



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO

FUNDACIÓN HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ,
I.A.P.

**“MEDICIÓN DE ACUAPORINAS EN DISTINTOS
TIPOS DE CATARATA”**

T E S I S
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
CIRUJANO OFTALMÓLOGO

PRESENTA:
NORMA ELIZABETH SÁNCHEZ AYALA

ASESORES DE TESIS
M.C. CLAUDIA PALACIO PASTRANA
M.C. ATZIN ROBLES CONTRERAS

CIUDAD DE MÉXICO, ENERO 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DR. ALEJANDRO BABAYÁN SOSA
PROFESOR TITULAR ANTE LA UNAM

DR. OSCAR BACA LOZADA
PROFESOR ADJUNTO

DRA. ADRIANA SAUCEDO CASTILLO
PROFESOR ADJUNTO / JEFE DE ENSEÑANZA
E INVESTIGACIÓN

DR. JAIME LOZANO ALCAZAR
DIRECTOR MÉDICO

DRA. STEPHANIE VOORDUIN RAMOS
SUBJEFE DE ENSEÑANZA

M.C. CLAUDIA PALACIO PASTRANA
ASESOR DE TESIS

M.C. ATZÍN ROBLES CONTRERAS
ASESOR DE TESIS

AGRADECIMIENTOS

A mis hermosos padres Héctor y Norma, por todo su amor y apoyo incondicional, por siempre impulsarme, confiar en mí y nunca cortar mis alas.

A mis hermanos Diana y Adrián, por ser mis cómplices desde la infancia.

A Iván, mi esposo y compañero de vida, te amo y nunca lo hubiera logrado sin ti.

A todos mis maestros, por su tiempo, apoyo, paciencia y todas sus enseñanzas.

A todos mis amigos por ser parte de esta aventura, por hacerla más interesante, llevadera y divertida, los quiero.

Índice

Presentación	5
1. Introducción	6
2. Protocolo de Investigación	
2.1. Justificación.....	10
2.2. Planteamiento del problema.....	10
2.3. Pregunta de Investigación.....	10
2.4. Hipótesis.....	10
2.5. Objetivos.....	11
3. Metodología	
3.1. Métodos.....	11
3.2. Criterios de selección.....	13
3.3. Procedimientos.....	14
3.4. Análisis estadístico.....	16
4. Resultados	17
5. Discusión	22
6. Conclusión	24
Apéndices	
1. Aspectos éticos.....	25
2. Aspectos de bioseguridad.....	25
3. Cronograma.....	26
4. Consentimiento informado.....	27
Bibliografía	30

Presentación

Título. Medición de acuaporinas en distintos tipos de cataratas.

Investigadores.

Investigador Responsable: Norma Elizabeth Sánchez Ayala

Asesores de Tesis:

M.C. Claudia Palacio Pastrana.

Médico Cirujano Oftalmólogo, Jefa del Departamento de Alta Especialidad Microcirugía de Segmento Anterior. Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz I.A.P.

M.C. Atzín Robles Contreras.

Centro de investigación Biomédica. Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz I.A.P.

Fecha de inicio y finalización de Investigación.

Inicio: Mayo 2017

Finalización: Enero 2019

Correspondencia.

Departamento de Microcirugía del Segmento Anterior.

Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz I.A.P.

Ezequiel Montes 135, Colonia Tabacalera, Cuauhtémoc, Ciudad de México.

Introducción

En 1988 el Dr. Peter Agre aisló una nueva proteína de membrana en eritrocitos, en 1991, demostró la propiedad de esta de transportar agua y la llamó CHIP 28, que posteriormente sería conocida como acuaporina 1 (AQP-1), este descubrimiento le valió el premio Nobel de química en el 2003, con esto se explicó la manera en la que el agua se transporta a través de las membranas celulares. “Las acuaporinas son la tubería de las células”(1)

Las acuaporinas (AQPs), son proteínas, tetrámeros, cada monómero tiene un peso molecular de 28 KDa y está formado por seis dominios alfa hélices transmembrana, cinco asas, dos motivos de asparagina-prolina-alanina (NPA) y un grupo N- y C- terminal intracelular. (2) Son canales transmembrana celular y su principal función es el transporte de agua, en respuesta a cambios de gradientes osmóticos (3–5).

La familia de AQP se puede dividir en tres, las clásicas (AQP- 0, AQP-1, AQP-2, AQP-4, AQP-5, AQP-6, AQP-8), que son primariamente selectivas al agua, las acuagliceroporinas, (AQP-3, AQP-7, AQP-9, AQP-10), que también transportan glicerol, agua, amonio y urea y las AQP poco ortodoxas (AQP-11, AQP-12), cuya función no se encuentra bien establecida. (2,4,6)

En el humano las podemos encontrar en diferentes órganos, tales como el ojo , cerebro, vasos, riñón, eritrocitos, piel, tracto gastrointestinal, placenta, tejido adiposo, corazón, hígado, testículos, páncreas. (7)

Se han descrito 13 AQP en el ojo de los mamíferos (8).

La localización de las AQP en el ojo es la siguiente (8):

- Cornea: AQP 1, 3, 4, 5
- Glándula lagrimal: AQP 3, 4, 5
- Epitelio ciliar y malla trabecular: AQP 1, 4
- Cristalino: AQP 0, 1, 5 y 7
- Retina: AQP 0 - 12

El cristalino es un tejido avascular compuesto de capas concéntricas de células epiteliales en diferentes etapas de diferenciación (9). El cristalino contiene una alta concentración de proteínas y bajo contenido de agua para mantener un índice de refracción elevado y su transparencia (10). Esto es posible gracias a la remoción de agua a través de canales para esta (11). Para preservar su estructura celular, el cristalino posee un sistema de microcirculación interno único, que, en ausencia de suministro de sangre, brinda nutrientes, elimina los desechos metabólicos y controla la homeostasis iónica de las células del cristalino. Dado que esta microcirculación implica la creación de un flujo de agua que circule por todo el cristalino, se ha propuesto que la expresión de los diferentes miembros de la familia de AQP, en las diferentes regiones del cristalino juegan un papel importante en la generación de esta microcirculación.(12)

La AQP0 (proteína mayor intrínseca, MIP) se encuentra en el polo posterior y en las fibras nucleares del cristalino; es la proteína integral de membrana más abundante de las fibras de este, comprendiendo aproximadamente el 50% de su total.(12)

AQP0 es una acuaporina única, ya que tiene la función de canal de agua, propiedades adhesivas, además de una función en la organización de la membrana celular y estructura celular; se ha demostrado que interactúa con las gamma-cristalinas del cristalino, siendo esto relevante para la organización de estas últimas (13). Tiene interacción con proteínas de unión como la ezrina, radixina y moesina

(14), con proteínas del citoesqueleto específicas del cristalino como filensina y pakinina (15,16) y con proteínas de unión estrechas (gap junction). (17)

La cristalografía de electrones sugiere que las AQP-0 no sólo forman poros agua, sino que también forma uniones delgadas en el cristalino de 11-13nm, proporcionando evidencia de su participación en la adhesión fibra-fibra (18,19).

Aunque es muy abundante, AQP-0 es un canal de agua débil, con una permeabilidad al agua 30 veces menor que AQP-1 y aproximadamente 20 veces menor que AQP-5. A diferencia de AQP-1 y AQP-5, AQP-0 no es sensible a los compuestos de mercurio (12); su función es regulada por el pH, calcio y fosforilación. (20–22).

Mutaciones en la AQP-0 producen catarata congénita en humanos (23,24). Las mutaciones de AQP-0 productoras de cataratas, provocan retención del retículo endoplasmático y una AQP0 no funcional (25,26). Otros mecanismos propuestos para la génesis de la catarata, es la pérdida de la adherencia fibra a fibra (23) y daño fibrilar por deshidratación celular. (27)

La AQP-1 se expresa en el epitelio anterior del cristalino, es un canal de agua ubicuo y constitutivamente abierto, que en el cristalino humano y de roedores, se expresa en las membranas apical y basolateral de las células epiteliales.(12)

La expresión de AQP-1 aumenta progresivamente durante el desarrollo posnatal, que coincide con el aumento en el tamaño del cristalino.(12)

Estudios en ratones knock-out para AQP-1, han demostrado que la delección de AQP-1 en el epitelio del cristalino, da como resultado una reducción de aproximadamente el triple de la permeabilidad al agua, además del rápido desarrollo de opacidades en cristalinos expuestos a soluciones de glucosa alta y en condiciones in vivo después del tratamiento con acetaminofén, lo que sugiere, que

se requiere AQP-1 para mantener la transparencia del cristalino, especialmente después de la exposición a condiciones de estrés como la hiperglucemia y el desequilibrio osmótico. (12,28)

AQP-5 se expresa tanto en células epiteliales, como en las células de las fibras del cristalino, su expresión en estas últimas es significativamente menor (<5%) que AQP-0; sin embargo, AQP-5 tiene una permeabilidad al agua significativamente mayor en comparación con AQP-0 (~ 20 veces).(12)

AQP-5 se expresa dentro del citoplasma en las células de fibras epiteliales y de diferenciación más jóvenes de la corteza externa del cristalino.(12)

Se ha descubierto recientemente que esta AQP-5 localizada dentro del citoplasma, se trasloca a las membranas de las células epiteliales del cristalino, en pacientes con catarata, lo que los autores sugieren que puede servir como un mecanismo compensatorio para reducir la gravedad de la catarata. A medida que las células de las fibras envejecen desde la corteza externa hasta el núcleo, AQP-5 se traslada abruptamente a la membrana plasmática. En las células de fibras maduras del núcleo interno del cristalino, predomina la inmunotinción con AQP-5 en la membrana plasmática y se vuelve indetectable en el citoplasma. (12,29,30)

La expresión de AQP-5, es mediada por la vía de la fosfofructoquinasa A (PKA), dependiente de amp-C, interacciones proteína- proteína y lipidación.(12)

Este tipo de AQP está asociado a catarata en ratones con delección del gen de AQP-5 y con hiperglucemia(31).

La catarata es la principal causa de ceguera reversible y se estima que afecta a más de 18 millones de personas a nivel mundial (32,33). La catarata consiste en una pérdida progresiva de transparencia en el cristalino, de etiología multifactorial

(34) . Entender su compleja fisiopatología, puede abrir nuevos blancos terapéuticos diferentes al tratamiento quirúrgico.

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

JUSTIFICACIÓN

La fisiopatología de la formación de catarata es multifactorial y no se conoce con certeza todos los mecanismos que intervienen en su formación.

Para poder desarrollar nuevas alternativas al tratamiento quirúrgico de la catarata, ya sea para prevenir o retrasar el desarrollo de esta, es necesario comprender los mecanismos patológicos involucrados.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Una de las probables causas etiológicas en el desarrollo de los distintos tipos de catarata, puede ser la variación en la expresión de acuaporinas, que son proteínas indispensables en el flujo de agua y estructura del cristalino, en las diferentes regiones de este. Actualmente no se encuentran descritos los cambios de estas acuaporinas en los distintos tipos de cataratas

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe diferencia en los niveles de acuaporinas en los distintos tipos de catarata?

HIPÓTESIS

La expresión de las acuaporinas 0, 1 y 5 es diferente en las cataratas seniles, diabéticas, congénitas y traumáticas.

OBJETIVOS

Objetivos generales

- Conocer si existen diferencias en la expresión de acuaporina 0, 1 y 5 en los distintos tipos de catarata.

Objetivos específicos

- Medir los niveles de acuaporinas 0,1 y 5 en cataratas congénitas, seniles, diabéticas y traumáticas mediante técnica de ELISA.
- Medir los niveles de acuaporinas 0,1 y 5 en los núcleos claros de pacientes sometidos a cirugía facorretractiva.
- Comparar los niveles de acuaporinas en los distintos tipos de catarata con grupo control.

METODOLOGÍA

Métodos

Se realizó un estudio observacional, transversal, analítico y prospectivo.

Se incluyeron pacientes de la Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz I.A.P, con diagnóstico de catarata senil, diabética, traumática y congénita, a los que se realizó cirugía de extracción de catarata, con técnica extracapsular, intracapsular o facoemulsificación y pacientes con cristalino transparente, a los que se les realizó cirugía facorretractiva. La recolección de la muestra se realizó de Mayo del 2017 a Noviembre 2018.

Previo consentimiento informado, se tomó una muestra de núcleo cristalino, durante procedimiento quirúrgico de tres formas distintas:

- En cataratas total hidratadas o con un componente nuclear mayor o igual a 5 en la clasificación de LOCS III, programadas para cirugía extracapsular o intracapsular, se tomó y almacenó el núcleo posterior a realizar su extracción por el surco escleral.
- En cataratas congénitas posterior a realizar capsulotomía, se aspiró el núcleo con una cánula de 23 G.
- En la facoemulsificación, previo a realizar la aspiración del núcleo, se extrajo un fragmento entre 1- 1.5 mm del mismo, a través de la incisión principal.

Las muestras obtenidas se almacenaron en un tubo Eppendor y se congelaron a -80 °C, posteriormente se disgregaron mecánicamente, se centrifugaron a una velocidad de 10000 rpm, por 20 minutos y se realizó extracción y cuantificación de proteínas; a seguir, se sometieron a análisis molecular con método de ELISA según las instrucciones del fabricante (MY BIO SOURCE y AVIVA SYSTEMS BIOLOGY), para medir las concentraciones de acuaporinas 0, 1 y 5, de igual manera se realizó dicho proceso en el grupo control, que correspondió a pacientes con cristalino claro.

Los resultados se registraron en una base de datos física y electrónica.

Se realizó un muestreo por conveniencia.

Criterios de inclusión

- Pacientes con diagnóstico de catarata senil, traumática, diabética y congénita.
- Pacientes sanos, con cristalino claro, a los que se realizó cirugía facorrefractiva.

Criterios de exclusión.

- Pacientes que tuvieran como comorbilidad ocular uveítis o a quienes ya se les hubiera realizado algún otro procedimiento quirúrgico oftalmológico, en el ojo a estudiar.
- Pacientes con enfermedades reumatológicas.
- Pacientes que administraran corticosteroides tópicos o sistémicos, como tratamiento.
- Pacientes que no autoricen firmar consentimiento informado.
- Pacientes menores de edad, cuyo tutor no autorice procedimiento.

Criterios de eliminación

- Pacientes que ya no deseen participar en el estudio, en cuyo caso la muestra obtenida sería desechada.
- Pacientes en los que la muestra fuera dañada, almacenada de manera incorrecta o fuera insuficiente para realizar análisis.

Procedimientos

Técnica de ELISA

Los kits de ELISA (Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas) para acuaporina 0, 1 y 5 se basan en la técnica de sándwich. Un anticuerpo específico para cada AQP se ha recubierto previamente en una placa de 96 pocillos (12 x 8 tiras de pocillos). Se añaden estándares o muestras de prueba a los pocillos, se incuban y se extraen. Se agrega un anticuerpo detector biotinilado específico para AQP, se incuba y luego se lava. Luego se agrega el conjugado de avidina-peroxidasa, se incuba y el conjugado no unido se elimina por lavado. Una reacción enzimática se produce a través de la adición de sustrato TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine), catalizado por HRP (horseradish peroxidase) que genera un producto de color azul que cambia a amarillo. Después de agregar la solución de parada ácida. La densidad de la coloración amarilla leída por absorbancia a 450 nm es cuantitativamente proporcional a la cantidad de muestra AQP capturada en el pozo.

Variables

Variable	Definición	Tipo
Catarata congénita	Opacidad del cristalino presente desde el primer año de vida.	Categórica Dicotómica
Catarata diabética.	Opacidad de cristalino, presente en pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 1 o 2.	Categórica Dicotómica
Catarata traumática	Opacidad del cristalino secundaria a traumatismo ocular.	Categórica Dicotómica
Catarata senil	Opacidad del cristalino secundario a cambios degenerativos del mismo.	Categórica Dicotómica
Acuaporinas 0,1,5	Proteína celular transmembrana presente en cristalino, medida por ELISA en pg/ ml y ng/ml.	Cuantitativa

Análisis estadístico

Se realizó estadística descriptiva para el análisis demográfico, presentando los resultados en rangos y porcentajes. Las características a evaluar fueron: sexo, edad y diagnóstico.

El análisis estadístico se analizó mediante una prueba de D'Agostino & Pearson para conocer la distribución de los datos, posteriormente se usó la prueba de Kruskal-Wallis para la realización de la comparación de los niveles de acuaporinas en los distintos grupos y para la comparación entre dos grupos, se utilizó la prueba U de Mann Whitney, se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$.

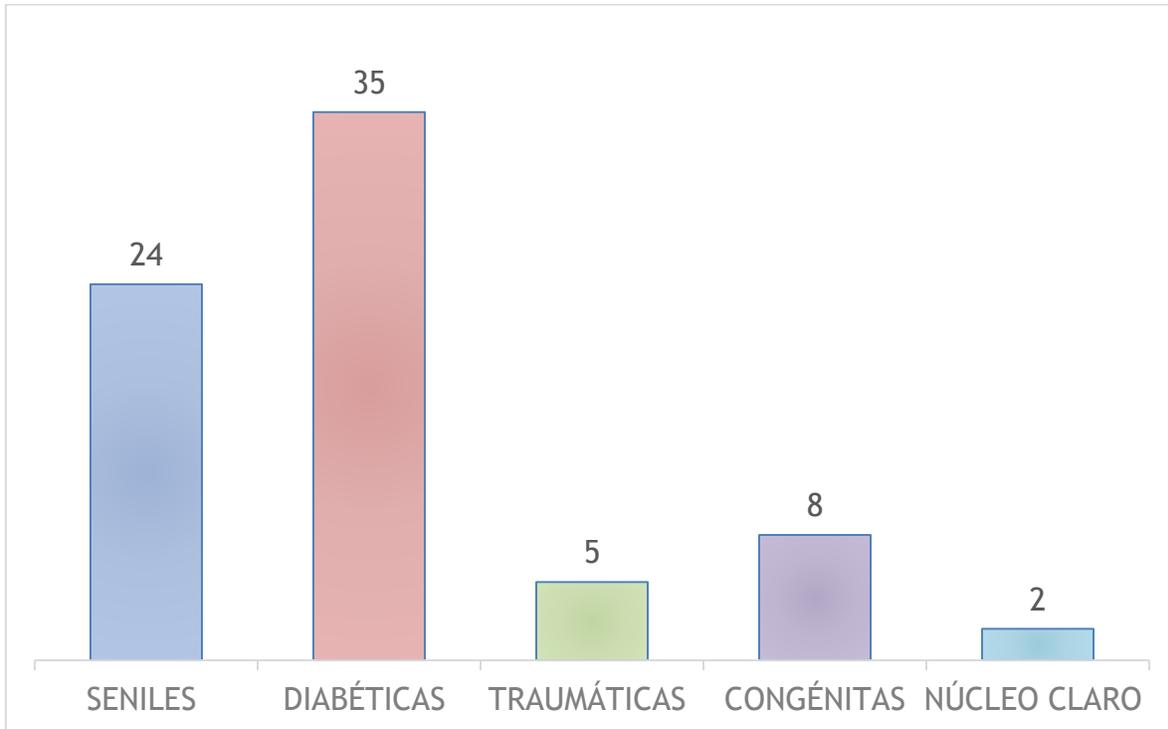
RESULTADOS

Se analizaron un total de 74 núcleos, 43 (58%) del sexo femenino y 31 para el sexo masculino (42%). En la tabla 1 se muestra las características demográficas de la muestra estudiada.

Núcleo		n (%)	Edad	Rango de edad
Senil	Total	24 (100)	76.8±10.6	57-101
	Femenino	15 (62.5)	74.13 ± 7.64	64-87
	Masculino	9(37.5)	81.3±13.6	57-101
Diabética	Total	35 (100)	66.9±11.3	19- 84
	Femenino	22 (62.8)	66.3±13.05	19-84
	Masculino	13(37.14)	68.07±8.12	53-79
Congénita	Total	8(100)	8.8±12.8	1-40-
	Femenino	4(50)	13.5±17.8	1-40-
	Masculino	4(50)	4.25±3.2	1-7-
Traumática	Total	5(100)	52.4±15.4	40-78
	Femenino	1(20)	54	
	Masculino	4(80)	52±17.7	40-78
Núcleo claro	Total	2(100)	34±8.4	28-40
	Femenino	1(50)	28	
	Masculino	1(50)	40	

Tabla 1

En la gráfica 1 se muestra el porcentaje y número de núcleos que correspondieron a cada grupo.

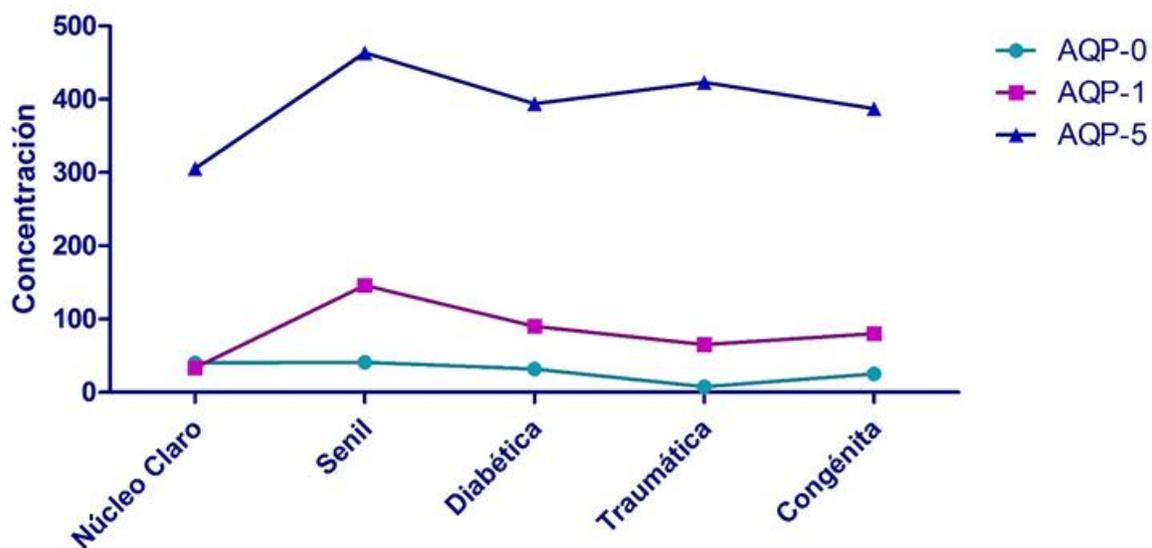


Gráfica 1

Los niveles de AQP obtenidos para cada tipo de núcleo, se muestran en la tabla 2 y gráfica 2. Los niveles de AQP más altos fueron para AQP-5 (463.5 ± 95.33 ng/ml), seguidos de AQP-1 (146.1 ± 142.3 ng/ml) y AQP-0 (41.19 ± 14.67 pg/ml), cabe resaltar que tanto en el grupo de AQP-5 y AQP-1 los niveles más bajos fueron para el núcleo claro (305.8 ± 45.83 ng/ml y 33.50 ± 33.50 ng/ml respectivamente) y los más altos para el grupo de la catarata senil (463.5 ± 95.33 ng/ml y 146.1 ± 142.3 ng/ml respectivamente), estas diferencias no se repitieron en el grupo de AQP-0, en donde los niveles más bajos fueron para la catarata traumática (7.84 ± 6.69 pg/ml) y los más altos para la catarata senil (41.19 ± 14.67 pg/ml), seguido del núcleo claro (40.38 ± 8.84 pg/ml).

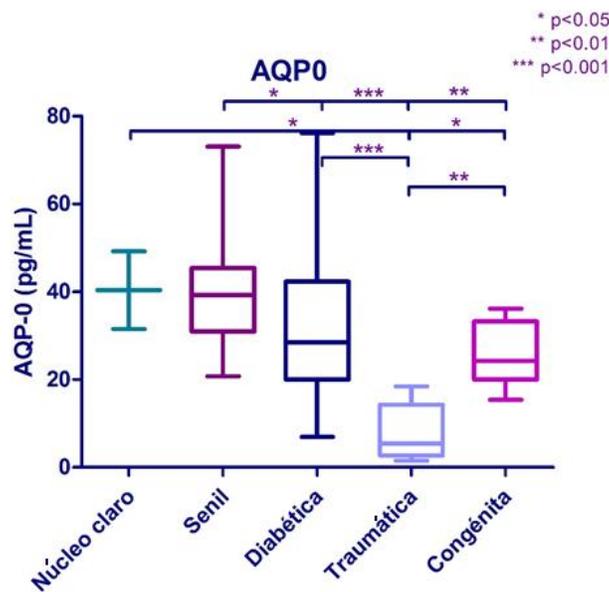
Tipo de catarata	AQP 0 pg/ml	AQP1 ng/ml	AQP 5 ng/ml
Control (Núcleo claro)	40.38±8.84	33.50±33.50	305.8±45.83
Senil	41.19± 14.67	146.1±142.3	463.5 ± 95.33
Diabética	32.84± 16.34	90.09±127.8	394.5±145.7
Traumática	7.84 ± 6.69	65.25±95.70	423.3±133.4
Congénita	25.29±7.42	80.25±55.52	387.1±186.9

Tabla 2



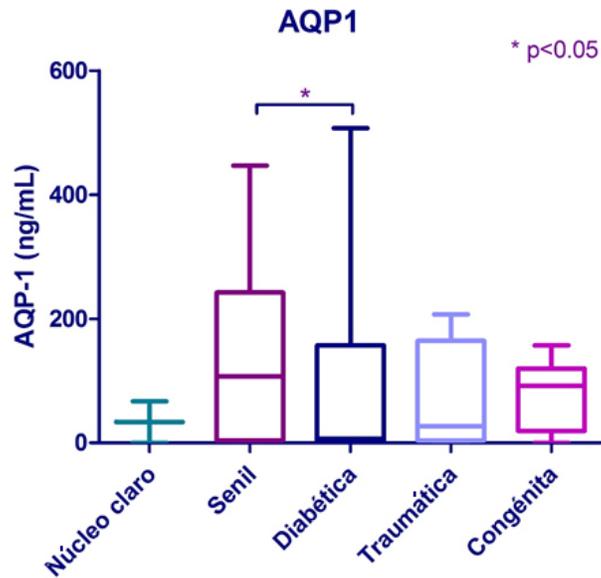
Gráfica 2

Al realizar la comparación entre grupos, para los niveles de acuaporina 0, 1 y 5 las diferencias estadísticamente significativas observadas ($p < 0.05$) fueron las siguientes. Para acuaporina 0 observamos niveles más altos en el grupo de núcleo claro (40.38 ± 8.84 pg/ml) versus el grupo de catarata traumática (7.84 ± 6.69 pg/ml) y congénita (25.29 ± 7.42 pg/ml). La catarata senil presentó niveles más altos (41.19 ± 14.67 pg/ml), al ser comparada con la catarata diabética (32.84 ± 16.34 pg/ml), traumática (7.84 ± 6.69 pg/ml) y congénita (25.29 ± 7.42 pg/ml). Los niveles de AQP-0 fueron más altos en la catarata diabética (32.84 ± 16.34 pg/ml) versus la traumática (7.84 ± 6.69 pg/ml). Los niveles de AQP-0 fueron menores en el grupo de la catarata traumática (7.84 ± 6.69 pg/ml) versus la congénita (25.29 ± 7.42 pg/ml). (Gráfica 3)



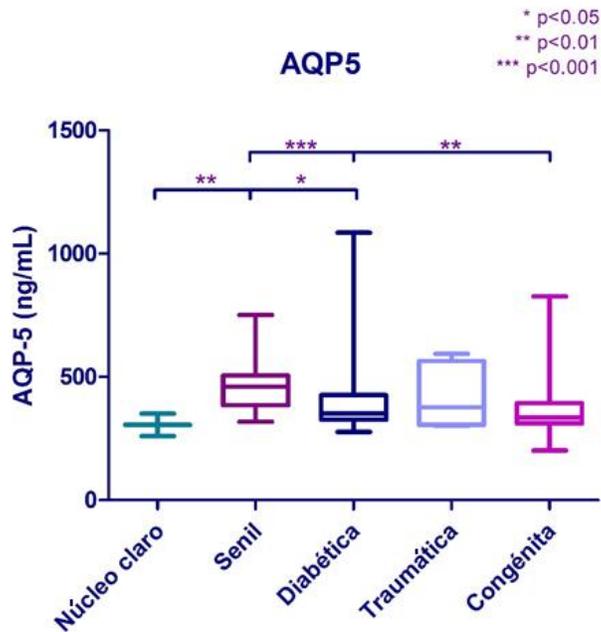
Gráfica 3

Para AQP-1 la única diferencia estadísticamente significativa se observó al comparar la catarata senil (146.1 ± 142.3 ng/ml) versus la diabética (90.09 ± 127.8 ng/ml), siendo los niveles más bajos para esta última. (Gráfica 4).



Gráfica 4

Con respecto a la AQP-5 se observaron niveles más bajos en el grupo de núcleo claro (305.8 ± 45.83 ng/ml), al compararlo con la catarata senil (463.5 ± 95.33 ng/ml) y diabética (394.5 ± 145.7 ng/ml). Se presentaron niveles más altos en la catarata senil versus la catarata diabética y congénita (387.1 ± 186.9 ng/ml). (Gráfica 5).



Gráfica 5

DISCUSIÓN

Al analizar los resultados obtenidos, podemos resaltar, que la AQP que mostró los niveles más altos fue AQP-5, seguidos de AQP-1, estos hallazgos soportan lo descrito por Baradinka y cols. (35), quienes encontraron un incremento en la expresión de estas AQP en las membranas de células epiteliales de los núcleos, de pacientes con catarata de predominio nuclear, lo que soporta la teoría de un incremento en la expresión de estas acuaporinas, como mecanismo compensatorio en los pacientes con catarata.

Está descrito que AQP-0 es la proteína integral de membrana más abundante (12), esto no concuerda con los hallazgos reportados en nuestro estudio, ya que esta AQP, mostró tener los niveles más bajos en todos los tipos de catarata, lo que apoya lo descrito por Varadaraj y cols. (36), quienes observaron que la expresión de AQP-1 en ratones con delección para AQP-0, no restaura la transparencia o arquitectura del cristalino, esto proporciona evidencia de que AQP-0, tiene una función importante y única para mantener un cristalino claro.

Es importante mencionar que tanto en el grupo de AQP- 5, como AQP-1, los niveles más altos fueron para el grupo de catarata senil y los más bajos para el grupo control, esto lo podemos explicar por lo descrito por Schey y cols. (12) y Baradinka y cols. (35), quienes mencionan que estas AQP tienen una mayor permeabilidad al agua y que para mantener la transparencia del cristalino en pacientes con catarata, AQP-5 se traslada del citoplasma a la membrana celular de las fibras del cristalino, como mecanismo compensatorio, para incrementar el flujo de agua y con esto tratar de mantener la transparencia del cristalino; además, esta descrito que la expresión de AQP-1 va incrementándose en el periodo postnatal y coincide con el tamaño del cristalino, es decir que a mayor tamaño de cristalino, mayor cantidad de AQP-1.(37)

En cuanto AQP-0 encontramos niveles altos en el grupo control y aún más altos en la catarata senil, esto puede justificarse por el hecho de que esta AQP tiene múltiples funciones, tales como la de formar un canal de agua y una función estructural y de adhesión, siendo esta última de mayor importancia en fibras de cristalino más antiguas. (8,38). Se observaron niveles más altos en el grupo control versus catarata congénita, que soporta lo reportado en la literatura, mutaciones en esta AQP, causan catarata congénita. (3,8,39). Otro de nuestros hallazgos fue el de cuantificar niveles más altos de AQP en la catarata senil versus catarata diabética, traumática y congénita, como tal, no se encontraron en la literatura descritos estas diferencias, pero sabemos que todas estas cataratas tienen una fisiopatología, tiempo de evolución y niveles de inflamación, tanto intraocular como sistémico diferentes, por lo que creemos que esto pudiera impactar en la expresión de las distintas AQP.

Para AQP-1 encontramos una diferencia estadísticamente significativa al comparar el grupo de la catarata senil versus catarata diabética, siendo los niveles más bajos para este último grupo, estos resultados apoyan lo ya descrito por otros autores, en donde el knock-out para esta proteína causa catarata en soluciones hiperosmolares, por lo que se requiere para mantener la transparencia en situaciones de hiperglucemia y desequilibrio osmótico.(12,40)

Para AQP-5 encontramos niveles elevados en todos los tipos de catarata, esto lo podemos justificar porque esta proteína es un canal muy permeable al agua, además de que se expresa en la membrana de las fibras más antiguas del cristalino (12,41). Nuestro grupo control mostro los niveles más bajos de AQP, en comparación con el grupo de catarata senil y diabética, que soporta el mecanismo compensatorio que tiene esta AQP, ya mencionado en párrafos anteriores. Por último, los niveles más elevados se observaron en el grupo de catarata senil, versus la catarata diabética y congénita, que concuerda con lo ya reportado por Sindhu y cols. (31) que el knock out para esta AQP, causa catarata secundaria a hiperglucemia.

La principal fortaleza de nuestro estudio, es que a nuestro conocimiento, no existe otra publicación que describa y compare los niveles de las AQP estudiadas, en los diferentes tipos de catarata, lo que abre la puerta para futuras investigaciones, tales como el comparar los niveles de AQP con el grado de dureza de la catarata, el tiempo de evolución y los niveles de glucemia séricos de los pacientes.

La principal limitante es que nuestro grupo control es pequeño y los valores obtenidos principalmente para AQP-1, presentan una desviación estándar amplia, lo que pudiera sesgar los resultados obtenidos, por lo que se pretende ampliar esta muestra, para corroborar lo observado en esta investigación.

CONCLUSIÓN

Con lo expuesto anteriormente comprobamos nuestra hipótesis, los niveles de acuaporinas 0, 1 y 5 son diferentes en las cataratas seniles, diabéticas, congénitas y traumáticas.

APÉNDICE

ASPECTOS ÉTICOS

A todos los pacientes que decidieron participar en el estudio se les proporcionó un consentimiento informado, los cuales debieron ser firmados para poder ser parte del mismo. Este protocolo se basa en la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos, los principios éticos de la Declaración de Helsinki y declaraciones de la International Conference of Harmonization.

ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD

La Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, define como residuos peligrosos a todos aquellos residuos que, por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables y biológico-infecciosas representan un peligro para el equilibrio ecológico o el ambiente; los residuos que se deriven serán manejados en términos de la propia ley, su reglamento y normas oficiales mexicanas que expida la Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales, previa opinión de diversas dependencias que tengan alguna injerencia en la materia correspondiéndole a la citada SEMARNAT su regulación y control. Los residuos peligrosos biológico-infecciosos (RPBI) serán manejados de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-087ECOL-SSA1-2002.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividad	Fechas
Investigación documental y elaboración de marco teórico.	Marzo - Abril 2017
Revisión de marco teórico por Departamento de Segmento anterior y Enseñanza.	Abril 2017
Obtención de muestras de núcleos de cristalino de pacientes sometidos a cirugía de catarata y facorefractiva. Análisis de las muestras mediante ELISA.	Mayo 2017- Diciembre 2018
Analizar base de datos.	Enero 2019
Redactar reporte de resultados y gráficos.	Enero 2019
Entrega de resultados	Enero 2019

**CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO
INFORMACIÓN PARA PARTICIPAR EN
PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN**

En esta institución se desarrollan investigaciones que forman parte de nuestro quehacer científico. Las características de su padecimiento son consideradas de interés para participar en este estudio de acuerdo a las especificaciones siguientes:

Datos generales

<i>Datos del paciente</i>	Nombre: Fecha de nacimiento:	
<i>Expediente clínico No.</i>		
<i>Médico informante (investigador principal):</i>		Firma:
<i>Diagnóstico</i>		

Datos de la investigación

<i>Nombre del protocolo</i>	MEDICIÓN DE ACUAPORINAS EN DISTINTOS TIPOS DE CATARATAS
<i>Investigadores</i>	Norma Elizabeth Sánchez Ayala. MC. Claudia Palacio Pastrana. MC. Atzín Robles Contreras
<i>Justificación y objetivos</i>	La catarata es la principal causa de ceguera reversible en el mundo. El objetivo del estudio es medir los niveles de Acuaporinas en los distintos tipos de catarata.
<i>Periodo de estudio o duración</i>	Julio 2017- Enero 2019

<i>Cantidad de sujetos que participarán</i>	
<i>Descripción de los métodos a emplear y su propósito</i>	Se analizará y medirán concentraciones de acuaporinas 0,1,5 por medio de ELISA de un fragmento de núcleo de cristalino
<i>Beneficios esperados:</i>	Determinar si existen diferencias en los niveles de acuaporinas en los distintos tipos de catarata
<i>Alternativas:</i>	Ninguno
<i>Riesgos o molestias:</i>	Ninguno
<i>Grupo de control</i>	En caso de que la presente investigación incluya un grupo de control, la selección de los participantes se sujetará a un proceso estrictamente aleatorio e imparcial, privilegiando la prevención de cualquier riesgo o daño para sus integrantes.
<i>Gastos</i>	Los gastos de la investigación serán cubiertos por la institución.
<i>Confidencialidad</i>	Su identidad y la información que proporcione como parte de esta investigación serán tratadas bajo criterios de confidencialidad. En caso de que los resultados exijan su identificación, previamente se le solicitará la autorización correspondiente.
<i>Dudas, aclaraciones y actualización</i>	El participante tendrá derecho a recibir respuesta a cualquier pregunta y aclaración a cualquier duda acerca de los procedimientos, riesgos, beneficios y otros asuntos relacionados con la investigación y su tratamiento. Asimismo, durante el presente estudio le proporcionaremos información actualizada sobre su estado de salud para que esté en posibilidad de decidir si continúa participando.

	Es importante que sepa que retirar su participación no afectará su atención en el hospital.
--	---

Consentimiento

Por este medio manifiesto mi satisfacción con la información recibida y, consciente de las especificaciones y en qué consiste la investigación descrita en este documento, sus beneficios, riesgos y consecuencias, **otorgo mi consentimiento para incorporarme a ella, asumiendo el compromiso de (1) asistir puntualmente a las citas que se me indiquen y (2) proporcionar verazmente la información de mi evolución en la forma y periodicidad que se requiera.**

Asimismo, entiendo que puedo retirarme de esta investigación voluntariamente en cualquier momento sin mayor requisito que la manifestación al investigador principal o a la Dirección Médica de este hospital.

México D.F. a ____ de _____ de ____.

Firma del paciente

Testigos

Nombre y firma
Domicilio:

Nombre y firma
Domicilio:

Relación con el paciente:

Relación con el paciente:

BIBLIOGRAFÍA

1. Agre P. Aquaporin Water Channels (Nobel Lecture). *Angew Chemie Int Ed*. 2004 Aug 20;43(33):4278–90.
2. Li C, Wang W. *Molecular Biology of Aquaporins*. In Springer, Dordrecht; 2017. p. 1–34.
3. Verkman AS, Ruiz-Ederra J, Levin MH. Functions of aquaporins in the eye. *Prog Retin Eye Res*. 2008 Jul;27(4):420–33.
4. Ishibashi K, Kondo S, Hara S, Morishita Y. The evolutionary aspects of aquaporin family. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2011 Mar;300(3):R566-76.
5. Hachez C, Chaumont F. Aquaporins: a family of highly regulated multifunctional channels. *Adv Exp Med Biol*. 2010;679:1–17.
6. Rojek A, Praetorius J, Frøkiaer J, Nielsen S, Fenton RA. A current view of the mammalian aquaglyceroporins. *Annu Rev Physiol*. 2008 Mar;70(1):301–27.
7. Dajani S, Saripalli A, Sharma-Walia N. Water transport proteins-aquaporins (AQPs) in cancer biology. *Oncotarget. Impact Journals, LLC*; 2018 Nov 20;9(91):36392–405.
8. Schey KL, Wang Z, L Wenke J, Qi Y. Aquaporins in the eye: expression, function, and roles in ocular disease. *Biochim Biophys Acta*. 2014 May;1840(5):1513–23.
9. Zampighi GA, Eskandari S, Kreman M. Epithelial organization of the mammalian lens. *Exp Eye Res*. 2000 Oct;71(4):415–35.
10. Andley UP. Crystallins in the eye: Function and pathology. *Prog Retin Eye Res*. 2007 Jan;26(1):78–98.
11. Mathias RT, Kistler J, Donaldson P. The lens circulation. *J Membr Biol*. 2007 Mar;216(1):1–16.
12. Schey KL, Petrova RS, Gletten RB, Donaldson PJ. The Role of Aquaporins in Ocular Lens Homeostasis. *Int J Mol Sci. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*; 2017 Dec 12;18(12).

13. Fan J, Donovan AK, Ledee DR, Zelenka PS, Fariss RN, Chepelinsky AB. gammaE-crystallin recruitment to the plasma membrane by specific interaction between lens MIP/aquaporin-0 and gammaE-crystallin. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004 Mar;45(3):863–71.
14. Wang Z, Schey KL. Aquaporin-0 interacts with the FERM domain of ezrin/radixin/moesin proteins in the ocular lens. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011 Jul;52(8):5079–87.
15. Lindsey Rose KM, Gourdie RG, Prescott AR, Quinlan RA, Crouch RK, Schey KL. The C terminus of lens aquaporin 0 interacts with the cytoskeletal proteins filensin and CP49. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006 Apr;47(4):1562–70.
16. Nakazawa Y, Oka M, Furuki K, Mitsuishi A, Nakashima E, Takehana M. The effect of the interaction between aquaporin 0 (AQP0) and the filensin tail region on AQP0 water permeability. *Mol Vis.* 2011;17:3191–9.
17. Liu J, Xu J, Gu S, Nicholson BJ, Jiang JX. Aquaporin 0 enhances gap junction coupling via its cell adhesion function and interaction with connexin 50. *J Cell Sci.* 2011 Jan;124(Pt 2):198–206.
18. Harries WEC, Akhavan D, Miercke LJW, Khademi S, Stroud RM. The channel architecture of aquaporin 0 at a 2.2-Å resolution. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Sep;101(39):14045–50.
19. Gonen T, Sliz P, Kistler J, Cheng Y, Walz T. Aquaporin-0 membrane junctions reveal the structure of a closed water pore. *Nature.* 2004 May;429(6988):193–7.
20. Németh-Cahalan KL, Hall JE. pH and calcium regulate the water permeability of aquaporin 0. *J Biol Chem.* 2000 Mar;275(10):6777–82.
21. Reichow SL, Clemens DM, Freitas JA, Németh-Cahalan KL, Heyden M, Tobias DJ, et al. Allosteric mechanism of water-channel gating by Ca²⁺-calmodulin. *Nat Struct Mol Biol.* 2013 Sep;20(9):1085–92.
22. Reichow SL, Gonen T. Noncanonical binding of calmodulin to aquaporin-0: implications for channel regulation. *Structure.* 2008 Sep;16(9):1389–98.
23. Shiels A, Bassnett S, Varadaraj K, Mathias R, Al-Ghoul K, Kuszak J, et al.

- Optical dysfunction of the crystalline lens in aquaporin-0-deficient mice. *Physiol Genomics*. 2001 Dec;7(2):179–86.
24. Berry V, Francis P, Kaushal S, Moore A, Bhattacharya S. Missense mutations in MIP underlie autosomal dominant “polymorphic” and lamellar cataracts linked to 12q. *Nat Genet*. 2000 May;25(1):15–7.
 25. Francis P, Berry V, Bhattacharya S, Moore A. Congenital progressive polymorphic cataract caused by a mutation in the major intrinsic protein of the lens, MIP (AQP0). *Br J Ophthalmol*. 2000 Dec;84(12):1376–9.
 26. Geyer DD, Spence MA, Johannes M, Flodman P, Clancy KP, Berry R, et al. Novel single-base deletional mutation in major intrinsic protein (MIP) in autosomal dominant cataract. *Am J Ophthalmol*. 2006 Apr;141(4):761–3.
 27. Fotiadis D, Hasler L, Müller DJ, Stahlberg H, Kistler J, Engel A. Surface tongue-and-groove contours on lens MIP facilitate cell-to-cell adherence. *J Mol Biol*. 2000 Jul;300(4):779–89.
 28. Ruiz-Ederra J, Verkman AS. Accelerated cataract formation and reduced lens epithelial water permeability in aquaporin-1-deficient mice. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(9):3960–7.
 29. Barandika O, Ezquerro-Inchausti M, Anasagasti A, Vallejo-Illarramendi A, Llarena I, Bascaran L, et al. Increased aquaporin 1 and 5 membrane expression in the lens epithelium of cataract patients. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* [Internet]. Elsevier B.V.; 2016;1862(10):2015–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.08.001>
 30. Grey AC, Walker KL, Petrova RS, Han J, Wilmarth PA, David LL, et al. Verification and spatial localization of aquaporin-5 in the ocular lens. *Exp Eye Res*. 2013 Mar;108:94–102.
 31. Sindhu Kumari S, Varadaraj K. Aquaporin 5 knockout mouse lens develops hyperglycemic cataract. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Nov;441(2):333–8.
 32. Petrash JM. Aging and age-related diseases of the ocular lens and vitreous body. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013 Dec;54(14):ORSF54-9.
 33. Rao GN, Khanna R, Payal A. The global burden of cataract. *Curr Opin*

- Ophthalmol. 2011 Jan;22(1):4–9.
34. López-Valverde G, Garcia-Martin E, Fernández-Mateos J, Cruz-González F, Larrosa-Povés JM, Polo-Llorens V, et al. Asociación de factores de riesgo ambientales en el desarrollo de las cataratas preseniles. *Rev Mex Oftalmol* [Internet]. 2017;91(2):56–61. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0187451916300270>
 35. Barandika O, Ezquerro-Inchausti M, Anasagasti A, Vallejo-Illarramendi A, Llarena I, Bascaran L, et al. Increased aquaporin 1 and 5 membrane expression in the lens epithelium of cataract patients. *Biochim Biophys Acta*. 2016 Oct;1862(10):2015–21.
 36. Varadaraj K, Kumari SS, Mathias RT. Transgenic expression of AQP1 in the fiber cells of AQP0 knockout mouse: Effects on lens transparency. *Exp Eye Res*. 2010 Sep;91(3):393–404.
 37. Varadaraj K, Kumari SS, Mathias RT. Functional expression of aquaporins in embryonic, postnatal, and adult mouse lenses. *Dev Dyn*. 2007 May;236(5):1319–28.
 38. Gonen T, Cheng Y, Kistler J, Walz T. Aquaporin-0 Membrane Junctions Form Upon Proteolytic Cleavage. *J Mol Biol*. 2004 Sep 24;342(4):1337–45.
 39. Varadaraj K, Kumari SS, Patil R, Wax MB, Mathias RT. Functional characterization of a human aquaporin 0 mutation that leads to a congenital dominant lens cataract. *Exp Eye Res*. 2008 Jul;87(1):9–21.
 40. Ruiz-Ederra J, Verkman AS. Accelerated cataract formation and reduced lens epithelial water permeability in aquaporin-1-deficient mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006 Sep;47(9):3960–7.
 41. Yang B, Verkman AS. Water and glycerol permeabilities of aquaporins 1-5 and MIP determined quantitatively by expression of epitope-tagged constructs in *Xenopus* oocytes. *J Biol Chem*. 1997;272(26):16140–6.