

La célula de Clara: La biología celular y molecular con implicaciones fisiopatológicas. Una revisión de la literatura

Andrés Felipe Donado-Moré,* Juan Pablo Camargo-Mendoza,*[‡] ✉ Pedro Gabriel Franco-Maz,*[§]
Leonel Fernando Malaver-Caicedo*

*Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia; [‡]Hospital Occidente de Kennedy, Bogotá, Colombia;

[§]Hospital Universitario de la Samaritana, Bogotá, Colombia.

Trabajo recibido: 13-V-2013; aceptado: 13-VI-2013

RESUMEN. Las células de Clara son una de las principales poblaciones celulares que habitan los bronquiolos, donde juegan un papel fundamental como células progenitoras en caso de lesión del parénquima de esta porción del árbol bronquial. Su principal función es la producción de la proteína secretoria de la célula de Clara (CCSP), un polipéptido con función principalmente antiinflamatoria e inmunosupresora. Su utilidad en el diagnóstico de múltiples enfermedades que afectan al aparato respiratorio (como varias neumoconiosis, fibrosis pulmonar idiopática, asma y sarcoidosis, entre otras) ha sido estudiada desde hace años, aunque no se ha llegado a un consenso universal en torno a su aplicación clínica. El presente artículo constituye una aproximación general al conocimiento morfofisiológico de este tipo celular y a las implicaciones fisiopatológicas de la CCSP en algunas de las enfermedades del aparato respiratorio.

Palabras clave: Bronquiolo, lavado broncoalveolar, proteína secretoria de la célula de Clara, secretoglobinas.

ABSTRACT. The Clara cells are one of the principal cell populations that reside in the bronchioles, where they play a fundamental role as progenitor cells in the case of lesion of the parenchyma of this portion of the bronchial tree. Their principal function is the production of the Clara Cell Secretory Protein (CCSP), a polypeptide with anti-inflammatory and immunosuppressive functions principally. Its utility in the diagnosis of multiple diseases which affect the respiratory apparatus (like some pneumoconioses, idiopathic pulmonary fibrosis, asthma and sarcoidosis, among others) have been studied for many years, although there is not actually a universal consensus about its clinical application. The present article constitutes a general approximation to the morphophysiological knowledge of this cellular type and the physiopathological implications of the CCSP in some of the diseases which affect the respiratory apparatus.

Key words: Bronchioles, bronchoalveolar lavage, Clara cell secretory protein, secretoglobins.

INTRODUCCIÓN

En estos últimos años la genética y la biología molecular han venido marcando el desarrollo de muchas disciplinas clínicas, entre ellas la neumología. En definitiva, la comprensión de los eventos moleculares que determinan el comportamiento celular resulta de gran utilidad para comprender la escena completa de una enfermedad o, aún mejor, de los procesos que configuran el buen estado de salud. En el presente artículo se hace una revisión de la célula de Clara, uno de los principales tipos celulares presentes en el epitelio que tapiza los bronquiolos. Previamente a ello será necesario comentar algunos aspectos claves de la vida del científico en cuyo honor fueron bautizadas dichas células; sobre todo a la luz de la advertencia que hacen algunos autores sobre el cuidado que se debe tener cuando se emplean epónimos de manera

no crítica en medicina y con ello hacemos referencia a que son usados sin conocerse los detalles biográficos del científico que nos recuerda el epónimo.¹ Posteriormente, se revisarán las características morfológicas de la célula, la naturaleza de su producto de secreción y las implicaciones fisiopatológicas del mismo en el desarrollo de algunas enfermedades que afectan al aparato respiratorio. Por último, se resalta el papel que juega la célula en la reparación y renovación del epitelio bronquiolar.

Max Clara nació en una villa cercana a Bolzano, que en ese momento era una ciudad de Austria —en la actualidad una ciudad de la provincia de Tirol del Sur, en Italia— en 1899. Estudió medicina en Innsbruck, Austria y en Leipzig, Alemania. Desarrolló la carrera docente en la Universidad de Padua, la Universidad de Leipzig y la Universidad de Múnich, ocupando importantes cargos. En su tiempo libre se dedicó asiduamente al

Este artículo puede ser consultado en versión completa en <http://www.medigraphic.com/neumologia>

estudio de la histología e hizo parte activa de organizaciones nazis como el Partido Nacionalsocialista Obrero Alemán (abreviado NSDAP) y la Liga Alemana Nacionalsocialista de Docentes, de la cual fue cabeza por la Universidad de Leipzig y cabeza distrital por el estado de Sajonia. Por ello tras finalizar la guerra, en 1945, fue arrestado por la Armada de los Estados Unidos. Fue liberado sólo un año después, pero le fue imposible conseguir un cargo fijo en su país, situación que lo obligó a emigrar a Turquía donde le fue ofertado un puesto como profesor de Histología en la Universidad de Estambul, allí permaneció hasta 1961. Terminaría sus días en Múnich, donde murió en 1966.²

Como señalan Winkelmann *et al.*, durante su período como Director de Anatomía en Leipzig, le solicitó al entonces Ministro de Educación del Estado de Sajonia modificar la ley para permitir el estudio morfológico de los cuerpos de prisioneros ejecutados. En marzo de 1936 fue favorecido por la aprobación de una nueva ley.² Hay que destacar que durante el período Nazi hubo abundante cantidad de cuerpos en los anfiteatros de las facultades de medicina alemanas debido al creciente número de personas asesinadas en los campos, cárceles o centros de interrogatorio, que se ordenó fueran enviadas a estos centros educativos.³ Particularmente, el Instituto de Clara en Leipzig fue surtido regularmente con cuerpos procedentes de ejecuciones llevadas a cabo en Dresde. Esto le permitió a Clara efectuar estudios histológicos de numerosas preparaciones de tejido pulmonar; y en 1937 describió un nuevo tipo de célula presente en el epitelio que tapiza los bronquiolos terminales y respiratorios, que caracterizó por sus gránulos secretorios y una membrana apical con forma de domo y sin cilios.²

En la actualidad muchos proponen abandonar el epónimo, ya que consideran que su uso solo hace alusión a un científico y a una investigación relacionados directamente con la política Nazi, hecho que les resulta deshonoroso. El término que se propone para sustituir el epónimo es en inglés «*club cell*».^{1,2} En contraposición, otros autores consideran que el uso de epónimos, en caso de mantenerse, debe servir para recordar los aspectos buenos y malos que puede tener cualquier médico (y en general cualquier ser humano).³ En cualquier caso, esperamos que otros análisis en el futuro nos brinden luces que nos permitan emplear de manera crítica epónimos tan difundidos en la literatura como el de la célula de Clara. En virtud de que no se ha estipulado aún una resolución definitiva en cuanto a la polémica sobre el empleo de este epónimo y aunque no es el nombre más apropiado, con fines de la presente revisión haremos uso del nombre actual de célula de Clara para hacer referencia a esta población celular.

La célula de Clara: ubicación topográfica y características citomorfológicas

Las células de Clara se encuentran ubicadas principalmente en el epitelio que tapiza los bronquiolos terminales y los bronquiolos respiratorios. En estos conductos las células de Clara aumentan en cantidad progresiva a medida que se avanza en sentido distal, representando el $11 \pm 3\%$ del total de células epiteliales en los bronquiolos terminales y el $22 \pm 5\%$ en los bronquiolos respiratorios. Su presencia también ha sido reportada en los bronquiolos, donde representan solo el $0.4 \pm 1\%$ del total de células epiteliales.⁴⁻⁶

Morfológicamente las células de Clara tienen forma cilíndrica o cuboide (en las vías aéreas más distales), se caracterizan por presentar una superficie apical con forma de domo (similar a una lengua) prominente hacia la luz, en la cual hay presencia de microvellosidades y típica ausencia de cilias. En el citoplasma se aprecia un núcleo ovalado de ubicación basal, elongado en la dirección del eje longitudinal celular que representa alrededor de $1/3$ del volumen celular total (figuras 1 y 2). Empleando microscopía electrónica de transmisión (figura 3) se aprecia un retículo endoplásmico rugoso de ubicación basal bien desarrollado, un retículo endoplásmico liso poco abundante, un aparato de Golgi prominente de ubicación lateral o supranuclear y gránulos de secreción electrodensos de contenido homogéneo ubicados en el citoplasma apical que miden unos 500-600 nm de diámetro y que se encuentran en número aproximado de unos 20 por cada célula; ello refleja su función como célula secretora en esta porción del árbol bronquial. Dicho proceso de síntesis y secreción requiere un empleo de adenosín trifosfato (ATP) y cofactores reducidos como NADH y $FADH_2$, que se producen principalmente en la mitocondria, por lo cual estas células cuentan con una abundante cantidad de este organelo que se ubica en el citoplasma basal o paranuclear. En la membrana basolateral se puede destacar la presencia de uniones ocluyentes muy cerca al borde apical de la célula, la presencia de cortas prolongaciones citoplásmicas laterales y la práctica ausencia de invaginaciones en la superficie basal de la membrana celular.^{4,5,7-10} En la microscopía electrónica de barrido se puede apreciar con más detalle los aspectos morfológicos de la superficie luminal de la célula (figuras 4 y 5).

Los gránulos de secreción electrodensos contienen sustancias específicas de las células de Clara que permiten identificarlas

Las células de Clara secretan varias sustancias (más adelante se comentan), entre las que destaca una



Figura 1. Corte teñido con hematoxilina-eosina. Aumento de 60x. Epitelio cilíndrico simple de un bronquiolo (el corte no permite distinguir claramente de qué tipo de bronquiolo se trata ya que el epitelio se encuentra desprendido de la lámina propia), en el que se aprecian algunas células de Clara, con su característico dominio apical en forma de lengua, como se señala con la flecha. Se aprecia también su citoplasma muy eosinófilo y núcleo eucromático.

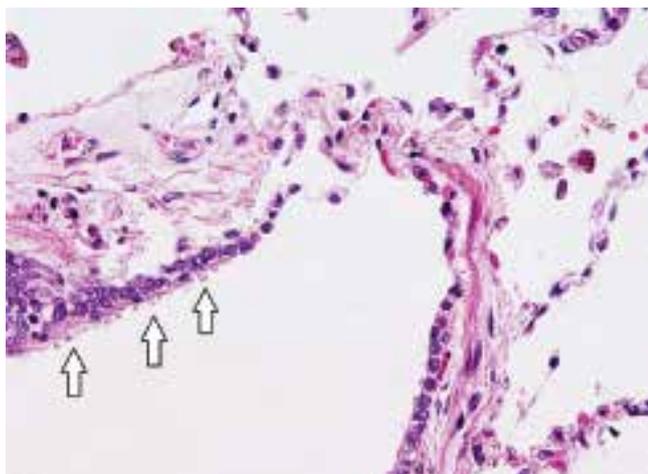


Figura 2. Corte teñido con hematoxilina-eosina. Aumento de 40x. Epitelio de transición broncoalveolar. Señalado en flechas se aprecia en la porción superior del bronquiolo terminal un amplio número de células de Clara ubicadas una tras de otra, reconocibles por su dominio apical en forma de lengua o domo que protruye hacia la luz.

proteína homodimérica (compuesta por dos subunidades iguales) de peso molecular de 15,840 daltons, a quien de manera histórica le han sido asignados varios nombres: CC10 (Clara Cell 10-kilodalton Protein pues en un primer momento, al analizarla con el método de electroforesis en gel, se pensó que pesaba 10 kilodaltons), CC16 (Clara Cell 16-kilodalton Protein, una denominación más actual en vista de la corrección del peso molecular que es más cercano a los 16 kilodaltons, demostrado con el método de electrospray/espectrometría de masa), proteína 1/proteína urinaria 1 (llamada así porque fue aislada en la orina de seres humanos y ambas son abreviadas como UP-1) y pro-



Figura 3. Esquema de la célula de Clara como es vista empleando microscopía electrónica de transmisión. Se puede apreciar el retículo endoplásmico rugoso abundante de localización basal, en el que tiene lugar la fase inicial de la síntesis de la proteína secretoria de la célula de Clara y abundante cantidad de ribosomas en el citosol, que le dan a la célula su aspecto eosinófilo en la microscopía de luz (figura 1). Se observa un aparato de Golgi de ubicación supranuclear, numerosas mitocondrias que rodean al núcleo en las porciones basal, lateral y supranuclear de la célula, un núcleo bastante eucromático que pone de manifiesto la función sintética activa de esta célula y que también es comprobable en la microscopía de luz (figura 1) y abundantes gránulos de secreción electrondensos en el citoplasma apical. También se aprecian algunas cisternas de retículo endoplásmico liso en el citoplasma apical y la típica ausencia de cilios y presencia de microvellosidades en la membrana apical.

teína secretoria de la célula de Clara (CCSP, del inglés *Clara cell secretory protein*), entre otros. De éstas, la denominación que se emplea en el presente artículo es proteína secretoria de la célula de Clara (CCSP), por su carácter que consideramos más descriptivo.¹¹⁻¹³

La CCSP se emplea normalmente como marcador inmunohistoquímico para teñir a la célula de Clara de manera específica en los cortes de tejido pulmonar;¹⁴ aunque se ha demostrado que una población de células caliciformes reacciona también frente a la coloración inmunohistoquímica para CCSP, presentándose ante todo en partes proximales a los bronquiolos terminales en el árbol bronquial (bronquios y bronquiolos de tamaño grande y mediano fundamentalmente) en seres humanos.⁶

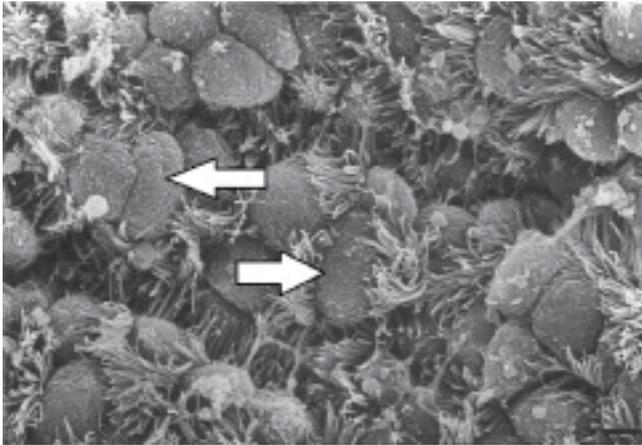


Figura 4. Microfotografía electrónica de barrido que capta una imagen de momento del epitelio bronquiolar en la que se aprecia la superficie apical de las células de Clara, prominente hacia la luz y desprovista de cilias. En ella se observan también algunas vesículas en proceso de exocitosis, que contienen el producto de secreción principal, la CCSP. Entre las células de Clara se proyectan múltiples prolongaciones apicales con forma de pelos, que provienen de células ciliadas, son cilios. En la rata, las células de Clara normalmente no presentan el abultamiento apical en forma de domo que se describe en las células de humano. Únicamente cuando son estimuladas por alguna noxa modifican su fenotipo a uno de naturaleza reactiva y muestran los clásicos ápices en forma de domo o de lengua. La barra de color negro en la esquina inferior derecha representa una longitud de 5 µm. (Imagen cedida por Wiley, tomada del artículo *Anatomy of Clara cell secretion: surface changes observed by scanning electron microscopy*, publicado en la revista *Journal of Anatomy* por Peão M, Águas A, de Sá C y Grande N.).

Ontogenia de las células de Clara

Todos los tipos celulares epiteliales de la vía aérea, con excepción de las células neuroepiteliales, derivan del endodermo del intestino anterior. Las primeras células que expresan la CCSP (CCSP⁺) aparecen a nivel de los cuerpos neuroepiteliales, estructuras especializadas de la vía aérea inferior compuestas por un grupo de células neuroepiteliales inervadas por las terminaciones de un nervio periférico y ubicadas principalmente a nivel de la bifurcación de los bronquiólos.¹⁵ Las primeras células CCSP⁺ han sido identificadas de manera consistente en los bronquiólos, como mínimo, a partir de la semana 12 de la gestación¹⁶ y su actividad secretoria aumenta conforme lo hace la edad gestacional del feto. Ello conduce a que la proteína pueda ser detectada en el líquido amniótico a partir de la semana 15 de la gestación.^{14,17} Los neuropéptidos secretados por las células neuroepiteliales actúan como mitógenos sobre

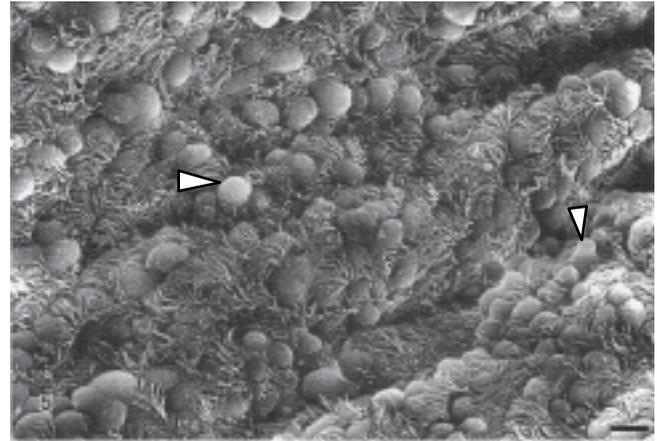


Figura 5. Microfotografía electrónica de barrido similar a la obtenida en la figura 4, pero que muestra una mayor área de superficie del epitelio bronquiolar. En ella se puede apreciar, entre otras cosas, la abundancia de células de Clara en esta porción del árbol bronquial (en relación a las células ciliadas). Señalado con cabeza de flecha se muestran células de Clara con el típico ápice en forma de lengua (que se observa muy claramente en la célula a la derecha de la imagen). La barra de color negro en la esquina inferior derecha representa una longitud de 10 µm. (Imagen cedida por Wiley, tomada del artículo *Anatomy of Clara cell secretion: surface changes observed by scanning electron microscopy*, publicado en la revista *Journal of Anatomy* por Peão M, Águas A, de Sá C y Grande N.).

las células de Clara en formación. En este proceso de maduración funcional juega un papel fundamental la vía de señalización del Wnt (Wingless Integration).¹⁵

Estructura de la proteína secretoria de la célula de Clara (CCSP)

La CCSP hace parte de la superfamilia de la secretoglobina.^{12,18} Por ello, otro de los nombres que adopta el producto de secreción principal de las células de Clara es secretoglobina1a1 (Scgb1a1), una denominación que está en concordancia con la sugerencia dada por el Comité de Nomenclatura de la New York Academy of Sciences, aunque no es la más comúnmente empleada en la literatura.

La CCSP consiste en dos subunidades polipeptídicas orientadas de manera antiparalela, una en relación a la otra. En seres humanos cada subunidad está conformada por una cadena polipeptídica de 70 aminoácidos, que forman 4 hélices α (nombradas hélice α -1, hélice α -2, hélice α -3 y hélice α -4) separadas por horquillas β ; estas subunidades están unidas por 2 puentes disulfuro, formados cada uno entre la cisteína ubicada como residuo 3 en una cadena con la ubicada como residuo 69 en

la otra cadena. En conjunto, las 8 hélices α del dímero forman un bolsillo hidrofóbico, que es una característica compartida por la proteína de varias especies. En este compartimiento la proteína almacena fosfatidilcolina y fosfatidilinositol.¹⁹

Funciones de la proteína secretoria de la célula de Clara (CCSP)

A continuación se enumera lo que consideramos son las principales funciones de la proteína CCSP:

- 1) Potente inmunosupresor y agente antiinflamatorio. La CCSP inhibe la actividad de la fosfolipasa A_2 (PLA_2), una enzima hidrolítica que escinde el ácido graso esterificado al grupo hidroxilo de la posición sn-2 de la molécula de glicerol. En el caso que nos interesa, el ácido graso es el ácido araquidónico, sustancia precursora de tromboxanos, leucotrienos y prostaglandinas, que son mediadores de la inflamación y la respuesta inmunitaria.¹⁹⁻²¹ También se ha propuesto que la CCSP podría ejercer su efecto antiinflamatorio a través de la prevención de la degradación del surfactante pulmonar (del cual hacen parte esencial los fosfolípidos fosfatidilcolina y fosfatidilinositol) por parte de la PLA_2 . Los residuos de lisina 43 y asparragina 46 presentes en la hélice α -3 de cada subunidad de la CCSP, son absolutamente necesarios para su actividad inhibitoria sobre la PLA_2 .²²
- 2) Inhibe la producción y la actividad biológica del interferón- γ (IFN- γ), un mediador clásico de la inflamación que activa los macrófagos para ejercer su función fagocítica, y por otra parte modula algunos aspectos de la cascada de la coagulación, sobre lo cual no se ha investigado lo suficiente.^{15,19,20}
- 3) Inhibe la migración quimiotáctica y la actividad fagocítica de los monocitos/macrófagos y de los neutrófilos e inhibe la migración de los eosinófilos.^{19,20,23}
- 4) Modula, de manera indirecta, el comportamiento de los macrófagos a nivel pulmonar, de tal manera que asegura una respuesta inflamatoria no exacerbada ante la exposición a agentes patógenos, según sugiere un estudio realizado en ratones *knock-out* para el gen que codifica la CCSP (CCSP -/-).²⁴
- 5) Media la comunicación intercelular a corta distancia entre las células de Clara y las células ciliadas del epitelio de revestimiento bronquiolar, y a larga distancia entre las células de Clara y los macrófagos (y aún de manera más general con los diversos tipos celulares implicados en la inflamación), tal como sugiere un estudio efectuado en ratones CCSP -/-.²⁵ Estos hechos nos permiten afirmar que el epitelio de

revestimiento del aparato respiratorio no sólo juega un papel pasivo como barrera mecánica contra la infección por agentes patógenos o de manera clásica del barrido de sustancias extrañas presentes en la superficie luminal del mismo (por acción del aparato mucociliar), sino que interactúa de manera activa y constante con las células del sistema inmunitario para organizar respuestas inmunitarias innatas eficaces y efectivas. Este es un nuevo concepto que se ha venido construyendo con base en la evidencia experimental y ha tomado bastante fuerza a nivel mundial.

- 6) Unión de otras sustancias. La proteína CCSP tiene capacidad de unir progesterona, aunque su importancia a nivel fisiológico no ha sido comprobada en el hombre; puede unir calcio y producir su quelación en solución; une algunos fosfolípidos como fosfatidilcolina y fosfatidilinositol, y algunos compuestos xenobióticos de carácter lipofílico como los bifenilos policlorados.^{19,20}
- 7) Modulación del proceso de carcinogénesis. Como dato, cabe señalar que en el carcinoma *in situ* (conocido anteriormente como carcinoma bronquioloalveolar de tipo no mucinoso —un subtipo de adenocarcinoma—) hay diferenciación celular hacia células de Clara, que muestran proliferación hacia las paredes alveolares preexistentes. El otro tipo celular que se presenta, el neumocito tipo II, aparece de manera menos frecuente.²⁶⁻³⁰ Sin embargo, se ha observado que las células de la mayoría de carcinomas de células no pequeñas, incluyendo los adenocarcinomas, suelen expresar muy pequeñas (o nulas) cantidades de la proteína CCSP, y sólo pocas líneas celulares derivadas de éstos expresan cantidades apenas apreciables del ARNm que codifica esta proteína, a pesar de que estos tumores son abundantemente producidos por células progenitoras como es la célula de Clara (observar el inciso *Papel de la célula de Clara en la renovación y la regeneración del epitelio bronquiolar*, al final del artículo). Esta situación se refleja en las concentraciones disminuidas de la proteína CCSP, tanto en el suero como en el líquido obtenido del lavado broncoalveolar apreciable en las personas afectadas por este tipo de cáncer. Esto conduce a pensar que quizás la pérdida de la CCSP contribuya al proceso de carcinogénesis. Un mecanismo factible es que la CCSP inhiba la unión de las células tumorales a la fibronectina, bloqueando pues la cascada de señalización iniciada por su unión al receptor tipo integrina. Esto deriva en una menor expresión de metaloproteinasas, inhibición del crecimiento celular y estimulación de la apoptosis

en estas células malignas. En conjunto, estas acciones disminuirían la capacidad neoplásica de las células tumorales, un hecho observado en cultivos celulares.³¹

Regulación génica de la proteína secretoria de la célula de Clara (CCSP)

El gen que codifica la proteína CCSP ha sido localizado en la región cromosómica 11q12.2-13.1, una región que codifica varias proteínas asociadas con la regulación de la respuesta inflamatoria, hecho que muchos autores han interpretado como sugestivo de su papel en la mediación de la inflamación a nivel pulmonar.¹⁹ En el pulmón, la expresión del gen que codifica la proteína CCSP es regulado por los glucocorticoides, el interferón- γ (IFN- γ), la interleucina-4 (IL-4), la interleucina-13 (IL-13), el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y la hiperoxia. Se ha demostrado en ratones, tanto *in vivo* como *in vitro* (y en humanos sólo para los casos del TNF- α y del IFN- γ) que los glucocorticoides, la IL-13, el TNF- α y el IFN- γ estimulan la expresión del gen en el pulmón, mientras que la IL-4 y la hiperoxia disminuyen su expresión.

En ratones, el gen de la CCSP está formado por 3 exones de 114, 187 y 125 pares de bases nitrogenadas, separadas por 2 intrones de 2.434 y 1.373 pares de bases nitrogenadas. Esta estructura se conserva en muchas de las especies analizadas, incluido el ser humano, aunque difieren en el tamaño de las secuencias implicadas. El gen presenta dos regiones promotoras ubicadas corriente arriba (*upstream* en inglés) del sitio de inicio de la transcripción, una región promotora proximal y una región promotora distal, ambas ubicadas cerca al extremo 5' de la cadena de ADN. La región promotora proximal, implicada en la especificidad de la regulación según el tipo celular, comprende las pares de bases desde la -166 hasta el sitio de inicio de la transcripción. La región promotora distal comprende el segmento situado desde el par de bases -800 hasta el -166 y regula aproximadamente el 90% de la actividad transcripcional del gen. En las regiones promotoras se

encuentran numerosos elementos cis a los cuales se unen factores de transcripción, principalmente: el factor nuclear del hepatocito (HNF) HNF3 α y el HNF3 β , el factor de transcripción CCAAT/Enhancer Binding Protein (C/EBP), el factor de transcripción tiroideo 1 NKx 2.1 (también abreviado TTF-1) y la proteína activadora 1 (AP-1) (figura 6). Otros que intervienen en su regulación son SP1, SP3 y STAT1.^{32,33} A continuación se presentan algunos detalles de los mecanismos a través de los cuales se regula la expresión del gen de la CCSP.

Los glucocorticoides regulan elementos de respuesta ubicados en la región promotora proximal del gen de la CCSP a través de la acción de los factores de transcripción C/EBP β y C/EBP δ . Se ha sugerido que el incremento en la expresión del gen observado a través de la administración de glucocorticoides, es mediado por un incremento en la afinidad de estos factores de transcripción por el ADN y no por un aumento en su concentración.³⁴

La IL-13, según sugiere la evidencia, estimula la producción de la CCSP a través de un mecanismo indirecto. Este implicaría de manera crítica, la migración de leucocitos (especialmente neutrófilos) a la vía aérea y la estimulación de la actividad tirosina quinasa del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) por la IL-13 liberada por estos leucocitos. El TGF- α también estimula la producción de la CCSP en la vía aérea en seres humanos en un mecanismo que implica al EGFR.³⁵

El TNF- α , una citoquina multifuncional producida por monocitos, macrófagos y linfocitos, entre otras células, induce incrementos en los niveles de ARNm que codifican la proteína CCSP, al menos en parte a través de un mecanismo que actúa al nivel postranscripcional, aumentando su tiempo de vida media. Sin embargo, esto no excluye la existencia de un mecanismo de regulación de la expresión del gen que sea efectuado al nivel transcripcional; en dicho mecanismo estarían implicados principalmente los factores de transcripción de la familia AP-1 y los de la familia NF κ B; empero, no se conocen muchos detalles en relación al mismo.^{36,37}

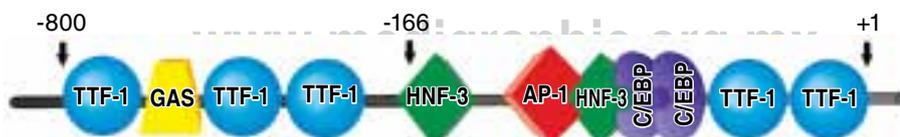


Figura 6. Esquema de la región promotora del gen de la CCSP que señala al interior de las figuras geométricas los factores de transcripción que se unen a la misma. Las siglas empleadas con sus respectivos significados son: TTF-1 (factor de transcripción tiroideo-1), GAS (Gama Interferon Activation Site), HNF-3 (factor nuclear del hepatocito-3), AP-1 (proteína activadora 1), C/EBP (factor de transcripción CCAAT/Enhancer Binding Protein). GAS es el sitio al que se une principalmente el factor de transcripción STAT1.

El IFN- γ incrementa los niveles del ARNm que codifica la proteína CCSP (incrementando su estabilidad a nivel postranscripcional).³⁸ También ocurre una importante regulación al nivel transcripcional; se ha identificado un elemento de respuesta al IFN- γ en la región promotora distal del gen de la CCSP llamado GAS (del inglés *Gamma Interferon Activation Site*), ubicado entre las pares de bases -314 y -284. Si bien, se ha demostrado que el principal mecanismo de regulación de la expresión de este gen actúa sobre la región promotora proximal, donde residen los sitios de unión al HNF3 β .

El IFN- γ se une a su receptor en la membrana celular, lo cual activa la vía de señalización de las JAK/STATs. A partir de aquí, se proponen dos mecanismos a través de los cuales el IFN- γ incrementa la expresión del gen de la CCSP: 1) unión de la proteína STAT1 a GAS, presente en la región promotora distal del gen, aumentando la transcripción del gen, y 2) activación, mediada por STAT1, del factor de respuesta al interferón 1 (IRF-1) que puede unirse directamente a su propio elemento de respuesta y activar la expresión del gen de la CCSP o puede activar la expresión génica del factor de transcripción HNF3 β , incrementando la actividad de éste sobre la región promotora proximal, donde residen sus sitios de unión, aumentando así la expresión del gen.³² Con respecto a este último mecanismo se ha comprobado en un modelo celular, que bajo la influencia del IFN- γ ocurren incrementos en la expresión del ARNm que codifica el factor HNF3 β , incrementos en su concentración y en su afinidad por el ADN. Además se ha observado que en ratones *knock-out* para el IRF-1, no hay incrementos de HNF3 β cuando se administra IFN- γ por vía endotraqueal ni incrementos en la expresión de CCSP; estas evidencias le otorgan un papel clave a este mecanismo en la regulación de la expresión del gen de la CCSP.³⁹

El oxígeno molecular (O₂) actúa sobre ambas regiones promotoras, ejerciendo su efecto al nivel transcripcional. Sin embargo, tiene un efecto más notorio sobre la región promotora proximal, que es casi totalmente responsable de la respuesta a las condiciones de hiperoxia. Se han propuesto dos mecanismos principales a través de los que actúa el O₂ en condiciones de hiperoxia. El primero de ellos implica la unión de dos familias de factores de transcripción relacionadas, la familia AP-1 y la familia C/EBP a sitios que se solapan con aquellos a los que se une el factor de transcripción HNF3 β . Bajo condiciones de hiperoxia, c-Jun se une al sitio de unión del factor AP-1 (formado este factor por dos subunidades Fos y Jun) disminuyendo la expresión del gen de la CCSP. Paralelamente, múltiples isoformas del factor C/EBP β , específicamente la proteína activadora hepática (LAP) y la proteína inhibitoria

hepática (LIP) interactúan con el sitio de unión del C/EBP β ; LIP disminuye la expresión del gen de la CCSP, mientras que LAP lo incrementa; en condiciones de hiperoxia la expresión de LIP aumenta y la de LAP se mantiene constante, por lo cual la expresión del gen de la CCSP se ve atenuada. El segundo mecanismo implica al factor NKx 2.1, conocido como un activador de la transcripción del gen de la CCSP; en condiciones de hiperoxia parece ser secuestrado en el citoplasma celular en forma de oligómeros, lo cual disminuye su actividad transcripcional a nivel nuclear.^{32,33}

A pesar de que la descripción previa dificulta comprenderlo, las moléculas encargadas de regular la expresión de la proteína CCSP no actúan de manera aislada, sino en conjunto; por lo cual, en todo momento la regulación génica de la expresión de la misma resulta ser un proceso complejo. Además, la existencia de múltiples mecanismos a través de los cuales actúan muchas de ellas sobre la expresión de la CCSP sugieren la importancia de su regulación a nivel pulmonar, principalmente por su papel como modulador de la inflamación.

Regulación fisiológica de la proteína secretoria de la célula de Clara (CCSP)

La CCSP, tal como ha sido dicho, es secretada principalmente por la célula de Clara en la porción terminal de los bronquiolos. Si bien, también es secretada en menores cantidades en la tráquea (y a lo largo del árbol bronquial), en el riñón y en la próstata en el ser humano. En los pulmones, la proteína pasa desde el líquido que reviste la superficie luminal del epitelio hacia la sangre atravesando el epitelio de revestimiento bronquiolar, el intersticio pulmonar y el endotelio vascular; este pasaje está gobernado principalmente por tres factores a saber: 1) la permeabilidad del epitelio a la CCSP, 2) las características moleculares de la CCSP, especialmente su peso molecular y 3) el gradiente de concentración existente entre los compartimientos a través de los cuales difunde. Cierta parte de la proteína permanece en el intersticio pulmonar y es drenada por capilares linfáticos en dirección a los ganglios linfáticos regionales y derivada en última instancia a la sangre. Allí, la CCSP tiene una vida media de solo 2 a 3 horas y es filtrada en el riñón por el glomérulo renal; luego de ser filtrada es reabsorbida por el epitelio que tapiza el túbulo proximal donde es catabolizada.¹¹ Dos proteínas están involucradas en la internalización y catabolismo de la CCSP a nivel del túbulo proximal: la cubilina y la megalina. La primera es una proteína periférica asociada a la membrana plasmática, de peso molecular 460-kDa, detectable en el borde en cepillo del epitelio del

túbulo proximal; la segunda es un receptor endocítico perteneciente a la familia del receptor de lipoproteínas de baja densidad. La unión de CCSP a la cubilina es un proceso dependiente del ión Ca^{+2} ; una vez unida a la cubilina, el complejo CCSP-cubilina sufre un proceso de endocitosis dependiente de la megalina y es degradada en el compartimiento endosómico/lisosomal, donde puede ser detectada por técnicas de inmunohistoquímica. Una vez degradada, la cubilina sufre un proceso de reciclaje en dirección a la membrana plasmática, donde vuelve a cumplir su función.⁴⁰

En condiciones normales, en individuos adultos, sólo pequeñas cantidades de la proteína salen del tracto genitourinario con la orina en cada micción. Sin embargo, la proporción secretada por la próstata incrementa después de la pubertad y aporta niveles más altos a la orina a partir de este período del desarrollo.¹¹ En contraste con esto, en fetos la proteína es excretada libremente por los riñones desde la sangre hacia el líquido amniótico, donde puede ser medido. Todo el metabolismo restante es igual que en individuos adultos.

Concentración normal de la proteína secretoria de la célula de Clara (CCSP) en algunos fluidos corporales

La concentración de la CCSP puede ser determinada en varios fluidos corporales: principalmente en el líquido del lavado broncoalveolar y en el suero, también en el líquido pleural, en el esputo, en el líquido obtenido del lavado nasal, en la orina, en el líquido cefalorraquídeo y en el líquido amniótico. Las concentraciones normales de la proteína CCSP en algunos de estos fluidos se mencionan en la tabla 1.^{17,20,41,42} Su medición en el líquido amniótico ha llevado a algunos autores a proponer a la CCSP como un marcador del grado de maduración pulmonar del feto.

Adicionalmente se ha demostrado que la concentración sérica de la proteína presenta una variación

circadiana que es similar en todos los sujetos y que no está influenciada por el género de la misma. Los niveles más elevados, presentes a las 7:00 a.m. son similares día a día para el sujeto en cuestión (mostrando diferencias en diversos individuos) y presentan una variación significativa entre las 11:30 a.m. y las 10:00 p.m. alcanzando los más bajos niveles a las 2:30 p.m.⁴³ Este aspecto de la regulación fisiológica de la CCSP debe ser tomada en cuenta en todos los estudios que se realicen en torno al empleo de esta proteína como marcador de daño pulmonar. Para calcular el efecto de esta variación, los autores de dicho estudio han diseñado una función algebraica que deberá ser empleada en futuras investigaciones con el fin de hacer interpretaciones más exactas sobre los resultados encontrados.

Proteína secretoria de la célula de Clara (CCSP) y enfermedades pulmonares

La mayoría de marcadores biológicos de la lesión o la inflamación del parénquima pulmonar hacen parte de la película superficial que tapiza el epitelio de revestimiento broncoalveolar y normalmente se miden a través del líquido del lavado broncoalveolar; estos marcadores consisten en proteínas plasmáticas o moléculas producidas localmente (citoquinas, enzimas o factores de crecimiento) por el epitelio de revestimiento o por células presentes en el estroma pulmonar, típicamente las células del sistema inmunológico: macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, mastocitos, plasmocitos, linfocitos T, células dendríticas interdigitantes, entre otras. No obstante, estudios adelantados desde hace años con la CCSP la han venido posicionando como un elemento clave para aproximarse al diagnóstico no invasivo de afecciones agudas o crónicas que alteren al epitelio de revestimiento bronquiolar. Este concepto parte del hecho de que las proteínas presentes normalmente en la película que cubre la superficial apical del epitelio de revestimiento bronquiolar pueden moverse en dirección

Tabla 1. Concentración normal de la proteína secretoria de la célula de Clara (CCSP) en diversos fluidos corporales. Las concentraciones de la CCSP en el líquido amniótico fueron determinadas en madres cuya gestación progresaba a través del segundo trimestre, más específicamente entre la semana 15 y la 19 de la gestación.

	Líquido del lavado broncoalveolar	Suero	CCSP/Creatinina en orina	Líquido cefalorraquídeo	Líquido amniótico (feto varón)	Líquido amniótico (feto hembra)
Concentración de la proteína CCSP ($\mu\text{g/L}$)	1,000-2,000	10-15	N/P	0.15-0.225	5.5-145.5	0.3-150.6
Concentración de la proteína CCSP ($\mu\text{g/g}$)	N/P	N/P	0-5.83	N/P	N/P	N/P

N/P: No presenta datos.

al plasma a través del epitelio, el tejido conectivo y los vasos sanguíneos, cuando existe una permeabilidad aumentada de la barrera epitelial o cuando esta está intacta, pero hay una reducción en la cantidad de células de Clara o cuando su estructura está alterada (en cuyo caso se vería disminuida la concentración sérica de la CCSP). Entonces se puede acceder a los niveles de la CCSP no solo a través de un lavado broncoalveolar, sino también a través de su medición en plasma para averiguar el estado funcional del epitelio pulmonar en ciertas afecciones.²⁰

A continuación se hará revisión de las principales entidades clínicas en las cuales la medición de los niveles de la proteína podría ser de ayuda en el diagnóstico y pronóstico de las mismas. Es muy importante anotar que en ninguno de los estudios reportados se investigaron pacientes con función renal comprometida, de manera que su validez puede ser aceptada como suficiente para los fines de la presente revisión académica. Esto debido a que los niveles séricos de la CCSP muestran un incremento sustancial cuando el glomérulo renal no filtra adecuadamente la sangre o cuando existen defectos en la absorción tubular renal, específicamente a nivel de los túbulos proximales.¹¹

Daño epitelial agudo

Existen reportes en la literatura sobre la relación que existe entre la ocurrencia de daño epitelial agudo y la elevación de la concentración de la CCSP en el suero y en el líquido del lavado broncoalveolar.

Típicamente la exposición a noxas como las partículas del humo, el ozono, entre otros, ocasionan daño al epitelio que reviste las vías respiratorias, con el consiguiente aumento de la permeabilidad de la barrera broncoalveolar/sanguínea y que resulta en un mayor grado de difusión de proteínas desde y hacia la sangre, según su gradiente de concentración. Si la noxa se mantiene por un tiempo prolongado ocasiona daño al estroma pulmonar, que acentúa el efecto nocivo sobre la salud.

La proteína CCSP de bajo peso molecular se encuentra en el líquido que tapiza el epitelio broncoalveolar en concentraciones que alcanzan los tres órdenes de magnitud por encima de su concentración de sangre (tabla 1), por lo cual existe un gradiente de concentración bastante amplio. Ello facilita que ante la ocurrencia de un evento inflamatorio de carácter agudo, ocurran incrementos casi inmediatos en la concentración de esta proteína en la sangre, como lo muestra un estudio hecho en bomberos que habían sido expuestos al humo de la combustión de polipropileno.⁴⁴ Sin embargo, no se encontraron reportes que den cuenta de los efectos

inmediatos del humo de cigarrillo sobre los niveles séricos de la CCSP, una investigación que sería de ayuda en la promoción de políticas de prevención hacia el consumo de estas sustancias.

La exposición al ozono también resulta lesivo, ya que causa estrés oxidativo y la aparición de poros (o aumento del tamaño de los ya existentes) a nivel de las uniones ocluyentes en el epitelio de revestimiento broncoalveolar, situación que favorece el escape de la CCSP hacia el torrente sanguíneo y el consecuente aumento de su concentración sérica en individuos tanto bajo condiciones atmosféricas normales⁴⁵ como en condiciones atmosféricas controladas al interior de una cámara.⁴⁶ Como se comenta en el segundo de estos estudios, bajo estas condiciones las concentraciones séricas o en el líquido del lavado broncoalveolar de otras proteínas típicamente presentes en eventos de daño tisular como la albúmina, no muestran cambios, como sí lo hace la CCSP; ello la sitúa como un marcador muy sensible al daño agudo del epitelio de revestimiento bronquiolar. La explicación de esto descansa en el menor peso molecular y el más amplio gradiente de concentración existente entre el líquido que tapiza el epitelio broncoalveolar y la sangre, tanto para la CCSP como para la albúmina.

Daño pulmonar agudo

El daño pulmonar agudo es un síndrome grave caracterizado por falla pulmonar hipoxémica aguda, acompañada de infiltrados pulmonares, no asociado a hipertensión auricular izquierda. Esta enfermedad constituye un problema de salud pública en los Estados Unidos.⁴⁷

Se ha encontrado que los niveles de la CCSP tanto en el plasma como en el fluido de edema pulmonar de pacientes afectados con daño pulmonar agudo o con síndrome de dificultad respiratoria aguda, están notablemente disminuidos en relación con los hallados en el edema agudo pulmonar cardiogénico, lo cual podría ser útil en el diagnóstico diferencial de estas entidades clínicas. También los pacientes afectados con daño pulmonar agudo o con síndrome de dificultad respiratoria aguda presentan una relación CCSP/proteínas de fluido de edema pulmonar, menor a la encontrada en pacientes con edema agudo pulmonar cardiogénico, otra característica útil en el diagnóstico diferencial de estas entidades clínicas. Los autores proponen que los bajos niveles de la proteína encontrados en el daño pulmonar agudo son debidas a tres mecanismos principales: 1) alteraciones en la permeabilidad del epitelio alveolar, 2) muerte de las células de Clara y 3) cambios en la actividad transcripcional de las células de Clara sobrevivientes. Si bien, el bajo número de pacientes

empleados en este estudio, tal como comentan los autores, le resta impacto en su intento de validar la medición de los niveles de esta proteína como indicador del diagnóstico y pronóstico en estos pacientes.⁴⁸

A la misma conclusión llegaron McAuley *et al.*, en su corto artículo, cuando afirman que aún no existen suficientes pruebas que confirmen la utilidad de la medición de los niveles de CCSP en el diagnóstico de daño pulmonar agudo y en el pronóstico de los pacientes gravemente afectados con esta patología. Resta camino por recorrer en este aspecto.⁴⁹

Daño pulmonar crónico

La determinación de los niveles de la CCSP en el suero y en el líquido del lavado bronchoalveolar, también es de utilidad para determinar los efectos a largo plazo de los polutos presentes en el aire sobre la integridad del epitelio de revestimiento respiratorio.

Para el caso del humo de cigarrillo se ha demostrado que el número de células de Clara presentes en el epitelio bronquiolar es significativamente menor en pacientes fumadores que en pacientes no fumadores. En pacientes fumadores las células de Clara representaron el 4.3% del total de las células epiteliales en los bronquiolos propiamente dichos, en contraste con el 8.3% para los pacientes no fumadores. Lo mismo ocurrió en el epitelio que reviste los bronquiolos terminales y respiratorios donde las células de Clara representaban el 8% del total de las células epiteliales en los pacientes fumadores, mientras que en pacientes no fumadores representaban el 14.5%.¹⁰ Otro estudio efectuado a fines de la década de 1990 mostró que en pacientes fumadores las células de Clara representaban el 17% de la población celular epitelial de los bronquiolos, en contraste con el 30% para los pacientes no fumadores. Esta situación se ve reflejada en los niveles disminuidos de la proteína CCSP encontrados en el suero y en el líquido del lavado broncoalveolar de pacientes fumadores en relación con los no fumadores.^{50,51}

Se ha demostrado, además, que a pesar de que ocurre regeneración del epitelio bronquiolar después de que una persona ha dejado de fumar, esta no es completa y siempre permanecen secuelas que explican que los niveles de la CCSP en el líquido del lavado broncoalveolar retornen a un valor cercano a aquellos presentes durante el período de consumo y no retornen a valores completamente normales.⁵²

Enfermedades ocupacionales

Las neumoconiosis son un grupo de enfermedades causadas por la inhalación de polvos minerales (polvo

de carbón, sílice, asbestos o berilio), humos o vapores, cuyas partículas se depositan a nivel intracelular y/o extracelular, generalmente como cristales, de un material indigerible por los fagocitos (principalmente los macrófagos). Estos depósitos causan la activación de los macrófagos alveolares, con secreción de factores fibrogénicos (sustancias que causan la proliferación de fibroblastos y posterior secreción de colágeno, con fibrosis pulmonar resultante que puede ser mayor o menor dependiendo de la partícula en cuestión), factores tóxicos como radicales de oxígeno y proteasas que degradan la matriz extracelular, y factores proinflamatorios (como IL-1, IL-6, TNF- α , entre otros).^{53,54}

Se ha demostrado que en trabajadores expuestos constantemente a la inhalación de polvo rico en cristales de sílice (SiO₂) se presentan niveles séricos significativamente reducidos de CCSP, aún en ausencia de signos radiográficos o funcionales que indiquen alteración en el tejido pulmonar;^{55,56} ello demuestra el alto nivel de sensibilidad que tiene la proteína como biomarcador en el diagnóstico temprano de la silicosis, una enfermedad incurable.

En pacientes con asbestosis se presentan niveles séricos elevados de CCSP en comparación con pacientes sanos. También se presentan mayores niveles en el líquido del lavado broncoalveolar en los pacientes afectados con asbestosis que en los no afectados. Estos cambios ocurren en etapas tempranas de la enfermedad, aún en ausencia de modificaciones a nivel de la pleura o en el parénquima pulmonar que suelen acompañarla y se mantienen a lo largo de la misma sin mayores modificaciones.^{57,58} Además, el perfil bioquímico del líquido del lavado broncoalveolar y del suero obtenido de pacientes expuestos a la inhalación de asbesto o ya afectados con asbestosis, difiere del presente en los pacientes afectados con fibrosis pulmonar idiopática. En los primeros se presentan niveles más elevados de CCSP en las primeras fases de la enfermedad, que se sostienen hasta las fases avanzadas cuando la fibrosis difusa que afecta el parénquima pulmonar es similar al presentado en la fibrosis pulmonar idiopática. Por ello, puede resultar útil en el diagnóstico diferencial entre los estadios avanzados de la asbestosis y de la fibrosis pulmonar idiopática, cuando se hace junto a una medición de los niveles de la proteína del surfactante pulmonar SP-A (que también muestra incrementos en la asbestosis), otro biomarcador empleado en la asbestosis y en la silicosis (en cuyo caso se emplea la relación CCSP/albúmina y SP-A/albúmina para hacer el diagnóstico diferencial).⁵⁷

Por otra parte, no se encontraron reportes en la literatura sobre los niveles de CCSP en la neumoconiosis de los trabajadores del carbón, una investigación que

podría arrojar nuevas luces en el diagnóstico temprano y oportuno de esta patología.

Otras enfermedades y complicaciones respiratorias

Los niveles de la proteína CCSP han sido estudiados en otras múltiples enfermedades que afectan al aparato respiratorio. Estas incluyen: rinitis crónica,⁵⁹ rinitis alérgica,^{60,61} asma,⁶²⁻⁶⁵ infección por virus sincitial respiratorio,⁶⁶ enfermedad pulmonar obstructiva crónica,^{67,68} fibrosis pulmonar idiopática,^{69,70} fibrosis quística,⁷¹ bronquiolitis obliterante,^{72,73} síndrome de dificultad respiratoria aguda,^{74,75} displasia broncopulmonar,⁷⁶⁻⁷⁸ sarcoidosis^{70,79-81} y cáncer de pulmón.^{31,82,83} Se ha analizado su utilidad como biomarcador en casos de rechazo de trasplante de pulmón,⁸⁴ en casos de derrame pleural⁸⁵ y en pacientes con neumonía asociada al ventilador.⁸⁶ También como marcador de la función del túbulo proximal a nivel renal.⁴¹ Los cambios que suceden en la concentración de la proteína CCSP en los fluidos corporales, específicamente en suero, en líquido del lavado broncoalveolar y en orina (este último sólo para el caso de su empleo como marcador de disfunción tubular renal), son evaluados en la tabla 2.

Otras proteínas secretadas por la célula de Clara

Además de la CCSP, la célula de Clara tiene otros productos de secreción de naturaleza proteica que secreta en menores proporciones que la primera, entre las que se cuentan:

- Proteína de 55 kDa de la célula de Clara: Una proteína identificada en el líquido del lavado broncoalveolar en ratas. Su función permanece desconocida
- Inhibidor de la proteasa leucocitaria: Proteína de 11.7 kDa capaz de inhibir las enzimas elastasa y catepsina G presentes en los gránulos primarios o azurófilos (lisosomas) de los neutrófilos.
- Proteína (lectina) fijadora de β -galactosidasa: Una proteína identificada en el líquido del lavado broncoalveolar en ratas.¹⁹
- Fosfolipasa A secretoria: Enzima rica en disulfuros, de 14 kD de peso molecular que hidroliza el enlace éster entre el glicerol y el grupo acilo en posición 2 de los fosfolípidos de las membranas bacterianas. La fosfolipasa A2 es especialmente eficiente contra bacterias grampositivas. Probablemente, sea tam-

Tabla 2. Concentración de la proteína CCSP en varias entidades clínicas en relación con los niveles normales de la misma presentes en suero, en líquido del lavado broncoalveolar y en orina (determinados para cada caso en los estudios realizados al respecto empleando grupos de control y cuyos resultados se reportan en las fuentes citadas). Para el caso de la rinitis alérgica sólo se han reportado estudios en los que la proteína CCSP se mide en el fluido obtenido de un lavado nasal. Los autores no reportamos la existencia de valores de referencia de esta proteína en este fluido; por lo tanto, nos abstenemos de evaluar qué tipo de cambio muestra la proteína en el mismo en la rinitis alérgica.

Entidad clínica	Concentración de CCSP en suero	Concentración de CCSP en líquido obtenido del lavado broncoalveolar	Relación CCSP/Creatinina
Asma	Disminuida	N/P	N/P
Bronquiolitis obliterante	Disminuida	Disminuida	N/P
Cáncer de pulmón	Igual o disminuida	N/P	N/P
Derrame pleural	Aumentada	N/P	N/P
Disfunción tubular proximal renal	N/P	N/P	Aumentada
Displasia broncopulmonar	Disminuida	Disminuida	N/P
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	Disminuida	N/P	N/P
Fibrosis pulmonar idiopática	Aumentada	Aumentada	N/P
Fibrosis quística	N/P	Disminuida	N/P
Infección por virus sincitial respiratorio	Aumentada	N/P	N/P
Neumonía asociada al ventilador	N/P	Aumentada	N/P
Rechazo de trasplante pulmonar	Aumentada	N/P	N/P
Rinitis alérgica	N/P	N/P	N/P
Rinitis crónica	Igual	N/P	N/P
Sarcoidosis	Aumentada	Aumentada	N/P
Síndrome de dificultad respiratoria aguda	Aumentada (en relación con el pronóstico del paciente)	N/P	N/P

N/P: No presenta datos.

bién importante en el catabolismo del surfactante pulmonar.^{19,87}

- Triptasa de la célula de Clara: Proteasa de peso molecular de 30 kDa con actividad enzimática parecida a la de la tripsina.
- Proteína del surfactante pulmonar A (SP-A): Glicoproteína hidrofílica con peso molecular de unos 650 kD, producida principalmente por los neumocitos tipo II, crítica en la defensa del huésped contra microorganismos invasores como el virus de la influenza, herpes simple, virus sincitial respiratorio; bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Mycoplasma pneumoniae*; hongos como *Histoplasma capsulatum* y *Aspergillus fumigatus*, a los que se une como opsonina e incrementa su fagocitosis por parte de los macrófagos alveolares, lo que asegura su eliminación del espacio alveolar.
- Proteína del surfactante pulmonar B (SP-B): Proteína homodimérica altamente hidrofóbica, que consta de 2 polipéptidos de 79 aminoácidos, con peso molecular de unos 17.4 kD que hace parte esencial del surfactante pulmonar. Es producida principalmente por los neumocitos tipo II.
- Proteína del surfactante pulmonar D (SP-D): Lectina dependiente de calcio, producida también por los neumocitos tipo II, que al igual que la SP-A juega un papel importante como opsonina en la defensa inmunológica del aparato respiratorio a nivel de los alvéolos pulmonares.^{19,88}

De este apartado se puede destacar que la célula de Clara, como es popularmente conocido, también ayuda a secretar el surfactante pulmonar, específicamente sintetizando y secretando las proteínas SP-A, SP-B y SP-D.

Papel de la célula de Clara en la renovación y la regeneración del epitelio bronquiolar

Por último, es pertinente mencionar algunos aspectos acerca del importante papel de las células de Clara en la renovación y la regeneración del epitelio bronquiolar.

En el período que sigue al final del desarrollo posnatal del pulmón, este órgano alcanza un estado de equilibrio en el que la renovación epitelial es lenta, siendo menor al 1% por día. Sin embargo, tras sufrir una lesión el epitelio tiene la capacidad de regenerarse. Esto se debe a la presencia de células progenitoras en el epitelio que tapiza esta porción del aparato respiratorio, siendo las células de Clara una de las más abundantes poblaciones de este tipo de células a nivel pulmonar.⁸⁹ Esto hecho pone de relieve que en condi-

ciones homeostáticas las células progenitoras son una población bastante estable (mitóticamente hablando), y no contribuyen de manera significativa a la renovación del epitelio. Sólo cuando ocurre una lesión del mismo, estas células muestran una amplia capacidad mitótica para lograr la regeneración del epitelio vulnerado.⁹⁰ En seres humanos y bajo condiciones normales, las células de Clara representan aproximadamente el 15% y el 44% del total del compartimiento de células en proliferación en los bronquiolos terminales y los bronquiolos respiratorios, respectivamente.⁶ Además de las células de Clara propiamente dichas (es decir aquellas que expresan el citocromo P450 y la proteína CCSP), existen varias poblaciones de células que expresan la proteína CCSP y que están implicadas en la regeneración del epitelio bronquiolar tras haber sufrido una lesión (al menos en ratones); de las cuales las principales son: células CCSP⁺ variantes (vCE), células madre que coexpresan el factor de transcripción-4 de unión a octámeros y la proteína CCSP (OCT-4⁺/CCSP⁺), células madre broncoalveolares (BASC, del inglés *bronchioalveolar stem cell*) y neumocitos tipo 2. Las células OCT-4⁺/CCSP⁺ y las BASC residen a nivel de la unión de los conductos broncoalveolares (BADJ, del inglés *bronchioalveolar duct junction*), que es la sección comprendida entre los bronquiolos terminales y la zona de aparición de los sacos alveolares. En conjunto estas poblaciones pueden dar origen básicamente a 4 tipos celulares: células de Clara, células ciliadas, neumocitos tipo I y neumocitos tipo II.^{89,91} Un esquema general de la proliferación y diferenciación de las diversas poblaciones de células CCSP⁺ se muestra en la figura 7.

Las vCE no expresan la isoenzima 2F2 del citocromo P450 (CYP2F2, expresado en células de Clara morfológicamente identificadas) y se encuentran a nivel de las BADJ, principalmente en relación con los cuerpos neuroepiteliales. Esta población juega un papel central en la regeneración del epitelio tras una lesión del mismo.^{15,92} Ante la ocurrencia de un evento de lesión tisular, las vCE se activan, se autorrenuevan y dan origen a células de Clara propiamente dichas; estas células adquieren capacidad mitótica, ahora llamadas células tipo A, que a su vez pueden diferenciarse a células ciliadas o a células tipo B; las células tipo B se diferencian también a células de Clara. En ciertas lesiones, también las vCE pueden diferenciarse a células productoras de moco, parcialmente diferentes a las células caliciformes estándar (figura 7).¹⁵

Las células OCT-4⁺/CCSP⁺ tienen la capacidad para dar origen a neumocitos tipo II y a neumocitos tipo I, en ese orden, tal como fue demostrado en cultivos celulares (figura 7).⁹³

Las BASC se caracterizan por coexpresar la proteína CCSP y la proteína SP-C. Existe controversia

sobre cuáles son los tipos celulares a los que puede dar origen esta célula. Según Kim *et al.*, las BASC son capaces de autorrenovarse y dar origen a neumocitos tipo II, tanto en condiciones homeostáticas como de reparación epitelial. A su vez, estos neumocitos tipo II muy probablemente son los encargados de originar los neumocitos tipo I.⁹⁴ Empero, tal como señala el estudio realizado por Nolen-Walston *et al.*, *in vivo* las BASC no son capaces de regenerar el epitelio broncoalveolar sin la ayuda de otras células progenitoras, como los neumocitos tipo II (figura 7).⁹⁵

En contraposición para Rawlins *et al.*, las BASC (y las células de Clara propiamente dichas) no contribuyen de manera significativa a la formación de neumocitos en el epitelio alveolar, mientras que sí muestran capacidad de autorrenovarse y de dar origen a nuevas células ciliadas en los bronquiólos durante el período del de-

sarrollo posnatal (para ellos, todas las células ciliadas de los bronquiólos provienen de las células de Clara propiamente dichas) (figura 7). Ante la ocurrencia de un evento de daño tisular, estas células no contribuirían a la regeneración del epitelio alveolar en ningún período del desarrollo.⁹⁹ El estudio realizado por Giangreco *et al.*, empleando una técnica de inmunofluorescencia para detectar la presencia de células CCSP⁺/SP-C⁺ en el epitelio alveolar, no arrojó resultados positivos, apoyando la hipótesis de que las células BASC no contribuyen al mantenimiento del epitelio alveolar. Además, encontró que la mayoría de células derivadas de las BASC y de las vCE eran células ciliadas (marcadas para tubulina acetilada), brindando más evidencia para confiar en la hipótesis propuesta por Rawlins *et al.*, y el modelo propuesto por Reynolds *et al.*, para la diferenciación de las vCE.⁹⁰

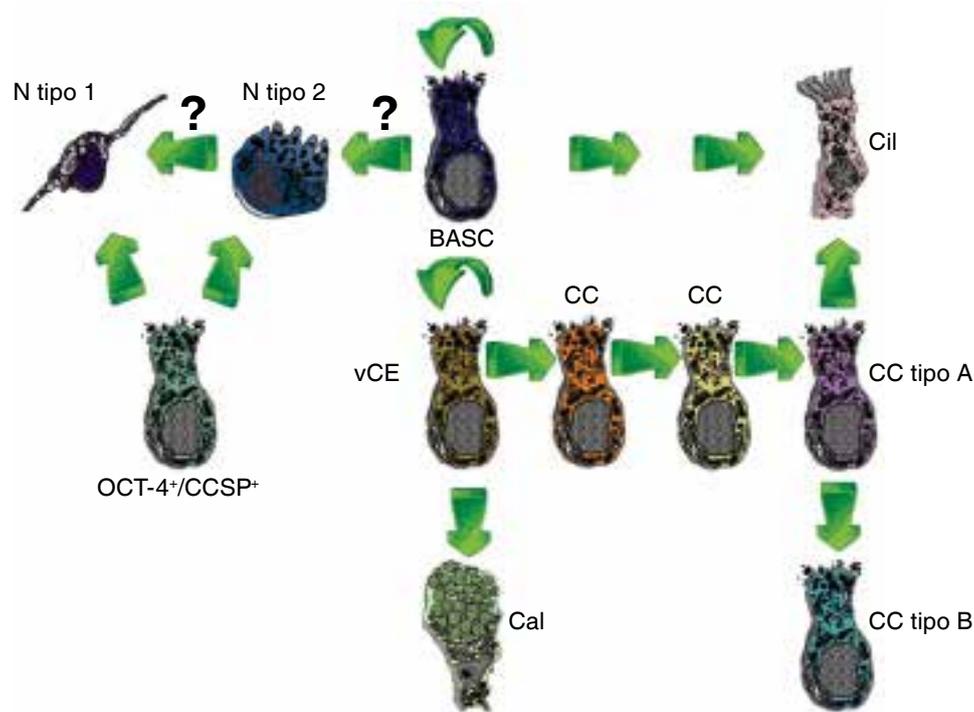


Figura 7. Esquema de la proliferación y diferenciación de las diversas poblaciones de células CCSP⁺. Cada tipo celular está identificado por siglas de acuerdo a la siguiente clave: célula CCSP⁺ variantes (vCE), célula OCT-4⁺/CCSP⁺ (OCT-4⁺/CCSP⁺), célula BASC (BASC), célula de Clara (CC), célula de Clara tipo A (CC tipo A), célula de Clara tipo B (CC tipo B), célula ciliada (Cil), célula caliciforme (Cal), neumocito tipo 1 (N tipo 1) y neumocito tipo 2 (N tipo 2). En caso de lesión tisular la célula vCE se puede autorrenovar y puede dar origen a células de Clara o a células ciliadas. Las dos células de Clara que se muestran en la figura a la derecha de la célula vCE representan varios estadios de diferenciación hasta llegar a célula de Clara tipo A, que es el estadio con capacidad mitótica. La célula de Clara tipo A puede diferenciarse a célula ciliada o a célula de Clara tipo B (mostrada en azul en la esquina inferior derecha del esquema). Esta célula de Clara tipo B da origen a células de Clara propiamente dichas (no mostradas en la figura). Las vCE también pueden dar origen a las células caliciformes. Por su parte, las células OCT-4⁺/CCSP⁺ pueden dar origen a neumocitos tipo 1 o neumocitos tipo 2. Además, estas células pueden originarse a partir de células BASC, que primero forman neumocitos tipo 2 y estos, a su vez, formarían neumocitos tipo 1. Para más detalles consultar el texto.

Otras poblaciones importantes en la regeneración del epitelio broncoalveolar son los neumocitos tipo II, las células neuroepiteliales y células de origen mieloide CCSP⁺.

Desde hace algún tiempo ya se tenían evidencias de la presunta existencia de una población de neumocitos tipo II, con gran capacidad para regenerar el epitelio alveolar y hace poco se demostró su existencia; son células que coexpresan la proteína SP-C y la proteína CCSP (tal como las BASC), están presentes en la cercanía de las BADJ y muestran capacidad de autorrenovarse y de dar origen a neumocitos tipo 1, lo que significa que son la principal célula progenitora del epitelio alveolar.⁸⁹ Las células neuroepiteliales juegan un papel capital en la regeneración del epitelio respiratorio tras haber sufrido una lesión. Según indica la evidencia estas células sufren un proceso de hiperplasia tras una lesión al epitelio bronquiolar y parecen conformar una población de células progenitoras autorrenovables, con capacidad para regenerar algunos tipos celulares, más no todos, de esta porción del árbol bronquial. Esta condición se da principalmente cuando ha ocurrido una lesión de las células de Clara, demostrable con métodos de inmunohistoquímica.⁹² Por último, Wong *et al.*, identificaron una población de células progenitoras provenientes de la médula ósea, potencialmente implicadas en la regeneración del epitelio bronquiolar tras una lesión. Estas células expresan la proteína CCSP (BM CCSP⁺) y están presentes tanto en ratones como en seres humanos.⁹¹

Tal como indica la evidencia, muy probablemente el ambiente o nicho en el que se encuentra la célula de Clara (principalmente los cuerpos neuroepiteliales, la pared de los bronquiolos terminales y respiratorios y las BADJ) determine su comportamiento como célula progenitora; con ello, hacemos referencia a que el ambiente definirá la velocidad a la que producirá regeneración epitelial y los tipos celulares a los que dará origen.⁸⁹

Conflictos de interés

Aún queda largo camino por recorrer en el estudio de esta célula ya que son varios los aspectos que permanecen desconocidos o inciertos. Como hecho conflictivo se encontró la cuestión de que en varios de los estudios que determinan la utilidad de la proteína CCSP como biomarcador en algunas entidades nosológicas que afectan el pulmón, no se tienen en cuenta las variaciones circadianas que presenta este producto de secreción en los fluidos corporales. Ello tal vez resulte explicable por el hecho de que muchos de los estudios clínicos de la proteína en las enfermedades pulmonares fueron ejecutados previamente al estudio en el que se

comprobó este fenómeno o porque los resultados del mismo no fueron consultados previo a la ejecución de dichos estudios. Por ello, las interpretaciones dadas al respecto pueden estar en algunos casos sobreestimadas o subestimadas. Es un llamado, pues, a revisar la publicación de Helledey *et al.*, disponible en el número 3, volumen 130 de la revista Chest, órgano de publicación oficial del American College of Chest Physicians.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Colombia, alma máter por excelencia en Colombia, que a través del Sistema Nacional de Bibliotecas (SINAB) permite a sus estudiantes y docentes tener acceso gratuito a una enorme e increíble cantidad de artículos a los que normalmente sólo se puede acceder a través de una suscripción, y que se constituye en una herramienta muy valiosa para la preparación de escritos científicos como el presente.

Especiales agradecimientos al doctor Enrique Miguel Altamar Ospino, patólogo anatómico y clínico por la revisión de nuestro artículo, y por sus pertinentes comentarios y sugerencias que fueron de inmensa ayuda en la redacción y la mejoría del mismo. También al doctor Germán Enrique Pérez Romero, por su colaboración en la redacción de varias cartas a los editores de múltiples revistas, algunos de los cuales muy amablemente cedieron algunas de las imágenes del presente artículo.

REFERENCIAS

1. Woywodt A, Lefrack S, Matteson E. *Tainted eponyms in medicine: the "Clara" cell joins the list.* Eur Respir J 2010;36:706-708.
2. Winkelmann A, Noack T. *The Clara cell: a "Third Reich eponym"?* Eur Respir J 2010;36:722-727.
3. González-López E, Cuerda-Galindo E. *The use of corpses and organs in research and medical education. Lessons from history.* Med Clin 2012;138:441-444.
4. Ross M, Pawlina W. *Aparato respiratorio. Histología. Texto y atlas color con biología celular y molecular.* 5a. ed. Argentina: Médica Panamericana; 2007.p.676-677.
5. Ochs M, Weibel ER. *Functional design of the human lung for gas exchange.* In: Fishman AP, Elias JA, Fishman JA, Grippi MA, Senior RM, Pack AI, editors. *Fishman's pulmonary diseases and disorders.* 4th. ed. USA: McGraw-Hill Medical; 2008.p.29-30.
6. Boers JE, Ambergen AW, Thunnissen FB. *Number and proliferation of Clara cells in normal human airway epithelium.* Am J Respir Crit Care Med 1999;159:1585-1591.
7. Coppens JT, van Winkle LS, Pinkerton K, Plopper CG. *Distribution of Clara cell secretory protein expression in the tracheobronchial airways of rhesus monkeys.* Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2007;292:1155-1162.

8. Fraser RS, Müller NL, Colman N, Paré PD. *Las vías aéreas y la ventilación pulmonar*. En: Fraser RS, Müller NL, Colman N, Paré PD, editores. *Diagnóstico de las enfermedades del tórax*. Vol. 1. 4a. ed. Argentina: Médica Panamericana; 2002.p.9-10.
9. Blundell R. *The biology of Clara cells-review paper*. Int J Mol Med Adv Sci 2006;2:307-311.
10. Lumsden AB, McLean A, Lamb D. *Goblet and Clara cells of human distal airways: evidence for smoking induced changes in their numbers*. Thorax 1984;39:844-849.
11. Broeckaert F, Clippe A, Knoop B, Hermans C, Bernard A. *Clara cell secretory protein (cc16): features as a peripheral lung biomarker*. Ann N Y Acad Sci 2000;923:68-77.
12. Mukherjee A, Zhang Z, Chilton B. *Uteroglobin: a steroid-inducible immunomodulatory protein that founded the secretoglobin superfamily*. Endocr Rev 2007;28:707-725.
13. Umland TC, Swaminathan S, Singh G, et al. *Structure of a human Clara cell phospholipid-binding protein-ligand complex at 1.9 Å resolution*. Nat Struct Biol 1994;1:538-545.
14. Singh G, Singh J, Katyal SL, et al. *Identification, cellular localization, isolation, and characterization of human Clara cell-specific 10 KD protein*. J Histochem Cytochem 1988;36:73-80.
15. Reynolds S, Malkinson A. *Clara cell: progenitor for the bronchiolar epithelium*. Int J Biochem Cell Biol 2010;42:1-4.
16. Khor A, Gray ME, Singh G, Stahlman MT. *Ontogeny of Clara cell-specific protein and its mRNA: their association with neuroepithelial bodies in human fetal lung and in bronchopulmonary dysplasia*. J Histochem Cytochem 1996;44:1429-1438.
17. Perni SC, Vardhana S, Kalish R, Chasen S, Witkin SS. *Clara cell protein 16 concentration in mid-trimester amniotic fluid: association with fetal gender, fetal G > A +38 CC16 gene polymorphism and pregnancy outcome*. J Reprod Immunol 2005;68:85-90.
18. Klug J, Beier HM, Bernard A, et al. *Uteroglobin/Clara cell 10-kDa family of proteins: nomenclature committee report*. Ann N Y Acad Sci 2000;923:348-354.
19. Singh G, Katyal S. *Clara cell proteins*. Ann N Y Acad Sci 2000;923:43-58.
20. Broeckaert F, Bernard A. *Clara cell secretory protein (CC16): characteristics and perspectives as lung peripheral biomarker*. Clin Exp Immunol 2000;30:469-475.
21. Jorens PG, Sibille Y, Goulding NJ, et al. *Potential role of Clara cell protein, an endogenous phospholipase A2 inhibitor, in acute lung injury*. Eur Respir J 1995;8:1647-1653.
22. Chowdhury B, Mantile-Selvaggi G, Miele L, Cordella-Miele E, Zhang Z, Mukherjee AB. *Lys 43 and Asp 46 in alpha-helix 3 of uteroglobin are essential for its phospholipase A2 inhibitory activity*. Biochem Biophys Res Commun 2002;295:877-883.
23. Johansson S, Andersson K, Wennergren G, Wennerås C, Rudin A. *CC16 Inhibits the migration of eosinophils towards the formyl peptide fMLF but not towards PGD2*. Inflammation 2009;32:65-69.
24. Snyder JC, Reynolds SD, Hollingsworth JW, Li Z, Kaminski N, Stripp BR. *Clara cells attenuate the inflammatory response through regulation of macrophage behavior*. Am J Respir Cell Mol Biol 2010;42:161-171.
25. Reynolds SD, Reynolds PR, Snyder JC, Whyte F, Paavola KJ, Stripp BR. *CCSP regulates cross talk between secretory cells and both ciliated cells and macrophages of the conducting airway*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2007;293:114-123.
26. Beasley MB, Travis WD, Rubin E. *The respiratory system*. In: Rubin R, Strayer D, Rubin E. *Rubin's pathology. Clinical Pathologic Foundations of Medicine*. 6th. ed. USA: Wolters-Kluwer; 2007.p.597.
27. Mohan H. *El aparato respiratorio*. En: Mohan H, editor. *Patología*. 6a. ed. Argentina: Médica Panamericana; 2010.p.501.
28. Yousem SA, Beasley MB. *Bronchioloalveolar carcinoma: a review of current concepts and evolving issues*. Arch Pathol Lab Med 2007;131:1027-1032.
29. Tan MA, Teichberg S, Roberts B, Hajdu S. *Ultrastructural findings in metastatic bronchioloalveolar carcinoma*. Ann Clin Lab Sci 2003;33:289-294.
30. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. *International association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma*. J Thorac Oncol 2011;6:244-285.
31. Linnoila RI, Szabo E, DeMayo F, Witschi H, Sabourin C, Malkinson A. *The role of CC10 in pulmonary carcinogenesis: from a marker to tumor suppression*. Ann N Y Acad Sci 2000;923:249-267.
32. Chang A, Ramsay P, Zhao B, et al. *Physiological regulation of uteroglobin/CCSP expression*. Ann N Y Acad Sci 2000;923:181-192.
33. Ramsay P, Luo Z, Major A, et al. *Multiple mechanisms for oxygen-induced regulation of the Clara cell secretory protein gene*. FASEB J 2003;17:2142-2144.
34. Berg T, Cassel TN, Schwarze PE, Nord M. *Glucocorticoids regulate the CCSP and CYP2B1 promoters via C/EBP beta and delta in lung cells*. Biochem Biophys Res Commun 2002;293:907-912.
35. Kim S, Shim JJ, Burgel PR, et al. *IL-13-induced Clara cell secretory protein expression in airway epithelium: role of EGFR signaling pathway*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2002;283:67-75.
36. Yao XL, Levine SJ, Cowan MJ, Logun C, Shelhamer JH. *Tumor necrosis factor-alfa stimulates human Clara cell secretory protein production by human airway epithelial cells*. Am J Respir Cell Mol Biol 1998;19:629-635.
37. Cowan MJ, Huang X, Yao XL, Shelhamer JH. *Tumor necrosis factor alpha stimulation of human Clara cell secretory protein production by human airway epithelial cells*. Ann N Y Acad Sci 2000;923:193-201.
38. Yao XL, Ikezono T, Cowan M, Logun C, Angus CW, Shelhamer JH. *Interferon-gamma stimulates human Clara cell secretory protein production by human airway epithelial cells*. Am J Physiol 1998;274:864-869.
39. Ramsay PL, Luo Z, Magdaleno SM, et al. *Transcriptional regulation of CCSP by interferon-gamma in vitro and in*

- vivo. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003;284:108-118.
40. Burmeister R, Boe IM, Nykjaer A, et al. *A two-receptor pathway for catabolism of Clara cell secretory protein in the kidney. J Biol Chem* 2001;276:13295-13301.
41. Martín-Granado A, Vázquez-Moncholí C, Luis-Yanes MI, López-Méndez M, García-Nieto V. *Determination of Clara cell protein urinary elimination as a marker of tubular dysfunction. Pediatr Nephrol* 2009;24:747-752.
42. De Jongh R, Vranken J, Kenis G, et al. *Clara cell protein: concentrations in cerebrospinal fluid, serum and amniotic fluid. Cytokine* 1998;10:441-444.
43. Helleday R, Segerstedt B, Forsberg B, et al. *Exploring the time dependence of serum Clara cell protein as a biomarker of pulmonary injury in humans. Chest* 2006;130:672-675.
44. Bernard A, Hermans C, Van Houte G. *Transient increase of serum Clara cell protein (CC16) after exposure to smoke. Occup Environ Med* 1997;54: 63-65.
45. Broeckaert F, Arsalane K, Hermans C, et al. *Serum Clara cell protein: a sensitive biomarker of increased lung epithelium permeability caused by ambient ozone. Environ Health Perspect* 2000;108:533-537.
46. Blomberg A, Mudway I, Svensson M, et al. *Clara cell protein as a biomarker for ozone-induced lung injury in humans. Eur Respir J* 2003;22:883-888.
47. Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, et al. *Incidence and outcomes of acute lung injury. N Engl J Med* 2005;353:1685-1693.
48. Kropski JA, Fremont RD, Calfee CS, Ware LB. *Clara cell protein (CC16), a marker of lung epithelial injury, is decreased in plasma and pulmonary edema fluid from patients with acute lung injury. Chest* 2009;135:1440-1447.
49. McAuley DF, Matthay MA. *Clara cell protein CC16. A new lung epithelial biomarker for acute lung injury. Chest* 2009;135:1408-1410.
50. Shijubo N, Itoh Y, Yamaguchi T, et al. *Serum and BAL Clara cell 10 kDa protein (CC10) levels and CC10-positive bronchiolar cells are decreased in smokers. Eur Respir J* 1997;10:1108-1114.
51. Robin M, Dong P, Hermans C, Bernard A, Bersten AD, Doyle IR. *Serum levels of CC16, SP-A and SP-B reflect tobacco-smoke exposure in asymptomatic subjects. Eur Respir J* 2002;20:1152-1161.
52. Andersson O, Cassel TN, Sköld CM, Eklund A, Lund J, Nord M. *Clara cell secretory protein. Levels in BAL fluid after smoking cessation. Chest* 2000;118:180-182.
53. Kumar V, Cotran R, Robbins S. *Enfermedades ambientales*. En: Kumar V, Cotran R, Robbins S, editores. *Patología humana*. 6a. ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 1999.p.243-244.
54. Beasley MB, Travis WD, Rubin E. *The respiratory system*. En: Rubin R, Strayer D, Rubin E. *Rubin's pathology Clinicopathologic Foundations of Medicine*. 6th. ed. Philadelphia: Wolters-Kluwer; 2012.p.537-603.
55. Bernard AM, Gonzalez-Lorenzo JM, Siles E, Trujillano G, Lauwerys R. *Early decrease of serum Clara cell protein in silica-exposed workers. Eur Respir J* 1994;7:1932-1937.
56. Wang SX, Liu P, Wei MT, et al. *Roles of serum Clara cell protein 16 and surfactant protein-D in the early diagnosis and progression of silicosis. J Occup Environ Med* 2007;49:834-839.
57. Lesur O, Bernard AM, Bégin RO. *Clara cell protein (CC-16) and surfactant-associated protein A (SP-A) in asbestos-exposed workers. Chest* 1996;109:467-474.
58. Petrek M, Hermans C, Kolek V, Fialová J, Bernard A. *Clara cell protein (CC16) in serum and bronchoalveolar lavage fluid of subjects exposed to asbestos. Biomarkers* 2002;7:58-67.
59. Liu Z, Lu X, Zhang XH, et al. *Clara cell 10-kDa protein expression in chronic rhinosinusitis and its cytokine-driven regulation in sinonasal mucosa. Allergy* 2009;64:149-157.
60. Irander K, Palm JP, Borres MP, Ghafouri B. *Clara cell protein in nasal lavage fluid and nasal nitric oxide-biomarkers with anti-inflammatory properties in allergic rhinitis. Clin Mol Allergy* 2002;doi:10.1186.
61. Benson M, Fransson M, Martinsson T, Naluai AT, Uddman R, Cardell LO. *Inverse relation between nasal fluid Clara cell protein 16 levels and symptoms and signs of rhinitis in allergen-challenged patients with intermittent allergic rhinitis. Allergy* 2007;62:178-183.
62. Shijubo N, Itoh Y, Yamaguchi T, et al. *Serum levels of Clara cell 10-kDa protein are decreased in patients with asthma. Lung* 1999;177:45-52.
63. Gioldassi XM, Papadimitriou H, Mikraki V, Karamanos NK. *Clara cell secretory protein: determination of serum levels by an enzyme immunoassay and its importance as an indicator of bronchial asthma in children. J Pharm Biomed Anal* 2004;34:823-826.
64. Martin AC, Laing IA, Khoo SK, et al. *Acute asthma in children: Relationships among CD14 and CC16 genotypes, plasma levels, and severity. Am J Respir Crit Care Med* 2006;173:617-622.
65. de Burbure C, Pignatti P, Corradi M, et al. *Uteroglobin-related protein 1 and clara cell protein in induced sputum of patients with asthma and rhinitis. Chest* 2007;131:172-179.
66. Johansson S, Kristjánsson S, Bjarnarson SP, Wennergren G, Rudin A. *Clara cell protein 16 (CC16) serum levels in infants during respiratory syncytial virus infection. Acta Paediatr* 2009;98:579-581.
67. Braidó F, Riccio AM, Guerra L, et al. *Clara cell 16 protein in COPD sputum: a marker of small airways damage? Respir Med* 2007;101:2119-2124.
68. Lomas DA, Silverman EK, Edwards LD, Miller BE, Coxson HO, Tal-Singer R. *Evaluation of serum CC-16 as a biomarker for COPD in the ECLIPSE cohort. Thorax* 2008;63:1058-1063.
69. Lesur O, Bernard A, Arsalane K, et al. *Clara cell protein (CC-16) induces a phospholipase A2-mediated inhibition of fibroblast migration in vitro. Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:290-297.
70. Kucejko W, Chyczewska E, Naumnik W, Ossolińska M. *Concentration of surfactant protein D, Clara cell protein CC-16 and IL-10 in bronchoalveolar lavage (BAL) in patients with sarcoidosis, hypersensitivity pneumonitis and*

- idiopathic pulmonary fibrosis*. *Folia Histochem Cytobiol* 2009;47:225-230.
71. Starosta V, Ratjen F, Rietschel E, Paul K, Griese M. *Anti-inflammatory cytokines in cystic fibrosis lung disease*. *Eur Respir J* 2006;28:581-587.
 72. Nord M, Schubert K, Cassel TN, Andersson O, Riise GC. *Decreased serum and bronchoalveolar lavage levels of Clara cell secretory protein (CC16) is associated with bronchiolitis obliterans syndrome and airway neutrophilia in lung transplant recipients*. *Transplantation* 2002;73:1264-1269.
 73. Mattsson J, Remberger M, Andersson O, Sundberg B, Nord M. *Decreased serum levels of clara cell secretory protein (cc16) are associated with bronchiolitis obliterans and may permit early diagnosis in patients after allogeneic stem-cell transplantation*. *Transplantation* 2005;79:1411-1416.
 74. Lesur O, Langevin S, Berthiaume Y, et al. *Outcome value of Clara cell protein in serum of patients with acute respiratory distress syndrome*. *Intensive Care Med* 2006;32:1167-1174.
 75. Determann RM, Millo JL, Waddy S, Lutter R, Garrard CS, Schultz MJ. *Plasma CC16 levels are associated with development of ALI/ARDS in patients with ventilator-associated pneumonia: a retrospective observational study*. *BMC Pulm Med* 2009;9:doi:10.1186.
 76. Ramsay PL, DeMayo FJ, Hegemier SE, Wearden ME, Smith CV, Welty SE. *Clara cell secretory protein oxidation and expression in premature infants who develop bronchopulmonary dysplasia*. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:155-161.
 77. Schrama AJ, Bernard A, Poorthuis BJ, Zwinderman AH, Berger HM, Walther FJ. *Cord blood Clara cell protein CC16 predicts the development of bronchopulmonary dysplasia*. *Eur J Pediatr* 2008;167:1305-1312.
 78. Chen J, Lam S, Pilon A, McWilliams A, Macaulay C, Szabo E. *Higher levels of the anti-inflammatory protein CC10 are associated with improvement in bronchial dysplasia and sputum cytometric assessment in individuals at high risk for lung cancer*. *Clin Cancer Res* 2008;14:1590-1597.
 79. Shijubo N, Itoh Y, Shigehara K, et al. *Association of Clara cell 10-kDa protein, spontaneous regression and sarcoidosis*. *Eur Respir J* 2000;16:414-419.
 80. Hermans C, Petrek M, Kolek V, et al. *Serum Clara cell protein (CC16), a marker of the integrity of the air-blood barrier in sarcoidosis*. *Eur Respir J* 2001;18:507-514.
 81. Janssen R, Sato H, Grutters JC, et al. *Study of Clara cell 16, KL-6, and surfactant protein-D in serum as disease markers in pulmonary sarcoidosis*. *Chest* 2003;124:2119-2125.
 82. Bernard A, Marchandise FX, Depelchin S, Lauwerys R, Sibille Y. *Clara cell protein in serum and bronchoalveolar lavage*. *Eur Respir J* 1992;5:1231-1238.
 83. Nomori H, Horio H, Kobayashi R, Morinaga S, Hirabayashi Y. *Protein 1 (Clara cell protein) serum levels in lung cancer patients receiving chemotherapy*. *Eur Respir J* 1995;8:1654-1657.
 84. Diamond JM, Kawut SM, Lederer DJ, et al. *Elevated plasma Clara cell secretory protein concentration is associated with high-grade primary graft dysfunction*. *Am J Transplant* 2011;11:561-567.
 85. Hermans C, Lesur O, Weynand B, Pieters T, Lambert M, Bernard A. *Clara cell protein (CC16) in pleural fluids: a marker of leakage through the visceral pleura*. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:962-969.
 86. Vanspauwen MJ, Linssen CF, Bruggeman CA, et al. *Clara cell protein in bronchoalveolar lavage fluid: a predictor of ventilator-associated pneumonia?* *Crit Care* 2011;doi:10.1186/cc9418.
 87. Ruslan M. *The innate immune system*. In: Paul WE, editor. *Fundamental immunology*. 5th. ed. Philadelphia: Lippincott; 2003.p.510.
 88. Mason RJ, Lewis JF. *Pulmonary surfactant*. In: Mason RJ, Broaddus VC, Murray JF, Nadel JA, editors. *Murray and Nadel's textbook of respiratory medicine*. 4th. ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005.p.303-310.
 89. Rawlins EL, Okubo T, Xue Y, et al. *The role of Scgb1a1 + Clara cells in the long-term maintenance and repair of lung airway, but not alveolar, epithelium*. *Cell Stem Cell* 2009;4:525-524.
 90. Giangreco A, Arwert EN, Rosewell IR, Snyder J, Watt FM, Stripp BR. *Stem cells are dispensable for lung homeostasis but restore airways after injury*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:9286-9291.
 91. Wong AP, Keating A, Waddell TK. *Airway regeneration: the role of the Clara cell secretory protein and the cells that express it*. *Cytherapy* 2009;11:676-687.
 92. Hong KU, Reynolds SD, Giangreco A, Hurley CM, Stripp BR. *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;24:671-681.
 93. Ling TY, Kuo MD, Li CL, et al. *Identification of pulmonary Oct-4+ stem/progenitor cells and demonstration of their susceptibility to SARS coronavirus (SARS-CoV) infection in vitro*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:9530-9535.
 94. Kim CF, Jackson EL, Woolfenden AE, et al. *Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer*. *Cell* 2005;121:823-835.
 95. Nolen-Walston RD, Kim CF, Mazan MR, et al. *Cellular kinetics and modeling of bronchioalveolar stem cell response during lung regeneration*. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008;294:1158-1165.

✉ **Correspondencia:**

Dr. Juan Pablo Camargo Mendoza,
Facultad de Medicina, Universidad Nacional de
Colombia, Bogotá, Colombia.
Correo electrónico: jpcamargome@unal.edu.com

Los autores declaran no tener conflictos de interés.