

## **Morfovirtual 2022**

### **VI Congreso virtual de Ciencias Morfológicas. Sexta Jornada Científica de la Cátedra Santiago Ramón y Cajal.**

#### **LA CÉLULA BRONQUIOLAR EXÓCRINA: LA ÚLTIMA BARRERA DE DEFENSA PULMONAR**

**Carlos Iván, Falcón Rodríguez<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Dr. en C., Departamento de Ciencias Ambientales. Grupo de Biología y Química Atmosféricas. Instituto de Ciencias de la Atmósfera y Cambio climático. UNAM. Ciudad de México.

[cirf84@hotmail.com](mailto:cirf84@hotmail.com)

#### **Resumen**

En 1937, el anatomista e histólogo Max Clara (1899-1966) describió la célula bronquiolar no ciliada en muestras de tejido pulmonar de personas ejecutadas durante la segunda guerra mundial. Esta célula recibió el nombre de célula de Clara, sin embargo, en los últimos años, el epónimo de célula de Clara fue sustituido por Célula Club o Célula Bronquiolar Exocrina. Histológicamente, la célula bronquiolar Exocrina presenta un domo apical en donde almacena la proteína CCSP, además contiene altamente desarrollado el retículo endoplásmico liso y rugoso, y el complejo de Golgi. Por esta razón sintetiza tres proteínas, dos agentes surfactantes y una proteína específica de esta línea celular, si mismo, contiene enzimas del citocromo P450, por lo que su función también es el metabolismo de xenobióticos. Esta célula es versátil ya que puede diversificarse en diferentes fenotipos celulares de la misma estirpe, y llevar a cabo varias funciones, los cuales ayudan a mantener la estructura y función

pulmonar. La contaminación ambiental como el ozono, los metales, las partículas, incluso los lipopolisacáridos y los virus, pueden activar el cambio fenotípico de esta célula en los bronquiolos, incluso pueden manifestar tanto el biomarcador CCSP+ y PAS+. El pulmón cuenta con una célula versátil que es la última barrera de defensa mecánica para atrapar y metabolizar sustancias tóxicas que respiramos, la célula Bronquiolar Exocrina es importante para mantener la salud pulmonar.

### **Breve historia de la Célula Bronquiolar Exócrina**

En 1937, el anatomista e histólogo Max Clara (1899-1966) describió la célula bronquiolar no ciliada en muestras de tejido pulmonar de personas ejecutadas durante la segunda guerra mundial (Boers et al., 1998). Esta célula recibió el nombre de célula de Clara a partir de 1955(Winkelman et al., 2010). El redescubrimiento fue realizado cuando Clara fue jefe del departamento de anatomía de la universidad de Leipzig. Debido a todas las contribuciones generadas por el Max Clara, fue premiado con la posición de jefe del departamento de anatomía de la universidad de Múnich, cargo que ocuparía desde octubre de 1942 hasta el final de la segunda guerra mundial (Winkelman et al., 2010). Fue arrestado al finalizar la guerra y permaneció un año preso, siendo liberado en 1946. Tras su liberación, ninguna institución académica en Alemania lo contrato, por lo que se convirtió en una persona non grata (Gea etl al., 2013). Acepto la posición de profesor en la universidad de Estambul en Turquía, cargo que ocuparía desde 1950 hasta 1961. Max Clara murió en Múnich en 1966 (Winkelman et al., 2010). En los últimos años, el epónimo de célula de Clara fue sustituido por Célula Club o Célula Bronquiolar Exocrina.

Posteriormente, los investigadores continuaron los estudios sobre esta asombrosa célula, siendo el nuevo comienzo a finales de 1970, cuando el boom del metabolismo de xenobióticos vio la luz y su relación con esta célula. En 1986, se descubrió su actividad progenitora dentro de los bronquiolos pulmonares. En 1990m se reportó que produce y secreta una proteína específica llamada uteroglobina, CCSP, CC16 o CC10. En el año 2001, se identificaron por primera vez variantes de esta célula en el epitelio bronquiolar (Reynolds y Malkinson, 2010) mostrando gran versatilidad tanto en

animales como en humanos y mostrando las mismas características histológicas. Presentan una dome apical en donde almacenan su proteína específica en forma de gránulos rodeados por membrana, los cuales son secretados por el proceso apocrino. (Kuhn et al., 1974).

### **Proteínas específicas**

La Célula Bronquiolar Exocrina, además de presentar un domo apical, también tiene tres organelos altamente desarrollados, como son el retículo endoplásmico liso, rugoso y complejo de Golgi. En el retículo endoplásmico rugoso se sintetiza varias proteínas como son: dos proteínas surfactantes A y D, las cuales son esenciales para mantener la permeabilidad en el parénquima (Bolton et al., 2008). Además, produce otra proteína que presenta una diversidad biológica como marcador de esta célula. Esta proteína es conocida con el nombre de secretoglobina SCBG1A1, la cual permite la identificación de las diferentes variantes de esta célula en los bronquiolos. (Reynolds y Malkinson, 2010) Sin embargo, esta proteína se puede encontrar con diferentes nombres. Para humano y conejo se utiliza CCSP (Club Cell Secretory Protein) o CC10 para ratones y ratas (Reynolds y Malkinson, 2010) y CC16 utilizado para otras especies de animales, incluso humano (Bolton et al., 2008) Sin embargo el mismo nombre se refiere al mismo tipo de proteína. Esta proteína es un esteroide inducible (Bolton et al., 2008) y muestra cierta homología con la proteína uteroglobina de útero de conejo. (Stripp et al., 1992) su función es regular la respuesta inmune e inflamación pulmonar (Wang et al., 2003), ya que juega un papel como antioxidante (Zhao et al., 2014). Debido a que, la proteína CCSP se encuentra en plasma sanguíneo, se ha utilizado como un biomarcador de exposición o daño ya que evidencia la permeabilidad de la barrera epitelial pulmonar en el daño agudo o crónico (Zhao et al., 2014). En algunas enfermedades como el asma alérgica o la fibrosis pulmonar idiopática, los niveles de CCSP disminuyen en suero (Ye et al., 2004), mientras que en pacientes con neumonía intersticial idiopática se incrementan los niveles en lavado bronco-alveolar (BALF, por sus siglas en inglés) (Vanspauwen et al., 2009)

### **Metabolismo de xenobióticos**

Además, el retículo endoplásmico liso, contiene al sistema de metabolismo de xenobióticos del citocromo P450, cuya Célula Bronquiolar Exocrina, es uno de los tipos celulares que llevan a cabo esta función dentro del pulmón, además, del endotelio y los neumocitos tipo II. Sus principales familias de citocromos son CYP1, 2 y 3, los cuales son específicos para metabolizar contaminantes atmosféricos.

## **Población célula**

La Célula Bronquiolar Exocrina comienza la diversificación y maduración a partir de una stem cells (vCE) que es capaz de renovarse a sí misma o generar un progenitor facultativo. Esta célula se puede diferenciar a una célula CBE de tipo A, la cual lleva a cabo mitosis. La célula tipo A puede dividirse y originar dos células, la Célula ciliada o una Célula Bronquiolar Exocrina de tipo B. La célula tipo B puede diferenciarse a una célula madura (Reynolds y Malkinson, 2010). Sin embargo, si la célula es estimulada con agentes oxidantes, tiende a producir moco, originando una célula Bronquiolar Exocrina variante productora de mucina (Reynolds y Malkinson, 2010). Algunas Células Bronquiolares Exocrinas suelen estar localizadas muy cerca de los cuerpos neuroepiteliales, y muestran CCSP+ y sustancias de los cuerpos neuroendocrinos (Zhao et al., 2014). Otras variantes se localizan en la unión bronquio-alveolar (BADJ, por sus siglas en inglés), además son positivas para CCSP+ y Surfactante C+. En los bronquiolos terminales pueden llegar a ser positivos para CCSP+ y mucinas neutras.

## **La contaminación ambiental y la Célula Bronquiolar Exocrina**

Histológicamente, los bronquiolos carecen de glándulas de la submucosa, por tal motivo, cuando se exponen un animal o humano a irritantes u oxidantes inhalados, la célula Bronquiolar Exocrina comienza a producir proteína CCSP. Incluso se ha reportado que, estas células sufren metaplasia mucoide al ser positivas a CCSP+ y PAS+, al producir moco, los elementos que han llegado a este nivel quedan atrapados. Falcón-Rodríguez., 2012, reportó que la inhalación de vanadio (0.02M) durante 12 semanas aumenta los niveles de la proteína CC10 correlativamente conforme aumenta las semanas de exposición en ratones evaluados a través de la inmunohistoquímica,

asimismo, identificó dos poblaciones de células Bronquiolares exocrinas, células CC16+ solamente, y células doble positivas a CC16<sup>++</sup> y PAS+ (Figura 1).

En otro estudio realizado por el mismo autor, pero en el que se expuso a cobayos tanto sensibilizados como no sensibilizados e inhalaron aire filtrado o a material particulado 2.5 a través de un concentrador de partículas, se observó la metaplasia mucoide la célula Bronquiolar exocrina teñido con PAS en los diferentes grupos, principalmente en aquellos sensibilizados a Ovoalbumina o que inhalaron PM2.5 o ambos (Figura 2) (Falcon-Rodriguez et al., 2017)., los cuales mostraron pequeños gránulos de color magenta o rosa (figura 3) El desarrollo de metaplasia mucoide puede ser desarrollada por oxidantes como el ozono (Yanagihara et al., 2001) u otros irritantes como el cigarro, la acroleína (Voynow et al., 2004), los metales (Falcón-Rodriguez, 2012), así como la exposición a virus o lipopolisacáridos (Evans., 2004). El mecanismo es muy complejo y comienza con la respuesta inflamatoria Th2 y la activación de IL-3 e IL-4, los eosinófilos y neutrófilos que liberan gran cantidad de elastasa. El incremento al mismo tiempo de IL-13 incrementa CCSP el cual sobre regula a la proteína Muc5ac y promueve la función de CCSP (Evans, 2004). El pulmón cuenta con una célula versátil que es la última barrera de defensa mecánica para atrapar y metabolizar sustancias tóxicas que respiramos, la célula Bronquiolar Exocrina es importante para mantener la salud pulmonar.

## **Bibliografía**

- Boers JE, Amberg AW, Thunnissen FB. Number and proliferation of clara cells in normal human airway epithelium. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1999;159(5):1585-1591
- Bolton S, Pinnion K, Marshall C, Wilson E, Barker J, Oreffo V, et al. Changes in Clara cell 10 kDa protein (CC10)-positive cell distribution in acute lung injury following repeated lipopolysaccharide challenge in the rat. *Toxicologic pathology*. 2008;36(3):440-448.
- Evans, C. M., Williams, O. W., Tuvim, M. J., Nigam, R., Mixides, G. P., Blackburn, M. R., Dickey, B. F. (2004). Mucin is produced by clara cells in the proximal

airways of antigen-challenged mice. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 31(4), 382–394. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2004-00600C>

- Falcon-Rodriguez CI, De Vizcaya-Ruiz A, Rosas-Pérez IA, Osornio-Vargas AR, Segura-Medina P. Inhalation of concentrated PM2.5 from Mexico City acts as an adjuvant in a guinea pig model of allergic asthma. *Environmental Pollution*. 2017. 2028:474-483.
- Falcón-Rodriguez. (2012). Caracterización de los diferentes subtipos de la célula bronquiolar no ciliada en el modelo murino de inhalación de vanadio. Tesis de maestría. 2012.  
<http://132.248.9.195/ptd2013/Presenciales/0689326/Index.html>
- Gea J, Orozco-Levi M, Aguiló R. Wegener's Disease and Clara Cells: Eponyms and Dignity in Respiratory Medicine. *Archivos de Bronconeumología (English Edition)*. 2013;3(49):126-127
- Kuhn C, Callaway LA, Askin FB. The formation of granules in the bronchiolar Clara cells of the rat: 1. Electron microscopy. *Journal of ultrastructure research*. 1974;49(3):387-400.
- Reynolds SD, Malkinson AM. Clara cell: progenitor for the bronchiolar epithelium. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2010;42(1):1-4.
- Stripp BR, Sawaya P, Luse D, Wikenheiser KA, Wert SE, Huffman JA, et al. cis-acting elements that confer lung epithelial cell expression of the CC10 gene. *Journal of Biological Chemistry*. 1992;267(21):14703-14712.
- Vanspauwen M, Linssen C, Bruggeman C, Jacobs J, Drent M, Bergmans D, et al. Clara cell protein in bronchoalveolar lavage fluid: a predictor of ventilator-associated pneumonia? *Critical Care*. 2009;13:1-2.
- Voynow, J. a, Fischer, B. M., Malarkey, D. E., Burch, L. H., Wong, T., Longphre, M., ... Foster, W. M. (2004). Neutrophil elastase induces mucus cell metaplasia in mouse lung. *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology*, 287(6), L1293-302. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00140.2004>
- Wang S-Z, Rosenberger CL, Bao Y-X, Stark JM, Harrod KS. Clara cell secretory protein modulates lung inflammatory and immune responses to respiratory

syncytial virus infection. *The Journal of Immunology*. 2003;171(2):1051-1060.

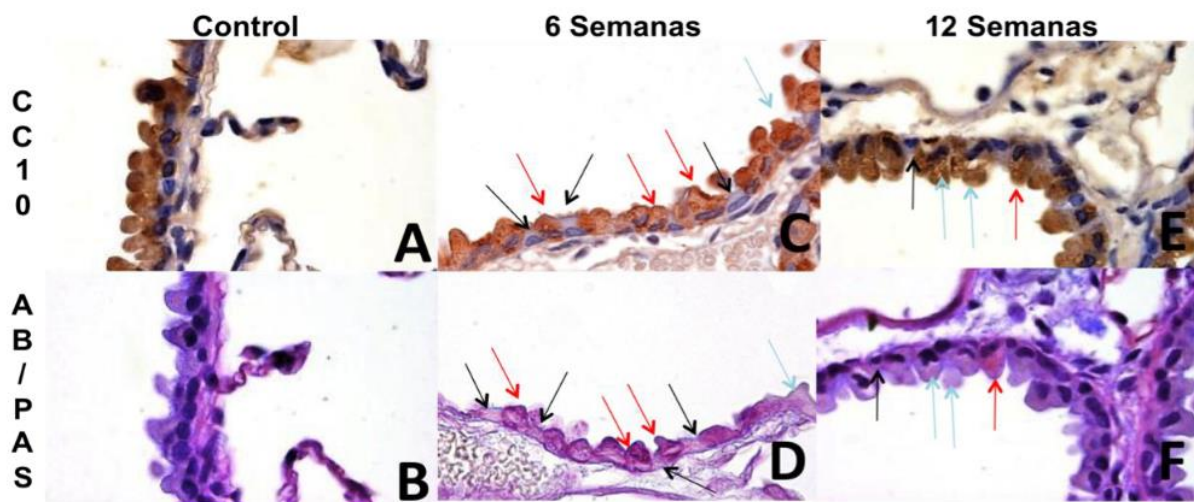
Winkelmann A, Noack T. The Clara cell: a "Third Reich eponym"? *European Respiratory Journal*. 2010;36(4):722-727.

Yanagihara, K., Seki, M., & Cheng, P. W. (2001). Lipopolysaccharide induces mucus cell metaplasia in mouse lung. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 24(1), 66–73. <https://doi.org/10.1165/ajrcmb.24.1.4122>

Ye Q, Fujita M, Ouchi H, Inoshima I, Maeyama T, Kuwano K, et al. Serum CC-10 in inflammatory lung diseases. *Respiration*. 2004;71(5):505-510.

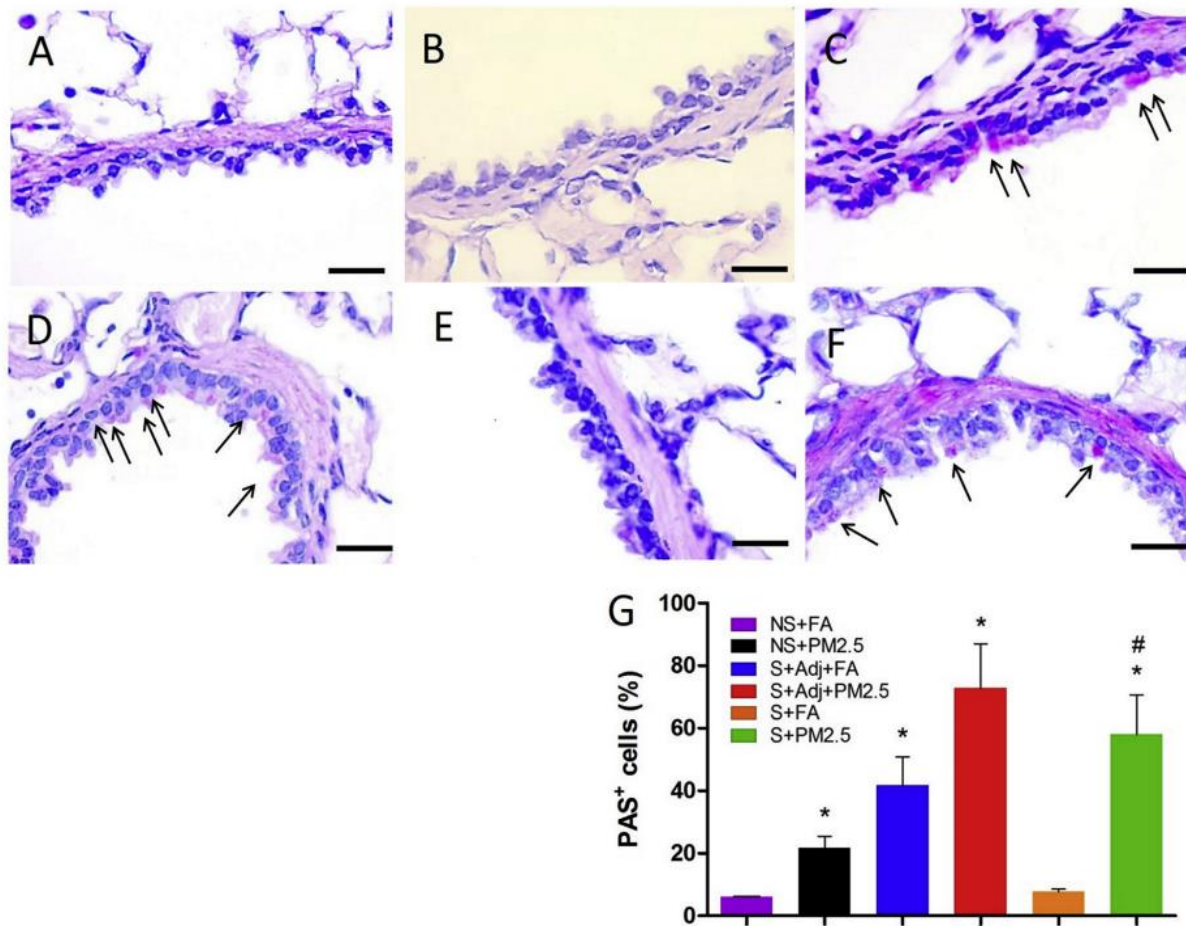
Zhao L, Song Y, Pu J, Guo J, Wang Y, Chen Z, et al. Effects of repeated Cr(VI) intratracheal instillation on club (Clara) cells and activation of nuclear factor-kappa B pathway via oxidative stress. *Toxicology Letters*. 2014;231(1):72-81.

## Anexo



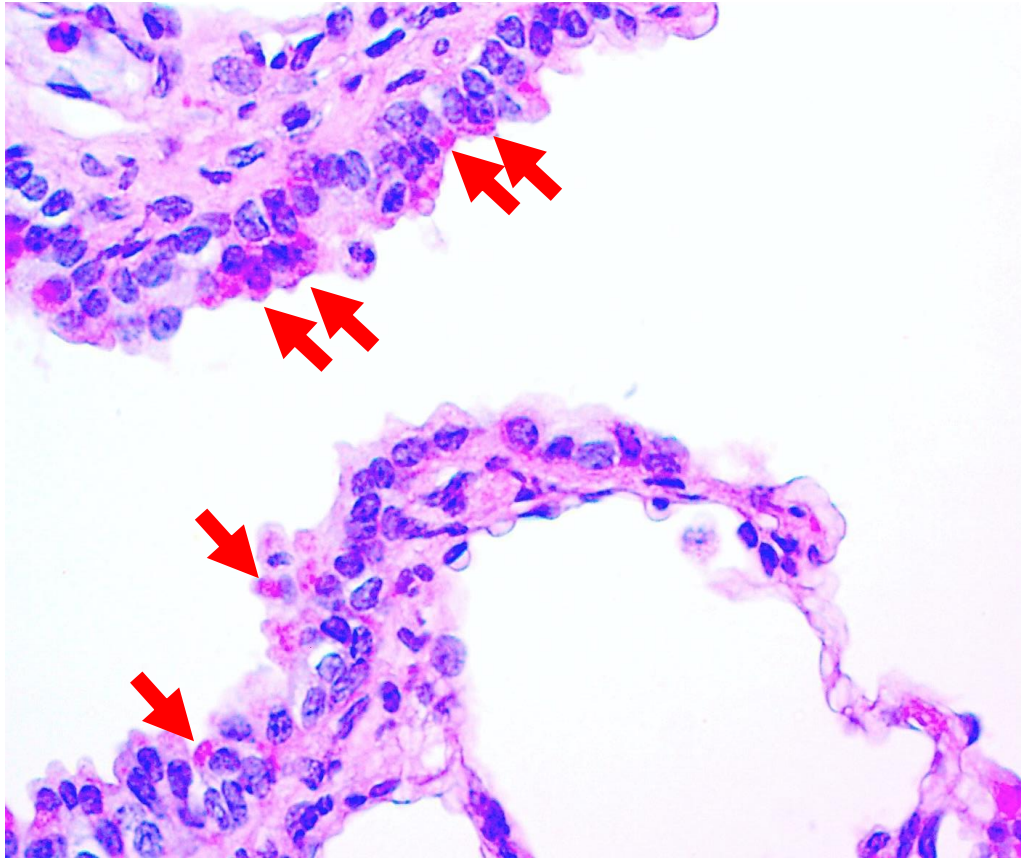
**Figura 1.** Inmunohistoquímica y tinción AB/PAS en cortes seriados. (A) Bronquiolo de organismo control con inmunohistoquímica (CC10). Su contraparte (B) con tinción Azul de alciano/PAS. Solo se observan células CC10 positivas. (C) Inmunohistoquímica para CC10 y su contraparte (D) en Azul de Alciano/PAS, de 6 semanas de exposición a vanadio, en ambas fotos se observan Células ciliadas (flecha negra), Células de Clara solo positivas para CC10 (Flecha azul) y Células de Clara positivas para CC10 y

AB/PAS (flechas rojas). Bronquiolo de organismo expuesto a 12 semanas (E) inmunohistoquímica para CC10 y su contraparte (F) tinción AB/PAS. En ambas fotos se aprecian dos tipos celulares de Clara, Células de Clara solo CC10+ (flecha azul) y Células de Clara CC10+ y AB/PAS+ (Flecha roja) y la célula ciliada (Flecha negra). 100X. Tomado de Falcón-Rodríguez (2012). Tesis unam <http://132.248.9.195/ptd2013/Presenciales/0689326/Index.html>



**Figura 2.** Metaplasia mucoide (A) No sensibilizado + aire filtrado; (B)No sensibilizado +PM2.5; (C) Sensibilizado (adyuvante) + aire filtrado; (D) Sensibilizado (adyuvante) + PM2.5; (E) sensibilizado + aire filtrado; (F) Sensibilizado + PM2.5. las flechas señalan a las células mucoproducidas, prueba t-student (\* $p < 0.05$  vs. NS + FA). Tomado de Falcon-Rodriguez et al, 2017. [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749116318887?casa\\_token=1](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749116318887?casa_token=1)





**Figura 3.** Bronquiolo terminal y Unión Bronco-alveolar de cobayo expuesto a PM2.5 Las flechas rojas señalan a las Células Bronquiolares Exocrinas PAS+. Se parecía en su interior pequeños gránulos de color rosa-magenta y su morfología característica, con un domo en la parte apical. Original del proyecto realizado por Falcón-Rodríguez. magnificación de 660X.