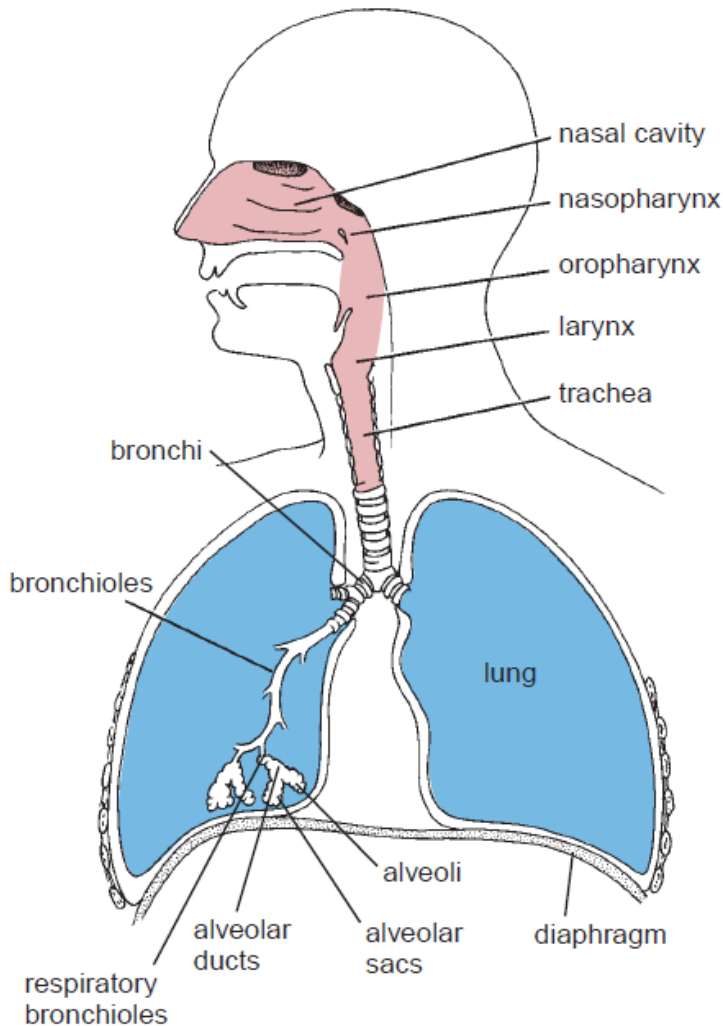


# **Plíce a dýchací cesty - principy vývoje a organizace - transport plynů**

Jan Vondráček

# Struktura a stavba dýchacích cest a plic



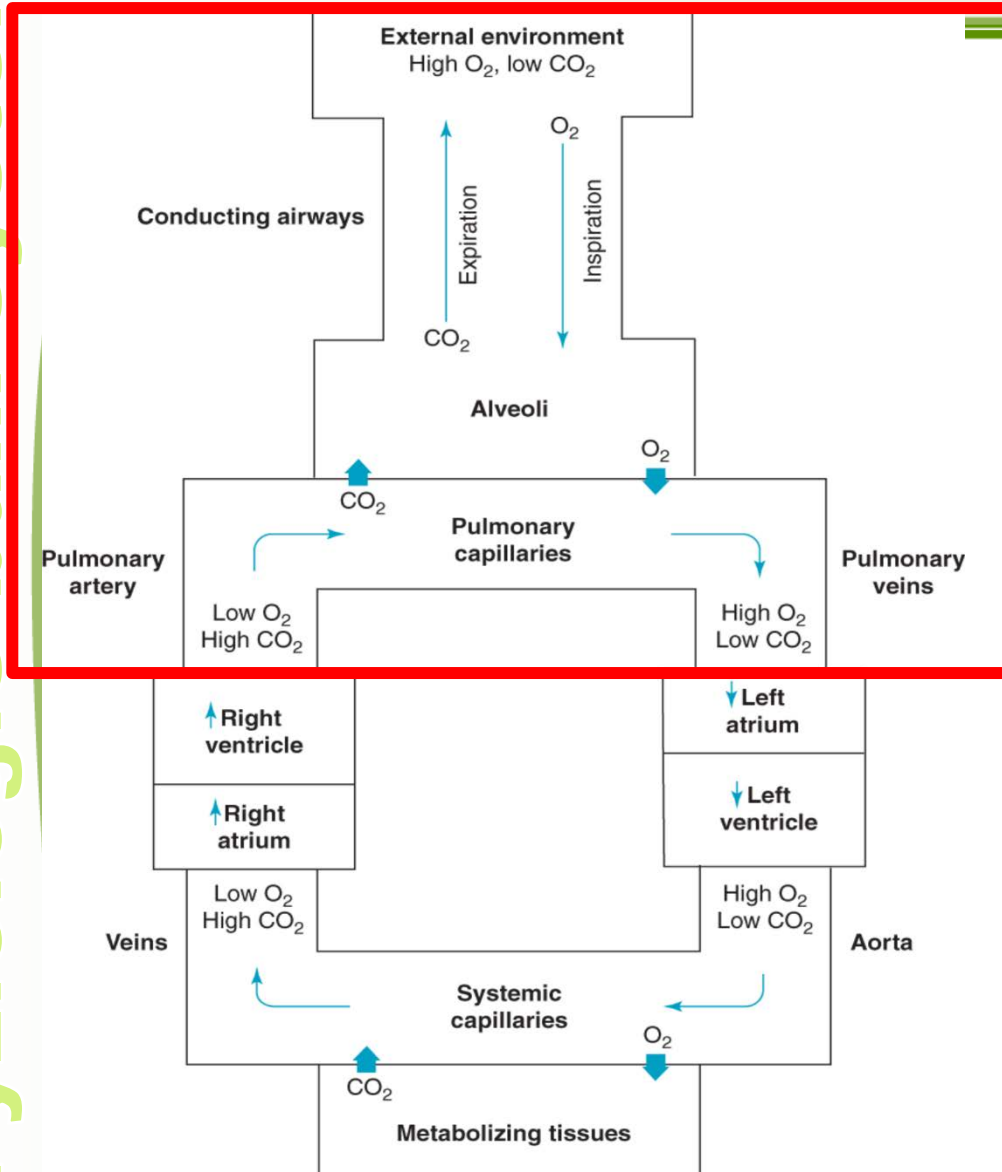
- horní a dolní cesty dýchací + plíce;
- základní funkce – výměna  $O_2$  a  $CO_2$ ;
- další funkce – zásobárna krve, výměna tepla, metabolická funkce, imunologická a mechanická obrana organismu;

# Členění dolních dýchacích cest

	Generation		Diameter, cm	Length, cm	Number	Total cross-sectional area, cm <sup>2</sup>	
	Conducting zone	Trachea	0	1.80	12.0	1	2.54
Bronchi		1	1.22	4.8	2	2.33	
		2	0.83	1.9	4	2.13	
		3	0.56	0.8	8	2.00	
		4	0.45	1.3	16	2.48	
Bronchioles		5	0.35	1.07	32	3.11	
Terminal bronchioles	16	0.06	0.17	$6 \times 10^4$	180.0		
Transitional and respiratory zones	Respiratory bronchioles	17	↓	↓	↓	↓	
		18	↓	↓	↓	↓	
		19	0.05	0.10	$5 \times 10^5$	$10^3$	
	Alveolar ducts	T <sub>3</sub>	20	↓	↓	↓	↓
		T <sub>2</sub>	21	↓	↓	↓	↓
		T <sub>1</sub>	22	↓	↓	↓	↓
	Alveolar sacs	T	23	0.04	0.05	$8 \times 10^6$	$10^4$

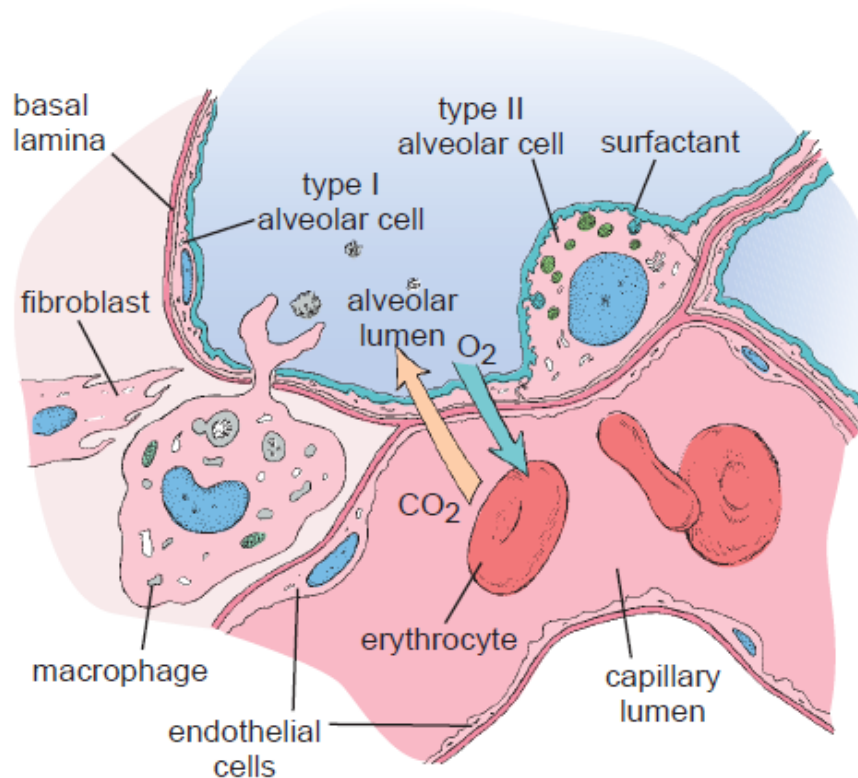
Source: Levitzky MG: *Pulmonary Physiology, Eighth Edition*:  
[www.accessmedicine.com](http://www.accessmedicine.com)  
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

# Struktura a stavba dýchacích cest a plic



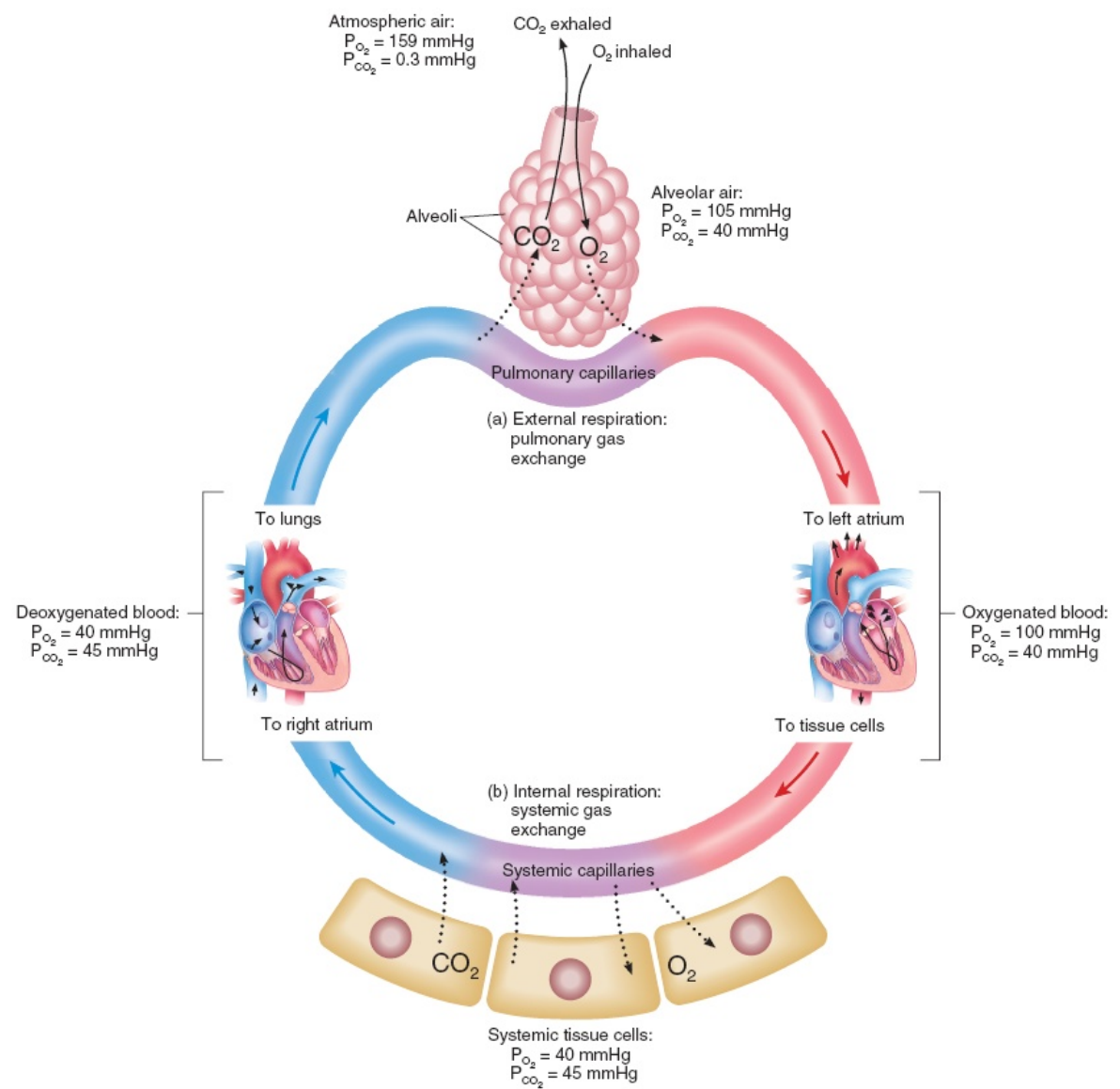
- **průdušnice** (trachea);
- **průdušky** (bronchi);
- **průdušinky** (bronchioli);
  
- **plicní váčky** (alveolar sacs);
- **plicní sklípky** (alveoli);
  
- **konduktivní zóna**;
  
- **přechodná a respirační zóna**;

## Stavba plicního sklípku



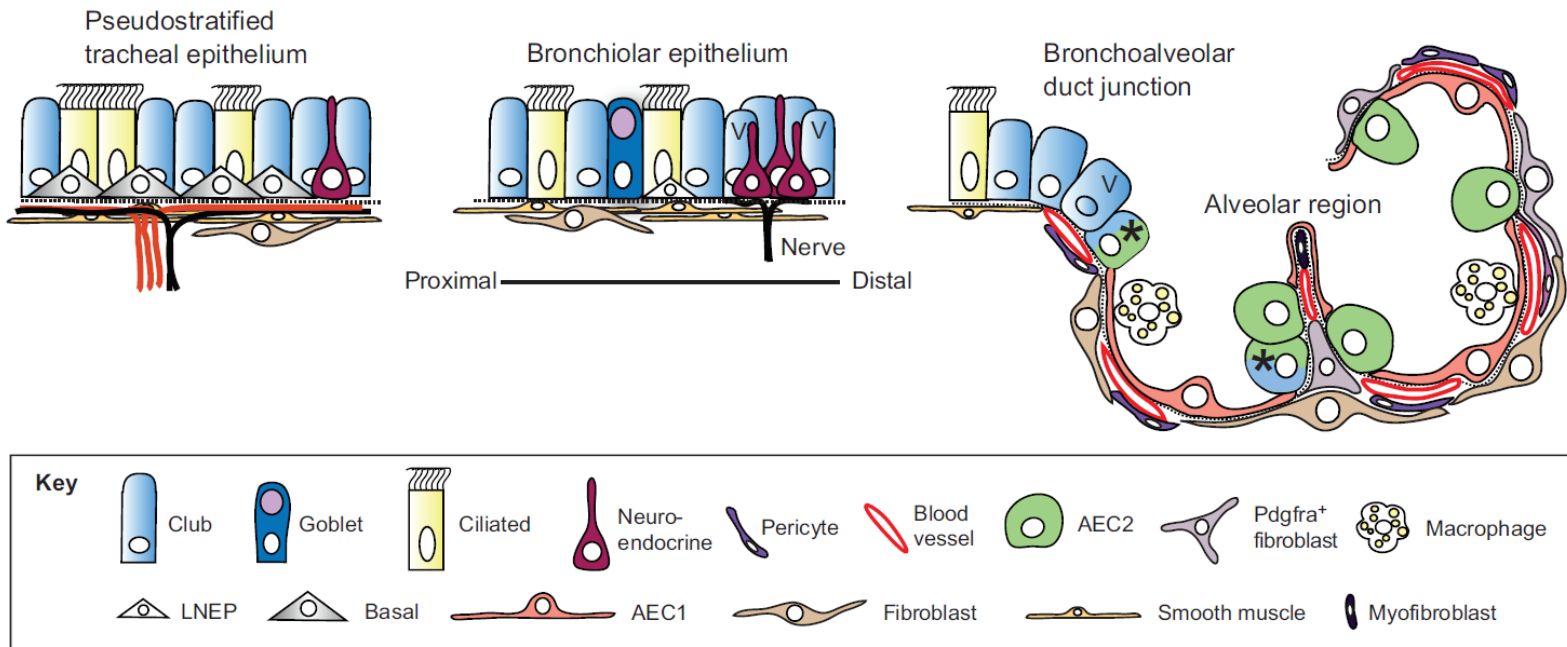
- ▶ plicní sklípek (alveolus) – základní funkční jednotka pro výměnu plynů;
- ▶ každý sklípek je obklopen sítí kapilár;
- ▶ v každé plíci dospělého člověka je cca 150 až 250 miliónů sklípků; celková plocha cca 75 m<sup>2</sup> – velikost tenisového kurtu;

# Přenos CO<sub>2</sub> a O<sub>2</sub> mezi alveolem a krví – difuze přes respirační membránu – rozdílný parciální tlak a rozpustnost CO<sub>2</sub> a O<sub>2</sub>

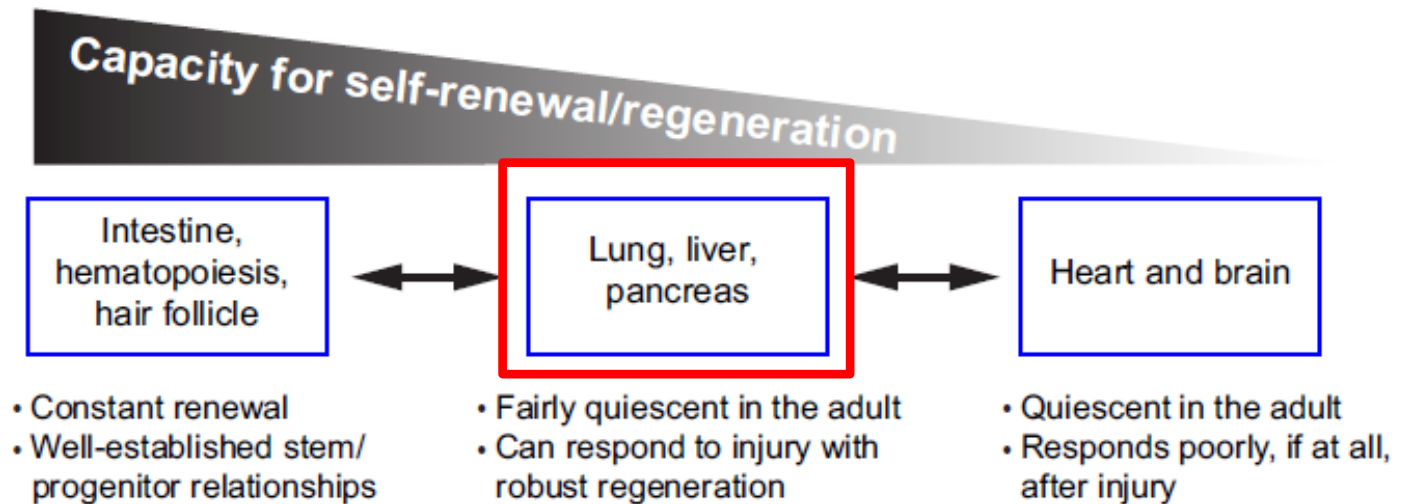


# Epitel dýchacích cest a plic

- **zásadní roli** ve stavbě, funkci i schopnosti regenerace dýchacích cest i plic hrají **epiteliální buňky** různého typu;



# Regenerace plic a dýchacích cest



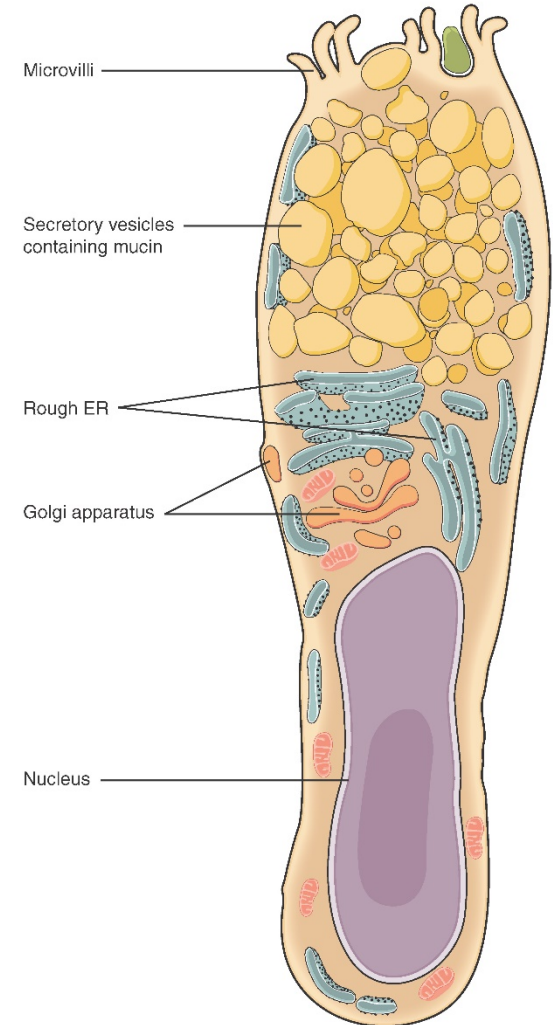
*Development 2014, 141: 502-514*

- **plíce a epitel dýchacích cest nepředstavují tkáň, která je konstantně obnovována;**
- **ale!! – plicní epitel (tkáň) je schopen regenerace po poškození – infekce, nepřiměřená imunitní reakce, toxické látky, hyperoxie...;**
- **odebrání části plic (cca 50%) – regenerační procesy, které sice neobnoví plíci jako takovou, ale umožní obnovení původní kapacity respiračního epitelu pro přenos plynů;**

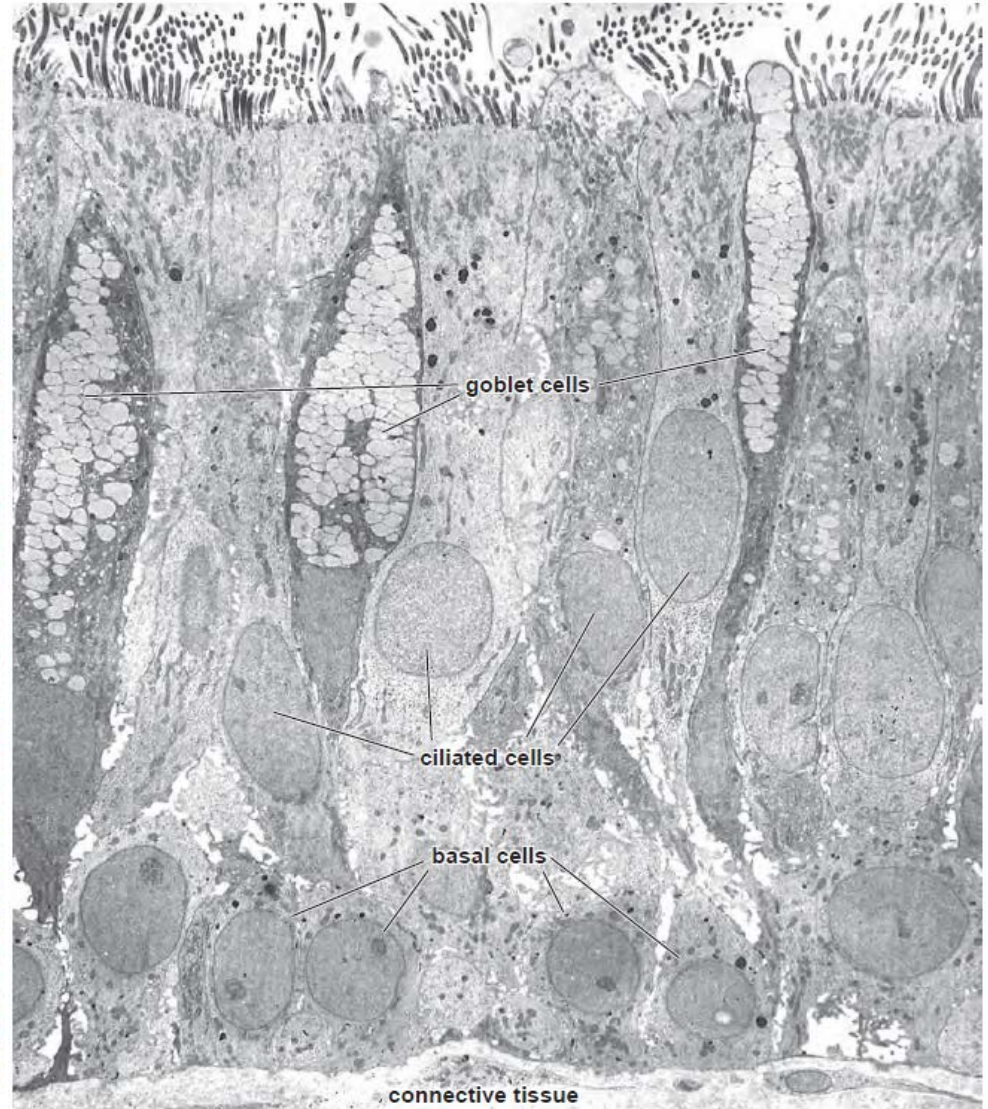
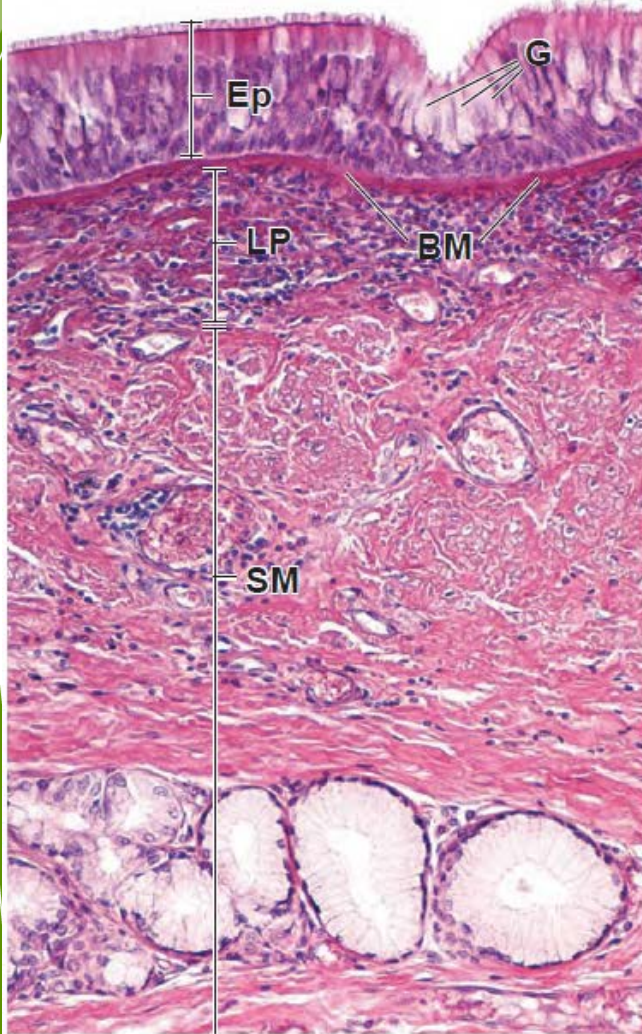


# Epitel průdušnice

- ▶ **vícevrstevný epitel** (pseudovrstevnatý) obsahující několik základních buněčných typů:
- ▶ **řasinkové buňky** (ciliated cells) – nejpočetnější buněčný typ – každá má na apikální straně cca 250 řasinek – zajišťují **pohyb hlenu** (odstraňování patogenů a nečistot), **výdej vody** do lumen dýchacích cest – zvlhčování sliznice a vzduchu;
- ▶ **pohárkové buňky** (goblet cells, mucous cells) – podobné analogickým buňkám ve střevním epitelu – **tvorba mucinu** pro hlen dýchacích cest;
- ▶ **kartáčové buňky** (brush cells) – lem mikroklků;
- ▶ **neuroendokrinní buňky**;
- ▶ **bazální buňky** (basal cells) – kmenové/progenitorové buňky

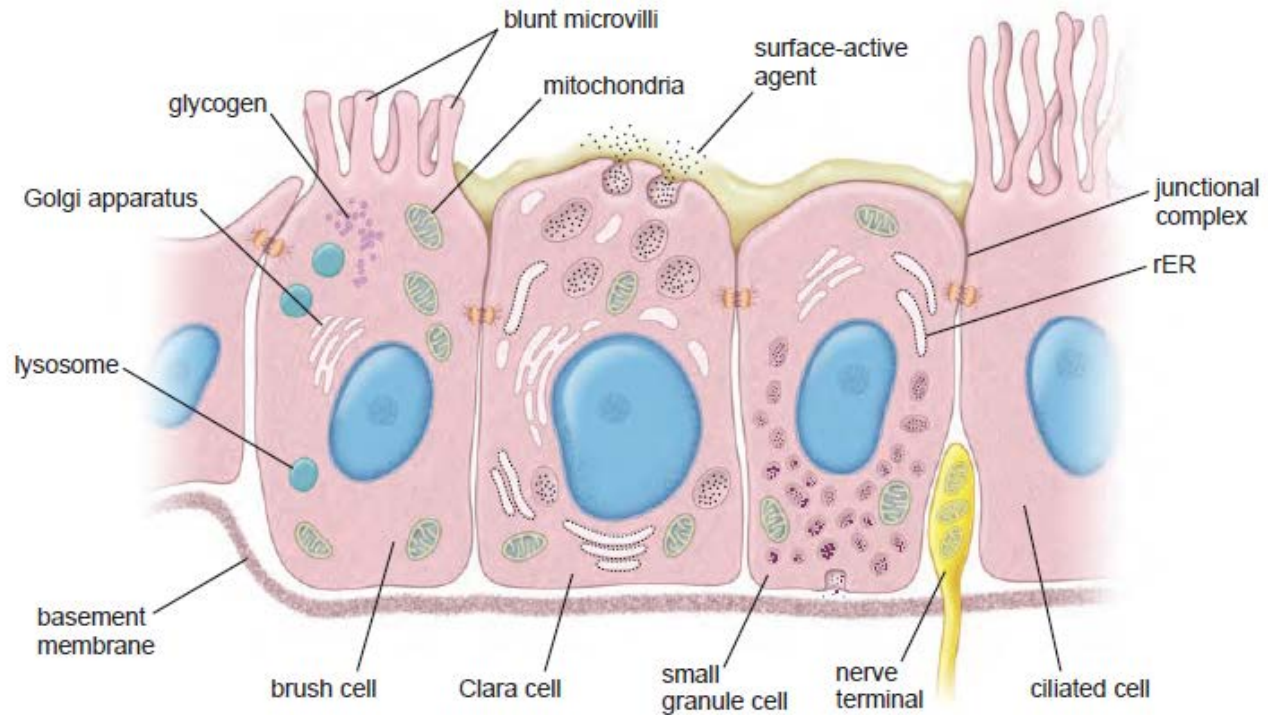


# Epitel průdušnice





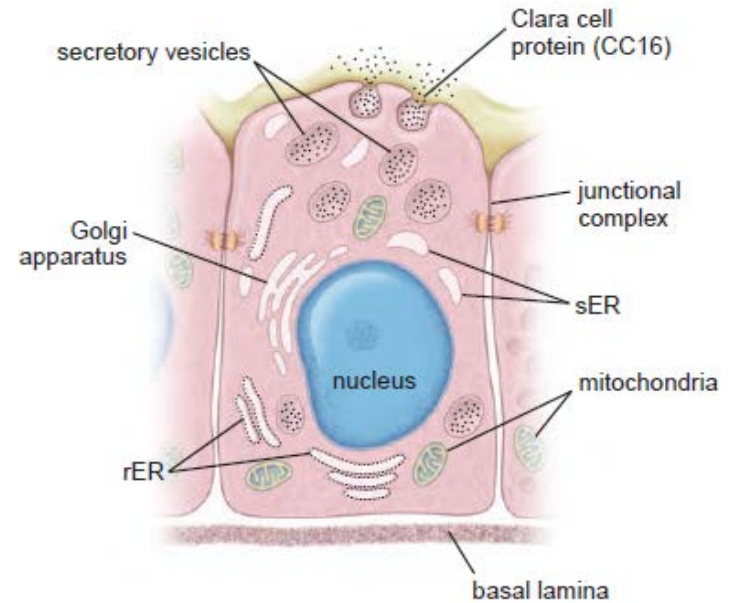
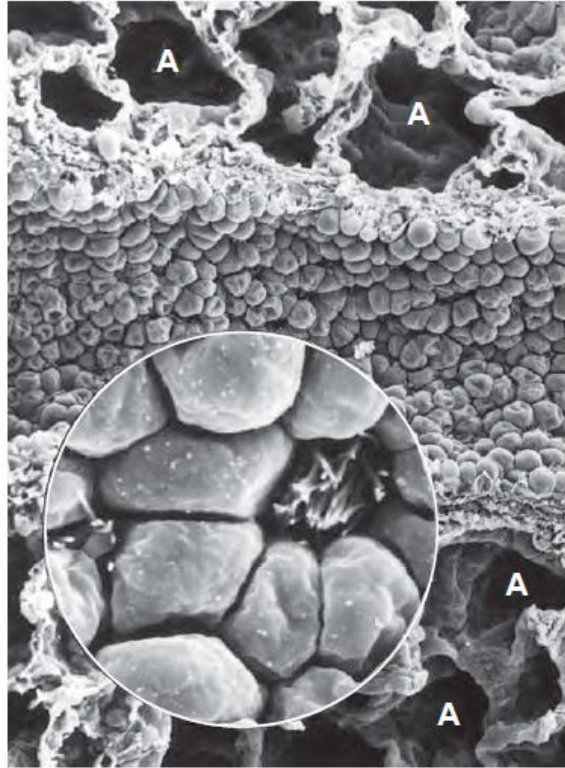
# Epitel průdušek a průdušinek



*Ross & Pawlina, Histology, 6th ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2011*

- s postupným větvením se epitel mění z vícevrstevného na jednoduchý epitel;
- další typy sekrečních buněk – Clarovy buňky (Clara cells, club cells), označované obecně jako **sekreční buňky**;

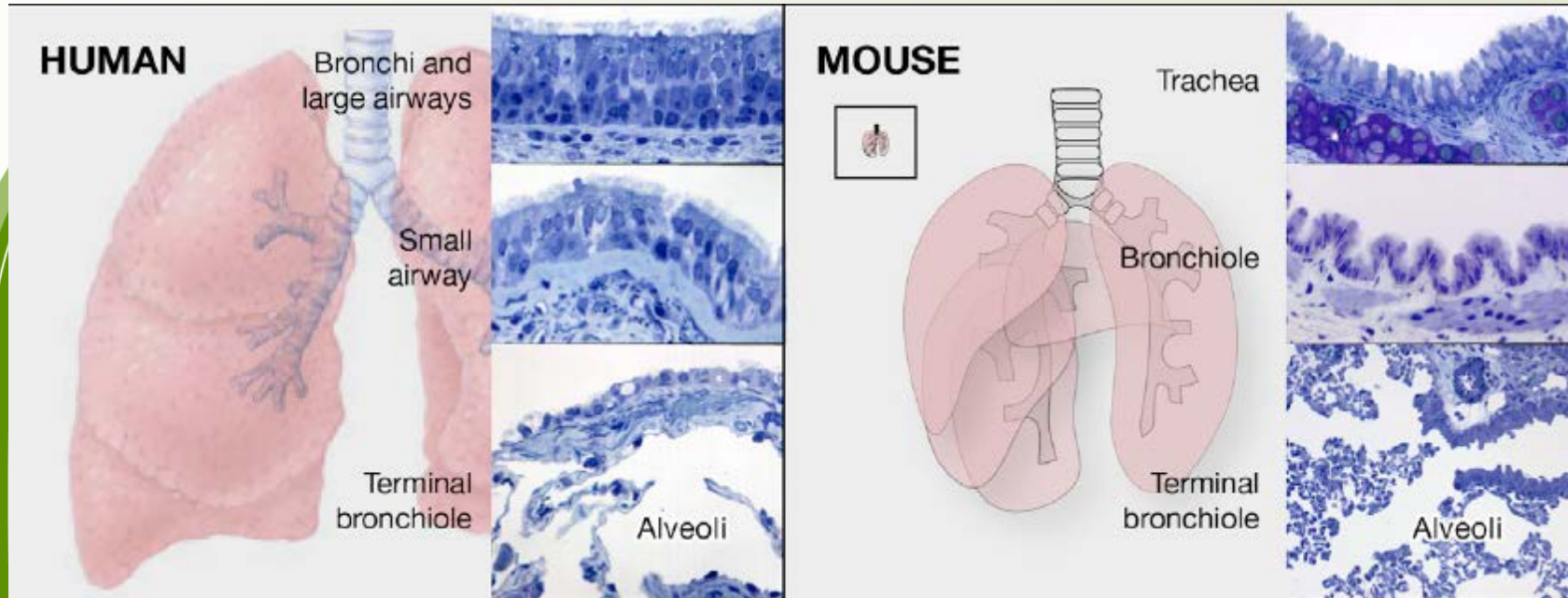
## Clarovy buňky (club cells)



*Ross & Pawlina, Histology, 6th ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2011*

- ▶ buňky krychlového tvaru, bez řasinek, které nesekretují hlen;
- ▶ v dýchacích cestách člověk jsou primárně lokalizovány v terminálních průdušinkách, kde tvoří až 20% buněk;
- ▶ produkují **CCSP** (club cell secretory protein, secretoglobin 1a1 – **SCGB1A1**) - + další proteiny přispívající k ochraně dýchacích cest, funkce progenitorových buněk, biotransformace xenobiotik;

# Epitel průdušek a průdušinek

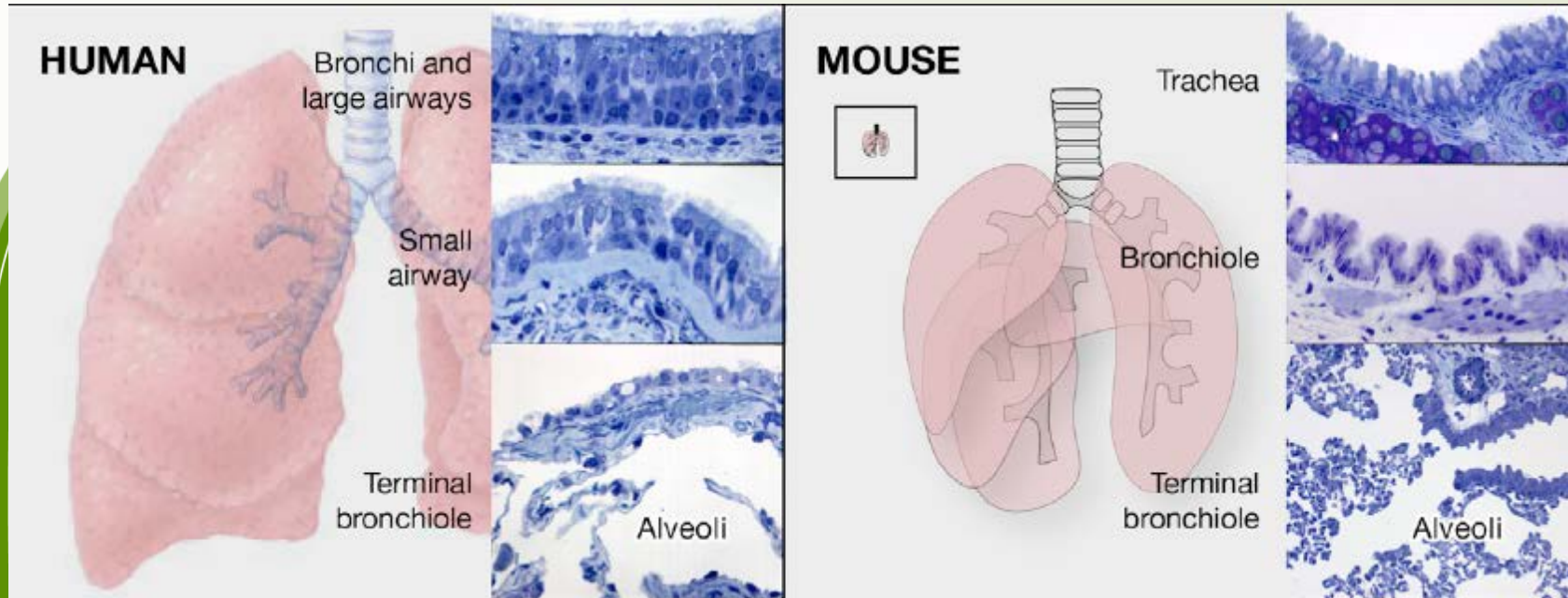


*Cell Stem Cell 2014, 15: 123 -138*

- **řada odlišností myš vs. člověk – včetně struktury plic!**
- v průdušnici a průduškách jsou hlavními buněčnými typy bazální, pohárkové a řasinkové buňky; u člověka se tyto buněčné typy vyskytují na všech úrovních dýchacích cest, ale jejich množství klesá tak jak se proximální průdušinky větví dále do terminálních průdušinek;
- u myši jsou kromě pohárkových buněk i v průdušnici jiné buněčné typy – serózní a Clarovy buňky, zatímco u člověka se vyskytují spíše v průdušinkách, spolu s neuroendokrinními buňkami;



## Epitel průdušek a průdušinek

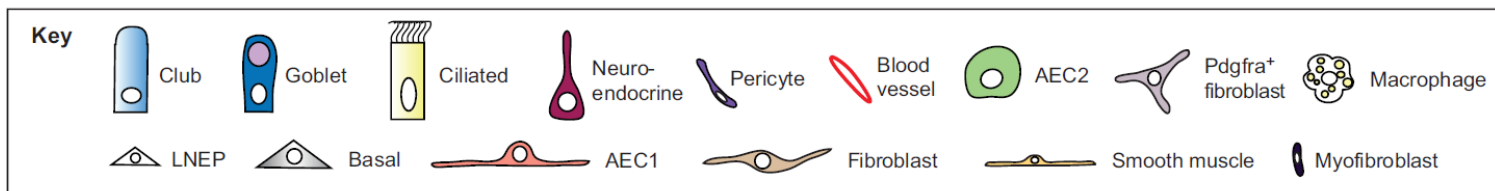
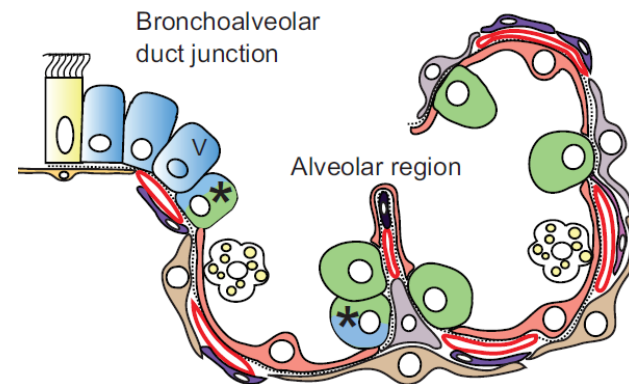


*Cell Stem Cell 2014, 15: 123 -138*

- **u člověka jsou průdušinky v plicích (až do průměru 1 – 1.5 mm) – lemovány vícevrstevným epitelem obsahujícím řasinkové, sekreční a neuroendokrinní buňky – u myši je podobný vícevrstevný epitel lokalizován v průdušnici (průměr 1,5 mm), průduškách a prvních 2 – 3 generacích větvení průdušinek – tato část se bere jako model pro lidské dýchací cesty;**

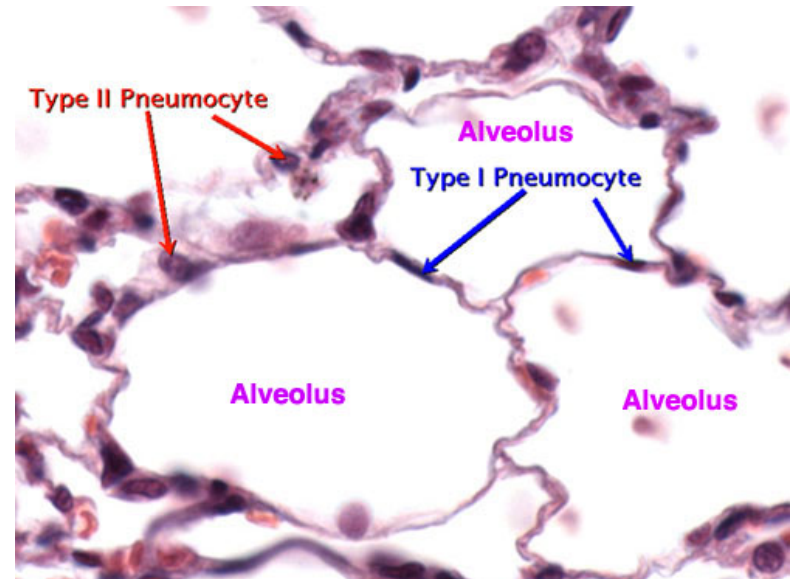
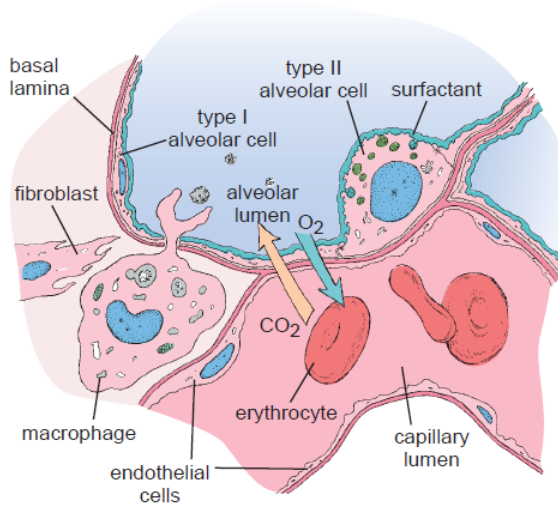
# Epitel plicních sklípků

- na přechodu průdušek a plicních váčků/sklípků – radikální změna epitelu - BADJ – jiný u myši i u člověka;
- primární buněčné typy představují **pneumocyty** (alveolární epiteliální buňky) **typu I a pneumocyty typu II**;
- zajišťují výměnu plynů (pneumocyty I) a další **funkce alveolárního epitelu** (pneumocyty II);
- alveolární makrofágy;  
kartáčové buňky;
- plicní sklípky jsou oddělené septy – tenká vrstva vaziva, obklopující kapiláry;



# Pneumocyty typu I

- ▶ tvoří cca **40% alveolárních epitelálních buněk**, ale pokrývají **95% povrchu plicních sklípků**;
- ▶ **extrémně ploché buňky** – ve středu 4 – 6  $\mu\text{M}$  (jádro, několik cisteren endoplazmatického retikula, malý Golgiho aparát a malé mitochondrie – cytoplazmatické výběžky – tloušťka 20 až 25  $\text{nM}$ );
- ▶ jejich hlavní úlohou je usnadnit výměnu plynů;

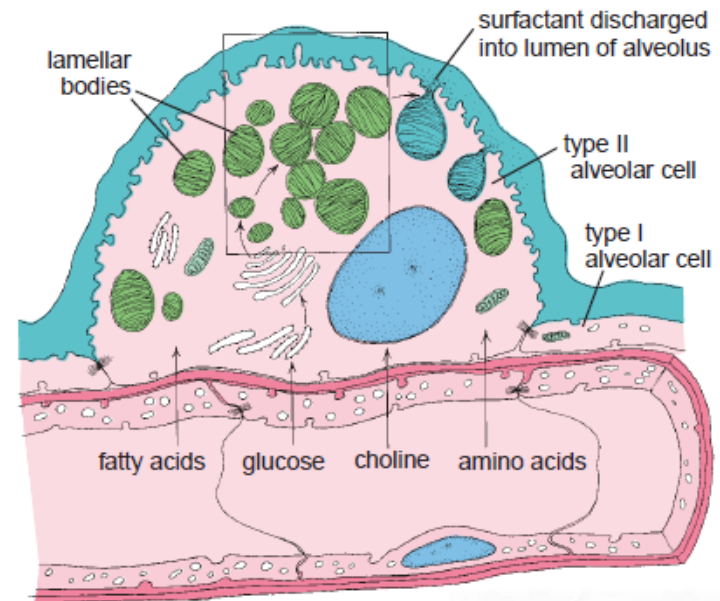


*Ross & Pawlina, Histology, 6th ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2011*

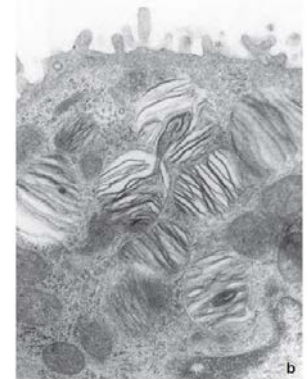


# Pneumocyty typu II

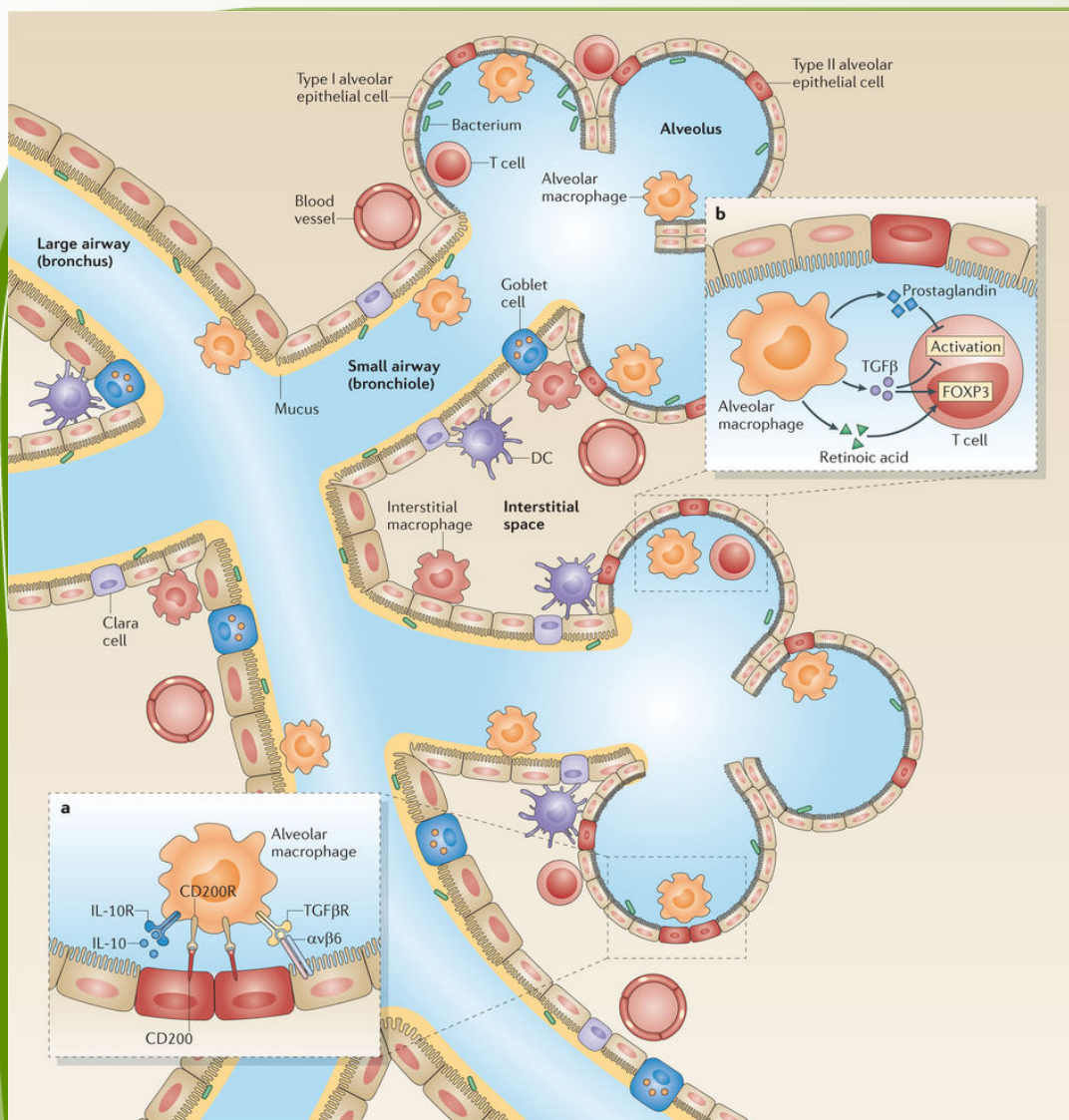
- tvoří cca **60% alveolárních epitelálních buněk**, ale pokrývají jen **5% povrchu plicních sklípků**; kubické buňky
- apikální cytoplasma je vyplněna speciálními granuly – **lamelární tělíčka**;
- obsahují **směs fosfolipidů a proteinů** vytvářejících **surfaktant**;
- snižuje povrchové napětí a zabraňuje kolapsu plicních sklípků při výdechu;
- dipalmitoylfosfatidylcholin (DPPC) + proteiny surfaktantu (SP-A, B, C a D) – hrají roli jak v tvorbě surfaktantu, tak **v imunitě**;
- **progenitorové buňky epitelu plicních sklípků**;



*Ross & Pawlina,  
Histology, 6th ed.,  
Lippincott Williams &  
Wilkins, 2011*



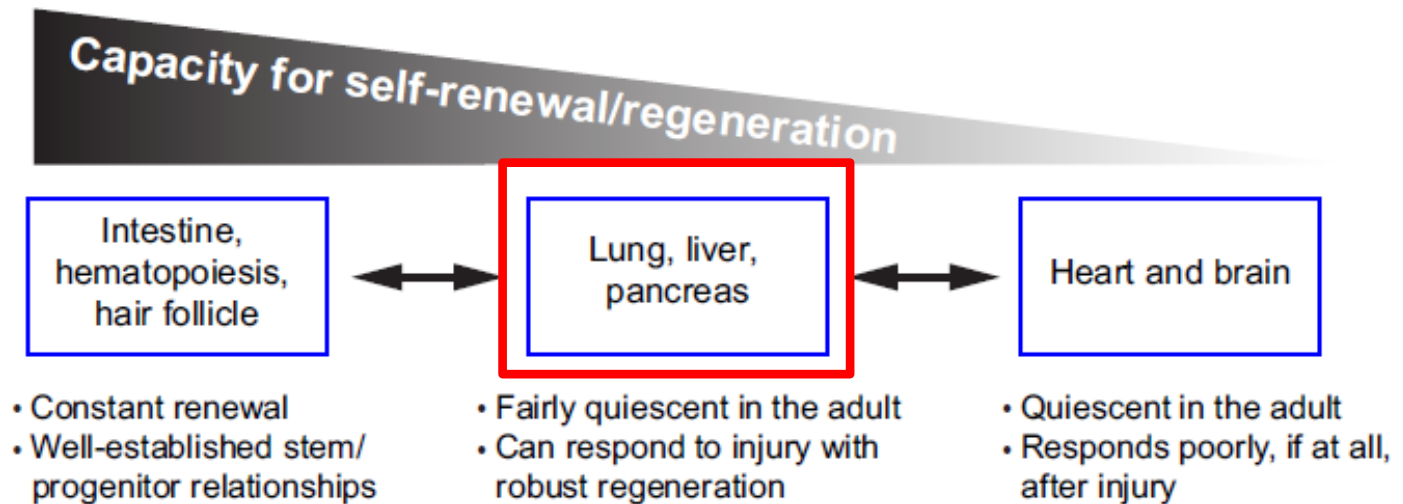
## Buňky imunitního systému v plicních sklípcích



Nature Reviews | Immunology

- **alveolární makrofágy;**
- **dendritické buňky;**
- **T buňky;**
- **neutrofily – akutní nebo chronický zánět, kuřáci, silikóza apod.;**
- **pneumocyty typu II** tedy hrají **významnou roli i v regulaci imunitní odpovědi v plicích** – jsou např. schopné **produkovat řadu cytokinů**, apod.

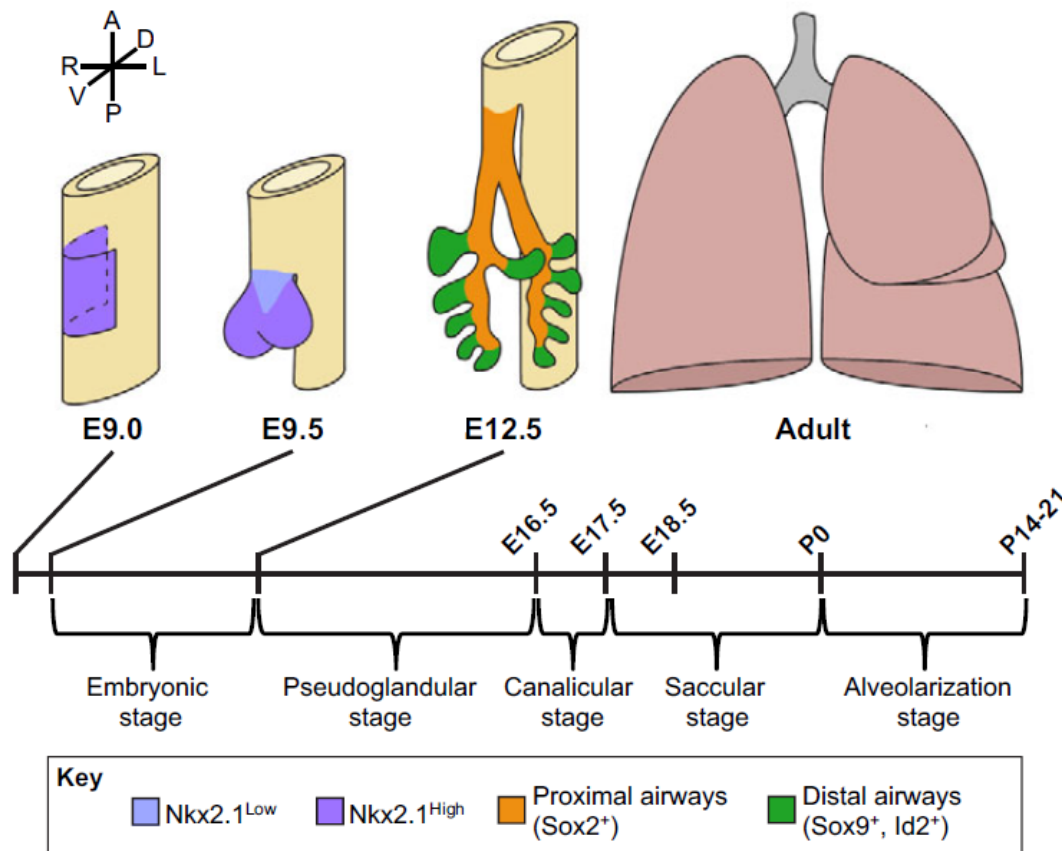
# Regenerace plic a dýchacích cest



*Development 2014, 141: 502-514*

- ▶ podobně jako u jater je **identita kmenových/progenitorových buněk v dýchacích cestách a plicích známa jen částečně**;
- ▶ jak probíhá regenerace poškozeného plicního epitelu?
- ▶ nápověda – vývoj plic – embryonální a postnatální;

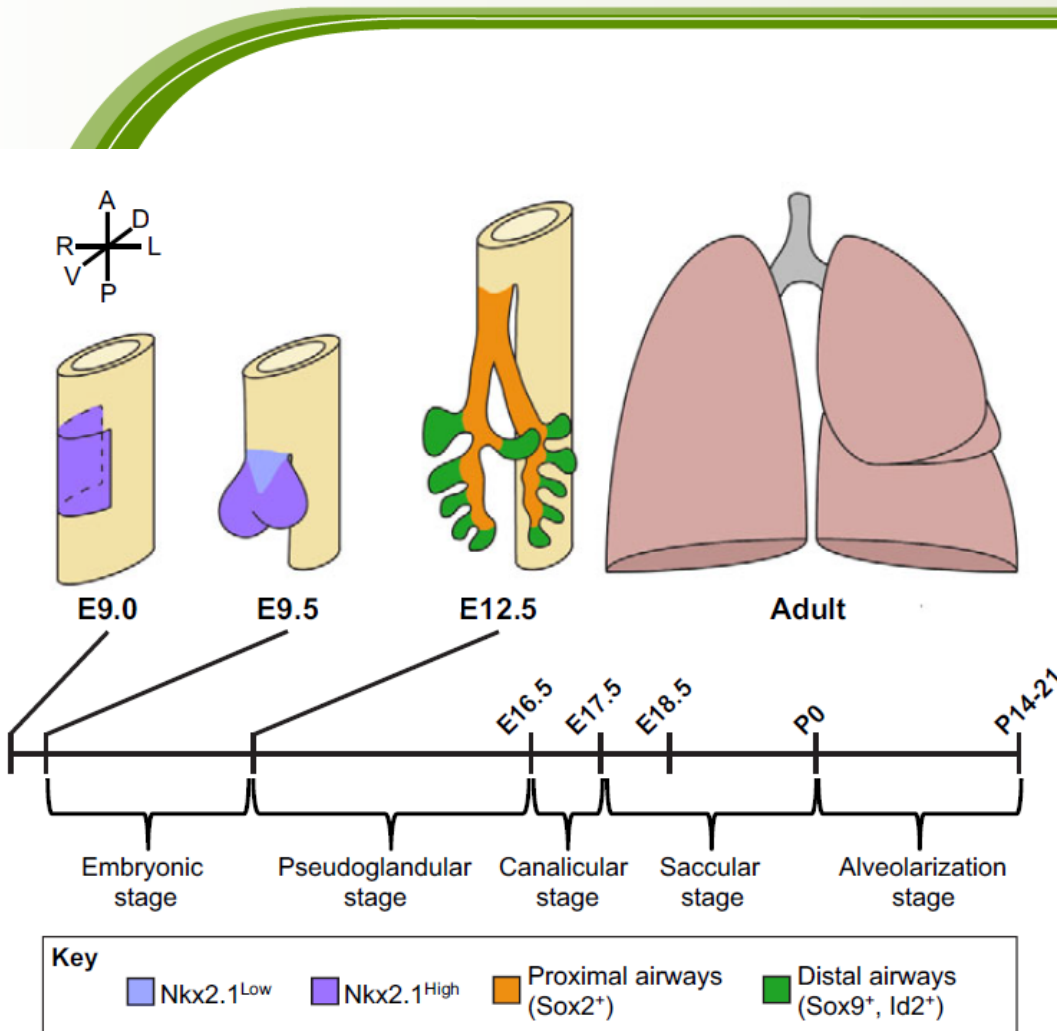
# Vývoj plic myši



- několik stádií:
- **specifikace plicního endodermu** (E9, odpovídá E28 u člověka) na přední straně předního střeva – vznik laryngotracheální výchlípký;
- **embryonální fáze** - výsledkem je vytvoření základu dýchacích cest a respirační zóny (hlavní roli zde hraje BMP a Wnt signalizace);
- větvicí morfogeneze (branching morphogenesis) – FGF signalizace;

*Development 2014, 141: 502-514*

# Vývoj plic myši

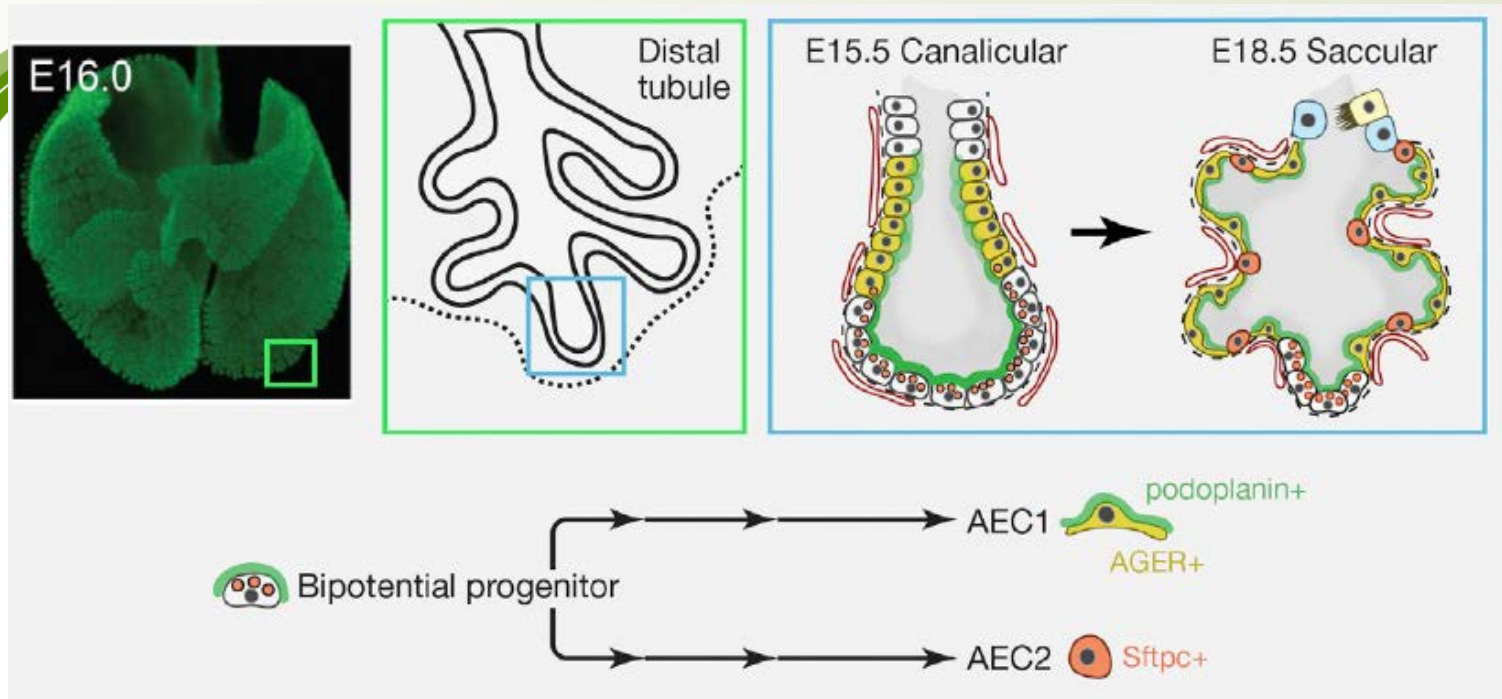


- **pseudoglandulární fáze** – větvení až do terminálních bronchiol;
- **kanalikulární fáze** – dělení na respirační bronchioly dále na alveolární kanálky; vznik pneumocytů typu I;
- **fáze váčků** - tvoří se primitivních plicních sklípků, které jsou již v kontaktu s kapilárami;
- **alveolární fáze** – probíhá částečně i po narození tvorba finální struktury sklípků a kapilár – zahájení dýchání;

*Development 2014, 141: 502-514*



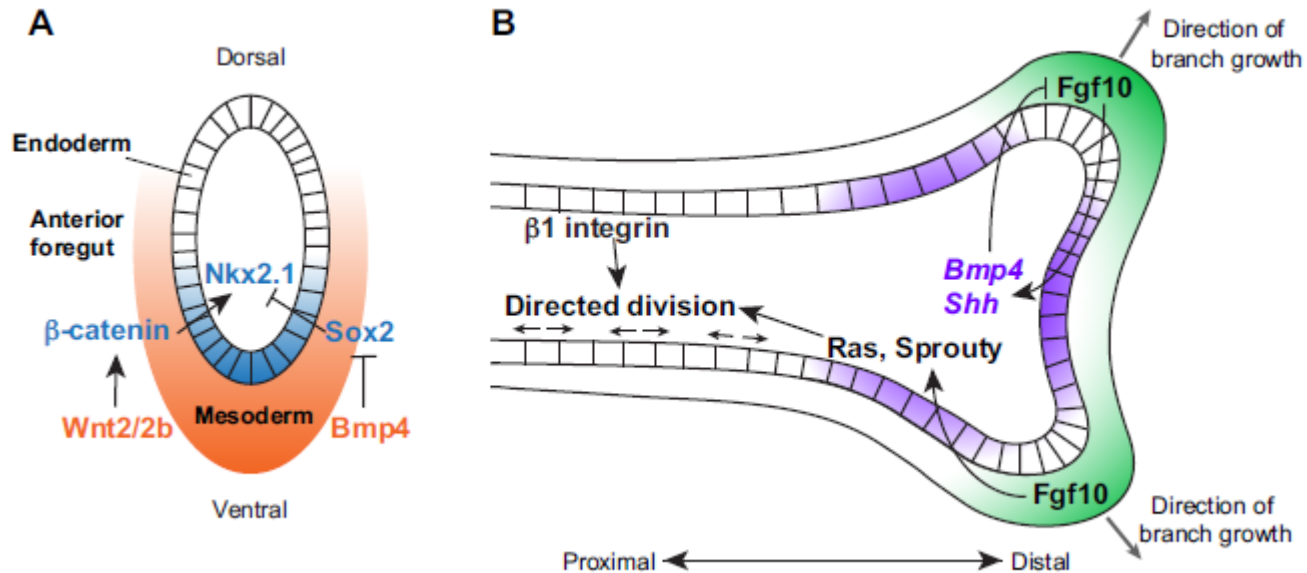
## Alveolární fáze



*Cell Stem Cell 2014, 15: 123 -138*

- ▶ **alveolární fáze** – probíhá i po narození – **významný nárůst počtu a celkového povrchu plicních sklípků (20 > 300 mil. plicních sklípků)**;
- ▶ tvoří se **nová septa** a probíhá **intenzivní vaskularizace**; do sept migrují různé typy **stromálních buněk**, hrajících podpůrnou roli v plicní tkáni (pericyty, myofibroblasty, lipofibroblasty) – mj. vytvářejí mechanické struktury důležité pro otevřených terminálních průdušinek, **mechanické síly** hrají důležitou roli ve vývoji i regeneraci plicních sklípků;
- ▶ do embryonálního vývoje plicního epitelu významně přispívá i **mesoderm**;

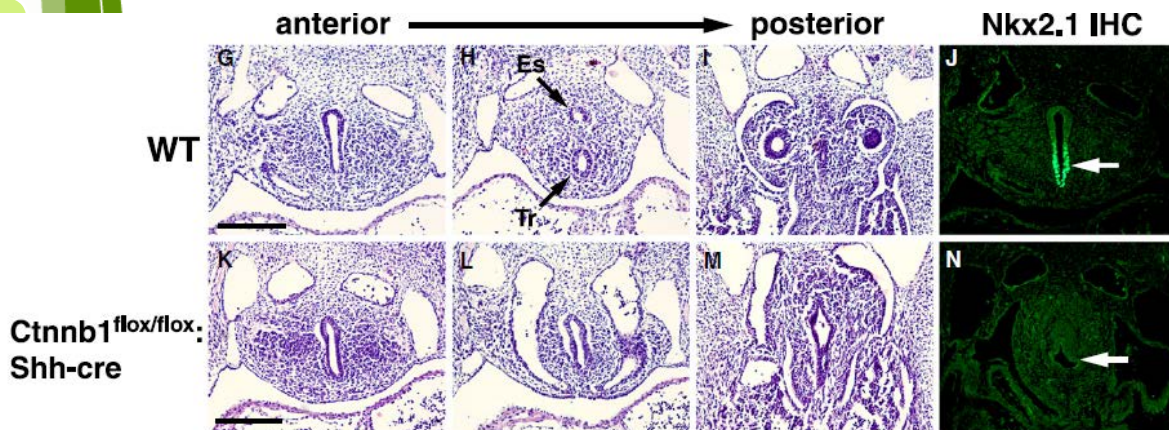
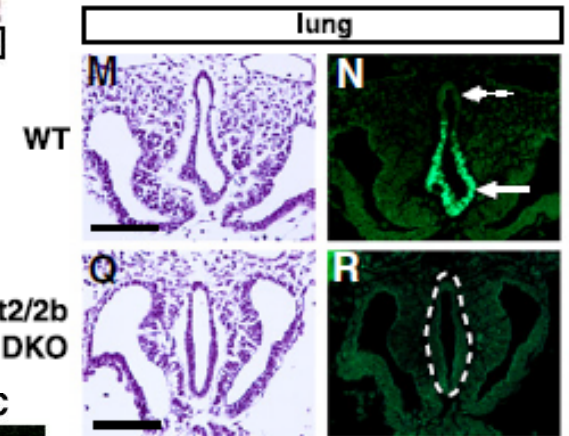
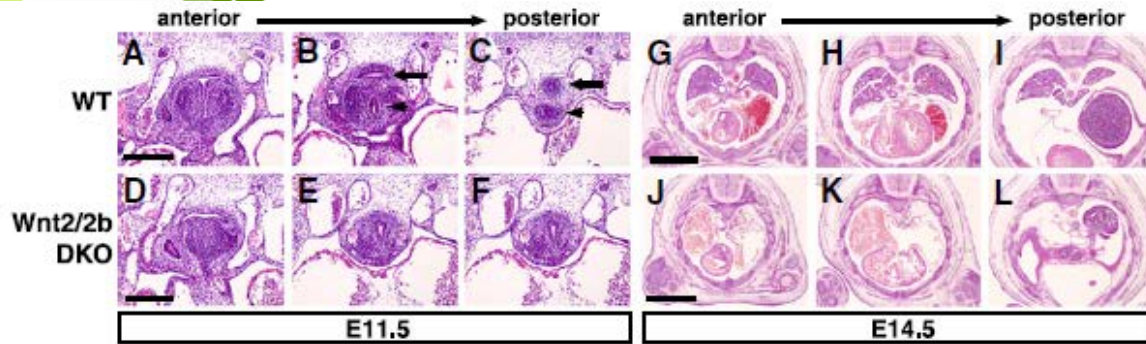
# Mesoderm – úloha ve vývoji plic vs. tvorba podpůrných buněk



*Development 2014, 141: 502-514*

- ▶ plicní mesoderm – parakrinní signalizace určující vývoj endodermu – Wnt2 a BMP4 – indukce transkripčního faktoru Nkx2.1 – plicní endoderm (ale hraje úlohu i v dospělosti – např. potlačuje vznik nádorů);
- ▶ Fgf10 - zásadní pro větvicí morfogenezi;
- ▶ tvorba buněk mesenchymálního původu pro vynikající plíce – buňky hladké svaloviny, endoteliální buňky, pericyty, alveolární fibroblasty, myofibroblasty, lipofibroblasty, apod.

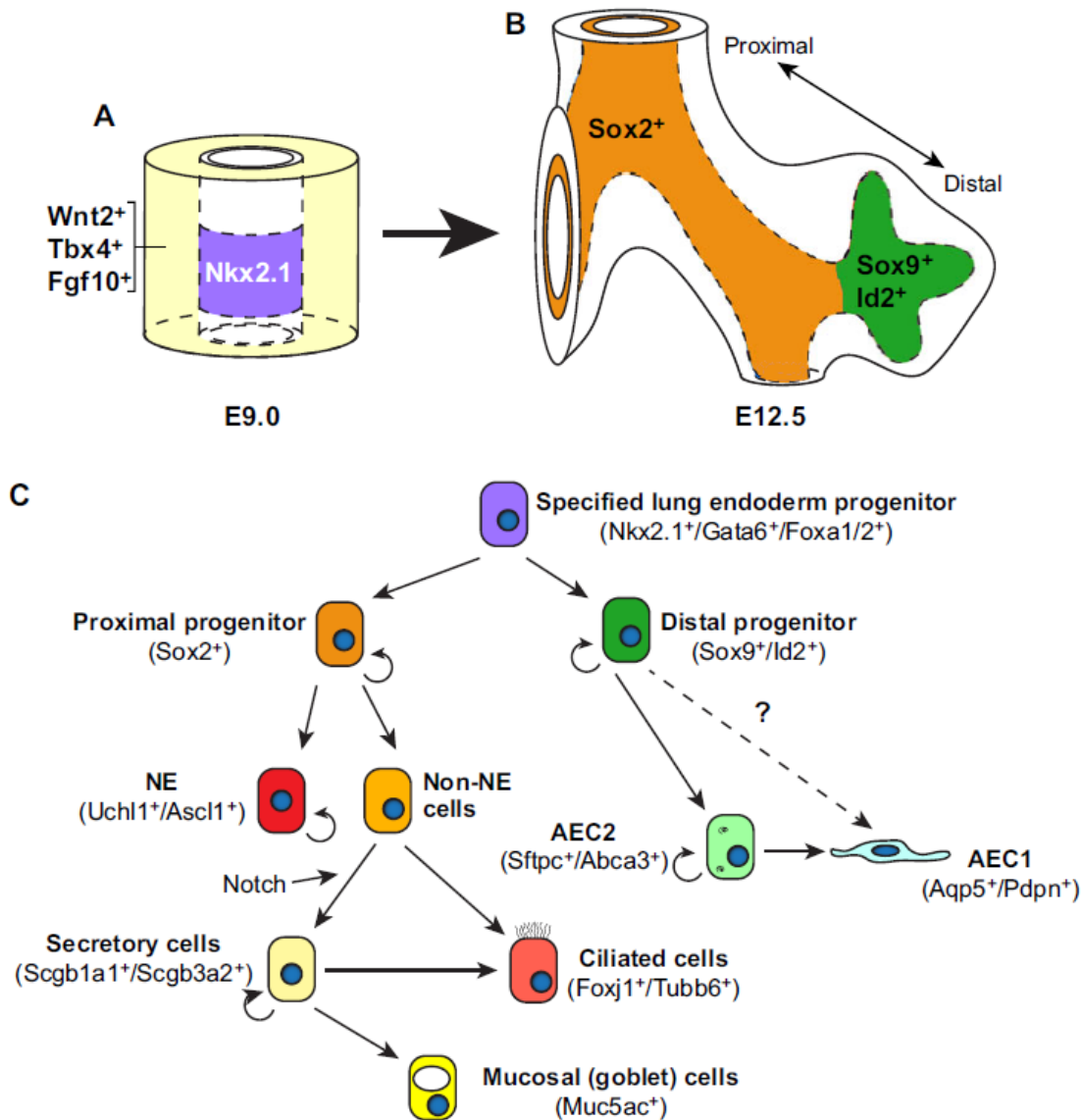
# Příklad významu Wnt2/ $\beta$ -kateninové signalizace



Nkx2.1  
expresse



# Hierarchie vývoje plicních buněk

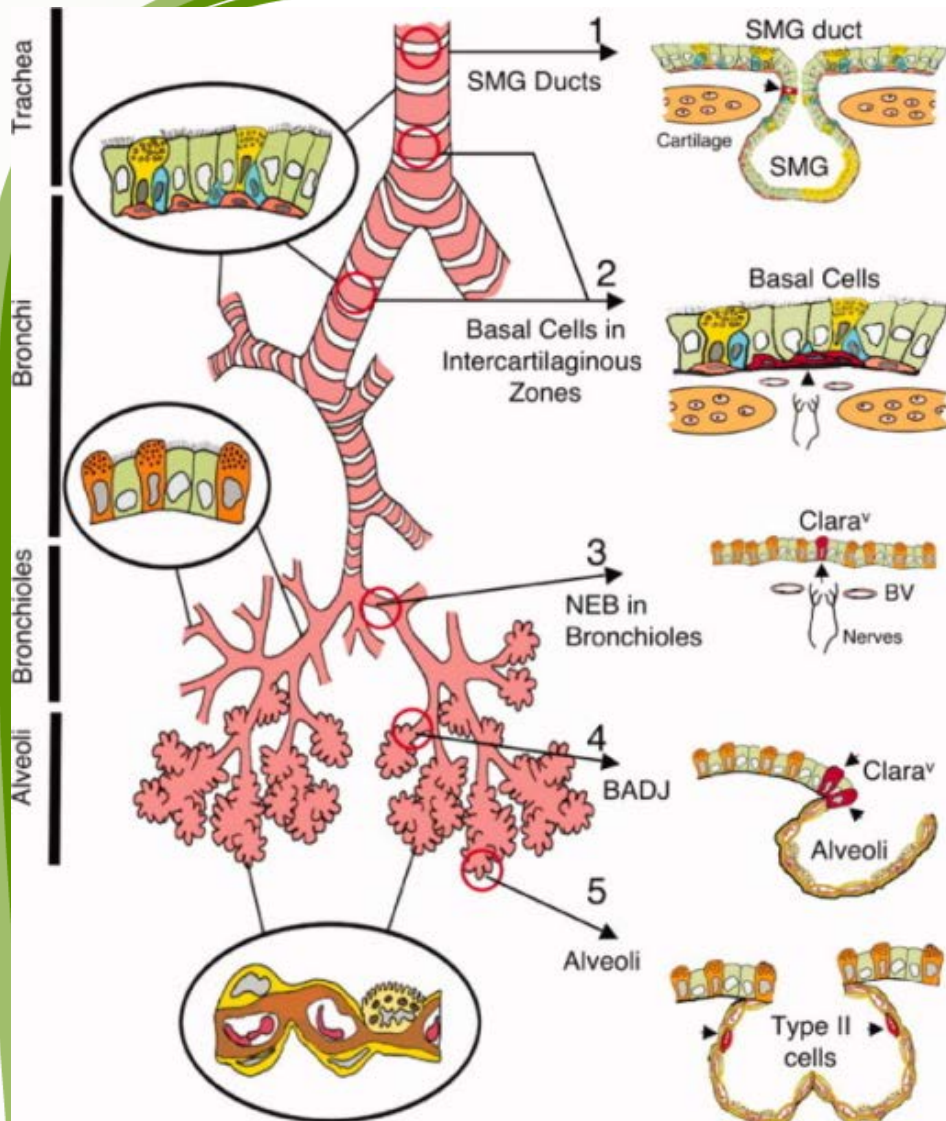


- ve vyvíjejících se plicích vzniká postupně několik typů progenitorů;
- proximální progenitory** – dávají vznik jak neuroendokrinním buňkám tak sekrečním (pohárkové) a řasinkovým buňkám dýchacích cest;
- distální progenitory** – dávají vznik pneumocytům typu I a II;

## Regionální populace kmenových/progenitorových buněk udržují homeostázu a regeneraci plicní tkáně

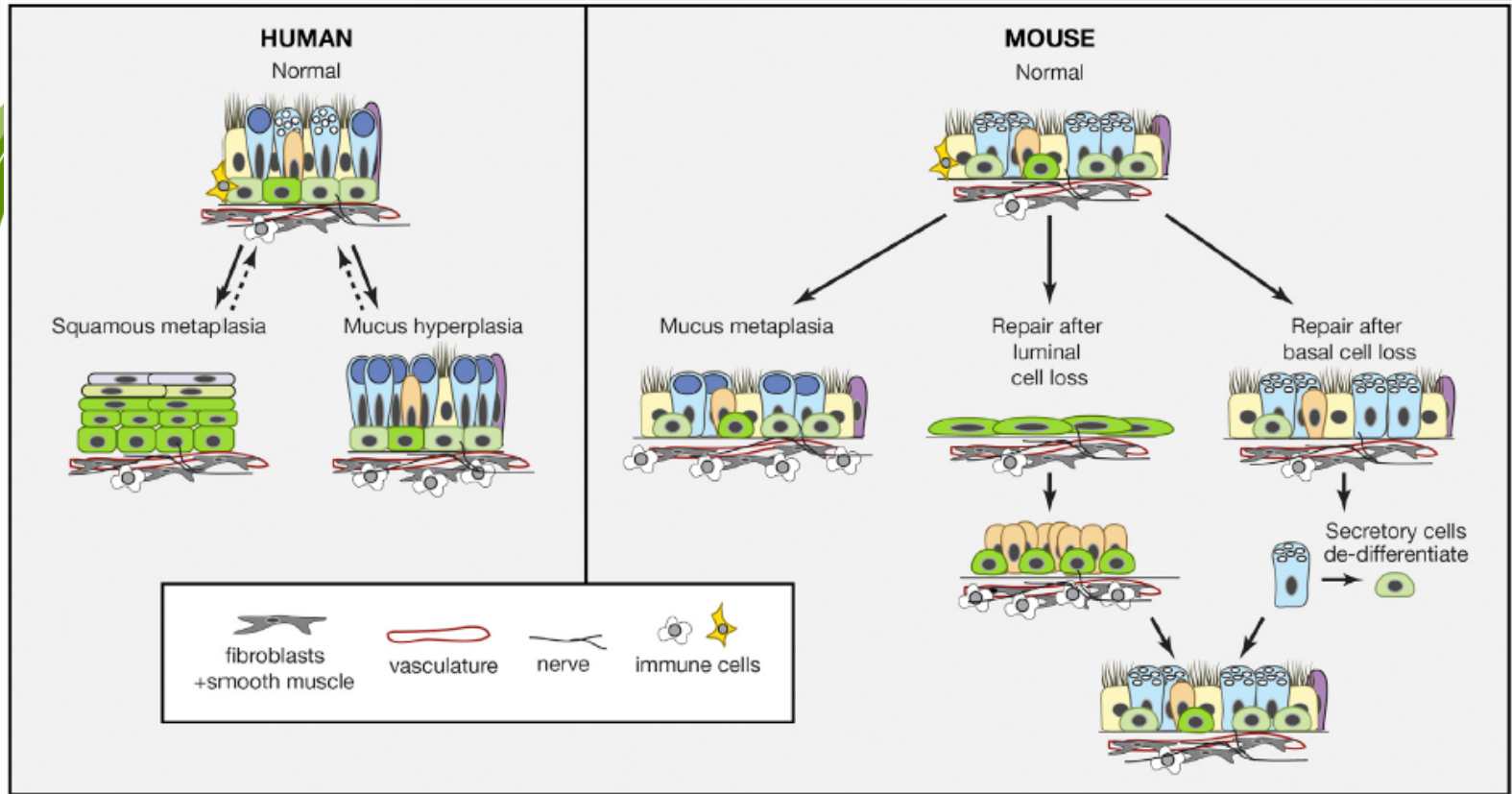
- ▶ různé části dýchacích cest a plic obsahují **rozdílné populace „adult stem cells“**;
- ▶ **tyto buňky jsou často diferencované** – Clarovy buňky a pneumocyty typu II, které umožňují regeneraci epitelu terminálních průdušinek a plicních sklípků;
- ▶ podobně jako v jaterní tkáni zde pozorujeme fenomén **dediferenciace** – při specifických typech poškození plic diferencovaná buňka mění svůj fenotyp na buňku méně diferencovanou a proliferující – velká **buněčná plasticita** – výhodné pro regeneraci, ale zároveň se může negativně projevit při různých onemocněních, vč. nádorových;

# Některé populace kmenových a progenitorových buněk v dýchacím traktu



- ▶ pro většinu epitelálních buněk konduktivní zóny představují populaci progenitorových buněk **bazální kmenové buňky**;
- ▶ v průdušinkách jsou zdrojem regenerace **Clarovy (sekreční) buňky**;
- ▶ v plicních sklípcích představují populaci progenitorových buněk **pneumocyty typu II**;
- ▶ většina těchto poznatků pochází z myších modelů;

# Regenerace epitelu dýchacích cest



*Cell Stem Cell 2014, 15: 123 -138*

- ▶ v regeneraci vícevrstevného epitelu hrají zásadní roli specifické kmenové buňky, pevně vázané na bazální membránu – **bazální kmenové buňky** – Trp63<sup>+</sup>/Krt5<sup>+</sup>;
- ▶ mohou migrovat a napomáhat i regeneraci jednoduchého epitelu nebo pneumocytů?

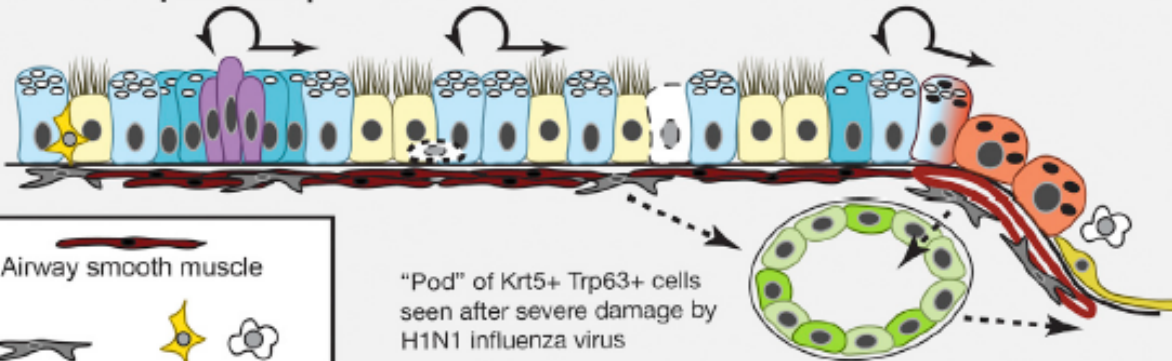


# Regenerace epitelu dýchacích cest

## MOUSE BRONCHIOLES









Neuroepithelial body (NEB)

Bronchoalveolar duct junction (BADJ)



"Pod" of Krt5+ Trp63+ cells seen after severe damage by H1N1 influenza virus

## PUTATIVE LINEAGES

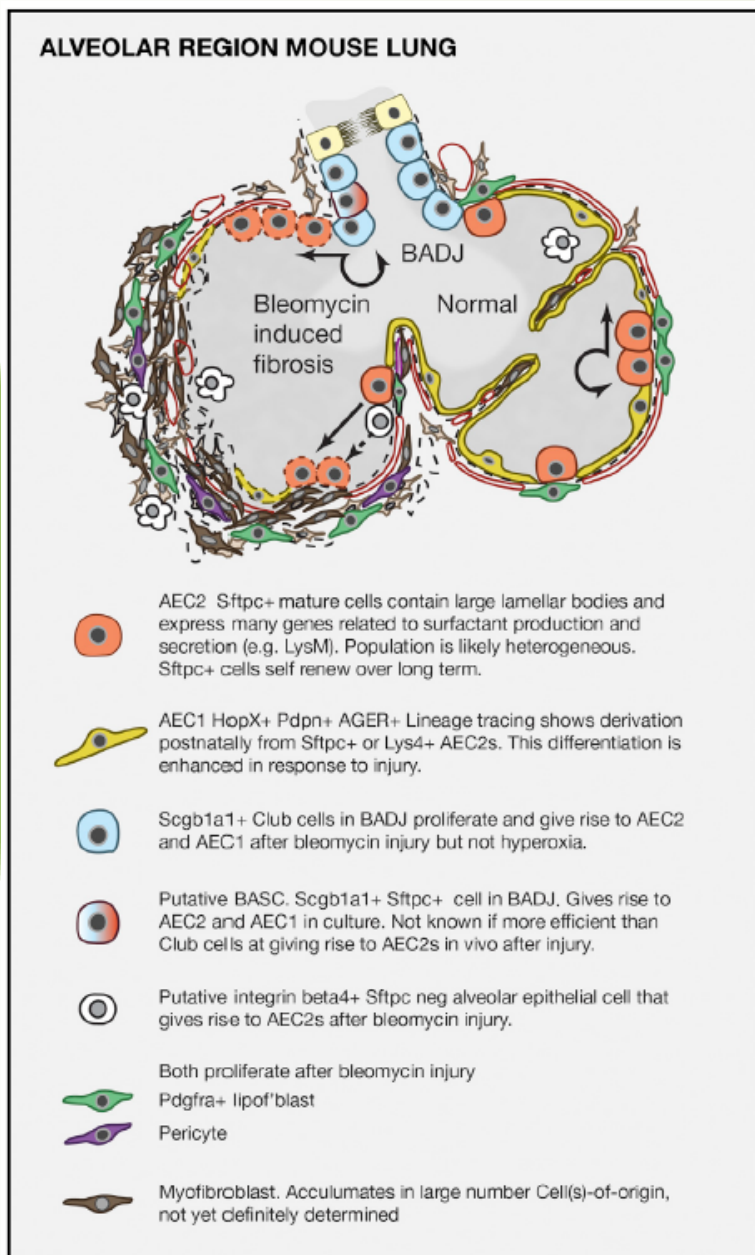
- |   |  |
|---|--|
|  <p>Club cell Scgb1a1+ Scgb3a2+ Cyp2f2+<br/>Self renews and generates ciliated cells over long term. Killed by naphthalene. At BADJ, gives rise to alveolar cells after bleomycin injury.</p> |  <p>Subclass of Club cell Scgb1a1<sup>low</sup> Cyp2f2<sup>low</sup> Upk3a+<br/>Survives naphthalene, and then proliferates and gives rise to Club cells</p>    |
|  <p>Club cell that is Scgb1a1+ Sftpc+<br/>Putative BASC<br/>Survives naphthalene and proliferates</p>  |  <p>Putative, still uncharacterized luminal cells. Some rare cells may express Trp63</p>   |
|  <p>Neuroendocrine cell Cgrp+<br/>Self renews over the long term<br/>Survives naphthalene, and then proliferates and gives rise to Club and ciliated cells</p>                              |  <p>Krt5+ Trp63+ basal-like cells that appear after severe injury. Their origin is not definitively known. May give rise to alveolar cells during repair.</p> |
|  <p>Ciliated cell Foxj1+<br/>Survives naphthalene, spreads but does not proliferate</p>   |  <p>Alveolar epithelial type 2 and type 1 cells</p>   |

- pro regeneraci jednoduchého epitelu průdušinek jsou důležité Scgb1a1-**pozitivní sekreční (Clarovy) buňky**;
- různé populace??
- specifické kmenové buňky lokalizované v BADJ??;
- neuroendokrinní buňky;
- závisí na typu poškození

*Cell Stem Cell 2014, 15: 123 -138*



# Regenerace epitelu plicních sklípků



- ▶ **pneumocyty typu II – regenerace epitelu plicních sklípků;**
- ▶ klonální expanze a migrace do poškozených oblastí?;
- ▶ existence specifických progenitorů pro pneumocyty I a II??, Clarovy buňky;
- ▶ závisí na typu poškození - příklad regenerace po intratracheální aplikaci cytostatika (bleomycin) – nejen regenerace ale i potlačení fibrózy??;
- ▶ druhová specifita??

## K zamyšlení

- ▶ plíce představují orgán, jehož funkce jsou do značné míry dány strukturou a složením specifických populací epitelálních buněk, jejichž složení se liší v konduktivní a respirační zóně;
- ▶ všechny základní buněčné typy plicního epitelu vznikají diferenciací proximálních (neuroendokrinní, pohárkové, řasinkové a sekreční buňky) a distálních progenitorů (pneumocyty I a II);
- ▶ plíce mají značnou regenerační schopnost – umožní nejen obnovit činnost respiračního epitelu po ztrátě části orgánu, ale i obnovení struktury a funkce epitelu po působení chemických látek, infekčních agens;

## K zamyšlení

- ▶ schopnost regenerace je dána přítomností specifických kmenových/progenitorových buněčných populací v jednotlivých částech dolních dýchacích cest (bazální kmenové buňky, sekreční/Clarovy buňky a plicních sklípcích (pneumocyty II));
- ▶ populace kmenových/progenitorových buněk představují diferencované buňky, které zároveň plní řadu dalších funkcí v dospělém orgánu (tvorba surfaktantu, CCSP, apod.);
- ▶ epiteliální buňky plic vykazují velkou plasticitu, jsou schopné dediferenciace a zároveň není vyloučeno, že v plicích existují další populace buněk, které mohou být zdrojem regenerace (neuroendokrinní buňky, specifické progenitory v plicních sklípcích, na rozhraní bronchiol a plicních sklípků, apod.);



## K zamyšlení

- ▶ poznatky o vývoji a regeneraci plicní tkáně mají význam nejen pro pochopení mechanismů řídicích vývoj a homeostázu tohoto důležitého orgánu, ale i pro pochopení principů poruch ventilace, dýchacích cest a onemocnění plic;
- ▶ možné využití při tvorbě náhrad plicní tkáně, průdušnice apod.? – nedostatek orgánů pro transplantace, relativně nízká úspěšnost transplantací plic – 50%/5 let;