich związana jest z transformacją błon ciał lamelarnych w tubule mielinowe /46, 61, 65/.

Zastosowany barwnik polikationowy - czerwień rutenu, ujawnił grupy węglowodanowe na powierzchni błon plazmatycznych komórek nabłonkowych typu I i II, na błonach tubul mielinowych oraz niewielkie ilości na wewnętrznych powierzchniach błon obrzeżających ciała lamelarne. Uzyskane obecnie wyniki są

zgodne z wcześniejszymi badaniami histochemicznymi tkanki płucnej ujawniającymi za pomocą czerwieni rutenu i błękitu alcjanu reszty węglowodanowe /53, 58, 68, 81/. Z przeprowadzonych obserwacji wynika, iż czerwień rutenu tworzy trwałe kompleksy z błonami tubul mielinowych. Badania ultracytochemiczne błon składowych tubul mielinowych, z których wyekstrahowano białka lub lipidy dowiodły, iż niezbędnym warunkiem zachowania struktury tubuli mielinowej jest współuczestniczenie powiązanych z białkami i lipidami cukrowców /53/. Groniowski /54, 59/ uważa, iż glikoproteiny wchodzące w skład wyściółki zewnątrzkomórkowej pęcherzyków płucnych w głównej mierze są składową płaszczą powierzchniowego błony plazmatycznej komórek nabłonka pęcherzyków, natomiast stosunkowo niewielka ich część pochodzi z ciał lamelarnych.

W badanym materiale płuc szczurów obserwowałem niekiedy jednojądrowe fagocyty pochodzenia mnocytarne, zwane tu makrofagami pęcherzykowymi /58/. Komórkom tym przypisuje się u ssaków bardzo istotną rolę jako pierwszej linii obronnej w części oddechowej płuc oraz funkcję oczyszczania pęcherzyków z zalegających cząstek w tym również metabolitów surfaktanta /59, 93/. W badanym materiale widywałem makrofagi, które przylegały do komórek nabłonkowych pęcherzyków płucnych tworząc niekiedy ciągłą warstwę komórkową oddzielającą przestrzeń powietrzną. We wnętrzu fagolizosomów znajdowałem niekiedy zmienione tubule mielinowe wyściółki zewnątrzkomórkowej. Obserwacje te potwierdzają udział makrofagów zlokalizowanych w pęcherzykach płucnych ssaków w usuwaniu i degradacji uszko-

dzonych kompleksów wyściółki zewnątrzkomórkowej pęcherzyków. Makrofagi pęcherzykowe według Burri i Weibla /11/ są obecne w płucach płodów szczura w 21 dniu ciąży, to jest na 24 godziny przed porodem. W badanym przeze mnie materiale obserwowałem wolne makrofagi w pęcherzykach płucnych płodów niekiedy już w 19 dniu ciąży. Należy podkreślić, iż w tych pęcherzykach zaobserwowałem równocześnie wcześniejsze niż opisywali to inni autorzy wydzielanie materiału błonowego z ciał lamelarnych do przestrzeni powietrznej /11, 162/. Dlatego też można przypuszczać, iż u ssaków czynnikiem mobilizującym makrofagi płucne do migracji ze śródmiąższu do przestrzeni powietrznej jest rozpoczęcie wydalania materiału błonowego, będącego następnie składową tubul mielinowych. Na podstawie danych z piśmiennictwa i własnych obserwacji można stwierdzić, że w płucach niższych kręgowców brak jest makrofagów pęcherzykowych /39, 87/. Obserwacje dotyczące braku makrofagów pęcherzykowych u niższych kręgowców przemawiają za mniejszą odpornością tych zwierząt i większą ich podatnością na przewlekłe zapalenia płuc /39/.

D Y S K U S J A

Ultrastrukturalne badania rozwoju bariery krew-powietrze przeprowadzone na wybranych grupach różnych gatunków kręgowców wykazały, iż w miarę kształtowania się bariery dyfuzyjnej w płucach i przejmowania przez ten narząd głównej roli w wymianie gazowej, wytwarza się równoległe system komórkowy zabezpieczający realizację tej wymiany. Niezależnie od szczebla rozwojowego, wśród pokładu nabłonkowego wyściełającego przestrzenie powietrzne, w których wymiana gazów następuje, pojawiają się komórki specjalizujące się docelowo w produkcji fosfolipidów. Fosfolipidy te są istotnym składnikiem substancji, która po wydzieleniu na powierzchnię komórek nabłonka reguluje napięcie powierzchniowe na granicy fazy płynnej i powietrznej, bądź też wywiera działanie ^{przeciwnie} ~~ślizgane~~. Przeprowadzone tu badania wyraźnie sugerują, iż specjalizacja tych komórek wyprzedza znacznie przejmowanie pełnej roli w wymianie gazowej przez płuca. Z punktu widzenia logiki biologicznej jest to zrozumiałe, bowiem utrzymywanie należytej stabilizacji powietrznej przez substancje fosfolipidowe powierzchniowo aktywne /surfaktant/ determinuje samą wymianę gazową.

Nabłonek wyściełający przestrzenie płuc przeznaczone dla wymiany gazowej u przedstawiciela najniższej grupy kręgowców badanej przeze mnie, mianowicie u płaza, złożony był z jednorodnych komórek. W każdej z nich można jednak było stwierdzić obecność strefy różnicowania wewnątrzkomórkowego. W części przyjądrowej komórek pojawiały się ziarnistości lipidowe, które były odpowiednikiem ciał lamelarnych znajdujących się w pełni wyspecjalizowanych komórkach, to jest pneumocytach typu II ~~De~~

cherzyków płucnych ssaków. Pozycję pośrednią zajmował nabłonek wyciąający przestrzenie powietrzne przeznaczone dla wymiany gazowej u gadów. W nabłonku tym były już dwa typy komórek. Komórki zawierające ciała lamelarne różniły się jednak swymi cechami morfologicznymi od komórek typu II nabłonka ssaków. Również ciała lamelarne, będące miejscem zakończenia cyklu produkcyjnego surfaktanta oraz jego wewnątrzkomórkową składnicą, podlegały pewnemu różnicowaniu się w postępie filogenezy.

Zewnątrzkomórkowa wyciółka bariery krew-powietrze u wszystkich badanych kręgowców jest zespolona z nabłonkiem, posiada zróżnicowaną subfazę i epifazę. Ta ostatnia jest efektem aktywności powierzchniowej surfaktanta, który to w różnej postaci ultrastrukturalnej obecny jest również i w subfazie. W miarę rozwoju filogenetycznego płuc i eliminowania poza-płucnej wymiany gazowej, w subfazie formuje się doraźny zapas surfaktanta. Jest to rezerwa zdolna do włączenia natychmiastowego do akcji w warunkach uszkodzenia epifazy. Ultrastrukturalnym wykładnikiem tego doraźnego zapasu surfaktanta są dokładnie opisane przez Weibla figury tubularne mielinowe /157/. Formowanie tych struktur rozpoczyna się u płaza. Nieliczne figury tubularne mielinowe spotykane w subfazie mają jednak bardzo nieregularną budowę. Zyskują one na regularności u gada, są też w tej grupie znacznie częściej spotykane. Pełnia rozwoju struktur tubularnych mielinowych występuje u ssaków.

Podana tu ewolucja obrazu ultrastrukturalnego układu surfaktanta stanowi pewne novum, które w dotychczasowych pracach dotyczących bariery krew-powietrze u niższych kręgowców nie było rozpatrywane. Kształtowanie się struktur tubularnych subfazy

może być wykładnikiem pewnych różnic ilościowych względnie jakościowych w składzie związków tworzących substancję regulującą napięcie powierzchniowe, co zostało wykazane badaniami biochemicznymi /69, 70, 88, 150/. Za przypuszczeniem, że zmiany te nie dotyczą wyłącznie fosfolipidów, przemawiają również pewne obserwacje dokonane w czasie prowadzonych przeze mnie badań. U gada w macierzy subfazy wypełniającej światło struktur tubularnych, a ściślej na skrzyżowaniach błon tworzących ich ścianę, pojawił się ziarenkowaty materiał, posiadający ultrastrukturalne cechy produktu białkowego. U ssaka, oprócz tych ziarn, ujawnione zostały poza tym w częściach centralnych macierzy tubul, struktury pierścieniowate posiadające również cechy materiału proteinowego, względnie glikoproteinowego /51,59,60/. Obu powyżej wzmiankowanych struktur nie udało się ujawnić w płucu płaza.

Osobną pozycję w rozważaniach o rozwoju bariery krew-powietrze u kręgowców zajmują płuca ptaka. Specyfice budowy płuc ptaka poświęcone zostało nieco więcej miejsca przy omówieniu wyników badań własnych. Tu przeto pokrótce tylko je uzupełnię. Nabłonek wchodzący w skład bariery krew-powietrze płuc ptaka wprawdzie dysponuje obu typami komórek, nie mniej jednak posiada dwie swoiste cechy różniące go od wszystkich pozostałych kręgowców. Po pierwsze, istnieje pełna segregacja topograficzna komórek typu II i komórek typu I: komórki typu II pokrywają ścianę przedsionków, natomiast ściany przewodów powietrznych są wysłane komórkami typu I. Po drugie, komórki typu I wytwarzają materiał surfaktanta niezależnie od komórek typu II, jednak zachodzi to w sposób zupełnie odmienny niż w tych osta-

tnich. Materiał ten w postaci gotowych błon elementarnych układa się w równoległe warstwy w bogatej w cukrowce subfazie. Tu nie ma ani transformacji blaszek lipidowych w tubule mielinowe, ani przetwarzania materiału tubul w epifazę. Poszczególne błony elementarne wydają się być gotowymi do doraźnego użycia, ułożonymi w warstwy "epifazami". Ciała lamelarne zlokalizowane wyłącznie w komórkach typu II, stanowić by mogły u ptaka materiał przygotowany na stany awaryjne, chociażby po zniszczeniu komórek typu I. Z pewnym prawdopodobieństwem można by przeto myśleć, iż płuco ptaka na tym odcinku poszło dalej w swym rozwoju w porównaniu z płucem ssaka.

W prowadzonych badaniach szczególną uwagę poświęcono resztom węglowodanowym białek integralnych błony plazmatycznej krawędzi komórek nabłonka zwróconej do światła przestrzeni powietrznej oraz cukrowcom występującym w ultrastrukturze samej wyciółki zewnątrzkomórkowej. Posługiwałem się metodą z czerwieniem rutenu przystosowaną do badań powietrznej tkanki płucnej i wypróbowaną w szeregu prac wykonywanych przez nas uprzednio /45,48,53/. Wyraźny, ciągły pokład produktu reakcji był ściśle zespolony z błoną plazmatyczną nabłonka wszystkich badanych kręgowców. Szczególnie obfity był on na pneumocytach typu II gadów i ssaków, na powierzchni komórek przewodów powietrznych ptaków oraz na partiach pokrytych mikrokosmkami monotypowych pneumocytów płaza. Gromadzenie się obfitszej warstwy ruteno-pozytywnej występowało przeto na powierzchni tych komórek nabłonka płucnego, które u kręgowców produkują i wydzielają fosfolipidy surfaktanta. Spostrzeżenie to przemawiać może za po-

wiązaniem syntezy obu tych grup związków chemicznych, to jest fosfolipidów surfaktanta i glikoprotein błonowych. W strukturach tubularnych zewnątrzkomórkowej wyściółki materiał rutenopozytywny był rozmieszczony równomiernie na skrzyżowaniach błon elementarnych, tworzących ściany tubul. Był całkowicie zintegrowany ze strukturą fosfolipidową.

W rozważaniach dotyczących rozwoju bariery krew-powietrze w płucach niższych kręgowców bardzo pomocne są dane o rozwoju osobniczym części oddechowej płuc ssaków. W trakcie kształtowania się płuc u płodu decydującą rolę ma rozwój sieci naczyniowej. Początkowo skąpa sieć naczyń włosowatych, stosunkowo szybko rozbudowuje się w luźnej tkance łącznej i zbliża się do rozgałęzień pierwotnych cew endodermalnych. W tym współoddziaływaniu tkanki nabłonkowej i naczyniowej, w miarę rozwoju mięszu płucnego przeznaczonego w przyszłości dla wymiany gazowej, sieci naczyń włosowatych przypada rola histoformatywna /40,41/. Należyte zaopatrzenie nabłonka siecią włóściczkową, stanowi w znacznej mierze o zróżnicowaniu metabolicznym pierwotnych monotypowych pneumocytów.

W płucu szczura dopiero po 16 dniu rozwoju embrionalnego pojawiają się obłonione ziarnistości wypełnione homogennym materiałem fosfolipidowym. Od 18 dnia życia płodowego spotyka się już dobrze zróżnicowane ultrastrukturalnie ciała lamelarne. W 20 dniu życia płodowego /ciała u szczura trwa 22 dni/ można już mówić o obecności w pełni zróżnicowanych pneumocytów typu II /11,58,162,163/. Badania biochemiczne formujących się ciał lamelarnych w trakcie rozwoju embrionalnego wykazały, iż w homogennym materiale elektronowo-gęstych obłonionych ziarnistości

przeważa składnik białkowy. Dopiero w dalszym różnicowaniu ziarn, gdy pojawiają się struktury błonowe oraz definitywne lamelle, wzrasta bardzo znacznie ilość fosfolipidów /11,162,163/. Po urodzeniu zwierzęcia ciała lamelarne zawierają 94% lipidów oraz 2% cholesterolu, a za tym komponenta białkowa jest bardzo niewielka /37,84/.

Podobne wyniki uzyskał Gikas i współautorzy /35/, określając w trakcie rozwoju płuc płodów owcy stosunek fosforu frakcji lipidowej płynu pobranego z tchawicy do apoprotein surfaktanta. W okresie między 102 dniem i 147 dniem ciąży /ciąża u tych zwierząt trwa około 145 dni/ stosunek ten zwiększył się dziesięciokrotnie na korzyść fosfolipidów.

Trudno jest porównywać, czy doszukiwać się zbieżności ultrastrukturalnych w obrazie zewnątrzkomórkowej wyściółki w czasie rozwoju entogenetycznego u ssaków i filogenetycznego u niższych kręgowców. Oba te procesy zachodzą bowiem w odmiennych środowiskach. Drogi oddechowe oraz płuca płodów wypełnione są wszakże płynem; formowanie się zewnątrzkomórkowej wyściółki zachodzi przeto u ssaków w czasie upowietrzania się płuc w trakcie i po porodzie. Przytoczone przykładowo powyżej wyniki badań biochemicznych wskazują natomiast na pewne zbieżności w stosunkach ilościowych zachodzących między komponentami surfaktanta w rozwoju osobniczym płuc ssaka i rodzajowym u kręgowców. Rolę wiodącą w formowaniu się zewnątrzkomórkowej wyściółki ~~wła-~~ mają najprawdopodobniej proteiny integralne błony plazmatycznej nabłonka, a zwłaszcza ich rozbudowane reszty cukrowce tworzące powierzchnię otoczkę /glikokaliks/ na nabłonku płucnym.

W miarę uruchamiania metabolizmu odpowiedzialnego za produkcję składnika fosfolipidowego, formowania ciał lamelarnych i wydzielenia blaszek na powierzchnię pneumocytów, składniki cukrowco-białkowe otoczki powierzchniowej zostają zintegrowane z materiałem wydzielanych do subfazy blaszek, tworząc ostatecznie zewnątrzkomórkową wyściółkę /59,60/. Istotna rola przypada tu w udziale, rzecz jasna, ciałom lamelarnym. Również w trakcie ich formowania glikoproteiny wydają się mieć poczesne miejsce. Wskazuje na to chociażby wyraźny pokład cukrowcowy powlekający wewnętrzną powierzchnię błony obrzeżającej ciała lamelarne. Cząsteczki białkowe są wbudowane też w błonowy materiał blaszek fosfolipidowych, co zresztą przyczynia się do ich transformacji w struktury tubularne po wydzieleniu lameli do subfazy zewnątrzkomórkowej wyściółki /59,60,106,164/.

Powyższe rozważania teoretyczne mogą mieć pewne implikacje praktyczne /152/. Jednocześnie ze stwierdzeniem faktu, że niedobór surfaktanta jest jedną z głównych przyczyn śmiertelności noworodków, pojawiła się myśl o sztucznym wyrównaniu tego niedoboru. Jednak zastosowanie skutecznej profilaktyki przy pomocy różnych środków farmakologicznych odsunęło na nieco dalszy plan badania nad substytutem surfaktanta. Nie mniej jednak badania te stale są aktualne. Istnieje bowiem stałe zapotrzebowanie kliniki na dobrą substancję zastępczą surfaktanta, chociażby w przypadkach porodów wcześniaków, gdy wymagane jest doraźne wyrównanie niedoboru substancji regulującej napięcie powierzchniowe w przewodach pęcherzykowych czy formujących się pęcherzykach płucnych /125/.

Stosunkowo bogate jest piśmiennictwo o sposobach podawania substancji regulującej napięcie powierzchniowe i o jej składzie. Już w połowie lat sześćdziesiątych podawano surfaktant w postaci aerozolu /17/. Badania doświadczalne wykazały skuteczność dotchawczo podawanej zagęszczonej substancji surfaktanta /24/, jak również płynnej jego postaci /27,28/. Surfaktant przygotowywany laboratoryjnie zawierał zwykle zestaw wybranych aktywnych powierzchniowo fosfolipidów /27,62,79,80/. Zwraca tu uwagę fakt, że laboratoryjnie przygotowywane substytuty surfaktanta, poza fosfolipidami, nie zawierają innych jego składników występujących w stanie natywnym. Tu też można dopatrywać się ich niedoskonałości. Wyniki moich badań, podnoszące istotną rolę składnika białkowego w rozwoju systemu surfaktanta, sugerują włączenie do zestawu aktywnych powierzchniowo fosfolipidów również składnika białkowego. Sprawą dalszych badań byłoby określenie czy białko to miałoby mieć charakter apolipoproteiny /88/, czy też glikoprotein integralnych błony plazmatycznej nabłonka płucnego /59,60/. Być może oba te białka wpłynęłyby na większą skuteczność i trwałość sztucznego substytutu w przypadkach niedoboru surfaktanta pęcherzyków płucnych.

Przeprowadzone badania pozwoliły na porównanie uzyskanych obrazów ultrastrukturalnych wyściółki zewnątrzkomórkowej pęcherzyków płuc u kręgowców z wynikami innych badaczy. Opracowane standardy stosowanych przeze mnie metod posłużyły mi do badań płuc zwierząt ewolucyjnie niższych, co stworzyło płaszczyznę do rozważań nad filogenetycznym rozwojem układu oddechowego, a w szczególności nad kształtowaniem się i doskonaleniem zewnątrzkomórkowej wyściółki. Spostrzeżenia te mogą być pomocne

w dyskusji nad nieprawidłowościami budowy i wynikającym stąd upośledzeniem funkcji bariery krew-powietrze oraz zewnątrzkomórkowej wyściółki pęcherzyków płucnych ssaków.

W N I O S K I

1. Badania porównawcze worków płucnych płazów, woreczków płucnych gadów, przewodów powietrznych ptaków, pęcherzyków płucnych ssaków wykazały odmienną budowę ultrastrukturalną tych jednostek oddechowych. Niezależnie jednak od szczebla rozwojowego, we wszystkich tych strukturach w skład bariery krew-powietrze wchodzi wyspecjalizowane komórki nabłonkowe, wytwarzające i magazynujące substancję fosfolipidową regulującą napięcie powierzchniowe względnie działającą przeciwzlepnie.
2. Przestrzenie powietrzne u płazów pokryte są monotypowymi, spłaszczonymi komórkami nabłonkowymi. W ich wydzielonej części perikarialnej magazynowane są fosfolipidy w formie obłonionych ziarn. Nabłonek wyściełający przestrzenie powietrzne płuc gadów posiada już dwa typy komórek. Typ pierwszy - to płaskie komórki nabłonkowe pokrywające większą część powierzchni woreczka płucnego. W drugim typie komórek nabłonkowych znajdują się ziarnistości lipidowe o budowie lamelarnej, charakterystycznej dla pneumocytów typu II pęcherzyków ssaków. Nabłonek bariery krew-powietrze płuc ptaka złożony jest z dwóch typów komórek. Występuje tu jednak charakterystyczna segregacja topograficzna obu typów: komórki typu II pokrywają wyłącznie ścianę przedstonków. Oba typy komórek wytwarzają niezależnie od siebie

substancje fosfolipidowe. Pęcherzyki płuc ssaka posiadają dwa typy komórek nabłonkowych: płaskie komórki wchodzące w skład bariery dyfuzyjnej zwane pneumocytami typu I oraz kubiczne pneumocyty typu II z ziarnistościami zawierającymi surfaktant.

3. Zewnątrzkomórkowa wyściółka pozostaje w ścisłym związku z komórkami nabłonkowymi bariery krew-powietrze u wszystkich badanych kręgowców. Tubule mielinowe będące nośnikami surfaktanta pojawiają się po raz pierwszy u płaza jako struktury o nieregularnej budowie, zyskując u gada na regularności oraz osiągając pełnię rozwoju w zewnątrzkomórkowej wyściółce pęcherzyków płuc ssaka. Wyściółka zewnątrzkomórkowa płuc ptaków nie zawiera tubul mielinowych; występują w niej równoległe względem siebie błony elementarne.
4. Ze względu na uzasadnione domniemanie inicjującej roli protein integralnych błony plazmatycznej oraz istotnej roli glikoprotein w formowaniu się zewnątrzkomórkowej wyściółki, spostrzeżenia poczynione w powyższej pracy mogą mieć istotne znaczenie w patobiologii narządu oddechowego. Uwzględnienie tych spostrzeżeń, dotyczących struktury surfaktanta natywnego, może być pomocne w uzyskaniu bardziej efektywnych substytutów surfaktanta, niezbędnych w konieczności doraźnego wyrównania niedoboru substancji regulującej napięcie powierzchniowe w przewodach pęcherzykowych czy rozwijających się pęcherzykach płucnych noworodka.

PIŚMIENICTWO

1. Akester A.R.: Osmiophilic inclusion bodies as the source of laminated membrane in the epithelial lining of avian tertiary bronchi. *J. Anat.*, 107: 1, 189-190, 1970.
2. Assimacopoulos A. and Kapanci Y.: Lung fixation by perfusion - a simple method to control the pressure in the perfusion circuit. *J. Microsc.*, 100: 227-229, 1974.
3. Bargman W. and Knoop A.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Reptilien und Vogellunge. *Z. Zellforsch.*, 54: 541-548, 1961.
4. Bartels H. and Welsch U.: Freeze-fracture study of the turtle lung. *Cell Tissue Res.*, 231: 157-172, 1983.
5. Berezin A., da Silva Sasso W.: Electron microscopy of the pulmonary alveolar cells (granular pneumocytes) of normal and vagotomized amphibian (*Bufo icterus icterus*). *Experientia*, 30: 1074-1076, 1974.
6. Bhattacharyya S.N., Rose M.G. and MacLeod C.: Isolation and characterization of a unique glycoprotein from lavage of chicken lungs and lamellar organelles. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 114: 843-850, 1976.
7. Bills R.F. and Hughes G.M.: Inner surface ultrastructure of the lungs of frog and lizard. 9th Int. Congr. on Electron Microscopy Toronto, 2: 504-505, 1978.
8. Brooks R.E.: Ultrastructure of the physostomatous swimbladder of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Z. Zellforsch.*, 106: 473-483, 1970.

9. Brooks R.E.: Lung alveolar cell cytosomes: a consideration of their significance. *Z. Zellforsch.*, 106: 484-497, 1970.
10. Burggren W.W.: Pulmonary blood plasma filtration in reptiles. *Science*, 215: 77-78, 1982.
11. Burri P.H. and Weibel E.R.: Ultrastructure and morphometry of the developing lung. *W: The Development of the Lung.* (ed.: Hodson W.A.), 215-268, 1977. New York: M. Dekker Inc.
12. Callas G.: A new fixation technique for the electron microscopic study of pulmonary surfactant. *Anat. Rec.*, 180: 457-464, 1974.
13. Clements J.A., Nellenbogen J. and Trahan H.J.: Pulmonary surfactant and evolution of the lungs. *Science*, 169: 603-604, 1970.
14. Clements J.A. and King R.J.: Composition of the surface active material. *W: The Biochemical Basis of Pulmonary Functions* (ed.: Crystal R.G.), 363-387, 1976. New York and Basel.
15. Collet A.J.: Preservation of alveolar type II pneumocyte lamellar bodies for electron microscopic studies. *J. Histochem. Cytochem.*, 27: 5, 989-996, 1979.
16. Czopek J.: Quantitative studies on the morphology of respiratory surfaces in amphibians. *Acta anat.*, 62: 296-323, 1965.
17. Dautrebande L. and Walkenhorst W.: Deposition of micro-aerosols in human lung with special reference to alveolar spaces. *Health Phys.*, 10: 981-993, 1964.
18. Dermer G.B.: The fixation of pulmonary surfactant for electron microscopy. II. Transport of surfactant through the air-blood barrier. *J. Ultrastruct. Res.*, 31: 229-246, 1970.

19. Dierichs R.: Elektronenmikroskopische untersuchung an der Forschlungel. Darstellung der Alveolar-Grenzschicht (Surfactant). *Z. Zellforsch.*, 137: 553-561, 1973.
20. Dierichs R.: Electron microscopic studies of the lung of the frog. II. Topography of the inner surface by scanning and transmission electron microscopy. *Cell Tiss. Res.*, 160: 399-410, 1975.
21. Duncker H.R.: Structure of avian lungs. *Respir. Physiol.*, 14: 44-63, 1972.
22. Duncker H.R.: Structure of the avian respiratory tract. *Respir. Physiol.*, 22: 1-19, 1974.
23. Duncker H.R.: General morphological principles of amniotic lungs. W: Respiratory function in birds adult and embryonic. Satellite Symposium of 27th International Congress of Physiological Sciences, Springer Verlag, 2-15, 1978.
24. Enhörning G., Hill D., Sherwood G., Cutz E., Robertson B. and Bryan C.: Improved ventilation of prematurely-delivered primates following tracheal deposition of surfactant. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 132: 529-536, 1978.
25. Fänge R.: Gas exchange in the swimbladder. W: Respiration of Amphibious Vertebrates (ed.: Hughes G.M.), 189-211, 1976, London: Academic Press.
26. Fujiwara T., Adams F.H., Nezaki M. and Dermer G.B.: Pulmonary surfactant phospholipids from turkey lung: comparison with rabbit lung. *Am. J. Physiol.*, 218: 1, 218-225, 1970.
27. Fujiwara T., Tanaka Y. and Takei T.: Surface properties of artificial surfactant in comparison with natural and synthetic surfactant lipids. *IRCS Med. Sci.*, 7: 311, 1979.

28. Fujiwara T., Maeta H., Chida S. and Morita T.: Improved pulmonary pressure-volume characteristics in premature newborn rabbits after tracheal instillation of artificial surfactant. *IRCS Med. Sci.*, 7: 312, 1979.
29. Gaunt A.S. and Gans C.: Mechanics of respiration in the snapping turtle, *Chelydra serpentina* (Linne). *J. Morphol.*, 128: 195-228, 1969.
30. Gans C. and Hughes G.M.: The mechanism of lung ventilation in the tortoise *Testudo graeca* L. *J. Exp. Biol.*, 47: 1-20, 1967.
31. Gans C. and Clark B.: Studies on ventilation of Caiman *Crocodylus* (Crocodylia; Reptilia). *Resp. Physiol.*, 26: 285-301, 1976.
32. Goniakowska-Witalinska L.: Ultrastructural and morphometric study of the lung of the European salamander, *Salamandra salamandra* (L.). *Cell Tissue Res.*, 191: 343-356, 1978.
33. Goniakowska-Witalinska L.: A peculiar mode of the formation of surface lining layer in the larval lungs of *Salamandra salamandra*. *Tissue and Cell*, 12: 539-546, 1980.
34. Goniakowska-Witalinska L.: Tubular myelin structures in the lungs of amphibia. The mode of formation. *Eur. J. Cell Biol.*, 33: 127-133, 1984.
35. Gikas E., King R.J., Mescher E.J., Platzker A.C.G., Kitterman J.A., Ballard P.L., Benson B.J., Tooley W.H. and Clements J.A.: Radioimmunoassay of pulmonary surface-active material in the Tracheal fluid of the fetal lamb. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 115: 587-593, 1977.
36. Gil J. and Weibel E.R.: Improvements in demonstration of lining layer of lung alveoli by electron microscopy. *Resp. Physiol.*, 8: 13-36, 1970.

37. Gil J. and Reiss O.K.: Isolation and characterization of lamellar bodies and tubular myelin from rat lung homogenates. *J. Cell Biol.*, 58: 152-171, 1973.
38. Granel F.: Les lipoides de l'épithélium pulmonaire. W: *Comptes Rendus de l'Association des Anatomistes. Seizième Reunion*, 251-256, 1921. Paris.
39. Grant M.M., Brain J.D. and Vinegar A.: Pulmonary defense mechanisms in *Boa constrictor*. *J. Appl. Physiol.*, 50: 979-983, 1981.
40. Groniowski J.: O niedorozwoju tkanki płucnej. *Patol. Pol.*, 8: 1, 1-12, 1957.
41. Groniowski J.: Fizjopatologia początków oddychania w świetle badań morfologicznych płuc z okresu okołoporodowego. *Pozn. Tow. Przyj. Nauk*, 18: 6, 1960, Poznań.
42. Groniowski J. and Biczyskova W.: Structure of the alveolar lining film of the lungs. *Nature (London)*, 204: 745, 1964.
43. Groniowski J. and Biczyskova W.: Alveolar lining film of the lungs in newborn infants with hyaline membrane disease. *Biol. Neonat.*, 10: 348-358, 1966.
44. Groniowski J. and Walski M.: A simple equipment for vapour fixation and its application to lung *Łiopsy*. *Ann. Med. Sect. Pol. Acad. Sci.*, 19: 2, 105-106, 1974.
45. Groniowski J. and Walski M.: Studies on spatial relation between lipid and nonlipid components in the alveolar lining layer of mammalian lungs. *Ann. Med. Sect. Pol. Acad. Sci.*, 20: 2, 75-76, 1975.
46. Groniowski J.A.: The concept of integrated plasma membrane model. *Ann. Med. Sect. Pol. Acad. Sci.*, 21: 33-35, 1976.

47. Groniowski J. and Walski M.: Ultrastructural visualization of carbohydrate compounds in the pulmonary alveolus by means of concavalin A. *Ann. Med. Sect. Pol. Acad. Sci.*, 21: 39-40, 1976.
48. Groniowski J. and Walski M.: Studies on spatial relation between lipid and nonlipid components in the alveolar lining layer of mammalian lungs. *Ann. Med. Sect. Pol. Acad. Sci.*, 20: 2, 75-76, 1976.
49. Groniowski J. and Walski M.: A working model of the extracellular alveolar lining layer of mammalian lungs. *Acta Med. Pol.*, 18: 4, 309-311, 1977.
50. Groniowski J. and Walski M.) Ultrahistochemical studies of the extracellular alveolar lining layer of the lung. *Acta Med. Pol.*, 18: 4, 313-314, 1977.
51. Groniowski J. and Walski M.: Studies on the ultrastructure of alveolar layer of mammalian lungs. 19th Morphological Congr. Symposia, Charles Univ., Prague, 347-354, 1978.
52. Groniowski J. and Walski M.: Studies on tubular myelin figures of lining layer of lung alveoli. 9th Int. Congr. on Electron Microscopy, Toronto, 2: 514-515, 1978.
53. Groniowski J. and Walski M.: Electron microscopy of pulmonary alveolar lining layer. Relation of the ultrastructural pattern of the histochemical composition. W: Lung Lipid Metabolism Mechanisms of its Regulation and Alveolar Surfactant. Int. Symp. (ed.: Georgiev G.A.), 155-169, 1978, Sofia.
54. Groniowski J.: Presumable role of surface glycoprotein of alveolar pneumocytes in transformation of lamellar bodies into tubular myelin. *Acta Med. Pol.*, 20: 4, 393-396, 1979.

55. Groniowski J. and Walski M.: Alcian blue and tannic acid in the studies on pulmonary alveolar lining layer. *Acta Med. Pol.*, 20: 4, 399-401, 1979.
56. Groniowski J. and Walski M.: Further studies on the tubular myelin structure of extracellular alveolar lining layer. *Acta Med. Pol.*, 20: 1, 15-16, 1979.
57. Groniowski J. and Walski M.: Electron microscopy studies of pulmonary alveolar macrophages in situ. *Acta Med. Pol.*, 20: 1, 17-18, 1979.
58. Groniowski J., Walski M., Groniowski M.: Ultrastructural aspects of functional integrity of lung surfactant and alveolar mononuclear phagocytes. *Acta Med. Pol.*, 21: 4, 335-337, 1980.
59. Groniowski J.A.: Ultrastructure of the pulmonary alveolar lining layer. Published for the National Library of Medicine and the National Science Foundation, Washington, D.C., by the Foreign Scientific Publications Department of the National Center for Scientific, Technical and Economic Information, Warsaw, Poland. 1983.
60. Groniowski J.A.: Fine structural basis of pulmonary surfactant. *Int. Rev. Exp. Pathol.*, 25:, 183-238, 1983.
61. Groniowski J. and Walski M.) A model of intraalveolar conversion of lamellar structures to tubular myelin in the rat lung. *Folia Histochem. Cytobiol.*, 22: 140-141, 1984.
62. Grossmann G. and Larsson I.: Improved pulmonary pressure-volume characteristics in premature newborn rabbits after tracheal instillation of synthetic surfactants. *IRCS Med. Sci.*, 6: 479, 1978.

63. Grossmann G., Larsson I., Nilsson R., Robertson B., Rydhag L. and Stenius P.: Emulsified synthetic surfactant; surface properties and effect on neonatal lung expansion during artificial ventilation. *Pathol. Res. Pract.*, 165: 100, 1979.
64. Guibé J.: L'appareil respiratoire. W: Traite de Zoologie /ed. Grassé P.P./, 14: 499-520, Paris, 1970.
65. Hallman M. and Gluck L.: Phosphatidylglycerol in lung surfactant. III. Possible modifier of surfactant function. *J. Lipid Res.*, 17: 257-262, 1976.
66. Hassett R.J., Engleman W. and Kuhn Ch. III: Extramembranous particles in tubular myelin from rat lung. *J. Ultrastruct. Res.*, 71: 60-67, 1980.
67. Hirai K., Uyeda T. and Ogawa K.: Electron-cytochemical studies on the differentiation of mouse lung alveolar epithelial cells with special reference to changes in mitochondria. *Acta Histochem. Cytochem.*, 17: 197-211, 1984.
68. Hitchcock-O'Hare K.R.: Fine structural observations of ruthenium red binding in developing and adult rat lung. *Anat. Rec.*, 178: 267-288, 1974.
69. Hitchcock-O'Hare K.R., Meymaris E., Bonaccorso J. and Vanburen S.B.: Separation and partial characterization of surface-active fractions from mouse and rat lung homogenates. Identification of a possible marker system for pulmonary surfactant. *J. Histochem. Cytochem.*, 24: 3, 487-507, 1976.
70. Hitchcock-O'Hare K.R. and Parsons W.J.: Separation and partial characterization of fractions derived from frog lung homogenates. A possible marker system for amphibian pulmonary surfactant. *J. Histochem. Cytochem.*, 25: 12, 1363-1367, 1977.

71. Hughes G.M.: Evolution between air and water. W: Ciba Foundation Symposium on Development of the Lung (ed.: de Reuck A.V.S. and Porter R.), 64-80, 1966, London.
72. Hughes G.M.: Ultrastructure of the lung of *Neoceratodus* and *Lepidosiren* in relation to the lung of other vertebrates. *Folia Morphol.*, 21: 155-161, 1973.
73. Hughes G.M., Ryan J.W. and Ryan U.: Freeze-fractured lamellate bodies of *Protopterus* lung: a comparative study. *J. Physiol.*, 236: 15-16, 1976.
74. Hughes G.M.: A morphological and ultrastructural comparison of some vertebrate lungs. 19th Morphological Congr. Symposia, Charles Univ., Prague, 393-405, 1978.
75. Hughes G.M.: Some features of gas transfer in fish. *Bulletin of the Institute of Mathematics and its Applications*. Bristol, 14: 39-43, 1978.
76. Hughes G.M. and Weibel E.R.: Visualization of layers lining the lung of the South American lungfish (*Lepidosiren paradoxa*) and a comparison with the frog and rat. *Tissue and Cell*, 10: 343-353, 1978.
77. Hughes G.M. and Vergara G.A.: Static pressure-volume curves for the lung of the frog (*Rana pipiens*). *J. Exp. Biol.*, 76: 149-165, 1978.
78. Hughes G.M.: Morphometry of fish gas exchange organs in relation to their respiratory function. W: *Environmental Physiology of Fishes* (ed.: Ali M.A.), 33-56, 1980, Plenum Publishing Corporation, New York.
79. Ikegami M., Hesterberg T., Nozaki M. and Adams F.H.: Restoration of lung pressure-volume characteristics with surfactant: comparison of nebulization versus instillation and natural versus synthetic surfactant. *Pediatr. Res.*, 11: 178-182, 1977.

80. Ivey H., Roth S. and Kattwinkel J.: Nebulization of sonicated phospholipids (PL) for treatment of respiratory distress syndrome (RDS) of infancy. *Pediatr. Res.*, 11: 573, 1977.
81. Iwatsuki H.: Ultrahistochemical study of sulphated mucopolysaccharide at the surface of the alveolar type II cell of a rat. *Acta Histochem. Cytochem.*, 15: 3, 473, 1982.
82. Jones A.W. and Radnar C.: The development of chick tertiary bronchus. I. General development and the mode of the osmiophilic inclusion body. *J. Anat.*, 133: 303-324, 1972.
83. Kaibara M. and Kikkawa Y.: Osmiophilia of the saturated phospholipid, dipalmitoyl lecithin, and its relationship of the alveolar layer of the mammalian lung. *Am. J. Anat.*, 132: 61-78, 1971.
84. Kalina M. and Pease D.C.: The probable role of phosphatidylcholines in the tannic acid enhancement of cytomembrane electron contrast. *J. Cell Biol.*, 74: 742-746, 1977.
85. Kapanci Y., Assimacopoulos A., Irle C. Zwahlen A. and Gabbiani G.: Contractile interstitial cells in pulmonary alveolar septa: a possible regulator of ventilation (perfusion ratio). *J. Cell Biol.*, 60: 375-392, 1974.
86. Karnovsky M.J.: The ultrastructural basis of capillary permeability studied with peroxidase as a tracer. *J. Cell Biol.*, 35: 213-236, 1967.
87. Kelenyi G. and Nemeth A.: Comparative histochemistry and electron microscopy of the eosinophil leukocytes of vertebrates. I. A study of avian, reptile, amphibian, and fish leukocytes. *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.*, 20: 405-422, 1969.

88. King R.J.: The surfactant system of the lung. *Federation Proc.*, 33: 2238-2247, 1974.
89. King A.S., King D.Z. and Abdalla M.A.: The structure of the intrapulmonary vasculature of the domestic fowl. W: *Respiratory Function in Birds, Adult and Embryonic. Satellite Symposium of 27th International Congress of Physiological Sciences*, Springer Verlag, 112-124, 1978.
90. Klika E. and Janout V.: The visualization of the lining film of the lung alveolus with the use of Maillet's modification of Champy's method. *Folia Morphol.*, 15: 318-328, 1967.
91. Klika E., Tesik I. and Nedved J.: Ultrastructure of the air-blood barrier in the Great House Gecko or Tokay (*Gekko gekko*). *Folia Morphol. (Prague)*, 1: 29-34, 1976.
92. Lambson R.O. and Cohn J.E.: Ultrastructure of the lung of the goose and its lining of surface material. *Am. J. Anat.*, 122: 631-650, 1968.
93. Lauweryns J.M. and Baert J.H.: Alveolar clearance and role of the pulmonary lymphatics. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 115: 625-678, 1977.
94. Macklin Ch.C.: The pulmonary alveolar mucoid film and the pneumocytes. *Lancet*, 246: 1099-1104, 1954.
95. Manabe T.: Freeze-fracture study of alveolar lining layer in adult rat lungs. *J. Ultrastruct. Res.*, 69: 86-97, 1979.
96. Marza V.D.: Relationships between specialized cells, capillaries and intermediary cytofibrillary elements. XVth note. Biological evolution of the respiratory stereotype and subsystem in aquatic vertebrates. *Rev. Roum. Morphol Embryol. Physiol.*, 27: 283-297, 1981.

97. Mason R.J., Dobbs L.G., Greenleaf R.D. and Williams M.C.: Alveolar type II cells. *Lung Cell Functions*, 36: 2697-2702, 1977.
98. Massaro D. and Massaro G.D.: Synthesis, intracellular transport and secretion of macromolecules by the lung. *W: The Biochemical Basis of Pulmonary Function* (ed.: Crystal R.G.), 2: 389-416, 1976. New York and Basel.
99. Mathieu O., Claassen H. and Weibel E.R.: Differential effect of glutaraldehyde and buffer osmolarity on cell dimensions: A study on lung tissue. *J. Ultrastruct. Res.*, 63: 20-34, 1978.
100. Meban C.: The pneumocytes in the lung of *Xenopus levis*. *J. Anat.*, 114: 2, 235-244, 1973.
101. Meban C.: An electron microscope study of acid hydrolase activity in the pneumocytes of *Xenopus laevis*. *Histochem. J.*, 5: 557-565, 1973.
102. Meban C.: Ultrastructure of the respiratory epithelium in the lungs of the tortoise, *Testudo graeca*. *Cell Tissue Res.*, 181: 267-275, 1977.
103. Meban C.: Functional anatomy of the lungs of the green lizard, *Lacerta viridis*. *J. Anat.*, 125: 421-431, 1978.
104. Meban C.: The respiratory epithelium in the lungs of the slow-worm, *Anguis fragilis*. *Cell Tissue Res.*, 190: 337-347, 1978.
105. Meban C.: An electron microscope study of the respiratory epithelium in the lungs of the fire salamander (*Salamandra salamandra*). *J. Anat.*, 128: 1, 215-224, 1979.
106. Metcalfe I. LeRoy, Enhorning G. and Possmayer F.: Pulmonary surfactant-associated proteins: their role in the expression of surface activity. *J. Appl. Physiol.*, 49: 34-41, 1980.

107. Meyrick B. and Reid L.: The alveolar brush cell in rat lung - a third pneumocyte. *J. Ultrastruct. Res.*, 23: 71-80, 1968.
108. Moalli R., Meyers R.S., Jackson D.C. and Millard R.W.: Skin circulation of the frog *Rana Catesbeina*: distribution and dynamics. *Resp. Physiol.*, 40: 137-148, 1980.
109. Molony V.: Airway resistance. W: *Respiratory Function in Birds, Adult and Embryonic. Satellite Symposium of 27th International Congress of Physiological Sciences.* Springer Verlag, 142-147, 1978.
110. Okada Y., Ishiko S., Daido S., Kim J. and Ikeda S.: Comparative morphology of the lung with special reference to the alveolar epithelial cells. I. Lung of the amphibia. *Acta Tuberc. Jap.*, 11: 63-67, 1962.
111. Okada Y., Ishiko S., Daido S., Kim J. and Ikeda J.: Comparative morphology of the lung with special reference to the alveolar lining cells. II. Lung of the reptilia. *Acta Tuberc. Jap.*, 12: 1-10, 1962.
112. Pattle R.E. and Hopkinson D.A.W.: Lung lining in bird, reptile and amphibian. *Nature*, 200: 894, 1963.
113. Pattle R.E.: Surface lining of lung alveoli. *Physiol. Rev.*, 45: 48-79, 1965.
114. Pattle R.E., Schock C. and Creasey J.M.: Electron microscopy of the lung surfactant. *Experientia*, 28: 286-287, 1972.
115. Pattle R.E., Gandy G., Schock C. and Creasy J.M.: Lung inclusions bodies. Different ultrastructure in simion and non-simion mammals. *Experientia*, 30: 797-798, 1974.

116. Pattle R.E.: The lung surfactant in the evolutionary tree. W: *Respiration of Amphibious Vertebrates* (ed.: Hughes G.M.), 233-255, 1976, London Academic Press.
117. Pattle R.E., Schock C., Creasey J.M. and Hughes G.M.: Surpelllic films, lung surfactant and their cellular origin in newt, caecilian and frog. *J. Zoology*, London, 182: 125-136, 1977.
118. Pattle R.E.: Lung surfactant and lung lining in birds. W: *Respiratory Function in Birds, Adult and Embryonic. Satellite Symposium of 27th International Congress of Physiological Sciences*, Springer Verlag, 23-32, 1978.
119. Perry S.F.: Model of exchange barrier and respiratory surface area in the lung of the tortoise (*Testudo graeca*) and its practical application. *Mikroskopie*, 32: 282-293, 1976.
120. Perry S.F. and Duncker H.R.: Lung architecture, volume and static mechanics in five species of lizards. *Resp. Physiol.*, 34: 61-81, 1978.
121. Petrik P.: The ultrastructure of the chicken lung in the final stages of embryonic development. *Folia Morphol.*, 15: 2, 176-186, 1967.
122. Petrik P. and Riedel B.: A continuous osmiophilic non-cellular membrane at the respiratory surface of the lungs of fetal chickens and of young chicks. *Lab. Invest.*, 18: 1, 54-62, 1968.
123. Petrik P. and Riedel B.: An osmiophilic bilaminar lining film at the respiratory surfaces of avian lung. *Z. Zellforsch.*, 88: 204-219, 1968.

124. Piiper J. and Scheid P.: Gas exchange in avian lungs: models and experimental evidence. W: Comparative Physiology (eds.: Boils L., Schmidt-Nielsen K. and Maddrell S.H.P.), 160-185, 1973, North-Holland Publishing Company.
125. Robertson B.: Surfactant substitution; experimental models and clinical applications. Lung, 158: 57-68, 1980.
126. Rosenberg H.I.: Functional anatomy of pulmonary ventilation in the garter snake, *Thamnophis elegans*. J. Morphol., 140: 171-184, 1973.
127. Sanderson R.J., Paul G.W., Vatter A.E. and Filley G.F.: Morphological and physical basis for lung surfactant action. Resp. Physiol., 27: 379-392, 1976.
128. Scheid P. and Piiper J.: Analysis of gas exchange in the avian lung: theory and experiments in the domestic fowl. Resp. Physiol., 9: 246-262, 1970.
129. Scheid P. and Johannes P.: Direct measurement of the pathway of respired gas in duck lungs. Resp. Physiol., 11: 308-314, 1971.
130. Scheid P., Burger R.E., Meyer M. and Graf W.: Diffusion in avian pulmonary gas exchange: role of the diffusion resistance of the blood-gas barrier and the air capillaries. W: Respiratory Function in Birds, Adult and Embryonic. Satellite Symposium of 27th International Congress of Physiological Sciences, Springer Verlag, 136-141, 1978.
131. Scheuermann D.W., De Groot-Lasseel M.H.A., Meisters M.L.: Morphological aspects of pneumocytes in the red-eared turtle. W: Joint Meeting on Electron Microscopy, Belgische Vereniging voor Elektronenmikroskopie, Deutsche Gesellschaft für Elektronenmikroskopie E.V. 28: 60, 1983.

132. Schmidt-Nilsson K.: The swimbladder of fish. W: Animal physiology: adaptation and environment. Cambridge University Press, 426-436, 1979.
133. Silva M.T., Carvalho Guerra F. and Magalhaes .: The fixative action of uranyl acetate in electron microscopy. *Experientia*, 24: 10, 1074, 1968.
134. Simionescu M., Simionescu N. and Palade G.E.: Morphometric data on the endothelium of blood capillaries. *J. Cell Biol.*, 60: 128-152, 1974.
135. Sorokin S.P.: A morphologic and cytochemical study on the great alveolar cell. *J. Histochem. Cytochem.*, 14: 884-896, 1967.
136. Spurmont P.: Microscopie optique et electronique des cellules secretrices de l'epithelium pulmonaire de grenouille (*Rana ridibunda*). *Acta Anat.*, 68: 603, 1967.
137. Stratton C.J.: Multilamellar body formation in mammalian lung: an ultrastructural study utilizing three lipid-retention procedures. Lung multilamellar body formation. *J. Ultrastruct. Res.*, 52: 309-320, 1975.
138. Stratton C.J.: The three-dimensional aspect of mammalian lung multilamellar bodies. *Tissue and Cell*, 8: 693-712, 1976.
139. Stratton C.J.: The high resolution ultrastructure of the periodicity and architecture of lipid-retained and extracted lung multilamellar body laminations. *Tissue and Cell*, 8: 713-728, 1976.
140. Stratton C.J.: Three-dimensional aspect of the mammalian lung surfactant myelin figure. *Tissue and Cell*, 9: 285-300, 1977.

141. Stratton C.J.: The periodicity and architecture of lipid retained and extracted lung surfactant and its origin from multilamellar bodies. *Tissue and Cell*, 9: 301-316, 1977.
142. Stratton C.J.: The ultrastructure of multilamellar bodies and surfactant in the human. *Cell Tissue Res.*, 193: 219-229, 1978.
143. Stratton C.J., Wetzstein H.Y. and Hardy T.: The ultrastructural histochemistry and stereoscaning electron microscopy of the rodent and amphibian surfactant systems. *Anat. Record*, 197: 49-61, 1980.
144. Suzuki Y., Churg J. and Ono T.: Phagocytic activity of the alveolar epithelial cells in pulmonary asbestosis. *Am. J. Pathol.*, 69: 373-382, 1972.
145. Tenny S.M. and Tenny J.B.: Quantitative morphology of cold-blooded lungs: amphibia and reptilia. *Resp. Physiol.*, 9: 197-215, 1970.
146. Torre-Bueno J.R., Geiser J. and Scheid P.: Incomplete gas mixing in air sacks of the duck. *Resp. Physiol.*, 42: 109-122, 1980.
147. Tyler W.S. and Pangborn J.: Laminated membrane surface and osmiophilic inclusions in avian lung epithelium. *J. Cell Biol.*, 20: 157-164, 1964.
148. Van Golde L.M.G.: Metabolism of phospholipids in the lung. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 114: 977-1000, 1976.
149. Vergara G.A. and Hughes G.M.: Pressure-volume curves and a surfactant in frog lungs. *Proc. Int. Congr. of Physiol. Sciences. Paris*, 13: 785, 1977.

150. Vegara G.A. and Hughes G.M.: Phospholipids in washings from the lungs of the frog (*Rana pipiens*). *J. Comp. Physiol.*, 139: 117-120, 1980.
151. Walski M. and Groniowski J.: Studies on the preservation of lamellar bodies of type II cells of lung alveoli. *Folia Histochem. Cytochem.*, 19: 74-75, 1981.
152. Walski M. and Groniowski J.: Phylogenetic aspects of pulmonary surfactant pathology. *Pathol. Res. Pract.*, 178: 172, 1983.
153. Walski M.: The ultrastructure of the "air-blood barrier" in birds. *Folia Histochem. Cytobiol.*, 22: 152-153, 1984.
154. Walski M.: Fine structure of the surfactant system in amphibian lungs. *Folia Histochem. Cytobiol.*, 22: 154-155, 1984.
155. Weibel E.R. and Knight B.W.: A morphometric study on the thickness of the pulmonary air-blood barrier. *J. Cell Biol.*, 21: 367-384, 1964.
156. Weibel E.R.: The mystery of "non-nucleated plates" in the alveolar epithelium of the lung explained. *Acta Anat.*, 78: 425-443, 1971.
157. Weibel E.R.: Morphological basis of alveolar-capillary gas exchange. *Physiol. Rev.*, 53: 2, 419-495, 1973.
158. Weibel E.R. and Gil J.: Structure-function relationships at the alveolar level. *W: Bioengineering Aspects of the Lung* (ed.: West J.B.), 3: 1-81, 1977. M. Dekker Inc., New York - Basel.
159. Weibel E.R.: Oxygen demand and the size of respiratory structures in mammals. *W: Evolution of Respiratory Processes* (ed.: Wood S.C. and Lenfant C), 13: 289-346, 1979. M. Dekker, New York - Basel.

160. Wetstein H.Y., Stratton C.J. and Olson N.: The stereo-scanning electron microscopy and ultrastructural histochemistry of the avian and reptilian surfactant system: Indian dove, desert spiny and Taiwan golden skink lizards. *Anat. Rec.*, 197: 63-73, 1980.
161. Weslaw W.: Przyczynki do histofizjologii i histopatologii nablonka płucnego. Badania porównawcze, embriologiczne i doświadczalne. *Poznanskie Tow. Przyj. Nauk*, Poznan 1934.
162. Williams M.C.: Development of the alveolar structure of the fetal rat in late gestation. *Federation Proc.*, 36: 13, 2653-2659, 1977.
163. Williams M.C.: Conversion of lamellar body membranes into tubular myelin in alveoli of fetal rat lungs. *J. Cell Biol.*, 72: 260-277, 1977.
164. Williams M.B.: Freeze-fracture studies of tubular myelin and lamellar bodies in fetal and adult rat lungs. *J. Ultrastruct.*, 64: 352-361, 1978.
165. Wood S.C. and Lenfant C.J.M.: Respiration: mechanics, control and gas exchange. W: *Biology of the reptilia* (ed.: Gaus C.), 5: 225-274, 1976. Academic Press, New York, San Francisco, London.

DOKUMENTACJA PRACY

Dokumentacja fotograficzna jest do wglądu w Dziekanacie
II Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej, Warszawa,
ul. Filtrowa 30.

Ryc. 1. Schemat ogólny płuc płaza.
Krótka tchawico-krtkań połączona
z workowatymi płucami

Ryc. 2. Przekrój podłużny płuca płaza.
Część centralną stanowi przewód zwany
praoskrzelem /1/. Jest ono ograniczone
fałdami odchodzącymi od wewnętrznej
powierzchni ściany płuc. Fałdy te
wyznaczają jednostki oddechowe
w postaci worków /2/.

- Ryc. 3. Fragment przegrody oddzielającej worki płucne. Wyściółka zewnątrzkomórkowa /1/ pokrywa komórki nabłonkowe /2/. Naczynia włosowate /3/ oddzielone są zrębem łącznotkankowym /4/.
- Ryc. 4. Worki powietrzne płuc płoża. Utrwalanie 5% roztworem formaliny. Skrawki parafinowe barwiono hematoksyliną i eozyną. Pow. 100 x
- Ryc. 5. Przegrody oddzielające przestrzenie powietrzne płuc płoża. Naczynia włosowate położone w szerokim pasmie łącznotkankowym. Światło worków powietrznych wysłane komórkami nabłonkowymi. Utrwalanie mieszaniną złożoną z 2% paraformaldehydu i 2,5% glutaraldehydu. Skrawki eponowe o grubości 5 μ m barwione błękitem toluidyny. Pow. 350 x
- Ryc. 6. Fragment przegrody oddzielającej dwie przestrzenie powietrzne płuc płoża. W części centralnej pasma tkanki łącznej, rozdzielające naczynia włosowate. Widoczne komórki nabłonkowe wyściełające przegrodę. Utrwalanie jak w Ryc. 5. Pow. 900 x

Ryc. 7. Fragment worka płucnego płaza /żaba/.

W ścianie worka widoczne naczynia włosowate oddzielone zrębem łącznotkankowym od komórek nabłonkowych. Centralna część komórki nabłonkowej położona jest na bogatym zrębie łącznotkankowym; jej wypustki cytoplazmatyczne wyściełają przestrzeń powietrzną. Naczynia włosowate wypełnione są krwinkami. Utrwalanie przez wprowadzenie dotchawiczo utrwalacza osmowo-aldehydowego. Pow. 5000 x

Ryc. 8. Fragment przegrody oddechowej utworzonej z komórek śródbłonkowych /dół zdjęcia/, błony podstawnej /bm/ i komórki nabłonkowej /góra zdjęcia/. Komórki śródbłonkowe /end/ zachodzą na siebie dachówkowato na stosunkowo długiej przestrzeni; połączone są one desmosomami. Liczne pęcherzyki pinocytarne w śródbłonkach oraz u podstawy komórki nabłonkowej /e/ przylegają do błony plazmatycznej. Na powierzchni komórki nabłonkowej mikrokosmki o różnej długości. Płuco płaza. Utrwalanie jak Ryc. 7. Pow. 90000 x

Ryc. 9. Część perikarialna komórki nabłonkowej zajmuje niszę między naczyniami włosowatymi, leży ona na bogatym zrębie łącznotkankowym. Centralnie położone duże jądro komórkowe, wokół niego mitochondria i ciała elektronowo-gęste. Na wolnej powierzchni komórki liczne mikrokosmki. Płuco płaza. Utrwalanie jak Ryc. 7. Pow. 8000 x

Ryc. 10. Dwie komórki nabłonkowe przylegają do siebie na dość długim odcinku - widoczne jest połączenie desmosomalne. Komórki oddzielone są od naczyń włosowatych zrębem łącznotkankowym. We wnętrzu komórek liczne ciała lamelarne o zróżnicowanej budowie. Płuco płaza. Utrwalanie jak Ryc. 7. Pow. 22000 x

Ryc. 11. Wierzchołkowa część komórki nabłonkowej z ciałem lamelarnym znajdującym się tuż pod błoną plazmatyczną. Lamelle ułożone są równoległe względem siebie i skierowane do szczeliny obrzeżonej mikrokosmkami o różnej długości. We wnętrzu mikrokosmków widoczny jest drobnowłókienny materiał ułożony według długiej ich osi. Pomiędzy przylegającymi do siebie komórkami widoczne są połączenia desmosomalne. Płuco płoża. Utrwalanie jak Ryc. 7. Pow. 80000 x

Ryc. 12. Fragment komórki nabłonkowej od strony światła worka płucnego. W części centralnej zdjęcia ciało lamelarne wypuklające się między mikrokosmkami do przestrzeni powietrznej. Widoczne przerwanie ciągłości błony obrzeżającej w części szczytowej ciała lamelarnego. Płuco płoża. Utrwalanie jak Ryc. 7. Pow. 130000 x

Ryc. 13. Opróżnianie zawartości ciała lamelarnego do światła worka płucnego. W przestrzeni powietrznej lamele ulegają rozwarstwieniu. Płuco płaza. Utrwalanie jak Ryc. 7.
Pow. 80000 x

Ryc. 14. Fragment przegrody oddechowej utworzonej idąc od góry zdjęcia przez wypustkę cytoplazmatyczną komórki nabłonkowej, błonę podstawną oraz śródbłonek. W komórce nabłonkowej widoczne są dwa ciała lamelarne, w których blaszki są równolegle ułożone do siebie. Płuco płaza. Utrwalanie jak Ryc. 7. Pow. 70000 x

Ryc. 15. W zapadniętym worku płucnym ograniczonym komórkami nabłonkowymi fragment zewnętrznej wyściółki worków. Widoczne są tubule mielinowe zarówno na przekrojach poprzecznych jak i podłużnych. Wstępne utrwalanie przyżyciowe w parach osmu. Płuco płoża. Pow. 70000 x

Ryc. 16. Zewnątrzkomórkowa wyściółka na powierzchni komórek nabłonkowych. Widoczny szeroki pas subfazy oddzielony od przestrzeni powietrznej osmofilną błoną. Struktury tubularne mielinowe o rysunku pozbawionym regularności. Płuco płoża. Utrwalanie jak Ryc. 15. Pow. 50000 x

Ryc. 17. Fragment mielinowej struktury tubularnej pod dużym powiększeniem. Elektronowo jasne pola obwiedzione są błonami elementarnymi. Płuco płoża. Utrwalanie jak Ryc. 15. Pow. 310000 x

Ryc. 18. Subfaza wyściółki zewnątrzkomórkowej z tubułami mielinowymi na przekroju podłużnym i poprzecznym. Widoczna jest nieregularność w budowie tych struktur, co w znacznej mierze stanowi artefakt utrwalania. Płuco płoża. Utrwalanie jak Ryc. 15. Pow. 82000 x

Ryc. 19. Metoda z czerwienią rutenu. Produkt reakcji wyznaczający lokalizację reszt węglowodanowych na powierzchni komórki nabłonkowej worka płucnego. Płuco płoża. Pow. 32000 x

Ryc. 20. Metoda z czerwienią rutenu. Zewnętrzna powierzchnia błony plazmatycznej nabłonka worka płucnego obwiedziona drobnoziarnistym materiałem rutenopozytywnym. Pęcherzyki pinocytarne zawierają w swym wnętrzu produkt reakcji. Płuco płoża. Pow. 60000 x

Ryc. 21. Metoda z czerwienią rutenu. Na powierzchni błony komórek nabłonkowych drobnoziarnisty produkt reakcji. Błona obrzeżająca ciało lamelarne obłożona jest od wewnątrz produktem reakcji. W świetle worka płucnego owalne struktury błoniaste pokryte produktem reakcji. Płuco płoża. Pow. 32000 x

Ryc. 22. Metoda z czerwienią rutenu. Mikrokosmki oraz błony obrzeżające biała lamelarne po stronie wewnętrznej pokryte produktem reakcji. W świetle worka płucnego fragmenty błon pochodzących najprawdopodobniej z uszkodzonych tubul mielinowych; są one pokryte produktem reakcji.
, Płuco pŕaży. Pow. 60000 x

Ryc. 23. Schemat ogólny płuc gada. Tchawica łączy się z dwoma workami płucnymi.

Ryc. 24. Przekrój poprzeczny płuca gada. Część centralną stanowi oskrzele główne /1/, od którego odchodzą oskrzela niższych rzędów kończące się woreczkami płucnymi /2/.

Ryc. 25. Fragment przegrody oddzielającej woreczki płucne. Wyściółka zewnątrzkomórkowa /1/, komórka nabłonkowa typu I /2/, komórka nabłonkowa typu II /3/, naczynie włosowate /4/, zrąb łącznotkankowy /5/, komórki mięśni gładkich /6/.

Ryc. 26. Woreczki płucne u gada. Widoczne przegrody oddechowe oraz wiązki włókien mięśniowych gładkich. Utrwalanie 5% roztworem formaliny. Skrawki parafinowe barwione HE. Pow. 100 x

Ryc. 27. Przegrody oddzielające przestrzenie płuc gada. Na centralnie leżącym w przegrodzie zrębie łącznotkankowym położone są naczynia włosowate. Światło woreczków wyścielone komórkami nabłonkowymi. Utrwalanie mieszaniną 2% paraformaldehydu i 2,5 % glutaraldehydu. Skrawki eponowe o grubości 5 μm barwione błękitem toluidyny. Pow. 350 x

Ryc. 28. Fragment przegrody oddechowej płuc gada. Widoczne naczynia włosowate oddzielone pasmem łącznotkankowym. Światło woreczków wyścielone komórkami nabłonkowymi. Utrwalanie 5% roztworem formaliny. Skrawki parafinowe barwione HE. Pow. 700 x

Ryc. 29. Fragment przegrody oddzielający dwa woreczki płucne w płucach gada. Naczynia włosowate oddzielone są od siebie obfitym zrębem łącznotkankowym. W zrębie tym widoczny jest makrofag /m/ charakteryzujący się licznymi ciałami gęstymi i wypustkami. Ścianę woreczka płucnego po stronie lewej wyściela blaszka cytoplazmatyczna komórki nabłonkowej typu I. Światło woreczka po stronie prawej obrzeża przypłaszczona komórka typu II, zawierająca liczne ciała lamelarne w części przyjądrowej; na jej powierzchni mikrokosmki. Płuco gada. Utrwalenie przez dotchawicze wprowadzenie utrwalcza osmowo-aldehydowego. Pow. 7000 x

Ryc. 30. Fragment komórki fagocytarnej w świetle naczynia włosowatego. We wnętrzu tej komórki widoczne kanały siateczki śródplazmatycznej, aparat Golgiego, fagolizosomy zawierające struktury błonowe oraz materiał lipidowy. Światło woreczka płucnego wyściela komórka nabłonkowa typu I. Płuco gada. Utrwalenie jak Ryc. 29. Pow. 24000 x

Ryc. 31. W świetle naczynia włosowatego fragment komórki fagocytarnej, wypełniony zwakuolizowanym materiałem lipidowym. Płuco gada. Utrwalanie jak Ryc. 29. Pow. 26000 x

Ryc. 32. Ultrastruktura bariery oddzielającej przestrzeń powietrzną od naczynia włosowatego. Zbudowana jest ona z cienkiej płytki cytoplazmatycznej, komórki nabłonkowej typu I /e/, zespolonych blaszek podstawnych /bm/ i komórki śródbłonkowej /end/. W obu rodzajach komórek liczne pęcherzyki endocytarne przylegające do błony plazmatycznej zarówno od strony światła wreczka płucnego jak i naczynia włosowatego, jak również od strony blaszki podstawnej. W świetle włóśniczki osocze i fragment krwinki czerwonej. Płuco gada. Utwalanie jak Ryc. 29. Pow. 24000 x

Ryc. 33. Fragment przegrody między woreczkami płucnymi. Powierzchnia komórki nabłonkowej typu I, zwrócona do światła woreczka płucnego posiada liczne mikrokosmki. Materiał pochodzi z obszaru niedodmowego mięszu płucnego. Płuco gada. Utrwalanie wstępne w parach osmu. Pow. 50000 x

Ryc. 34. Fragment bariery powietrze-krew. Wypustki cytoplazmatyczne komórek śródbłonkowych /dół zdjęcia/ zachodzą na siebie dachówkowato. Przylegające do siebie komórki nabłonkowe /góra zdjęcia/ tworzą labiryntowate szczeliny. Widoczne są połączenia desmosomalne pomiędzy błonami plazmatycznymi komórek nabłonkowych. Komórki śródbłonkowe oddzielone są od komórek nabłonkowych błoną podstawną oraz zrębem łącznotkankowym reprezentowanym przez włóknienka kolagenowe. Płuco gada. Utrwalanie jak Ryc. 29. Pow. 35000 x

Ryc. 35. Fragment dwóch ciał lamelarnych komórki nabłonkowej typu II. Widoczne we wnętrzu błony mają na ogół układ wzajemnie równoległy. Część z nich uległa rozwarstwieniu. Płuco gada. Utrwalanie jak Ryc. 29.
Pow. 180000 x

Ryc. 36. Część komórki nabłonkowej typu II zwrócona ku światłu woreczka płucnego zawiera ciała lamelarne. Widoczne uwalnianie materiału błonowego z jednego ciała lamelarnego do światła przez szczelinę między mikrokosmkami. Płuco gada. Utrwalanie jak Ryc. 29.
Pow. 70000 x

Ryc. 37. Zewnątrzkomórkowa wyściółka woreczka płucnego gada. Struktury tubularne mielinowe w przekrojach poprzecznych i skośnych. Bezpośrednio do błony obrzeżającej tubule mielinowe przylega ciało lamelarne. Płuco gada. Utrwalanie jak Ryc. 29. Pow. 95000 x

Ryc. 38. Struktura tubularna mielinowa w przekroju poprzecznym. Błony tubul tworzą regularną siatkę. Płuco gada. Utrwalanie jak Ryc. 29. Pow. 380000 x

Ryc. 39. Tubule mielinowe w przekroju podłużnym. Na powierzchni błon, we wnętrzu tubul, widoczny dość rytmicznie rozłożony materiał miernie rozpraszający elektrony /strzałki/. Płuco gada. Utrwalanie jak Ryc. 29. Pow. 220000 x

Ryc. 40. Metoda z czerwienią rutenu. Produkt reakcji tworzy ciągły pokład na powierzchni komórek nabłonkowych woreczka płucnego. Liczne mikroskopy utworzone przez pofałdowania błon plazmatycznych. Płuco gada. Pow. 18000 x

Ryc. 41. Metoda z czerwienią rutenu. Produkt reakcji odłożony na powierzchni licznych mikroskopy oraz na wewnętrznej powierzchni błon obrzeżających ciała lamelarne. Płuco gada. Pow. 18000 x

Ryc. 42. Metoda z czerwienią rutenu. Wyznakowany płaszcz powierzchniowy o budowie "fuzz coat". Produkt reakcji po stronie wewnętrznej błony obrzeżającej ciało lamelarne oraz na powierzchni zmielinizowanych błon w świetle woreczka płucnego. Płuco gada. Pow. 80000 x

Ryc. 43. Schemat płuca i worka powietrznego ptaka; tchawica /1/, oskrzele pierwszorzędowe /2/, oskrzele drugorzędowe /3/, oskrzele trzeciorzędowe /4/, worek powietrzny /5/.

Ryc. 44. Schemat dróg oddechowych u ptaka. Tchawica /1/, od której odchodzą oskrzela pierwszorzędowe /2/, dające początek oskrzelom drugorzędowym /3/, rozgałęziającym się na oskrzela trzeciorzędowe /4/. Przedsionki /5/ stanowią wejścia do przewodów powietrznych /6/. Worek powietrzny /7/. Strzałki oznaczają kierunki przepływu powietrza.

Ryc. 45. Schemat przedsionki /I/ oraz przewodu powietrznego /II/: wyściółka zewnątrzkomórkowa /1/, komórki nabłonkowe przedsionki /2/, komórki nabłonkowe przewodu powietrznego /3/, naczynia włosowate /4/, tkanka łączna /5/.

Ryc. 46. Płuco ptaka. Światło oskrzela trzeciorzędowego, od którego odchodzą przedsionki. Utrwalanie mieszaniną 2,5% glutaraldehydu i 2% paraformaldehydu. Skrawki eponowe o grubości 5 μm barwione błękitem toluidyny. Pow. 300 x

Ryc. 47. Płuca ptaka. Fragment oskrzela trzeciorzędowego oraz przedsionki i przewody powietrzne. Utrwalanie 5% roztworem formaliny. Skrawki parafinowe barwione HE. Pow. 600 x

Ryc. 48. Płuca ptaka. Przewody powietrzne wśród bogatej sieci naczyń włosowatych. Utrwalanie mieszaniną złożoną z 2% paraformaldehydu i 2,5% glutaraldehydu. Skrawki eponowe o grubości 5 μm barwione błękitem toluidyny. Pow. 900 x

Ryc. 49. Fragment przedsionka przy przejściu do przewodu powietrznego. Wyścielony jest on komórkami nabłonkowymi, na powierzchni których widoczne są mikrokosmki. Ciała lamelarne we wnętrzu komórek. Zrąb łącznotkankowy, w którym widoczne są włókienka kolagenowe i mięśnie gładkie. Jedna z komórek odgraniczona błoną podstawną od naczynia krwionośnego. W świetle przedsionka lamelarny materiał błonowy. Płuca ptaka. Utrwalanie przez dotchawicze podanie utrwalacza osmowoaldehydowego. Pow. 7000 x

Ryc. 50. Fragment komórki nabłonkowej przedsionka. W kanałach siateczki śródplazmatycznej gładkiej uformowany materiał błonowy. Płuco ptaka. Utrwalanie jak Ryc. 49. Pow. 60000 x

Ryc. 51. Część apikalna komórki nabłonkowej przedsionka. Materiał błonowy tworzący blaszki wydostaje się z komórki, przechodząc między mikrokosmkami do przestrzeni powietrznej. Widoczne są również dwa opustoszałe ciała lamelarne pozostające w łączności z materiałem błonowym. Płuco ptaka. Utrwalanie jak Ryc. 49. Pow. 7500 x

Ryc. 52. Ciało lamelarne zbudowane z koncentrycznie ułożonych błon. Część blaszek ulega rozwarstwieniu. Komórka nabłonka przedsionka. Płuco ptaka. Utrwalanie jak Ryc. 49. Pow. 4000 x

Ryc. 53. Fragment mikrokosmków komórki nabłonkowej przedstonka. Pomiędzy nimi materiał błonowy uformowany bądź zwielokrotniony. Utrwalanie wstępne w parach osmu. Płuco ptaka. Pow. 135000 x

Ryc. 54. Fragment zewnątrzkomórkowej wyściółki przedstonka. Wyściółka zbudowana jest z równolegle ułożonych względem siebie błon. Płuco ptaka. Utrwalanie jak Ryc. 53. Pow. 250000 x

Ryc. 55. Przewody powietrzne /pp/ leżące w sąsiedztwie naczyń włosowatych /nw/. Cienkie wypustki cytoplazmatyczne komórek śródbłonkowych wyścielają włosniczki. Przewody powietrzne wyścielone płaskimi komórkami nabłonkowymi. Płuco płata. Utrwalanie jak Ryc. 53.
Pow. 5000 x

Ryc. 56. Fragment przegrody oddzielającej światło naczynia włosowatego od światła przewodu powietrznego. W kanałach siateczki śródplazmatycznej gładkiej widoczny osmofilny materiał błonowy. Na powierzchni komórki nabłonkowej, od strony przestrzeni powietrznej leży delikatna warstwa zewnętrznej komórkowej wyściółki. Utrwalanie jak Ryc. 53. Pow. 40000 x

Ryc. 57. Przegroda oddzielająca przestrzeń powietrzną od naczynia włosowatego na wysokości przewodu powietrznego. Cienki pokład cytoplazmatyczny komórki nabłonkowej /e/ pokryty jest od strony światła przewodu blaszką złożoną z dwóch błon elementarnych /strzałki/. Między nabłonkami i zachodzącymi na siebie komórkami śródbłonna /end/, stosunkowo szeroki pas błon podstawnych śródbłonna i nabłonka /bm/. Płuco ptaka. Utrwalanie jak Ryc. 53. Pow. 140000 x

Ryc. 58. Przegroda oddzielająca światło naczynia włosowatego od światła przewodu powietrznego. W centrum przegrody widoczna komórka z licznymi ciałami gęstymi i fagolizosomami. Zawierają one materiał błonowy bądź blaszkowaty oraz figury mielinowe. Płuco ptaka. Utrwalanie jak Ryc. 53. Pow. 27000 x

Ryc. 59. Metoda z czerwienią rutenu. Produkt reakcji widoczny na powierzchni komórek nabłonkowych przedsionka. W przestrzeni powietrznej fragmenty oddzielonej od podłoża wieloblaszkowej struktury, są one obrzeżone delikatnie produktem reakcji. Płuco ptaka. Pow. 30000 x

Ryc. 60. Metoda z czerwienią rutenu. Mikrokosmki komórki nabłonkowej przedsionka obwiedzione drobnoziarnistym produktem reakcji. Płuco ptaka. Pow. 70000 x

Ryc. 61. Metoda z czerwienią rutenu. W świetle przedsionka widoczna zewnątrzkomórkowa, wieloblaszkowa wyściółka zespolona z podłożem nabłonkowym. Na powierzchni wyściółki od strony światła przedsionka, znajduje się gruba warstwa materiału ruteno-pozytywnego. Poszczególne blaszki podzielane są produktem reakcji o znacznie mniejszej gęstości elektronowej. Płuco ptaka. Pow. 85000 x

Ryc. 62. Metoda z czerwienią rutenu. Fragment formacji błonowych w świetle przedsionka. Produkt reakcji na powierzchni błon. Płuco ptaka. Pow. 210000 x

Ryc. 63. Metoda z czerwienią rutenu. Światło przewodu powietrznego. Na powierzchni komórek nabłonkowych ciągną wyściółka materiału ruteno-pozytywnego. Zwraca uwagę szerokie naczynie włosowate wypełnione krwinkami. Płuco ptaka.
Pow. 14000 x

Ryc. 64. Metoda z czerwienią rutenu. Fragment komórki nabłonkowej przewodu powietrznego. Błona plazmatyczna pokryta grubą ruteno-pozytywną warstwą. Płuco ptaka.
Pow. 120000 x

Ryc. 65. Schemat powierzchni oddechowej płuc ssaka: oskrzeliki oddechowe /1/, przewód pęcherzykowy /2/, pęcherzyki płucne /3/.

Ryc. 66. Schemat przegrody międzypęcherzykowej płuc ssaka: wyściółka zewnątrzkomórkowa /1/, komórka nabłonkowa typu I /2/, komórka nabłonkowa typu II /3/, naczynie włosowate /4/, zrąb łącznotkankowy /5/.

Ryc. 67. Płuca ssaka. Przewody pęcherzykowe oraz pęcherzyki płucne. Utrwalanie 5% roztworem formaliny. Skrawki parafinowe barwione HE. Pow. 150 x

Ryc. 68. Płuca ssaka. W przegrodach międzypęcherzykowych liczne naczynia włosowate. Światło pęcherzyków wyścielone komórkami nabłonkowymi. Utrwalanie mieszaniną złożoną z 2% paraformaldehydu i 2,5% glutaraldehydu. Skrawki eponeowe o grubości 5 μm barwione błękitem toluidyny. Pow. 900 x

Ryc. 69. Fragmenty dwóch pęcherzyków płucnych. W przegrodzie międzypęcherzykowej dwa przekroje naczyń włosowatych. Naczynia włosowate wyścielone cienkimi płytkami cytoplazmatycznymi komórek śródbłonkowych, które zachodzą na siebie dachówkowato. Od strony światła pęcherzyków przegroda jest pokryta komórkami nabłonkowymi typu I. W części centralnej śródmiąższ, w którym widoczne są fragmenty miofibroblasta oraz włóknienka kolagenowe. Utrwalanie przez wprowadzenie dotchawiczo utrwalacza osmowo-aldehydowego. Płuco ssaka. Pow. 19000 x

Ryc. 70. W przegrodzie międzypęcherzykowej liczne naczynia włosowate wypełnione krwinkami. W części centralnej przegrody komórka nabłonkowa typu II. Jest ona wpuklona częściowo w zrąb łącznotkankowy reprezentowany przez włókienka kolagenowe oraz fragmenty komórek fibroblastycznych. Płuco ssaka. Utrwalanie jak Ryc. 69. Pow. 8000 x

Ryc. 71. Elementy ultrastrukturalne bariery pomiędzy powietrzem i krwią. Kolejno od strony światła pęcherzyka cienka płytka cytoplazmatyczna komórki nabłonkowej typu I /e/, zespół blaszek podstawnych /bm/ i płytka cytoplazmatyczna komórki śródbłonkowej /end/. W komórce śródbłonkowej pęcherzyki pinocytarne przyległe do błony plazmatycznej zarówno od strony światła włosniczki jak również od strony blaszki podstawnej. Płuco ssaka. Utrwalanie jak Ryc. 69. Pow. 160000 x

Ryc. 72. Komórka nabłonkowa typu II. Część podstawna komórki spoczywa na zrębie łącznotkankowym. Wolna powierzchnia błony komórkowej zwrócona do światła pęcherzyka płucnego pofałdowana, tworzy mikrokosmki. W cytoplazmie otaczającej jądro widoczne są liczne ciała lamelarne, kanały siateczki śródplazmatycznej, mitochondria, spłaszczone cysterny aparatu Golgiego. Płuco ssaka. Utrwalanie jak Ryc. 69. Pow. 9800 x

Ryc. 73. Fragmenty dwóch komórek nabłonkowych typu II. We wnętrzu ich ciała lamelarne o zróżnicowanej budowie oraz mitochondria i kanały siateczki śródplazmatycznej szorstkiej. Na powierzchni komórek liczne mikrokosmki o różnej długości. Płuco ssaka. Utrwalanie jak Ryc. 69. Pow. 50000 x

Ryc. 74. Mikrokosmki na powierzchni komórek nabłonkowych typu II obrzeżone są wyraźnie błoną plazmatyczną. W części centralnej mikrokosmków wiązki filamentów równoległe ułożone względem długiej osi mikrokosmków. Obwodowo otacza je gęsta pilśń, zapewne zbudowana z cienkich filamentów. Niezbyt regularnie ułożone filamety wypełniają również dość szeroki obwodowy pas cytoplazmy; są one w łączności z podłużnymi wiązkami filamentów mikrokosmków. Płuco ssaka. Fragment Ryc. 73. Pow. 15000 x

Ryc. 75. Komórka nabłonkowa typu II. Ciała lamelarne o zróżnicowanej budowie: elektronowo nieprzeierne, ciała z ciemnymi rdzeniami oraz ciała z równoległe ułożonymi do siebie blaszkami. Fragment jądra oraz aparat Golgiego. Płuco ssaka. Utrwalenie jak Ryc. 69. Pow. 19000 x

Ryc. 76. Fragment komórki nabłonkowej typu II.
W części centralnej ciało lamelarne,
w którego wnętrzu błony zachowały regu-
larne, równoległe położenie wobec siebie.
Płuco ssaka. Utrwalenie jak Ryc. 69.
Pow. 36000 x

Ryc. 77. Fragment ciała lamelnego pod dużym
powiększeniem. Widoczna błona obrzeża-
jąca oraz błony wewnętrzne, równoległe
ułożone względem siebie. Płuco ssaka.
Utrwalenie jak Ryc. 69. Pow. 260000 x

Ryc. 78. Ciała lamelarne, których błony obrzeżające uległy połączeniu. Osmofilne lamelle uległy rozwarstwieniu i przemieszczają się w obrębie tych ciał. Płuco ssaka. Utrwalanie jak Ryc. 69. Pow. 45000 x

Ryc. 79. Ciało lamelarne otwarte do przestrzeni powietrznej. Błona obrzeżająca ciało lamelarne przylega do błon plazmatycznych obrzeżających mikrokosmki. Materiał ciała lamelarnego widoczny jest pod własnym jego obrzeżem częściowo zaś pod błoną plazmatyczną mikrokosmków. Płuco ssaka. Utrwalanie jak Ryc. 69. Pow. 75000 x

Ryc. 80. Ciągła warstwa zewnątrzkomórkowej wyściółki pęcherzyka płucnego na powierzchni komórki nabłonkowej typu I. Płuco ssaka. Wstępne utrwalanie w parach osmu małego wycinka tkankowego. Pow. 47000 x

Ryc. 81. Zewnątrzkomórkowa wyściółka pęcherzyków płucnych z Ryc. 80 pokazana pod większym powiększeniem. Na powierzchni subfazy fragmenty filmu powierzchniowego /strzałki/. W subfazie struktury tubularne mielinowe. Na granicy pomiędzy zewnątrzkomórkową wyściółką, a komórką nabłonka typu I widoczna koncentryczna formacja mielinowa. Płuco ssaka. Pow. 98000 x

Ryc. 82. Wyściółka zewnątrzkomórkowa na powierzchni mikrokosmków komórki nabłonkowej typu II. Film powierzchniowy nie jest zachowany. Tubule mielinowe przecięte podłużnie zbudowane są z równoległe ułożonych błon. U podstawy wyściółki widoczne ciało lamelarne przylegające do mikrokosmków komórki nabłonkowej typu II. Płuco ssaka. Wstępne utrwalanie całych płuc w parach osmu.
Pow. 125000 x

Ryc. 83. Fragment subfazy wyściółki zewnątrzkomórkowej pęcherzyków płucnych, leżącej na blaszce cytoplazmatycznej komórki nabłonkowej typu I. Uwidoczniona wyściółka jest kilkakrotnie grubsza od komórki nabłonkowej. Tubule mielinowe na przekroju podłużnym; widoczne są również niewielkie fragmenty tubul na przekroju poprzecznym. Płuco ssaka. Utrwalenie jak Ryc. 80. Pow. 125000 x

Ryc. 84. Zewnątrzkomórkowa Wyściółka pęcherzykowa utworzona z tubul mielinowych widocznych na przekrojach podłużnych i poprzecznych. Błony tubul mielinowych zachowują stałą odległość względem siebie; światło tubul mielinowych wypełnione jest drobnoziarnistym materiałem. Płuco ssaka. Utrwalenie jak Ryc. 80. Pow. 190000 x

Ryc. 85. Duże powiększenie tubul mielinowych na przekroju poprzecznym tworzących regularną siatkę. We wnętrzu wszystkich oczek siatki widoczne zarysy figur pierścieniowatych lub ich fragmenty /strzałki/. Płuco ssaka. Utrwalenie wstępne w parach osmu małych wycinków tkankowych. Pow. 520000 x

Ryc. 86. Przekrój poprzeczny tubul mielinowych subfazy. Delikatne elektronowo-gęste ciała /strzałki/ symetrycznie rozłożone w narożnikach tubul mielinowych. Płuco ssaka. Utrwalenie w drodze wlewki dotchawiczej utrwalacza osmowo-aldehydowego. Pow. 380000 x

Ryc. 87. Metoda z czerwienią rutenu. Fragmenty dwóch pęcherzyków oddzielonych przegrodą międzypęcherzykową. Produkt reakcji na powierzchni komórek nabłonkowych typu I pęcherzyków płucnych. Płuco ssaka. Pow. 14000 x

Ryc. 88. Metoda z czerwienią rutenu. Produkt reakcji na powierzchni komórki nabłonkowej typu II oraz w ciałach lamelarnych. Płuco ssaka. Pow. 30000 x

Ryc. 89. Metoda z czerwienią rutenu. Bariera krew-powietrze. Produkt reakcji ściśle przylega do zewnętrznej powierzchni błony plazmatycznej komórki nabłonkowej typu I. Płuco ssaka. Pow. 75000 x

Ryc. 90. Metoda z czerwienią rutenu.

Drobnoziarnisty produkt reakcji na powierzchni licznych mikrokosmków komórki nabłonkowej typu II.

W świetle pęcherzyka płucnego fragmenty materiału błoniastego pokryte czerwienią rutenu. Płuco ssaka.

Pow. 55000 x

Ryc. 91. Metoda z czerwienią rutenu.

Wewnątrz komórki nabłonkowej typu II ciała lamelarne. Na wewnętrznej powierzchni błon obrzeżających ciała lamelarne oraz na fragmentach lamel delikatny produkt reakcji. Płuco ssaka.

Pow. 70000 x

Ryc. 92. Metoda z czerwienią rutenu.

Fragment zewnątrzkomórkowej wyściółki oddzielony od powierzchni komórki nabłonkowej. Błony fragmentów subfazy pokryte produktem reakcji. Płuco ssaka. Pow. 45000 x

Ryc. 93. Metoda z czerwienią rutenu.

Tubule mielinowe subfazy na przekroju poprzecznym pokryte produktem reakcji. Akumulacja produktu reakcji w narożnikach sieci tubul mielinowych. Płuco ssaka. Pow. 90000 x

Ryc. 94. Makrofag pęcherzyka płucnego zanurzony w subfazie, zajmujący przestrzeń pomiędzy komórkami nabłonkowymi typu I i filmem powierzchniowym - epifazą /strzałki/. W makrofagu /m/ widoczne pierwotne i wtórne lizosomy oraz mitochondria. Utrwalenie na drodze wlewki dotchawiczej utrwalcza osmowo-aldehydowego. Płuco ssaka. Pow. 11000 x

Ryc. 95. Makrofag pęcherzyka płucnego ściśle przylegający do komórek nabłonkowych typu I i II. We wnętrzu makrofaga wrębiaste jądro oraz liczne lizosomy. Płuco ssaka. Utrwalenie jak Ryc. 94. Pow. 13000 x

Ryc. 96. Fragment komórki nabłonkowej typu II /e/ oraz fragment przyległego makrofaga /m/. Wypustki plazmatyczne makrofaga przypominają swoim kształtem wydłużone mikroskoki komórki nabłonkowej. Płuco ssaka. Utrwalenie jak Ryc. 94.

Ryc. 97. Makrofag pęcherzyka płucnego - w jego wnętrzu fagosom wypełniony dobrze zachowanymi fragmentami tubul mielinowych. W cytoplazmie makrofaga widoczne lizosomy, mitochondria i profile szorstkiej siateczki śródplazmatycznej. Płuco ssaka. Utrwalenie jak Ryc. 94. Pow. 60000 x