

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ОРГАНАХ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

С.С.Целуйко¹, В.С.Намаконова¹, Н.П.Красавина¹, С.Д.Чжоу², Ц.Ли²¹Амурская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения РФ, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95²Вторая госпитальная клиника Чунцинского медицинского университета, КНР, 400010, г. Чунцин, ул. Линьцзян, 76

РЕЗЮМЕ

Клеточные механизмы, регулирующие замену отмирающих дифференцированных клеток, являются одними из основных вопросов исследования репарации эпителия дыхательной системы после повреждения. Многочисленные работы этого направления продемонстрировали, что эпителий дыхательных путей представлен двумя пулами клеток-предшественников: базальной клеткой и специализированной секреторной клеткой, подобной клетке Клара. Морфологический и функциональный анализы процессов репарации эпителия дыхательных путей после воздействия различных повреждающих факторов позволили идентифицировать вышеуказанные клетки, как прародителей высокодифференцированных элементов.

Ключевые слова: стволовые клетки, базальные клетки, клетки Клара, дыхательные пути, регенерация.

SUMMARY

IDENTIFICATION AND LOCALIZATION OF STEM CELLS IN THE RESPIRATORY SYSTEM (REVIEW)

S.S.Tseluyko¹, V.S.Namakonova¹, N.P.Krasavina¹, X.D.Zhou², Q.Li²¹Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation²The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, 76 Linjiang Road, Chongqing, 400010, China

The cellular mechanisms regulating the replacement of dying differentiated cells are one of the basic questions in research of respiratory system epithelium reparation after the damage. Numerous works in this field have shown that airways epithelium is presented by two pools of cell-predecessors: a basal cell and a specialized secretory cell which is similar to Clara cell. Morphological and functional analyses of processes of airways epithelium reparation after the influence of various damaging factors have allowed to identify the above-stated cell as proponents of highly differentiated elements.

Key words: stem cells, basal cells, Clara cells, airways, regeneration.

Почти все дифференцированные клетки в организме млекопитающих имеют ограниченный срок жизни. В большинстве органов гибель и замещение клеток происходит с различной скоростью. Эти про-

цессы могут осуществляться двояко. Первый путь состоит в дупликации, когда при делении из дифференцированных клеток образуются потомки идентичного гено- и фенотипа. Второй путь реализуется через замещение гибнущих дифференцированных клеток потомками недифференцированных ранних предшественников по механизму, аналогичному клеточному генезу [2, 35, 36, 42]. Следует учитывать и тот факт, что в процессе эволюции у высших млекопитающих, к которым относится и человек, для ряда клеточных структур возросло значение внутриклеточной регенерации, компенсаторной гипертрофии, в противовес регенерации на основе пролиферации и последующей дифференцировки соответствующих клеточных элементов. Упорядоченная цепь тонко регулируемых процессов клеточной пролиферации, миграции, дифференцировки и созревания лежит в основе формирования большинства клеточных линий во взрослом организме [9, 11].

Наиболее ранние клеточные элементы в этой цепи – стволовые клетки (СК), входят в иерархию особых клеток живых организмов, способных впоследствии изменяться (дифференцироваться) особым образом, приобретать специализацию и далее развиваться как обычная клетка. То есть, стволовыми называют те клетки, которые способны делиться и развиваться в любой вид ткани. Это означает, что в организме взрослого человека существуют клетки, прошедшие все положенные этапы эмбрионального развития, но сохранившие способность при определенных условиях превращаться практически во все виды взрослых тканей [3, 4, 7, 16, 37]. Сейчас уже стало ясно и практически доказано, что такие клетки – это универсальные «запасные» части, которые используются организмом для восстановления или «починки» разных тканей. СК способны к длительному пребыванию в покое состоянии, а при стимуляции – к самовоспроизведению. Наряду с экстенсивной способностью к самообновлению СК располагают мощным дифференцированным потенциалом, в связи с чем они представляются идеальным объектом для изучения механизмов клеточной дифференцировки [6, 10, 20, 52]. Присутствие СК в быстро обновляющихся клеточных популяциях обусловлено постоянной гибелью колоссального числа клеточных элементов. При этом основное пополнение численности клеточных популяций идет не на уровне стволовых или полустволовых клеток, а на уровне более дифференцированных клеточных элементов.

Обнаружить СК можно с помощью специальных

методов. Дело в том, что в «нативных» СК и их производных синтезируются специфические белки, которые выявляются с помощью иммуногистохимической техники. На каждый белок получают антитела, которые метят флюоресцирующим красителем. Такой реагент выявляет белки, присутствующие в СК на разных ста-

диях. Сравнительная характеристика фенотипов эмбриональных СК указывает на наличие различных маркеров, которые чаще применяются на практике, в частности, щелочная фосфоэстераза (рис.) выявляется практически у всех млекопитающих [6, 26, 31, 42, 47].

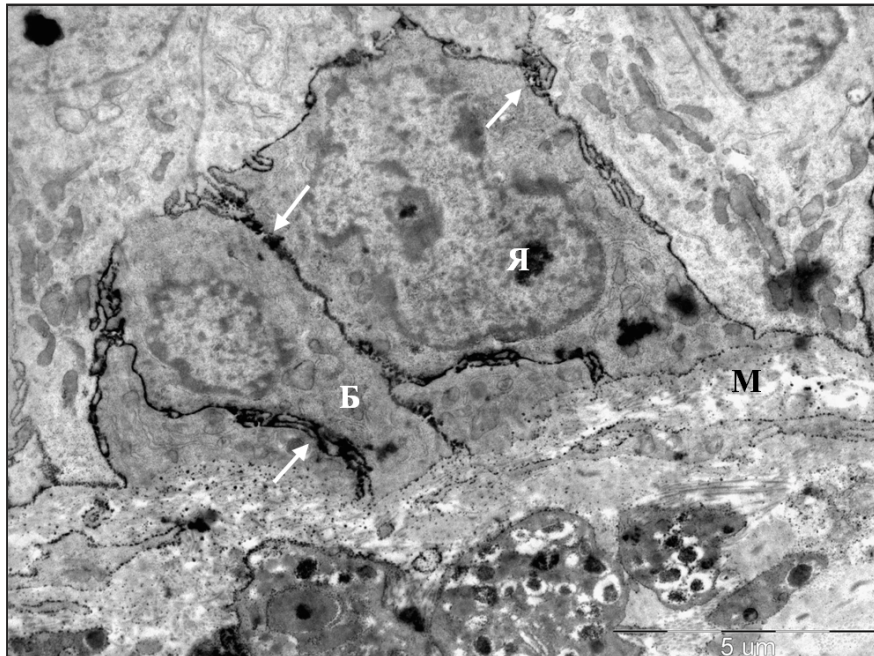


Рис. Электронограмма базального отдела эпителия слизистой оболочки трахеи у крыс. Я – ядро базальной клетки, Б – базальная клетка, М – базальная мембрана. Заливка: аралдит, эпон. Окраска: уранил ацетат, цитрат свинца. Реакция на щелочную фосфоэстеразу (↑) по Майяхара и соавт. Увеличение: 45000.

Для реализации морфогенетических процессов в регенерирующих тканях и органах одних полипотентных СК недостаточно. Необходимым условием нормального морфогенеза является формирование соответствующих рецепторов на этих клетках и продукция регуляторных веществ в организме, а также различные другие условия, возникающие в процессе соответствующих взаимодействий со всеми элементами микроокружения в процессе пролиферации и последующей дифференцировки потомков СК [4, 12, 15, 41, 54].

Хотя наличие СК, способных участвовать в формировании любой ткани организма, в настоящее время большинством исследователей не подвергается сомнению, тем не менее, многие аспекты цитофизиологии СК, а также их использование в целях регенерации тканевых и органных структур еще далеки от разрешения [7, 25]. Это касается, прежде всего, морфологической идентификации регуляторных факторов и механизмов, определяющих вступление СК в пролиферативный цикл и регулирующих процессы их дифференцировки в том или ином направлении [28, 42].

В данный момент около 50 млн человек в мире страдают заболеваниями легких в терминальной стадии. В 2020 году по оценкам ВОЗ 11,9 млн смертей из 68 млн будут вызваны заболеваниями легких. Несмотря на некоторые достижения в лечении симптомов заболеваний, аллотрансплантация является по-прежнему единственным эффективным решением данного вопроса. Однако, к сожалению, этот метод связан с серьезными проблемами: нехваткой донорских органов и высокой частотой осложнений при подобных транс-

плантациях. Недавние открытия в этой области свидетельствуют, что легкие и органы дыхательных путей человека могут быть восстановлены на клеточном уровне при использовании, как тканевой инженерии, так и клеточной терапии [5, 11, 17, 24, 37, 43]. В связи с этим, в настоящее время большие надежды возлагаются на развитие методов клеточных технологий в применении к восстановлению органов дыхательной системы. Это требует проведения углубленных исследований по вопросам механизмов дифференцировки, пролиферации, размножения, создания клеточных линий, экспрессии генов в процессе дифференцировки СК. Наиболее актуальными проблемами, требующими решения в настоящий момент в этой области, являются:

1) установление соответствия между популяциями стволовых и прогениторных клеток дыхательного эпителия, изученных в различных лабораториях (прогениторными принято называть клетки, которые включают меченые предшественники ДНК в ответ на повреждение ткани);

2) молекулярная характеристика механизмов пролиферации и дифференцировки СК дыхательного эпителия.

На практике СК представляют собой крайне гетерогенные популяции. Например, на глобальном уровне индуцированные плюрипотентные СК практически не отличаются от эмбриональных СК. Они обладают свойствами плюрипотентности, неограниченной пролиферации. Однако при переходе на более детальные уровни анализа, такие как общегеномные исследования, выявляются значительные различия [3, 17, 38, 52].

Дыхательные пути – трубчатые образования, которые уменьшаются в диаметре от проксимального до дистального отделов. Их внутренняя выстилка представлена слизистой оболочкой, состоящей из эпителиального пласта, расположенного на базальной мембране, под которой находится рыхлая соединительная ткань. Проксимальная часть дыхательных путей, к которым относятся трахея, главные, долевы, сегментарные и субсегментарные бронхи, выстлана «трахеобронхиальным эпителием», состоящим из двух функционально-различных видов: поверхностного эпителия и эпителия выводных протоков подслизистых желез. Поверхностный эпителий многорядный призматический реснитчатый, состоит из базальных, промежуточных, бокаловидных, реснитчатых, щеточных и эндокринных клеток, находящихся в контакте с базальной мембраной [5, 14, 18, 23].

Базальные клетки (БК) составляют 30% общей популяции клеток эпителия, являются основным источником клеточной пролиферации, представляют собой малодифференцированные клетки, сохранившие способность к митотическому делению. Эти клетки расположены в глубине эпителиального пласта и не достигают его свободной поверхности. Имеют полигональную или призматическую форму, большое округлое или овальное ядро, окруженное узким ободком цитоплазмы, имеющей небольшие выросты. Клетки контактируют между собой посредством десмосом. В их цитоплазме содержится множество больших митохондрий и хорошо развитый эндоплазматический ретикулум. Согласно существующей концепции, БК являются предшественниками промежуточных, или переходных клеток, которые могут дифференцироваться в реснитчатые [9, 13, 16, 30, 40, 45].

Дистальные отделы дыхательных путей выстланы «бронхиальным эпителием» – это однослойный кубический, частично сохраняющий реснички эпителий, здесь присутствуют многочисленные секреторные клетки – клетки Клара (КК) [1, 22, 44]. БК в этом отделе встречаются редко, но они присутствуют в легком человека [19, 37].

КК встречаются только в дистальных участках воздухоносных путей, а также в респираторных бронхиолах. Они кубической или цилиндрической формы, имеют куполообразную вершину, выступающую над поверхностью эпителия, окруженную короткими микроворсинками. В их цитоплазме хорошо развита гладкая эндоплазматическая сеть, аппарат Гольджи, большое количество митохондрий. Данные клетки продуцируют компоненты сурфактанта и действуют на уровне бронхиол, также вырабатывают липопротеины и гликопротеины, ферменты, принимающие участие в инактивации токсинов, поступающих с воздухом. Установлено, что КК служат источником для пополнения их собственной популяции, а также популяции реснитчатых клеток [1, 33, 49]. По сведениям ряда авторов, количество КК в терминальных бронхиолах в два раза меньше, чем в респираторных [22, 37]. Популяция КК эпителиальной выстилки бронхиол – одна из наиболее гетерогенных и полифункциональных клеточных

типов в легких млекопитающих. КК в легких различных представителей млекопитающих имеют сходную, но не идентичную ультраструктурную организацию. Пропорция КК в общей популяции бронхиального эпителия широко варьирует между видами животных: кошка (100%), морская свинка (74%), мышь (67%), овца (66%), лошадь (61%), кролик (61%), рогатый скот (54%) и крыса (25%). КК в норме имеют низкий пролиферативный потенциал, широко рассеяны по бронхиальному эпителию.

Для поиска новых уникальных маркеров (дифференциально экспрессирующихся генов) в стволовых, прогениторных и зрелых клетках анализируют профили экспрессии, полученные методами транскрипционного профилирования на микроматрицах, а также в последнее время получил развитие метод профилирования транскриптов с помощью широкомасштабного секвенирования. Например, для прогениторных клеток бронхиального эпителия (КК) при анализе результатов транскрипционного профилирования у мышей на микроматрицах были определены новые маркеры: Fmo3 (flavin monooxygenase 3); Aox3 (aldehyde oxidase 3); Cldn 10 (claudin 10). Существующие и вновь открытые маркеры также удалось разбить на группы в зависимости от стадии созревания клеток, в частности установлено, что Cldn 10 равномерно экспрессируется во всех эпителиальных клетках на эмбриональной стадии [31, 40, 42].

При изучении БК бронхиального эпителия взрослого человека методами транскрипционного профилирования на микроматрицах удалось установить 1161 ген, экспрессия которых более чем в 5 раз больше по сравнению с дифференцированным эпителием [46].

Более надежными принято считать данные протеомного анализа, непосредственно отражающие присутствие тех или иных белков в клетке. В то же время данные о профиле экспрессии СК и его динамике в процессе дифференцировки, полученные протеомными методами (главным образом, масс-спектрометрией), очень ограничены [31].

При помощи иммуноцитохимических методов исследования с использованием моноклональных антител показано, что белок CC16 появляется в амниотической жидкости человека на 15-й неделе беременности. Это свидетельствует о наличии дифференцированных КК в легком плода. С увеличением срока беременности возрастает содержание CC16 в амниотической жидкости, и к 39-й неделе его концентрация увеличивается в 25 раз, отражая тем самым морфогенез и рост ацинарных структур, а также дифференцировку КК фетального легкого. Таким образом, CC16 могут служить маркером степени дифференцировки популяции КК в развивающемся легком плода человека [44].

И у человека, и у грызунов иммуногистохимические исследования, выполненные с анти-CC16 антителами, выявили, что CC16 по существу локализуется в КК терминальных бронхиол, однако это вещество не является полностью специфическим и исключительно продуктом КК или только легких. Потенциальная

роль SC16 как уменьшающего воспаление регулятора подтверждается повышенной чувствительностью к озон-индуцированным легочным повреждениям и усиленным воспалительным ответом мышей с дефицитом SC16.

В тоже время SC16 может играть важную роль в секвестрации и клиренсе некоторых вредных субстанций, депонирующихся в респираторном тракте [1, 48, 53].

В настоящее время ведущим направлением является изучение механизмов, с помощью которых экзогенные СК привлекаются в ткань поврежденных легких и дыхательных путей. Использование мезенхимальных СК действительно после повреждения приводит к увеличению количества клеток костного мозга, оседающих в легких [21, 34, 38]. Тем не менее, с использованием более строгих методов идентификации клеток (расширенный набор поверхностных рецепторов, методы прослеживания отдельных клонов клеток) удалось продемонстрировать встраивание, хотя и достаточно редкое, СК костного мозга или пуповинной крови донора в легочный эпителий, сосудистый эндотелий, интерстициальную ткань легкого реципиента после повреждения органа [48, 53].

Пролиферативный ответ бронхиального эпителия у крыс, подвергшихся воздействию NO_2 или O_3 , происходит преимущественно из-за деления КК. Таким образом, КК играют существенную роль в пролиферации типичного трахеобронхиального эпителия у человека, а также в нормальном функционировании эпителия дистальных воздухоносных путей [19, 29, 44].

Сравнение мультиразновидностей показало, что структура КК изменяется по ходу приближения к самым дистальным отделам дыхательных путей. У КК есть способность распространяться в ответ на повреждение. Ультраструктурные отличия между секреторными клетками проксимальных и дистальных дыхательных путей привели к выявлению в верхних дыхательных путях секреторных клеток, подобных КК [1, 49].

Весьма актуальным является изучение временных рамок применения экзогенных СК при регенерации органов дыхательной системы. Мезенхимальные СК считают перспективной клеткой для реконструкции органов и целевой доставки генов. Их легко трансфектировать генетическими конструкциями, и они живут в организме длительное время после трансплантации, сохраняя при этом способность к дифференцировке по нескольким направлениям. Так, системное применение мезенхимальных СК через 4 часа после облучения легкого приводило к преимущественному встраиванию эпителиальных и эндотелиальных донорских клеток, а применение мезенхимальных клеток в более позднем периоде приводило к появлению интерстициальных клеток, что способствовало развитию фиброза [32, 50]. Применение экзогенных СК взрослого организма ограничено низкой эффективностью приживления клеток донора, кроме того, практически не описано паракринное действие таких клеток.

Для поиска прогениторных и СК дыхательных

путей были использованы *in vivo* модели, в которых применялись различные повреждающие агенты: химические и токсические вещества, а также механическое воздействие. Другой метод нанесения повреждений – использование факторов, обеспечивающих тканеспецифичную активацию цитотоксических генов у трансгенных мышей [27, 43].

Непрямые методы измерения клеточной пролиферации основаны на измерении включения меченых ДНК предшественников, таких как бромдезоксисуридин (BrdU) и $[\text{H}^3]$ -тимидин, в клеточную ДНК в S-фазе клеточного периода. При этом возможно использовать метод импульсного либо продолжительного введения метки. С помощью импульсного мечения было установлено, что пролиферирующие клетки составляют 1,3% в эпителии трахеи и 0,06% в бронхиальном эпителии [14]. В дополнение к импульсному мечению, продолжительное мечение также показало, что обновление бронхиального эпителия составляет 1% в день [28].

Прямой метод измерения времени полужизни определенного типа клеток основан на прослеживании судьбы конкретных клеток. В частности, время полужизни реснитчатых клеток дыхательного эпителия, определенное таким образом, составило для трахеи и бронхов, соответственно, 6 и 17 месяцев [42].

Изучение вопроса о роли взрослых СК в регенерации легких после тяжелых массивных повреждений в результате инфицирования вирусами организма выявило, что при этом может происходить почти полное восстановление дыхательных путей. Это связано с ускоренным размножением СК бронхиального эпителия, которые проникают в соседние с бронхами области, где произошла утрата альвеол. Профили экспрессии генов в этих клетках говорят о том, что они участвуют в восстановлении альвеоларно-капиллярных сплетений, поврежденных в результате вирусной инфекции [15, 49, 52]. С помощью совокупности этих подходов были выявлены различные субпопуляции БК дыхательного эпителия, которые различаются по своим пролиферативным способностям, потенциалу к дифференцировке и образованию клонов [13, 14].

В трахеобронхиальном дереве и субмукозных железах прогениторными свойствами обладает субпопуляция базальных эпителиальных клеток. В дистальных отделах дыхательных путей присутствуют КК, которые в ответ на повреждение начинают усиленно делиться, образуя реснитчатые эпителиальные клетки [8, 9, 39].

Таким образом, БК и КК играют ведущую роль в процессе физиологической и репаративной регенерации эпителия легких.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боркина А.Н. Роль клеток Клара в гистофизиологии бронхиального эпителия и их значение в развитии легочной патологии // Пульмонология. 2007. №5. С.94–99
2. Красавина Н.П., Целуйко С.С., Доровских В.А. Тучные клетки органов дыхания и перспективы их изучения (обзор литературы) // Бюл. физиол. и патол. ды-

хания. 2004. Вып. 19. С. 74–79.

3. Корочкин Л.И. Стволовые клетки // Онтогенез. 2003. Т. 34, №3. С. 164–166.

4. Малайцев В.В., Богданова И.М., Сухих Г.Т. Современные представления о биологии стволовой клетки // Арх. патол. 2002. Т. 64, №4. С. 7–11.

5. Полякова В.С., Завалеева С.М., Стадников А.А. Структурная реорганизация воздухоносных и респираторных отделов легких при воздействии неблагоприятных факторов воздушной среды // Вестник ОГУ. 2003. №1. С. 66–69.

6. Репин В.С., Ржанинова А.А., Шаменков Д.А. Эмбриональные стволовые клетки: фундаментальная биология и медицина. М.: Реметэкс, 2002. 165 с.

7. Стадников А.А., Шевлюк А.Н. Стволовые клетки и репаративная регенерация в постнатальном онтогенезе млекопитающих // Морфология. 2006. №6. С. 84–88.

8. Целуйко С.С., Красавина Н.П., Горбунов М.М. Стволовые клетки в тканях органов дыхания при холодовых воздействиях // Вопросы морфологии XXI века: сб. науч. трудов. СПб, 2010. Вып. 2. С. 180–181.

9. Современные взгляды на вопросы пролиферации и дифференцировки стволовых клеток органов дыхания в норме и при холодовых воздействиях / С.С.Целуйко [и др.] // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2012. Вып. 45. С. 98–103.

10. Bertoncello I., McQualter J.L. Endogenous lung stem cells: what is their potential for use in regenerative medicine? // Expert. Rev. Respir. Med. 2010. Vol. 4, №3. P. 349–362.

11. Bischoff S.C. Quercetin: potentials in the prevention and therapy of disease // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. 2008. Vol. 11, №6. P. 733–740.

12. Boers J.E., Ambergen A.W., Thunnissen F.B. Number and proliferation of basal and parabasal cells in normal human airway epithelium // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1998. Vol. 157, №6 (Pt. 1). P. 2000–2006.

13. Evidence for stem-cell niches in the tracheal epithelium / D.W.Borthwick [et al.] // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 2001. Vol. 24, №6. P. 662–670.

14. Cell kinetics of normal adult hamster bronchial epithelium in the steady state / R.Breuer [et al.] // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 1990. Vol. 2, №1. P. 51–58.

15. Embryonic stem cells generate airway epithelial tissue / C.Coraux [et al.] // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 2005. Vol. 32, №2. P. 87–92.

16. Crystal R.G. Airway epithelial cells: current concepts and challenges / R.G.Crystal [et al.] // Proc. Am. Thorac. Soc. 2008. Vol. 5, №7. P. 772–777.

17. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement / M.Dominici [et al.] // Cytotherapy. 2006. Vol. 8, №4. P. 315–317.

18. Donnely G.M., Haack D.G., Heird C.S. Tracheal epithelium: cell kinetics and differentiation in normal rat tissue // Cell Tissue Kinet. 1982. Vol. 15, №2. P. 119–130.

19. Endogenous distal airway progenitor cells, lung mechanics, and disproportionate lobar growth following long-term postpneumectomy in mice / P.Eisenhauer [et al.] //

Stem Cells. 2013. Vol. 31, №7. P. 1330–1339.

20. Cellular and molecular characteristics of basal cells in airway epithelium / M.J.Evans [et al.] // Exp. Lung Res. 2001. Vol. 27, №5. P. 401–415.

21. Effect of mesenchymal stem cells on inhibiting airway remodeling and airway inflammation in chronic asthma / X.Ge [et al.] // J. Cell. Biochem. 2013. Vol. 114, №7. P. 1595–1605.

22. Giangreco A., Reynolds S.D., Stripp B.R. Terminal bronchioles harbor a unique airway stem cell population that localizes to the bronchoalveolar duct junction // Am. J. Pathol. 2002. Vol. 161, №1. P. 173–182.

23. Novel stem/progenitor cell population from murine tracheal submucosal gland ducts with multipotent regenerative potential / A.E.Hegab [et al.] // Stem Cells. 2011. Vol. 29, №8. P. 1283–1293.

24. Isolation and characterization of murine multipotent lung stem cells / A.E.Hegab [et al.] // Stem Cells Dev. 2010. Vol. 19, №4. P. 523–536.

25. Isolation and characterization of basal cells from human upper respiratory epithelium / W.Hicks Jr [et al.] // Exp. Cell Res. 1997. Vol. 237, №2. P. 357–363.

26. Basal cells are a multipotent progenitor capable of renewing the bronchial epithelium / K.U.Hong [et al.] // Am. J. Pathol. 2004. Vol. 164, №2. P. 577–588.

27. In vivo differentiation potential of tracheal basal cells: evidence for multipotent and unipotent subpopulations / K.U.Hong [et al.] // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 2004. Vol. 286, №4. P. L643–L649.

28. Clara cell secretory protein-expressing cells of the airway neuroepithelial body microenvironment include a label-retaining subset and are critical for epithelial renewal after progenitor cell depletion / K.U.Hong [et al.] // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 2001. Vol. 24, №6. P. 671–681.

29. Separation and characterization of basal and secretory cells from the rat trachea by flow cytometry / N.F.Johnson [et al.] // Cytometry. 1990. Vol. 11, №3. P. 395–405.

30. Johnson N.F., Hubbs A.F. Epithelial progenitor cells in the rat trachea // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 1990. Vol. 3, №6. P. 579–585.

31. Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer / C.F.Kim [et al.] // Cell. 2005. Vol. 121, №6. P. 823–835.

32. Differentiation of porcine mesenchymal stem cells into epithelial cells as a potential therapeutic application to facilitate epithelial regeneration / K.Kokubun [et al.] // J. Tissue Eng. Regen. Med. 2013. doi: 10.1002/term.1758.

33. Bone marrow-derived cells as progenitors of lung alveolar epithelium / D.N.Kotton [et al.] // Development. 2001. Vol. 128, №24. P. 5181–5188.

34. Kotton D.N., Fine A. Lung stem cells // Cell Tissue Res. 2008. Vol. 331, №1. P. 145–156.

35. Stem cells and regenerative medicine in lung biology and diseases / A.N.Lau [et al.] // Mol. Ther. 2012. Vol. 20, №6. P. 1116–1130.

36. Martin U. Methods for studying stem cells: adult stem cells for lung repair // Methods. 2008. Vol. 45, №2. P. 121–132.

37. Mauricio R. Stem Cells in the Respiratory System.

Totowa, N.J.: Humana Press; London: Springer, 2010. 168 p.

38. McQualter J.L., Bertoncello I. Concise review: Deconstructing the lung to reveal its regenerative potential // *Stem Cells*. 2012. Vol.30, №5. P.811–816.

39. Evidence of an epithelial stem/progenitor cell hierarchy in the adult mouse lung / J.L.McQualter [et al.] // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2010. Vol.107, №4. P.1414–1419.

40. Immunohistochemical and ultrastructural studies of basal cells, Clara cells and bronchiolar cuboidal cells in normal human airways / M.Nakajima [et al.] // *Pathol. Int*. 1998. Vol.48, №12. P.944–953.

41. Airway epithelial repair, regeneration, and remodeling after injury in chronic obstructive pulmonary disease / E.Puchelle [et al.] // *Proc. Am. Thorac. Soc*. 2006. Vol.3, №8. P.726–733.

42. Immortalization of human bronchial epithelial cells in the absence of viral oncoproteins / R.D.Ramirez [et al.] // *Cancer Res*. 2004. Vol.64, №24. P.9027–9034.

43. Rawlins E.L., Hogan B.L.M. Epithelial stem cells of the lung: privileged few or opportunities for many? // *Development*. 2006. Vol.133, №13. P.2455–2465.

44. Derivation of distal lung epithelial progenitors from murine embryonic stem cells using a novel three-step differentiation protocol / H.J.Rippon [et al.] // *Stem Cells*. 2006. Vol.24, №5. P.1389–1398.

45. Basal cells as stem cells of the mouse trachea and human airway epithelium / J.R.Rock [et al.] // *Proc. Natl Acad. Sci USA*. 2009. Vol.106, №31. P.12771–12775.

46. A subset of mouse tracheal epithelial basal cells generates large colonies in vitro / K.G.Schoch [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol*. 2004. Vol.286, №4. P.L631–L642.

47. Sen N., Weprin S., Peter Y. Discrimination between lung homeostatic and injury-induced epithelial progenitor subsets by cell-density properties // *Stem Cells Dev*. 2013. Vol.22, №14. P.2036–2046.

48. Sueblinvong V., Weiss D.J. Stem cells and cell therapy approaches in lung biology and diseases // *Transl. Res*. 2010. Vol.156, №3. P.188–205.

49. The airway epithelium: more than just a structural barrier / A.Tam [et al.] // *Ther. Adv. Respir. Dis*. 2011. Vol.5, №4. P.255–273.

50. Mesenchymal stem cells and idiopathic pulmonary fibrosis. Potential for clinical testing / R.L.Toonkel [et al.] // *Ame. J. Respir. Crit. Care Med*. 2013 Vol.188, №2. P.133–140.

51. Vaughan A.E., Chapman H.A. Regenerative activity of the lung after epithelial injury // *Biochim. Biophys. Acta*. 2013. Vol.1832, №7. P.922–930.

52. Stem cells and cell therapies in lung biology and lung diseases / D.J.Weiss [et al.] // *Proc. Am. Thorac. Soc*. 2011. Vol.8, №3. P.223–272.

53. Morphological analysis of the lung of neonatal yak / B.Yang [et al.] // *Anat. Histol. Embryol*. 2010. Vol.39, №2. P.138–151.

54. You, Y., Growth and differentiation of mouse tracheal epithelial cells: selection of a proliferative population / Y.You [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol*.

2002. Vol.283, №6. P.L1315–L1321.

REFERENCES

1. Borkina A.N. *Pul'monologiya* 2007; 5:94–99.
2. Krasavina N.P., Tseluyko S.S., Dorovskikh V.A. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya* 2004; 19:74–79.
3. Korochkin L.I. *Ontogenez* 2003; 34(3):164–166.
4. Malaytsev V.V., Bogdanova I.M., Sukhikh G.T. *Arkhiv patologii* 2002; 64(4):7–11.
5. Polyakova B.C., Zavaleeva S.M., Stadnikov A.A. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta* 2003; 1:66–69.
6. Repin B.C., Rzhabinina A.A., Shamenkov D.A. *Embryonal'nye stvolovye kletki: fundamental'naya biologiya i meditsina* [Embryonic stem cells: fundamental biology and medicine]. Moscow: Remeteks; 2002.
7. Stadnikov A.A., Shevlyuk A.N. *Morfologiya* 2006; 6:84–88.
8. Tseluyko S.S., Krasavina N.P., Gorbunov M.M. *Vo-prosy morfologii XXI veka: sbornik nauchnykh trudov* (The questions of morphology of XXI century: proceedings). St. Petersburg; 2010 (Vol.2):180–181.
9. Tseluyko S.S., Krasavina N.P., Semenov D.A., Gorbunov M.M., Zhou X.D., Li Q. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya* 2012; 45:98–103.
10. Bertoncello I., McQualter J.L. Endogenous lung stem cells: what is their potential for use in regenerative medicine? *Expert. Rev. Respir. Med*. 2010; 4(3):349–362.
11. Bischoff S.C. Quercetin: potentials in the prevention and therapy of disease. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 2008; 11(6):733–740.
12. Boers J.E., Ambergen A.W., Thunnissen F.B. Number and proliferation of basal and parabasal cells in normal human airway epithelium. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 1998; 157(6 Pt.1):2000–2006.
13. Borthwick D.W., Shahbazian M., Krantz Q.T., Dorin J.R., Randell S.H. Evidence for stem-cell niches in the tracheal epithelium. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol*. 2001; 24(6):662–670.
14. Breuer R., Zajicek G., Christensen T.G., Lucey E.C., Snider G.L. Cell kinetics of normal adult hamster bronchial epithelium in the steady state. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol*. 1990; 2(1):51–58.
15. Coraux C., Nawrocki-Raby B., Hinnrasky J., Kileztky C., Gaillard D., Dani C., Puchelle E. Embryonic stem cells generate airway epithelial tissue. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol*. 2005; 32(2):87–92.
16. Crystal R.G., Randell S.H., Engelhardt J.F., Voynow J., Sunday M.E. Airway epithelial cells: current concepts and challenges. *Proc. Am. Thorac. Soc*. 2008; 5(7):772–777.
17. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop Dj., Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006; 8(4):315–317.
18. Donnely G.M., Haack D.G., Heird C.S. Tracheal epithelium: cell kinetics and differentiation in normal rat tissue. *Cell Tissue kinet*. 1982; 15(2):119–130.

19. Eisenhauer P., Earle B., Loi R., Sueblinvong V., Goodwin M., Allen G.B., Lundblad L., Mazan M.R., Hoffman A.M., Weiss D.J. Endogenous distal airway progenitor cells, lung mechanics, and disproportionate lobar growth following long-term postpneumectomy in mice. *Stem Cells* 2013; 31(7):1330–1339.
20. Evans M.J., Van Winkle L.S., Fanucchi M.V., Plopper C.G. Cellular and molecular characteristics of basal cells in airway epithelium. *Exp. Lung Res.* 2001; 27(5):401–415.
21. Ge X., Bai C., Yang J., Lou G., Li Q., Chen R. Effect of mesenchymal stem cells on inhibiting airway remodeling and airway inflammation in chronic asthma. *J. Cell. Biochem.* 2013; 114(7):1595–1605.
22. Giangreco A., Reynolds S.D., Stripp B.R. Terminal bronchioles harbor a unique airway stem cell population that localizes to the bronchoalveolar duct junction. *Am. J. Pathol.* 2002; 161(1):173–182.
23. Hegab A.E., Ha V.L., Gilbert J.L., Zhang K.X., Malkoski S.P., Chon A.T., Darmawan D.O., Bisht B., Ooi A.T., Pellegrini M., Nickerson D.W., Gomperts B.N. Novel stem/progenitor cell population from murine tracheal submucosal gland ducts with multipotent regenerative potential. *Stem Cells* 2011; 29(8):1283–1293.
24. Hegab A.E., Kubo H., Fujino N., Suzuki T., He M., Kato H., Yamaya M. Isolation and characterization of murine multipotent lung stem cells. *Stem Cells Dev.* 2010; 19(4):523–536.
25. Hicks W. Jr., Hall L. 3rd, Sigurdson L., Stewart C., Hard R., Winston J., Lwebuga-Mukasa J. Isolation and characterization of basal cells from human upper respiratory epithelium. *Exp. Cell Res.* 1997; 237(2):357–363.
26. Hong K.U., Reynolds S.D., Watkins S., Fuchs E., Stripp B.R. Basal cells are a multipotent progenitor capable of renewing the bronchial epithelium. *Am. J. Pathol.* 2004; 164(2):577–588.
27. Hong K.U., Reynolds S.D., Watkins S., Fuchs E., Stripp B.R. In vivo differentiation potential of tracheal basal cells: evidence for multipotent and unipotent subpopulations. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2004; 286(4):L643–L649.
28. Hong K.U., Reynolds S.D., Giangreco A., Hurley C.M., Stripp B.R. Clara cell secretory protein-expressing cells of the airway neuroepithelial body microenvironment include a label-retaining subset and are critical for epithelial renewal after progenitor cell depletion. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2001; 24(6):671–681.
29. Johnson N.F., Wilson J.S., Habbersett R., Thomassen D.G., Shopp G.M., Smith D.M. Separation and characterization of basal and secretory cells from the rat trachea by flow cytometry. *Cytometry* 1990; 11(3):395–405.
30. Johnson N.F., Hubbs A.F. Epithelial progenitor cells in the rat trachea. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1990; 3(6):579–585.
31. Kim C.F., Jackson E.L., Woolfenden A.E., Lawrence S., Babar I., Vogel S., Crowley D., Bronson R.T., Jacks T. Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. *Cell* 2005; 121(6): 823–835.
32. Kokubun K., Pankajakshan D., Kim M.J., Agrawal D.K. Differentiation of porcine mesenchymal stem cells into epithelial cells as a potential therapeutic application to facilitate epithelial regeneration. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2013. doi: 10.1002/term.1758.
33. Kotton D.N., Ma B.Y., Cardoso W.V., Sanderson E.A., Summer R.S., Williams M.C., Fine A. Bone marrow-derived cells as progenitors of lung alveolar epithelium. *Development* 2001; 128(24):5181–5188.
34. Kotton D.N., Fine A. Lung stem cells. *Cell Tissue Res.* 2008; 331(1):145–156.
35. Lau A.N., Goodwin M., Kim C.F., Weiss D.J. Stem cells and regenerative medicine in lung biology and diseases. *Mol. Ther.* 2012; 20(6):1116–1130.
36. Martin U. Methods for studying stem cells: adult stem cells for lung repair. *Methods* 2008; 45(2):121–132.
37. Mauricio R. Stem Cells in the Respiratory System. Totowa, N.J.: Humana Press; London: Springer; 2010.
38. McQualter J.L., Bertoncello I. Concise review: Deconstructing the lung to reveal its regenerative potential. *Stem Cells* 2012; 30(5):811–816.
39. McQualter J.L., Yuen K., Williams B., Bertoncello I. Evidence of an epithelial stem/progenitor cell hierarchy in the adult mouse lung. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2010; 107(4):1414–1419.
40. Nakajima M., Kawanami O., Jin E., Ghazizadeh M., Honda M., Asano G., Horiba K., Ferrans V.J. Immunohistochemical and ultrastructural studies of basal cells, Clara cells and bronchiolar cuboidal cells in normal human airways. *Pathol. Int.* 1998; 48(12):944–953.
41. Puchelle E., Zahm J.M., Tournier J.M., Coraux C. Airway epithelial repair, regeneration, and remodeling after injury in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2006; 3(8):726–733.
42. Ramirez R.D., Sheridan S., Girard L., Sato M., Kim Y., Pollack J., Peyton M., Zou Y., Kurie J.M., Dimaio J.M., Milchgrub S., Smith A.L., Souza R.F., Gilbey L., Zhang X., Gandia K., Vaughan M.B., Wright W.E., Gazdar A.F., Shay J.W., Minna J.D. Immortalization of human bronchial epithelial cells in the absence of viral oncoproteins. *Cancer Res.* 2004; 64(24):9027–9034.
43. Rawlins E.L., Hogan B.L.M. Epithelial stem cells of the lung: privileged few or opportunities for many? *Development* 2006; 133(13):2455–2465.
44. Rippon H.J., Polak J.M., Qin M., Bishop A.E. Derivation of distal lung epithelial progenitors from murine embryonic stem cells using a novel three-step differentiation protocol. *Stem Cells* 2006; 24(5):1389–1398.
45. Rock J.R., Onaitis M.W., Rawlins E.L., Lu Y., Clark C.P., Xue Y., Randell S.H., Hogan B.L.M. Basal cells as stem cells of the mouse trachea and human airway epithelium. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2009; 106(31):12771–12775.
46. Schoch K.G., Lori A., Burns K.A., Eldred T., Olsen J.C., Randell S.H. A subset of mouse tracheal epithelial basal cells generates large colonies in vitro. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2004; 286(4):L631–L642.
47. Sen N., Weprin S., Peter Y. Discrimination between lung homeostatic and injury-induced epithelial progenitor subsets by cell-density properties. *Stem Cells Dev.* 2013; 22(14):2036–2046.

48. Sueblinvong V., Weiss D.J. Stem cells and cell therapy approaches in lung biology and diseases. *Transl. Res.* 2010; 156(3):188–205.
49. Tam A., Wadsworth S., Dorscheid D., Man S.F.P., Sin D.D. The airway epithelium: more than just a structural barrier. *Thor. Adv. Respir. Dis.* 2011; 5(4):255–273.
50. Toonkel R.L., Hare J.M., Matthay M.A., Glassberg M.K. Mesenchymal stem cells and idiopathic pulmonary fibrosis. Potential for clinical testing. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2013; 188(2):P. 133–140.
51. Vaughan A.E., Chapman H.A. Regenerative activity of the lung after epithelial injury. *Biochim. Biophys. Acta* 2013; 1832(7):922–930.
52. Weiss D.J., Bertoncello I., Borok Z., Kim C., Panoskaltsis-Mortari A., Reynolds S., Rojas M., Stripp B., Warburton D., Prockop D.J. Stem cells and cell therapies in lung biology and lung diseases. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2011; 8(3):223–272.
53. Yang B., Yu S., Cui Y., He J., Jin X., Wang R. Morphological analysis of the lung of neonatal yak. *Anat. Histol. Embryol.* 2010; 39(2):138–151.
54. You Y., Richer E.J., Huang T., Brody S.L. Growth and differentiation of mouse tracheal epithelial cells: selection of a proliferative population. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2002; 283(6):L1315–L1321.

Поступила 30.01.2014

Контактная информация

Сергей Семенович Целуйко,
доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии,
Амурская государственная медицинская академия,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95.

E-mail: agma@nm.ru

Correspondence should be addressed to

Sergey S. Tseluyko,
MD, PhD, Professor, Head of Department of Histology,
Amur State Medical Academy,
95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.
E-mail: agma@nm.ru