



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**

Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Lungutveckling och surfaktant

Lammets perinatale överlevnad

Sara Folkesson

*Uppsala
2017*

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serien: 2017:21

Lungutveckling och surfaktant - lammets perinatale överlevnad

Lung development and surfactant - the perinatal survival in lambs

Sara Folkesson

Handledare: Elisabeth Persson, institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Examinator: Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: grund nivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2017

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serie: 2017:21

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: lungembryologi, ovin, får, surfaktant

Key words: lung embryology, ovine, sheep, surfactant

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING	1
SUMMARY	2
INLEDNING	3
MATERIAL OCH METOD	3
1 LUNGANS EMBRYONALUTVECKLING	4
1.1 Tidig embryonalutveckling	4
1.2 Lungans utveckling	5
1.2.1 Lungutvecklingen och dess olika faser	5
1.2.2 Perinatal lungmognad - från fostervätska till luft	7
1.2.3 Specifika attribut hos lamm	7
1.2.4 Histologi	8
2 SURFAKTANT	9
2.1 Historia	9
2.2 Embryologi	9
2.3 Innehåll och funktion	10
2.3.1 Lipider	10
2.3.2 Protein	10
2.3.3 Artskillnader	11
2.4 Produktion och metabolism	11
2.5 Reglering	12
2.5.1 Glukokortikoider	12
3 LAMMETS SURFAKTANT OCH LUNGMOGNAD	13
3.1 Surfaktant - påverkan och nedsatt produktion/sekretion	13
3.2 IUGR och navelsträngskompression	13
DISKUSSION	14
LITTERATURFÖRTECKNING	17

SAMMANFATTNING

En lamning kräver ofta en hel del arbete av tackan och ibland även av djurägaren innan lammet piggnar till efter födseln och kan ta sig upp på egna ben för att dia. Komplikationer vid lamning är inte helt ovanligt och kan göra processen lång, uttröttande och smärtsam för både tacka och lamm. För att lammet ska vara starkt och livskraftigt krävs ett fungerande lungsystem som är redo för att syresätta blodet via ett gasutbyte med luften.

Lungans utveckling startar tidigt hos embryot och börjar med en utväxt från framtarmen som är en del av det gemensamma tarmröret, vilket går genom hela embryot, från munhålan kranialt till anus längst kaudalt. Utskottet från framtarmen förgrenar sig sedan ett flertal gånger till att bilda ett avancerat och vindlande bronksystem. Förgreningarna bekläds till en början invändigt av ett kubiskt epitel som i alveolerna differentieras till två olika typer av celler. Typ-I cellen är vanligast och utgör det epitel som skiljer alveolens lumen från kapillärerna och blodet. Den andra celltypen, typ-II, utgör ca 10 % av epitelcellerna och har flera funktioner där en är produktionen av den vätska som kallas surfaktant.

Surfaktant är viktig för lungans funktion ur flera perspektiv både perinatalt och senare i livet. De ämnen som ingår i surfaktant, fosfolipider och proteiner, hjälper alveolerna att hållas öppna genom att bilda en ytspänningssänkande yta på insidan av lungans alveoler och bronker. De förbättrar även syreupptaget, möjliggör metabolismen av lungvätska och förstärker immunförsvaret. Mycket forskning har gjorts på just beståndsdelarna i surfaktant, eftersom det har visats vara viktigt med korrekta halter av de olika substanserna och dess undergrupper för att undvika sjukdom. Produktionen och utsöndringen av surfaktant regleras av en mängd faktorer där glukokortikoider spelar en mycket viktig roll. Glukokortikoider har visats orsaka både prematura födselar, ökad surfaktantproduktion samt gett en snabbare lungmognad hos lammet. På så sätt vet vi att både surfaktant och glukokortikoider är viktiga för den perinatala överlevnaden och att förändringar av surfaktanten, både i mängd och innehåll, kan ha fatala konsekvenser.

Sedan surfaktanten påvisades i lungan under sent 1920-tal har många forskare intresserat sig för ämnet med en förhoppning om både ökad förståelse för lungans fysiologi och förbättrad medicinsk behandling av andningssvårigheter. Många framsteg har gjorts till följd av detta, framför allt på humansidan, men ändå kvarstår vissa frågetecken, speciellt med grund i de djurslagsskillnader som finns. Lungmognaden sker på olika sätt och olika tidigt före födelsen vilket påverkar fostrens känslighet för prematur födsel och perinatal överlevnad. Hos får är optimal lungfunktion etablerad kort tid före födelsen och faktorer som påverkar lungans mognad och surfaktantmetabolism negativt hos får kan därför vara potentiella orsaker till lamningssvårigheter och perinatala komplikationer. För att bekräfta detta krävs ytterligare forskning inom området inklusive utforskande av eventuella samband med andra viktiga faktorer såsom tackans metabolism under dräktigheten och stress i samband med förlossningen.

SUMMARY

Lambing often demand a lot of work from both the ewe and sometimes the sheep farmer before the lamb is strong enough to stand on its own and access the mother's milk. Difficulties at lambing are commonly encountered and can be tiring and painful for both ewe and lamb. The fully-grown fetus must be strong and entirely vital in the moment of birth. This is accomplished, among other things, by having a completely developed and fully functional respiratory system with all the necessary factors allowing the first breath of air after separation from the mother.

The development of the lung starts early in the embryo by formation of a groove in the foregut, the primitive esophagus, that elongates, separates from the foregut and divides over time into an advanced, branching bronchial system. The embryonic bronchi are sheathed by a cuboidal epithelium that in the alveoli eventually differentiates into two types of cells. The common, squamous type I cell lines the alveoli and separates the air from the blood and the secretory, more cuboidal surfactant producing type II cell that only stands for about 10% of the respiratory epithelium.

Surfactant is a fluid that covers the enormous, inner surface of the lung where the gas exchange is enabled. The main component of surfactant is phospholipids which lower the surface tension in the damp walls of the alveoli and stops them from collapsing when expiration occurs. The liquid also contains a small amount of protein that have several functions as helping the spread and absorption of the surfactant on the lung surface and strengthening the immune system. The importance of having adequate amounts and proportions of the surfactant components have been shown in several studies where disruptions in the metabolism of certain surfactant substances cause disease and difficulties to breath. The production and secretion of surfactant are regulated by several factors, including glucocorticoids which have been demonstrated to cause premature birth of lambs, increased surfactant production and accelerated lung maturation. By this we draw the conclusion that both surfactant amount and composition as well as its regulation by glucocorticoids in the fetus are important factors for perinatal survival.

Many scientists have continued the research on surfactant after its discovery in the late 1920's in the hope of further understanding of the physiology of the lung and to improve medical treatment of respiratory dysfunctions. Numerous achievements have been made since then, especially in the human medicine, but some questions remain regarding especially the distinct variations in surfactant and lung development between species. The late maturation of the lung among sheep makes them sensitive to alterations in the lung and they are unable to survive a premature birth. Factors that affect the lung function and maturation as well as the surfactant are therefore possible explanations to complications at lambing and weakness of the lamb. To confirm this, additional studies are required and possible relations with other relevant factors, like the ewe's metabolism and stress during parturition, must be clarified.

INLEDNING

Våren, när lamningarna börjar, är en stressig period för fårägare. Lammens födslar kräver ofta extra bevakning och assistans eftersom det är relativt vanligt med komplikationer såsom fellägen, generell svaghet hos lammen och aspiration av fostervätska. Birgitta Selander¹ i Östersund som håller både nötkreatur och lamm berättar att det krävs betydligt mer tid per djur vid lamning än vid kalvning på grund av förlossningskomplikationer. En känd faktor som skiljer lamm från kalv är deras sena lungmognad och problem med igångsättningen av andningen efter födseln och mognad och funktion av lungan beror till stor del av ämnet surfaktant.

Surfaktant sänker ytspänningen på lungans insida och håller alveolerna utspända. Halliday (2008) har i sin artikel sammanfattat studier som visar att brist på surfaktant ofta orsakar försämrad lungfunktion och att behandling med surfaktant via intubering och instillation (införande av vätska via trakea och vidare ner i bronkerna) ökar den perinatale överlevnaden hos underutvecklade lamm markant. Samma samband gäller för människa; genom tiderna har många experiment gjorts på lamm och bidragit till revolutionerad behandling av prematura barn. Lamm används ofta som modell för mänskliga foster även fast de har vissa strukturella och biologiska olikheter i lungutvecklingen. För att förbättra just lammens start i livet är det därför viktigt att göra mer studier inriktade på färhälsa och utveckla ändamålsenlig behandling som är djurslagsanpassad och lättadministrerad för djurägare.

Lungutvecklingen och mängden surfaktant har helt klart en stor inverkan på lammets överlevnad både perinatalt och postnatalt och påverkan på dessa system kan eventuellt vara en bidragande faktor till förlossningskomplikationer. De frågor jag ställde mig var därför:

- Vilken betydelse har negativ påverkan på lammets lungutveckling och andning på perinatal mortalitet?
- Vad vet man om i vilken grad lamningssvårigheter kan kopplas samman med lammets lungutveckling och mognad?
- Hur påverkar surfaktantproduktionen och -utsöndringen lammets tillstånd under förlossningen och kan komplikationer såsom fellägen och svaghet hos lammen förebyggas med säkerställande av ett fungerande surfaktantsystem och fullgod lungmognad?

MATERIAL OCH METOD

Litteratursökningen gjordes framförallt i databaserna Pubmed, Google Scholar och Web of Science. Sökord: lung development, lung embryology, lung, sheep, ovine, lamb, lambing, perinatal, fetal, mortality, complication, difficult. Orden kombinerades med dessa tecken och fraser: *, OR, AND, för att få med möjliga ändelser och synonymord i sökningen. Vissa referenser hittades via sökresultatens litteraturförteckning.

¹ Birgitta Selander, Djurägare (får och dikor), Östersund, 2017-02-20

Till beskrivningen av den tidiga embryonalutvecklingen och lungans utveckling användes embryologiböcker av Hyttel *et al.* (2010), McGeady *et al.* (2006) och Ulfig (2012), samt en artikel av Alcorn *et al.* (1981) som beskriver lammets lungutveckling.

1 LUNGANS EMBRYONALUTVECKLING

Fårets normala dräktighetstid ligger runt 145 dagar (Gård och Djurhälsan, 2017a) och redan dag 17 av fosterutvecklingsperioden kan det första tecknet på andningsvägarnas utveckling urskiljas (Bryden *et al.*, 1973). Därefter sker en mängd förändringar både anatomiskt, histologiskt och fysiologiskt i fyra olika faser, embryonal, pseudoglandulär, kanalikulär och alveolär, innan det organ som förser lammet med det livsnödvändiga syret är fullbordat (se Tabell 1) (Alcorn *et al.*, 1981).

Tabell 1. Översikt av lungutvecklingens olika stadier hos får (Alcorn *et al.*, 1981; McGeady *et al.*, 2006)

Lungutvecklingens faser	Antal dagar	Kännetecken
Embryonal	0–40	Utväxt från tarmröret, bronkuppdelning, den lobulära strukturen bildas, trakea formas och omges av brosk.
Pseudo-glandulär	40–90	De större luftvägarna utvecklas centrifugalt. Brosk-, körtel-, muskel-, kärl- och neuralvävnad tillväxer.
Kanalikulär	95–120	Lumen utvidgas i bronkträdet med snabb volymexpansion.
Sacculär/Alveolär	120–148	Hållrummen delas upp i mindre avgränsningar och bildar alveoler.

1.1 Tidig embryonalutveckling

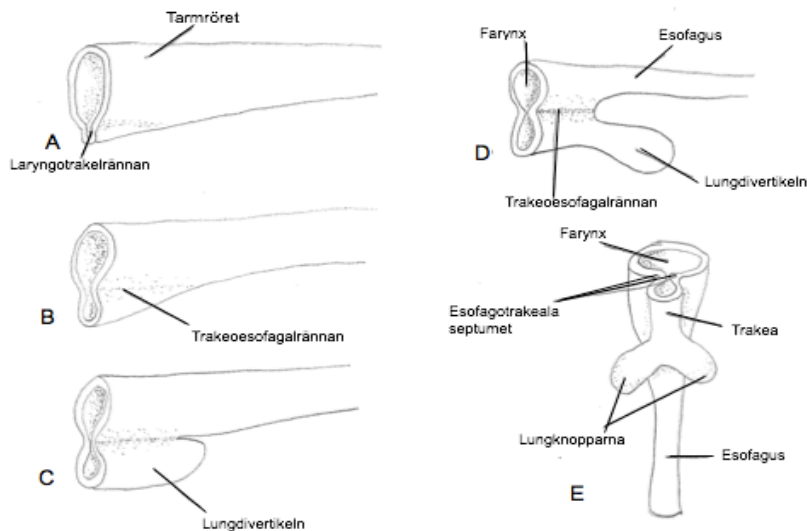
Efter ovulation och befruktning av ägget klyvs den diploida cellen flera gånger och en cellboll, morula, bildas. Inuti morulan börjar vätska ansamlas och ett hålrum utvecklas, blastocoel. Det som nu kallas blastocyst har en yttre omkrets av trofoblaster och en inre cellmassa placerad vid ena polen av hålrummet. Ur denna cellmassa bildas den embryonala plattan bestående av den inre hypoblasten, som gränsar mot det som snart ska bli gulesäcken, och den yttre epiblasten. De yttre cellerna på plattan bildar en tätare mittlinje varifrån celler migrerar ut i väggen av den primitiva gulesäcken och bildar endo- och mesodermet. Det som kvarstår av plattan blir ektoderm. Ektodermet veckas längs mittlinjen och bildar neuralröret dorsalt på embryonalplattan. Lateralt, mellan ektoderm/trofoblast och endoderm, kommer mesodermet att spaltas till ett parietalt och ett visceralt lager vilket möjliggör att det primitiva tarmröret avsnörs dorsalt från gulesäckskaviteten. Den primitiva tarmen består då mot lumen av entoderm vilket omges av visceralt mesoderm.

1.2 Lungans utveckling

Lungan får en viktig roll i fostrets överlevnad under födelsen, perinatalt. Det är först när lungorna är tillräckligt mogna och redo att ta emot syre som andning utanför livmodern kan ske. Därmed blir prematura födslar ofta riskabla på grund av ofullständig lungutveckling och framför allt begränsas andningsförmågan av brist på ytspänningsnedsättande surfaktant vilken bildas först under den senare delen av fosterstadiet (Liggins, 1969).

1.2.1 Lungutvecklingen och dess olika faser

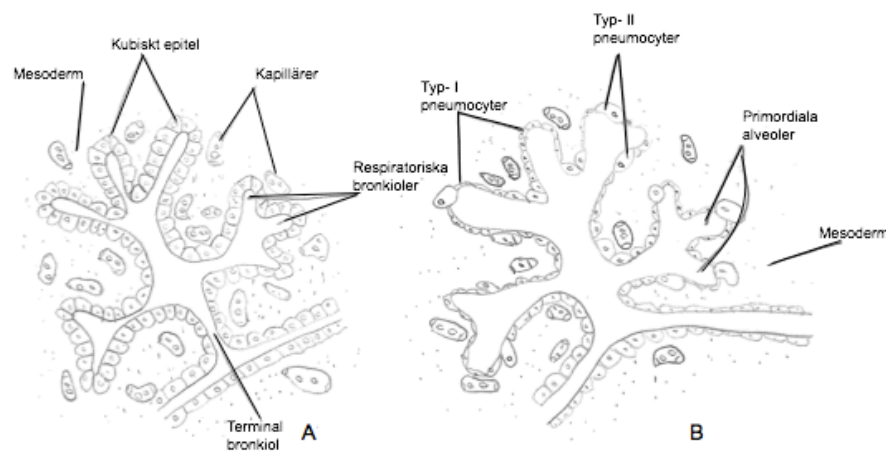
Andningsorganen har sitt ursprung från den främre delen av det embryonala tarmröret, framtar-men, där det bildas en fära ventralt, laryngotrakealrännan, strax kaudalt om det som ska bli farynx (se Fig. 1A-B). Allt eftersom fördjupas, förlängs och separeras denna fära från tarmröret av ett trakeoesofagalt septum med undantag längst kranialt där kontakten med framtida farynx behålls. Det som kallas lungdivertikeln, vilken ses i fig. 1C, kan nu urskiljas och denne består av ett inre lager av endoderm, som kommer att bilda epitel och körtelceller, och ett yttre skikt av splankniskt mesoderm, vilket bildar bindväv, brosk och glatt muskulatur.



Figur 1. Tidig embryonalutveckling av lungan. A: Laryngotrakealrännan bildas. B: Rännan fördjupas och börjar separeras av trakeoesofagalrännan. C: Lungdivertikeln synliggörs. D: Divertikeln förlängs kaudalt. E: Lungknopparna formas. (McGeedy, et al., 2006, sid. 225)

När det hos ett lammfoster har gått ca 20 dagar från befruktningen börjar lungdivertikeln delas och bli bi-loberad, lungknopparna uppstår (se Fig. 1E). Loberna förstoras och förlängs och grunden för höger och vänster bronksystem börjar utvecklas. Den del som går från öppningen till farynx och ner till den första bifurkationen kommer senare att bilda trakea. De primitiva bronkerna förgrenas ytterligare och grundkonstruktionen för de framtida lungloberna kan urskiljas. Artskillnader börjar framkomma när loberna växer ut kaudalt-ventralt i det som ska bli thorax samtidigt som de omges av ett mesenkym vilket ytterst bildar pleuran. Tillsammans med fortsatta förgreningar av bronkerna utvecklas de pulmonära artärerna och venerna.

Efter 40 dagar och framåt ses ett förgrenat tubulärt system, linjerat av ett cylindriskt till kubiskt epitel som är cilierat eller har mikrovilli apikalt. Förgreningen av bronkerna fortsätter och upp till 20 bifurkationer kan ses i de så kallade primordiala bronkerna. Dessa leder till de mindre och tunnare terminala bronkiolerna. Lungan går snabbt från att vara en tät cellmassa med ett fåtal större luftvägar till en mer lucker vävnad, med flera tunnväggiga hålrum. Efter 80 dagar går lungan in i den kanalikulära perioden och bildning av lungvävnad för framtida gasutbyte påbörjas. Bronkerna förtunnas och förlängs successivt och ändarna på de terminala bronkiolerna kan benämnas som respiratoriska bronkioler, vilket figur 1A visar. Dessa delas upp ytterligare och bildar de primordiala alveolerna som är linjerade av ett lite plattare epitel och omgivna av ett växande nätverk av kapillärer.



Figur 2. Cellernas differentiering i de tidiga alveolerna. A: Det primitiva epitelet har ännu inte utvecklats till specialiserade lungceller. Kapillärerna ligger fortfarande avgränsat från epitelcellerna. B: Två celltyper har framkommit, blodkärlen har närmat sig epitelet och bildat luft-blodbarriären. (McGeady, et al., 2006)

I nästa fas av utvecklingen, den alveolära perioden, formas de slutgiltiga och funktionella alveolerna. Från de respiratoriska bronkiolerna går alveolargångar vilka länkas vidare till alveolärsäckarna som slutligen mynnar ut i alveolerna. Nu sker differentieringen av det endodermala epitelets primitiva alveolarceller (pneumocyter). Två olika celltyper uppstår; typ I-cellerna utgör det tunna epitel vilket skiljer alveol från kapillär och de mer kubiska surfaktantproducerande typ II-cellerna som också är stamceller för typ I (se Fig. 2). Snart är alveolerna redo att ta emot luft och möjliggöra ett gasutbyte men först måste den vätska som fyller alveolerna och de alveolära dukterna transporteras bort. Vätskan, som delvis bildats från det framväxande körtelsystemet i lungan och delvis aspirerats från amnionvätskan, försvinner till största del ut genom nos och mun vid födseln men en liten kvarvarande del absorberas av epitelcellerna och förflyttas ut i lymf- och blodkärl.

Även om fostret vid födseln är kapabelt att andas och ta upp syre sker den slutliga mognaden av alveolerna postnalt. Hos lamm förväntas alveolerna öka i både storlek och antal efter födseln. Därtill sker ytterligare differentiering av de exokrina bronkialcellerna (claracellerna) och vidare uppdelning av de alveolära dukterna.

1.2.2 Perinatal lungmognad - från fostervätska till luft

För att första andetaget med luft ska kunna ske måste den vätska som fyller lungan under fosterstadiet försvinna. Studier på lamm visar att lungvätskan minskar drastiskt under förlossningen när lungans epitel och körtelvävnad ställer om från utsöndring till absorption (Barker & Olver, 2002). Detta byte regleras och stimuleras av olika hormoner som utsöndras perinalt och påverkar både fostret och modern. Särskilt katekolaminer som epinefrin inducerar vätskeabsorptionen i lungan via β -adrenoceptorer efter uppreglering med hjälp av glukokortikoider och tyroidhormonet T3. Förmågan att absorbera vätska från lungan via framförallt natriumpumpen kvarstår resten av livet och bedöms vara en viktig funktion vid till exempel lungödem. Däremot försvinner möjligheten att trigga igång utsöndring efter blockering av denna funktion två veckor postnalt. Samma författare har visat att β -adrenoceptor-agonister ökar surfaktantutsöndringen vilket antyder hur vätsketransporten och surfaktanten samordnas för att optimera andningsfunktionen efter födseln.

1.2.3 Specifika attribut hos lamm

Lamm har i förhållande till många andra djurslag en sen lungmognad. Eventuellt beror detta på att övergången till den kanalikulära fasen är fördröjd (Alcorn *et al.*, 1981). Lungan befinner sig fortfarande i den glandulära fasen vid dag 100, med vissa eventuella rasskillnader, av en total dräktighet på ca. 145 dagar. Detta kan jämföras med ko där förändringen sker på dag 120 av totalt 260 dagars dräktighet (McGeady, *et al.*, 2006). Även ökningen av lungans surfaktantinhåll sker sent hos lamm (Alcorn *et al.*, 1981). Samtidigt är lungan hos lammen mycket mer avancerad och utvecklad vad gäller alveolär bildning vid födsel än hos till exempel människa och andra mindre däggdjur vilket står i kontrast till både den sena cellmognaden och den relativt sena surfaktantproduktionen.

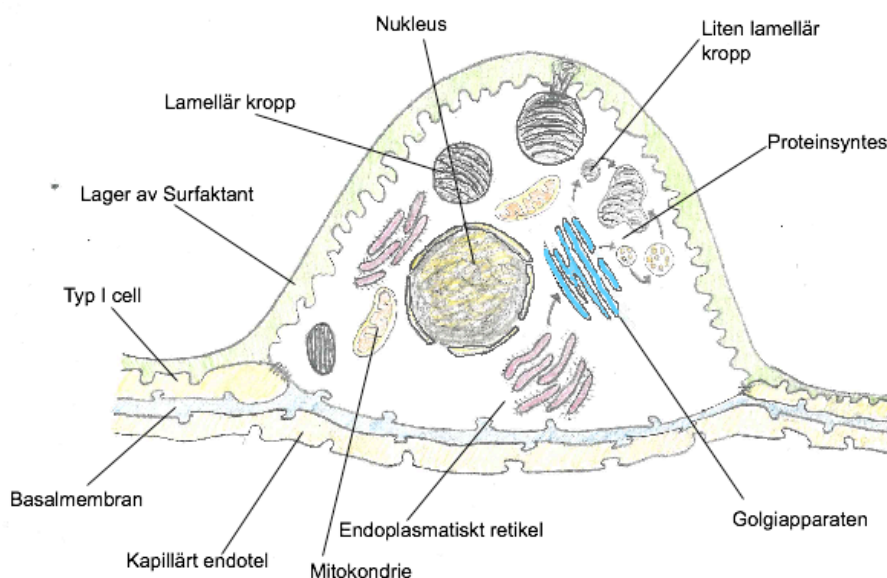
Mängden surfaktant ökar inte drastiskt förrän efter dag 135 hos lamm, vilket tillsammans med sen cellmognad gör det svårt för lamm att överleva en prematur födelse (Alcorn *et al.*, 1981). Även antalet surfaktantproducerande celler ökar markant först efter 140 dagar vilket enbart ger lammet några dagar till att producera tillräckligt med surfaktant för att alveolerna inte ska kollapsa vid första andetaget. Många faktorer påverkar surfaktantproduktionen och en viktig regulator är glukokortikoider (Gross, 1990). deLemos *et al.* (1970) visade att genom behandling med kortikosteroider, vars effekt förklaras ytterligare nedan, kan ökad surfaktantproduktion induceras hos fostret och därmed göra det möjligt för ett lamm att födas och vara livsdugligt vid en ålder av endast 115 dagar.

1.2.4 Histologi

De första stora histologiska förändringarna sker under den pseudo-glandulära fasen när epitel, brosk, körtlar och glatt muskulatur utvecklas (Alcorn *et al.*, 1981). Epitelet som linjerar gångarna är kubiskt och utanför dessa ligger mesodermet med utspridda kapillärer. I väggarna i de större luftvägarna kan primitiva broskplattor och områden med glatt muskulatur urskiljas. Från dag 95 och framåt ses multipla, epitelbeklädda hålrum (kanaler) separerade av ett mesenkym innehållande allt fler celler och kärl. Det kubiska epitelet i de primitiva alveolerna börjar differentieras till ett platt epitel (typ I-celler) som utgör mer än 90 % av alveolernas yta i den vuxna lungan och till kubiska epitelceller (alveolarceller typ II) som är insprängda i det platta epitelet, vilka har förmågan att bilda, lagra och återvinna surfaktant. Även ökad vaskularisering ses med kapillärer som ligger nära det alveolära epitelet. Under den alveolära fasen får kapillärerna och alveolerna närmare kontakt och blod-luftbarriären bestående av endotel, två sammansmälta basallamina och en alveolär epitelcell bildas. Antalet typ II-celler och mängden surfaktant ökar under denna period.

Typ II-cellen:

Typ II-cellerna, även kallade typ II-pneumocyter eller septalceller, bildar surfaktant och är granulära, specialiserade epitelceller som är helt unika för lungvävnad (Bourbon, 1991). Cellerna karakteriseras av deras stora, osmiofila och lamellära kroppar i cytoplasman där surfaktant bildas och förvaras (se Fig. 3). Till skillnad från typ I-cellerna har typ II-celler mikrovilli apikalt och dess membran har en annan molekylär uppbyggnad som är anpassad för interagering med andra celler och transport. Typ II-cellen har ett välutvecklat endoplasmatiskt retikulum, tätt med mitokondrier och ett flertal regioner med golgiapparat runt nukleus. Den innehåller även peroxisomer som bland annat är inblandade i surfaktantproduktionen.



Figur 3. Typ II-pneumocyt och dess organeller (Mescher, 2009).

2 SURFAKTANT

Surfaktant är en förkortning av ”surface active agents” vilka påverkar spänningen mellan vattenmolekyler på alveolens fuktiga slemhinnor (Bernhard, 2016, review). Om spänningen, som är känd som ytspänningen, är för hög dras dessa vattenmolekyler mot varandra och alveolens tunna väggar kollapsar. Hos lamm ses överdrivet förhöjda nivåer av surfaktant perinatalt för att inte riskera brist vid det kritiska moment som födelsen är (Hillman *et al.*, 2012). Både tillverkningen av surfaktantkomponenterna och regleringen av surfaktantutsöndring är komplexa vilket gör att små rubbningar i dessa system kan orsaka allvarliga andningsproblem och lungsjukdom.

2.1 Historia

Redan 1929 misstänkte den tyske forskaren Kurt von Neergard att det fanns ett ämne i lungorna vars funktion var att sänka ytspänningen, men närvaron av surfaktant bekräftades först 25 år senare (Halliday, 2008). Efter ytterligare 5 år publicerades starka bevis på hur för tidigt födda barn som avlidit på grund av ”respiratoriskt distress syndrom” (RDS) hade brist på surfaktant. Upptäckterna som bevisade sambandet mellan lungsjukdom och surfaktant ledde till ett flertal försök med tillförsel av både naturlig och syntetisk surfaktant till nyfödda och foster och dessa har visat positiva resultat. I många experiment användes får som modell, till exempel visade Forrest Adams på 70-talet, enligt Halliday (2008), att naturlig surfaktant även hade positiv effekt på immatura lamm.

Under 60-talet upptäckte sir Graham Collingwood Liggins ett samband mellan surfaktant och kortikosteroider (Liggins, 1969). Under ett försök injicerade han dräktiga tackor med kortikosteroider för att se hur tidpunkten för lamning påverkades. En av tackorna födde då ett lamm så tidigt i dräktigheten att det borde ha varit långt ifrån livsdugligt, men till forskarens överraskning levde lammet utanför livmodern en kort stund. I ett senare experiment, som pågick 1969–70, visade han även att mödrar som behandlades med kortison innan de födde prematurt fick barn med lägre risk att utveckla RDS jämfört med de som inte behandlats. Därmed kunde stora framsteg i mödravården göras. Han drog efter detta slutsatsen samt kunde bevisa att kortikosteroider påskyndade lungans mognad och gav ökad surfaktantproduktion vilket möjliggjorde överlevnad av både gravt prematura barn och lamm.

Idag vet vi hur viktigt det är med tillskott av surfaktant till prematura barn och foster med respirationsnedsättningar (Halliday, 2008). Sedan 1980-talet används behandling med surfaktant flitigt inom den humana fostermedicinen vilket har minskat den neonatala dödligheten med upp till 50 %.

2.2 Embryologi

Surfaktant produceras främst av typ II-pneumocyten som uppkommer efter differentieringen av det respiratoriska epitelet under de senare delarna av embryonalutvecklingen. Hos får kan de första typ II-cellerna ses vid dag 110 och då börjar även mängden surfaktant öka markant

(Alcorn *et al.*, 1981). Differentieringen av cellerna regleras av jämvikten mellan glukokortikoider och tillväxthormonet TGF- β (Nkadi *et al.*, 2009). Halten av TGF måste vara precist kontrollerad eftersom både för höga och för låga halter hämmar lungutvecklingen. Produktionen av surfaktant går långsammare hos foster än hos vuxna individer men halten av surfaktant, framförallt intracellulärt, är oftast som högst vid födelsen. Under embryonalutvecklingen ändras även surfaktantens komposition beroende på i vilket stadium fostret befinner sig. Hos människa är ökning av andelen fosfatidylglycerol (FG) ett viktigt tecken på lungmognad. Hos får ses istället en markant ökning av fosfatidylkolin (FK) under de sista dagarna av dräktigheten (Benson *et al.*, 1983).

2.3 Innehåll och funktion

Surfaktanten består som nämnt tidigare främst av fosfolipider men även en viss del protein ingår (McGeady *et al.*, 2006). Den har förmågan att sänka och variera ytspänningen samt minska risken för adherenser mellan alveolarväggar under utveckling och hålla alveolens lumen öppet under expiration. På grund av surfaktantens höga yttryck sprids vätskan till lungvävnadens samtliga ytor. Surfaktant har också visats ha en betydelse för stabilisering av mindre luftvägar enligt sammanfattning av Bernhard (2016). Denna strukturella stabilisering föreslogs i en review av Goerke (1998) kunna ha betydelse för att behålla öppenhet och minska motståndet i luftvägarna vid allergi. Surfaktant kan även ha en roll i stimulering av mucuscilierad förflyttning av oönskat material i lungorna (De Sanctis *et al.*, 1994).

2.3.1 Lipider

Surfaktant innehåller omkring 90 % lipider varav ca 80 % är fosfolipider och det är dessa som ger ytspänningssänkningen (Bernhard, 2016, review). Typen av fosfolipider varierar beroende på utvecklingsstadiet och djurslag. Generellt består lungsurfaktant till största del av fosfatidylkolin (FK) och till en mindre del fosfatidylglycerol (FG) hos de flesta däggdjur och människa.

Resterande 10 % av lipidinnehållet består av kolesterol som påverkar surfaktantens fluiditet och spridning (Lakshmi *et al.*, 2012). Variationer i kolesterolinnehållet hos däggdjur kan även anpassa surfaktanten till olika skillnader i kroppstemperatur, speciellt hos djur som går i dvala (Lang *et al.*, 2005). Kolesterol kommer till största del från blodet.

2.3.2 Protein

Surfaktantproteinerna (SP), som utgör ca 2-5 % av surfaktantens innehåll, har olika namn beroende på när de upptäcktes; de mest förekommande proteinerna är SP-A, SP-B, SP-C, SP-D (Bernhard, 2016, review). Dessa har del i viktiga funktioner såsom förbättring och ökning av lipidernas absorption och spridning över lungytan, reglering av fosfolipidernas syntes och utsöndring samt påverkan på de alveolära makrofagernas fagocytos och migrering (Bourbon, 1991).

SP-A och SP-D är så kallade kollektiner vilka är kalcium-beroende samt hydrofila och hittas även i andra vävnader i kroppen (Goerke, 1998, review). De båda är viktiga för immunsystemet och SP-D föreslås även vara inblandad i surfaktantmetabolismen. Efter experimentell behandling av prematura, nyfödda lamm med en surfaktantlösning innehållande SP-D sågs en minskad tendens till utveckling av lunginflammation (Sato *et al.*, 2010). SP-D kan påverka alla typer av immunförsvarsceller och hämma utsöndringen av inflammatoriska mediatorer. Därmed minskas skador och vätskeansamlingar som bildas vid inflammation och istället induceras regenerationen. SP-B och SP-C är istället extremt hydrofoba polypeptider som hjälper till att upprätthålla surfaktantfilmens stabilitet och ökar absorptionen av surfaktant (Agassandian and Mallampalli, 2013).

2.3.3 Artskillnader

Typen och mängden av framförallt fosfolipider skiljer sig betydande mellan olika arter. Den viktigaste och mest förekommande lipiden i surfaktant är fosfatidylkolin (FK) och även halten av denna varierar mellan djurslag (Harwood *et al.*, 1975). Variationerna som observerats beror till största del på djurens olika fysiologi och skillnader i deras uppbyggnad av lungorna.

Fårets surfaktant innehåller 86 % fett och 14 % protein där lipiderna utgörs av 58 % FK, 10 % lysofosfatidylkolin (LFK), 3 % kolesterol, 4,5 % FG samt mindre andelar av flera andra lipider (Harwood *et al.*, 1975). Detta kan jämföras med kanin som har upp emot 83 % FK och knappt inget LFK. Får utmärker sig därav med en relativt låg halt FK, vilken anses vara den viktigaste fosfolipiden hos andra arter, och en hög halt LFK. LFK föreslås vara en viktig regulator av mängden och effektivitet av surfaktant. I en studie av surfaktant från kalv har LFK visats inhibera effektiviteten av surfaktant, och förhöjda halter av LFK har även uppmätts i andra undersökningar hos humana patienter med akut RDS där bristen på surfaktant var den främsta orsaken till sjukdom (Holm *et al.*, 1999).

2.4 Produktion och metabolism

Surfaktant produceras av typ II-pneumocyterna, packas i de lamellära kropparna och utsöndras till lumen på alveoli där det degraderas och bildar en film över lungytan (Olmeda *et al.*, 2017). Lipiderna i surfaktant produceras av syntes *de novo* i ER alternativt genom omformation i de lamellära kropparna. LPCAT1 är ett av de viktigaste enzymerna i metabolismen av surfaktantlipider och är främsta regulatoren vad gäller halten FK. Kolesterol kommer som tidigare nämnts till största del från blodet men en viss mängd produceras även i typ II-pneumocytens peroxisomer. Det finns även kolesterol-bindande molekyler inuti inklusionskropparna och detta bedöms vara en viktig regleringsfunktion för anpassning till olika fysiologiska tillstånd och temperaturskillnader. I det endoplasmatiska retiklet bildas de stora proteiner som är förstadier till SP-B och SP-C; dessa proteiner transporteras och klyvs sedan i de lamellära kropparna till att bli de färdiga proteinerna. Detta sker förmodligen för att sekretionen ska ske vid rätt tidpunkt och proteinerna ska synkroniseras med lipidsyntesen. Även de ändar som klyvs har viktiga funkt-

ioner i proteinernas metabolism. De två andra proteinerna, SP-A och SP-D, lämnar den sekretoriska cellen via helt andra transportvägar. Efter hopsamling av protein och lipider i lamellära granula ska utsöndringen ut i alveolernas lumen ske. Inandning är det främsta och mest effektiva stimuli som ger surfaktantsekretion efter en reaktion på uttänjning av alveolerna. Vid det första andetaget släpps därför en stor mängd surfaktant ut i lungan. Efter det fortsätter surfaktantmetabolismen med dess cykliska rundgång bestående av sekretion, absorption och regenerering. Både typ II-cellen och lungans makrofager kan absorbera surfaktant som sedan bearbetas, förnyas och utsöndras igen. Dock kan inte surfaktant normalt passera barriären till blodet och därför kan förekomsten av surfaktantprotein i blodet fungera som en tidig indikator på lungskada och inflammation. Surfaktanten återvinns relativt snabbt med ett utbyte på 10 % av vätskan under en timme.

2.5 Reglering

Surfaktantproduktionen regleras av flera olika faktorer vilka medieras via både cellkontakter, lokala mediatorer och hormon (Gross, 1990). Framförallt glukokortikoider är kända för att påverka så väl lungutveckling som surfaktantmängd. Även tyroidhormon har en tydlig inverkan med ökad produktion av fosfolipider, särskilt fosfatidylkolin (FK).

2.5.1 Glukokortikoider

En kritisk utveckling under fosterstadiet hos får är den av hypotalamus, hypofys och binjurebarken eftersom det är glukokortikoider som både inducerar lungutveckling, surfaktantproduktion och igångsättning av lamning (Liggins, 1969). Glukokortikoiders verkan på surfaktant är receptormedierad och ökar både innehållet av fosfolipider och protein (Gross, 1990). En cytoplasmatisk receptor translökerar vid inbindning av glukokortikoider och inducerar gentranskription i kärnan. Därav ökar halten mRNA för både SP-A, B och C. Dock varierar påverkan på SP-A mellan olika djurslag och glukokortikoider har till och med visats verka inhiberande i höga doser hos vissa arter enligt sammanfattning av Liley *et al.* (1988). Även aktiviteten hos viktiga enzym som ingår i lungans fosfolipidmetabolism ökar av glukokortikoider (Gross, 1990). Både FK- och FG- syntesen påverkas också.

Andra positiva effekter av kortisonadministrering till dräktiga tackor alternativt direkt till de neonatala lammen i den senare delen av dräktigheten är bland annat minskad risk för lungödem, snabbare lungmognad och ökad andel antioxidanter hos lammet (Rebello *et al.*, 1997; Walther *et al.*, 1996). Trots gynnsamma effekter på lungans utveckling finns det bieffekter (Bolt *et al.*, 2001). Även om glukokortikoider kan användas för ökad överlevnad vid prematura födslar och för undvikande av utveckling av RDS har samtidigt höga eller upprepade doser långvariga och negativa effekter. Lamm föds med lägre födelsevikt jämfört med obehandlade lamm födda vid samma ålder (Ikegami *et al.*, 1997), och både lunga, hjärna och metabolism påverkas negativt senare i livet (Bolt *et al.*, 2001). Med en påskyndad lungmognad följer också färre antal alveoler och lägre lungvolym.

3 LAMMETS SURFAKTANT OCH LUNGMOGNAD

3.1 Surfaktant - påverkan och nedsatt produktion/sekretion

Surfaktant har många viktiga funktioner i lungan, därför kan nedsatt produktion eller sekretion många gånger vara fatalt. Infektioner samt metaboliska eller genetiska defekter är faktorer som kan påverka surfaktantmetabolismen negativt (Akella and Deshpande, 2013). Mutationer i generna som kodar för surfaktantprotein, protein som ingår i metabolismen av surfaktant och transportprotein i typ II-pneumocyten leder till nedsatt produktion. Detta kan ge konsekvenser i form av sjukdomar som RDS och ökad förekomst av respiratoriska infektioner. Även annan påverkan på metabolismen som felaktig signalering eller brist på glukokortikoider kan ge negativa följder för surfaktantproduktionen.

Hos får och lamm är lunginflammation en av de vanligaste diagnoserna som ställs idag och i många fall vet man ej orsak (Gård och Djurhälsan, 2017b). Om lamm som är för tidigt födda ventileras med syre efter födseln för att de ska överleva kan detta ge skador på den utvecklade lungan orsakade av aktiverade makrofager (Sato, *et al.*, 2010). De flesta konventionella surfaktantbehandlingar som används innehåller endast SP-C och SP-B och inte de antiinflammatoriska surfaktantproteinerna SP-A och SP-D. Tillförsel av SP-D-berikad surfaktant visade sig hämma inflammation hos ventilerade lamm samt gav ökad resistens mot surfaktantinhibitorer.

Surfaktant kan ibland i höga doser, även om surfaktant också är skyddande, vara skadande och fungera som bindningsmedel och ingångsväg för adenovirus vid respirationsinfektioner (Balakireva *et al.*, 2003). Adenovirusinfektion är en relativt vanlig sjukdom hos får, särskilt hos lamm, som ger påverkan på tarmfunktion och aptit samt kan resultera i plötsliga dödsfall (Debey *et al.*, 2001). Därför är det även viktigt med regleringsmöjligheter och en kontrollerad mängd och sammansättning av surfaktant.

3.2 IUGR och navelsträngskompression

IUGR står för ”Intra Uterine Growth Restriction” vilket ger otillräcklig näringstillförsel till fostret och kan orsakas av felaktig placentabildning eller kroniskt tryck på navelsträngen. Detta gör att fostret ej växer normalt och det har även visats påverka lungans utveckling (Wignarajah *et al.*, 2002). Lungans totalvikt förändras inte men strukturen påverkas. De större luftvägarna förtunnas på grund av otillräcklig brosk- och epitelutveckling, och förändringar ses även i sammansättningen av lungans körtelsekret vilket kan predisponera för framtida infektioner.

Kompression på navelsträngen kan även perinatalt ge komplikationer genom inducerad andning eftersom den signalen ges när syretillförseln via umbilikalvenerna minskar hos det färdigutvecklade fostret (McGeady, 2006). Detta leder till aspiration av fostervätska och hypoxi. Det är visat för lamm att de börjar andas först när navelsträngen har brutit eller är åtklämd (Hillman *et al.*, 2012). Detta beror troligtvis på både en reaktion av hypoxi, förändrade syrehalter och upphörd tillförsel av prostaglandin från moderns blod. Prostaglandin verkar som en inhibitor för andning under fosterstadiet för att undvika aspiration av vätska.

DISKUSSION

Surfaktant

Lamm har enligt beskrivningen ovan en sen lungmognad och ett känsligt respiratoriskt system. Det kan vara en bakomliggande orsak till både lammsvaghet och lamningskomplikationer och därför är det viktigt att känna till faktorer som påverkar både systemet för ovin lungutveckling och surfaktantproduktion. Wright (2010) menar att lamm som utsatts för mekanisk eller oxidativ stress under förlossning har en predisponering för lungsjukdomar och andra komplikationer i senare delar av livet. Optimal lungmognad och surfaktantmängd kan därför ha en stor betydelse för att uppnå en hög andel okomplicerade födslar vilket är viktigt både hälsomässigt för fåren och ekonomiskt för djurägaren.

Perinatal mortalitet, svaghet hos lamm och IUGR

I Sverige är dödligheten av lamm vid födsel och fem dagar framåt ca. 3 % och beror oftast på otillräcklig näringstillförsel enligt en artikel från Gård och Djurhälsan (2016). Oförmåga för lammen att få i sig mjölk och näring kan bero på en mängd underliggande faktorer. En möjlighet är att försämrade lungfunktion och andning gett svaghet och därmed svårigheter för lammet att både följa med tackan och orka för att stå upp och dia. Otillräcklig lungutveckling kan vara en del i allmän svaghet hos ett lamm vilket i sin tur kan ge komplikationer under förlossningen i form av att lammet inte orkar lägga sig i rätt position när livmoderns kontraktioner börjar. Fel-lägen är en vanlig komplikation vid lamning² och orsakerna är inte grundligt undersökta. Ofta rekommenderas djurägare att kontrollera foderstaten och näringsinnehåll i grovfodret samt att hullbedömma dräktiga tackor (Gård och Djurhälsan, 2016). Det är viktigt med en korrekt utfodring för en bra placentatillväxt och näringsöverföring till lammet. En begränsad näringstillförsel kan orsaka IUGR hos lammet och därmed ge försämrade lungutveckling samt otillräcklig surfaktantproduktion för att lammet ska kunna överleva en födsel, även vid full dräktighetstid (Wignarajah *et al.*, 2002). I den situationen kan nedsatt lungfunktion vara en viktig underliggande faktor till svaghet hos lammet och kanske vissa dödsfall eller förlossningskomplikationer kan vara orsakade av oupptäckt IUGR. Även om dräktigheten då är fullgången får lammen underutvecklade lungor likt om de föds prematurt och får problem med andningen. Prematur födsel hos får är ovanligt², men eftersom många studier (exempelvis Sato, 2010) med målet att förbättra den humana barnvården inkluderat induktion av tidig förlossning hos tackor för att undersöka effekten av olika behandlingar, vet vi vad effekterna blir. Liknande fenomen av underutveckling kan ibland ses när tackan bär på fler än två lamm, där ett lamm ofta blir mindre och svagare än de andra².

Artskillnader

Får och lamm har andra specifika attribut som ger dem skilda förutsättningar vad gäller fulländad respiration vid födseln. Speciellt surfaktantens sammansättning skiljer sig markant mellan

² Anna Törnfeldt, Gotland, ägare av 180 tackor av rasen Gotlandsfår. 2017-02-17

olika arter, där de olika komponenterna verkar spela varierande roller beroende på djurets fysiologi och krav på rörelsekapacitet vid födseln. Kan det vara så att lammets lungmognad, unika surfaktantkomposition och den överdrivna surfaktantproduktionen perinatalt är viktig för att anpassa lammet till snabb aktivitet och möjlighet att fly och springa med flocken om rovdjur närmar sig? Lammet kanske kompenserar den sena lungmognaden med en hög halt surfaktant och därmed säkerställs ett fungerande andningssystem. I så fall kan även den höga halten av LFK (lysofosfatidylkolin), som antas hämma surfaktant, förklaras eftersom denna överproduktion måste kontrolleras och upphöra när lammet vuxit till sig och lungorna mognat postnatalet.

Djurslagsskillnader i lungmognad och surfaktantkomposition påverkar även hur relevant forskningen är som översätter resultat från ett djurslag till ett annat. När det gäller lungutveckling och behandling av prematurt födda barn har den kunskap som utnyttjas inom humanmedicinen till största del kommit från försök med lamm trots stora olikheter. Tidpunkter för olika steg i den embryonala utvecklingen skiljer sig och andelen av de olika beståndsdelarna i surfaktanten ser olika ut. Kan det vara så att mycket av den forskning som finns och som refereras till behöver uppdateras och utvecklas med tanke på nya upptäckter avseende artskillnader?

Glukokortikoider

Glukokortikoider är viktiga för perinatal överlevnad och lungutveckling. Hos människa används kortisonbehandling frekvent för att öka barns överlevnad, speciellt om de föds för tidigt (Halliday, 2008). Att glukokortikoider påverkar både tidpunkt för förlossning, lungutveckling, surfaktant och mycket mer visar dess diversitet, vilket kräver försiktighet vid behandling med dem, särskilt av dräktiga djur. Men med mer kunskap skulle ett effektivt hjälpmedel vid komplicerade förlossningar hos får kunna utvecklas, kanske innehållande både surfaktant-främjande ämnen, såsom kortison, och färdig surfaktant för att optimera lungans funktion perinatalt samt förebygga sjukdomsutveckling senare i livet. Detta skulle kunna bidra till livskraftiga och snabbväxande lamm med god hälsa.

Konklusion och framtida möjligheter

Sammanfattningsvis finns det fortfarande frågetecken vad gäller surfaktant, särskilt betydelsen av skillnader i sammansättning mellan djurslag vilket kan ha koppling till den nyföddes levnadssituation, exempelvis behov av att röra sig och syresätta sina muskler tidigt efter födelsen. Med de fakta som finns idag är det svårt att avgöra om lungutvecklingen och surfaktantproduktionen hos lamm har en avgörande betydelse för att förebygga förlossningskomplikationer och säkra perinatal överlevnad. Får är ett relativt friskt och anpassningsbart djurslag med få hälsoproblem, kanske på grund av förhållandevis naturlig djurhållning och relativt låga krav på produktionsmässig effektivitet. Ändå vore minskad förekomst av förlossningskomplikationer önskvärt och där kan vissa typer av surfaktanttillskott ha en viktig roll. Lammen har ofta en tillräcklig volym av surfaktant, enligt Hillman *et al.* (2012), men det som kan behövas är komplettering med viktiga surfaktantkomponenter som lamm kan sakna eller ha låga nivåer av, till

exempel fosfatidylkolin och surfaktantprotein-D. För praktisk användbarhet krävs även utveckling av ett mer lätt-administrerat preparat eftersom djurägarna oftast själva tar hand om lamningarna. Surfaktant ges främst via intuberingsslang idag men det är en kommande ambition att det ska kunna ges i gasform vilket vore enklare att använda för de som saknar medicinsk utbildning (Halliday, 2008). Framtida studier kan förhoppningsvis även klargöra om surfaktantbehandling av lamm, även fullgångna, kan ge färre komplikationer perinatalt och resultera i starkare lamm, vilket därmed kan indikera hur viktigt full lungmognad och -funktion är för lamms överlevnad.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Agassandian, M. & Mallampalli, R.K. (2013). Surfactant phospholipid metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids, Phospholipids and Phospholipid Metabolism*, 1831: 612–625. doi:10.1016/j.bbali.2012.09.010. 2017-02-28
- Akella, A. & Deshpande, S.B. (2013). Pulmonary surfactants and their role in pathophysiology of lung disorders. *Indian Journal of Experimental Biology*, 51: 5–22.
- Alcorn, D.G., Adamson, T.M., Maloney, J.E. & Robinson, P.M. (1981). A morphologic and morphometric analysis of fetal lung development in the sheep. *The Anatomical Record*, 201: 655–667. doi:10.1002/ar.1092010410. 2017-02-19
- Balakireva, L., Schoehn, G., Thouvenin, E. & Chroboczek, J. (2003). Binding of adenovirus capsid to dipalmitoyl phosphatidylcholine provides a novel pathway for virus entry. *Journal of Virology*, 77: 4858–4866. doi:10.1128/JVI.77.8.4858-4866.2003. 2017-02-26
- Barker, P.M. & Olver, R.E. (2002). Invited Review: Clearance of lung liquid during the perinatal period. *Journal of Applied Physiology*, 93: 1542–1548. doi:10.1152/jappphysiol.00092.2002. 2017-02-23
- Benson, B.J., Kitterman, J.A., Clements, J.A., Mescher, E.J. & Tooley, W.H. (1983). Changes in phospholipid composition of lung surfactant during development in the fetal lamb. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism*, 753: 83–88. doi:10.1016/0005-2760(83)90101-7. 2017-02-28
- Bernhard, W. (2016). Lung surfactant: Function and composition in the context of development and respiratory physiology. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*, 208: 146–150. doi:10.1016/j.aanat.2016.08.003. 2017-02-21
- Bolt, R. J., van Weissenbruch, M. M., Lafeber, H. N. & Delemarre-van de Waal, H. A. (2001). Glucocorticoids and lung development in the fetus and preterm infant. *Pediatric Pulmonology*, 32: 76–91. doi:10.1002/ppul.1092. 2017-03-03
- Bourbon, J.R. (1991). *Pulmonary Surfactant: Biochemical, Functional, Regulatory, and Clinical Concepts*. Boca Raton, CRC Press. Ch. 1, 2, 3, 4, 5. Tillgänglig: <https://books.google.se/books?id=izrMsAhWWjsC> [2017-02-28]
- Bryden, M. M., Evans, H. & Binns, W. (1973) Embryology of the sheep. III. The respiratory system, mesenteries and celom in the fourteen to thirty-four day embryo. *The Anatomical Record*, 175: 725-735
- Debey, B.M., Lehmkuhl, H.D., Chard-Bergstrom, C. & Hobbs, L.A. (2001). Ovine adenovirus serotype 7-associated mortality in lambs in the United States. *Veterinary Pathology*, 38: 644–648. doi:10.1354/vp.38-6-644. 2017-03-05
- deLemos, R.A., Shermeta, D.W., Knelson, J.H., Kotas, R. & Avery, M.E. (1970). Acceleration of appearance of pulmonary surfactant in the fetal lamb by administration of corticosteroids. *American Review of Respiratory Diseases*, 102: 459–461. doi:10.1164/arrd.1970.102.3.459. 2017-02-21
- De Sanctis, G. T., Tomkiewicz, R. P., Rubin, B. K. & Schürch, S. (1994) Exogenous surfactant enhances mucociliary clearance in the anaesthetized dog. *The European Respiratory Journal*, 7: 1616-1621

- Goerke, J. (1998). Pulmonary surfactant: functions and molecular composition. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1408: 79–89. doi:10.1016/S0925-4439(98)00060-X. 2017-02-21
- Gross, I. (1990). Regulation of fetal lung maturation *The American Physiological Society*, 259: 337-344.
- Gård & Djurhålsan - Får (2016) *Våra bästa överlevnadstips för lamm*. <http://www.gardochdjurhalsan.se/sv/far/kunskapsbank/artiklar/2016/e/710/vara-basta-overlevnadstips-for-lamm/> [2017-03-13]
- Gård & Djurhålsan - Får (2017a) *Fruktksamhet och reproduktion* <http://www.gardochdjurhalsan.se/sv/far/kunskapsbank/halsa-och-sjukdomar/fruktsamhet-och-reproduktion/> [2017-03-16]
- Gård & Djurhålsan - Får (2017b) *Luftvägssjukdomar*. <http://www.gardochdjurhalsan.se/sv/far/kunskapsbank/halsa-och-sjukdomar/luftvagssjukdomar/> [2017-03-13]
- Halliday, H.L. (2008). Surfactants: past, present and future. *Journal of Perinatology*, 28: 47–56. doi:10.1038/jp.2008.50. 2017-02-21
- Harwood, J. L., Desai, R., Hext, P., Tetley, T. & Richards, R. (1975). Characterization of pulmonary surfactant from ox, rabbit, rat and sheep. *Biochemical Journal*, 151: 707–714.
- Hillman, N., Kallapur, S.G. & Jobe, A. (2012). Physiology of transition from intrauterine to extrauterine life. *Clinics in Perinatology*, 39: 769–783. doi:10.1016/j.clp.2012.09.009. 2017-02-23
- Holm, B. A., Wang, Z. & Notter, R.H. (1999). Multiple mechanisms of lung surfactant inhibition. *Pediatric Research*, 46: 85–93. doi:10.1203/00006450-199907000-00015. 2017-02-26
- Hyttel, P., Sinowatz, F., Vejlstad, M. & Betteridge, K., (2010). *Essentials of Domestic Animal Embryology*. Edinburgh: Elsevier. Ch. 7, 8, 14.
- Ikegami, M., Jobe, A.H., Newnham, J., Polk, D.H., Willet, K.E., Sly, P., (1997). Repetitive prenatal glucocorticoids improve lung function and decrease growth in preterm lambs. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine*, 156: 178-184
- Lakshmi, N. M. S., McCraig, L., Picardi, M. V., Ospina, O. L., Veldhuizen, R. A. W., Staples, J. F., Possmayer, F., Yao, L.-J., Perez-Gil, J. & Orgeig, S. (2012). Adaption to low body temperature influences pulmonary surfactant composition thereby increasing fluidity while maintaining appropriately ordered membrane structure and surface activity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Biomembranes*, 1818; 1581-1589. doi: 10.2016/j.bbamem.2012.02.021. 2017-03-19
- Lang, C.J., Postle, A.D., Orgeig, S., Possmayer, F., Bernhard, W., Panda, A.K., Jürgens, K.D., Milsom, W.K., Nag, K. & Daniels, C.B. (2005). Dipalmitoylphosphatidylcholine is not the major surfactant phospholipid species in all mammals. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 289: 1426–1439. doi:10.1152/ajpregu.00496.2004. 2017-02-28
- Liggins, G. C. (1969) Premature delivery of foetal lambs infused with glucocorticoids. *Journal of Endocrinology*, 45: 515-523.
- Liley, H. G., White, R. T., Benson, B. J. & Ballard, P. L. (1988) Glucocorticoids both stimulate and inhibit production of pulmonary surfactant protein A in the fetal human lung. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85: 9096

- McGeady, T. A., Quinn, P. J., FitzPatrick, E. S. & Ryan, M. T., Cahalan, S., (2006). *Veterinary Embryology*. Oxford: Blackwell Publishing. Ch. 5, 16.
- Mescher, A., (2009). *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas*. 12. uppl. New York: McGraw-Hill Medical.
- Nkadi, P.O., Merritt, T.A. & Pillers, D.-A.M. (2009). An overview of pulmonary surfactant in the neonate: genetics, metabolism, and the role of surfactant in health and disease. *Molecular Genetics and Metabolism*, 97: 95. doi:10.1016/j.ymgme.2009.01.015. 2017-02-21
- Olmeda, B., Martínez-Calle, M. & Pérez-Gil, J. (2017). Pulmonary surfactant metabolism in the alveolar airspace: Biogenesis, extracellular conversions, recycling. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*, 209: 78–92. doi:10.1016/j.aanat.2016.09.008. 2017-02-21
- Rebello, C.M., Ikegami, M., Ervin, M.G., Polk, D.H. & Jobe, A.H. (1997). Postnatal lung function and protein permeability after fetal or maternal corticosteroids in preterm lambs. *Journal of Applied Physiology*, 83: 213-218
- Sato, A., Whitsett, J.A., Scheule, R.K. & Ikegami, M. (2010). Surfactant protein-D inhibits lung inflammation caused by ventilation in premature newborn lambs. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine*, 181: 1098–1105. doi:10.1164/rccm.200912-1818OC. 2017-02-21
- Ulfig, N. (2012). *Embryologi en kortfattad lärobok*. Lund: Studentlitteratur. Ch. 6.
- Walther, F.J., David-Cu, R., Mehta, E.I., Polk, D.H., Jobe, A.H. & Ikegami, M. (1996). Higher lung antioxidant enzyme activity persists after single dose of corticosteroids in preterm lamb. *American Journal of Physiology*, 271: 187-191
- Wignarajah, D., Cock, M.L., Pinkerton, K.E. & Harding, R. (2002). Influence of intrauterine growth restriction on airway development in fetal and postnatal sheep. *Pediatric Research*, 51: 681–688. doi:10.1203/00006450-200206000-00004. 2017-03-08
- Wright, R.J. (2010). Perinatal stress and early life programming of lung structure and function. *Biological Psychology, Psychobiology of Respiration and the Airways*, 84: 46–56. doi:10.1016/j.biopsycho.2010.01.007. 2017-02-21