



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina

División de Estudios de Posgrado

Fundación Hospital Nuestra Señora de la luz, I.A.P.

Departamento de Segmento Anterior

Expresión de trombospondina en catarata congénita

Tesis de posgrado

Para obtener el título de

Cirujano Oftalmólogo

Investigador:

Dr. Héctor Luis Villarroel Guízar

Asesores:

Dra. Carolina Orea Ortega

M. en C. Atzín Robles Contreras

Ciudad de México, agosto de 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Índice

Introducción.....	1
Antecedentes.....	2
Justificación.....	13
Planteamiento del problema.....	14
Pregunta de investigación.....	14
Hipótesis.....	14
Objetivo.....	14
Material y Métodos.....	15
Recursos financieros y de factibilidad.....	17
Bioseguridad.....	17
Resultados.....	17
Discusión.....	19
Conclusión.....	23
Bibliografía.....	24

Introducción

La catarata es una condición incapacitante que no permite el adecuado desarrollo de la función visual y en pacientes pediátricos imposibilita la función cognitiva y la interacción con el entorno. Lo anterior tiene como consecuencia una vida de dependencia física y económica que afecta de manera irreversible al que lo padece y a quienes le rodean.

Los factores involucrados en la aparición de la catarata congénita y sus teorías etiopatogénicas son múltiples. Actualmente la etiología en la mitad de los casos bilaterales y en la mayoría de los unilaterales es desconocida.

Si bien el tratamiento y rehabilitación de estos pacientes ha sido motivo de estudio y debate desde el siglo pasado, la prevención de la aparición de esta anomalía esta limitada hasta encontrar la causa que la originó.

Antecedentes

La catarata se define como una opacidad en el cristalino, lente biológico que permite el enfoque de las imágenes en la fovea, que cuando se presenta en pacientes menores de dos años, se le denomina catarata congénita⁽¹⁾.

Epidemiología

La incidencia de catarata congénita en países industrializados es de aproximadamente 2,5 por cada 10.000 a la edad de 1 año, incrementándose a 3,5 por 10.000 a los 15 años. En países en desarrollo, la incidencia es de 5-15 por cada 10.000 recién nacidos vivos. Se estima que 200.000 niños en todo el mundo están ciegos por cataratas y por lo tanto, mejorar el pronóstico para los niños afectados es una prioridad para la iniciativa mundial Visión 2020 ⁽²⁾.

La función visual en los niños puede verse afectada por una opacidad cristaliniiana central densa resultando en ambliopía por privación visual, mientras que otros pueden desarrollar anisometropía debido al alto grado de astigmatismo. Una mejor comprensión de la neurofisiología del sistema visual y los conceptos de los períodos de críticos y sensibles del desarrollo visual, junto con la mejora de las técnicas quirúrgicas y la rehabilitación óptica en el período postoperatorio, han mejorado los resultados visuales en estos niños ⁽²⁾.

Embriología del cristalino

La explicación del desarrollo embrionario del cristalino en los vertebrados ha permanecido como un reto estructural y de evolución por parte de los estudiosos

en la materia debido a que representa un sistema biológico que tiene funciones ópticas con la singular propiedad de ser elástico⁽³⁾.

Se sabe que el cristalino se origina de las células del ectodermo superficial que recubre las vesículas ópticas, dicha zona es llamada placoda del cristalino y aparece a los 25 días de gestación, sufriendo posteriormente un engrosamiento e invaginación sobre el neuroectodermo, separándose del mismo al día 33 recibiendo ahora el nombre de vesícula óptica. Las células de la porción anterior permanecen como una sola capa de células epiteliales cuboidales, mientras que las de la parte posterior se elongan para formar las fibras cristalinas primarias obliterando el lumen de la vesícula óptica. El proceso de formación de las fibras secundarias empieza a partir de este momento y seguirá a lo largo de la vida ⁽³⁾.

Las suturas del cristalino aparecen en el segundo mes de gestación en los polos anterior y posterior del núcleo embrionario de características esféricas como resultado de la migración de las fibras secundarias que se acomodan en una disposición en "tela de cebolla", tras dicha migración el cristalino comienza a adquirir una forma más elíptica formando el resto de núcleos descritos: fetal, formado a los 51 días (26mm); juvenil y del adulto que aparecen después del nacimiento; las fibras anteriores forman una "Y" erecta y las posteriores una "Y" invertida. Este arreglo fibrilar es de suma importancia ya que minimiza de manera importante la dispersión de los rayos de luz que llegan a la pupila⁽³⁾.

Anatomía del cristalino

El cristalino es un órgano aneural, avascular y alinfático, y contiene una gran cantidad de proteínas constituyendo del 30 al 35% de la masa cristaliniana a una concentración de 450 mg/dl que le confiere un alto índice de refracción que, junto con la ausencia de organelos en las fibras, le otorga la transparencia que le caracteriza. La familia de proteínas solubles que abarca el mayor porcentaje de su estructura (80-90%) son las cristalinas, descritas en 1892 por Morner y que recientemente se ha revelado su involucro en las cataratas en edad pediátrica⁽⁴⁾.

En detalle, las cristalinas se dividen en: alfa cristalinas que representan el 40% y existen en un gran complejo con peso molecular de 800-1,000 kDa compuesto por alfaA y alfaB cristalinas codificadas en genes separados en una proporción (3:1), la primera sólo en el ojo (y se piensa que en una pequeña proporción en el bazo) y la segunda en diversos órganos como cerebro, músculos, pulmones, timo y riñón; ambas forman un arreglo molecular que representa una estabilidad y solubilidad máxima, aportando también funciones de resistencia al estrés celular sobretodo de tipo térmico y oxidativo, propiedad conferida por la homología existente con las proteínas de choque térmico (sHSP27) mimetizando la función de las chaperonas⁽⁴⁾.

Los otros dos grupos de proteínas cristalinas son las beta y las gamma, las primeras tienen un peso molecular de 40-200 kDa formando heterodímeros de dos tipos: ácidos y básicos, y que se codifican en dos genes separados con funciones de proteína chaperona. Las segundas, existen como monómeros de 20

kDa de estructura compactada que le confiere dureza y que explica su localización mayoritaria en el núcleo que es la parte más seca y densa del cristalino⁽⁴⁾.

Otras proteínas que son importantes para el mantenimiento de la estructura del cristalino son: las proteínas de membrana, que representan el 2% del total; las proteínas de unión tipo gap, llamadas conexinas que forman canales de comunicación intercelular; y las proteínas del citoesqueleto tales como actina, miosina y vimentina, comunes en todos los tejidos⁽⁴⁾.

Como se puede observar, la complejidad de la estructura del cristalino y la abundancia de procesos genéticos y de síntesis que deben de conjuntarse, permite que durante el desarrollo embrionario se puedan producir defectos en la síntesis, acomodo, migración de cualquiera de sus componentes lo cual provocaría una alteración de sus características ópticas previamente descritas.

Etiología de la catarata congénita

Las cataratas congénitas e infantiles tienen una etiología diversa, sin embargo, de manera somera se pueden dividir en sindromáticas y no sindromáticas.

La causa identificable más común es la herencia con un rasgo autosómico dominante. En el caso de las cataratas congénitas no sindromáticas, se definen como aquellas donde la anomalía ocular se presentó de manera aislada y se ha asociado su presencia con alrededor de 35 genes de herencia autosómico dominante y, en algunos casos, autosómico recesivo. Lamentablemente, el

fenotipo de la catarata no es un buen predictor del gen o de la mutación presente ya que cataratas idénticas han resultado con mutaciones en diferentes loci y con patrones de herencia variados. Además, algunas cataratas no sindrómicas pueden incluir la presencia de anomalías oculares asociadas sin afección sistémica evidente como, microcórnea, aniridia, vitreoretinocoroidopatía o microftalmos⁽⁵⁾.

Se ha implicado a las mutaciones en la transcripción de múltiples genes con las disgenesias del segmento anterior pero solo tres: PITX3, MAF y HSF4 se han asociado con la aparición aislada de catarata congénita⁽⁵⁾.

Otras anomalías genéticas tales como trisomías (13, 18, y 21), deleciones (5p, 18p, 18q) y herencia recesiva pueden ser la causa de la anomalía ⁽²⁾. Como se aprecia, las cataratas son genéticamente heterogéneas. Se sabe que diferentes mutaciones en el mismo gen pueden causar patrones de cataratas similares , mientras que las morfologías altamente variables de cataratas dentro de algunas familias sugieren que la misma mutación en un solo gen puede dar lugar a diferentes fenotipos ⁽⁶⁾.

Puede haber, también, asociaciones metabólicas como la diabetes, galactosemia, hipoglucemia, y la deficiencia de galactocinasa, las cuales a su vez, expresan diferentes morfologías de la catarata. Las cataratas congénitas también pueden estar presentes como parte de un espectro más amplio de condiciones sindrómicas que afectan principalmente a otros órganos como el riñón (síndrome de Lowe, síndrome de Alport, y el síndrome de Hallerman- Streiff-Francois), el

sistema esquelético (Smith-Lemli-Opitz y Stickler), el sistema nervioso central (Marinesco-Sjogren, Zellweger), el sistema musculoesqueléticos (distrofia miotónica de Steinert)⁽⁶⁾.

Además las infecciones intrauterinas del complejo TORCH, trauma ocular y la exposición a la radiación pueden predisponer a la formación de cataratas. A pesar de que la etiología es amplia, la mayoría de las cataratas congénitas unilaterales y alrededor de la mitad de todos los casos bilaterales son idiopáticos, es decir, de origen desconocido⁽⁷⁾.

Tipos de catarata congénita

Las cataratas congénitas pueden llegar a tener múltiples configuraciones que, se cree, dependen del momento del desarrollo en que se presentó la alteración. Por mencionar algunas: catarata polar anterior, que se caracteriza por ser una opacidad de menos de 3mm en la cápsula anterior anterior debida, probablemente a una separación anormal de vesículas lenticulares con la subsecuente metaplasia del epitelio anterior, no son visualmente significativas en la mayoría de los casos; catarata piramidal anterior, variante de la anterior con forma cónica con el ápex proyectado hacia cámara anterior, suelen ser bilaterales; catarata nuclear, opacidades centrales de 3.5 mm, las más comunes, visualmente significativas y con pronóstico visual moderado; catarata sutural o estrellada (figura 1), formada a partir del núcleo fetal por lo que adquiere una configuración estelar con afección visual moderada; catarata lamelar o zonular, opacidad en la corteza con disposición en "piel de cebolla", con pronóstico visual

bueno; catarata polar posterior, forma discoide en la cápsula posterior por la presencia de fibras cristalinas anormales con acúmulo de matriz extracelular, visualmente significativas y con alto riesgo de ruptura capsular⁽⁸⁾.



Figura1. Catarata sutural

Catarata cerúlea (figura2.), caracterizada por contener gránulos blanco-azulados en la corteza, presente en pacientes con síndrome de Down, se cree es debida a la fragmentación de fibras corticales, con poca afectación visual; catarata membranosa, caracterizada por la licuefacción del material cristalino con la consiguiente aposición de la cápsula anterior y posterior, se presenta, clásicamente, en relación a infecciones intrauterinas⁽⁸⁾.



Figura2. Catarata cerúlea

Manejo de la catarata congénita

Un enfoque estructurado en la evaluación de los niños afectados, desde control prenatal por parte de la madre, antecedentes perinatales, condiciones al nacimiento y valoración interdisciplinaria permitiría, de una mejor manera, la identificación de la etiología.

En última instancia, la decisión de operar y el momento de la cirugía dependerá a menudo en el juicio clínico en cuanto a si es probable que sea significativa la privación visual, en caso de decidir intervenir, se debe realizar con prontitud a manos de un cirujano experto con la corrección óptica que sea la más adecuada para cada caso en particular, importante recalcar el proceso de rehabilitación visual por el que estos pacientes deben de cursar para minimizar las secuelas visuales provocadas por la falta de estimulación⁽⁹⁾.

Factores inflamatorios y catarata congénita

La catarata congénita es de particular interés debido a la variabilidad de etiologías y a la reacción inflamatoria que es frecuentemente observada. En un estudio del 2016, se describieron los niveles intraoculares de varias citocinas inflamatorias de pacientes con catarata congénita y se estudio su correlación con características clínicas, encontrando que el grupo con catarata congénita tenía niveles elevados de diversos marcadores inflamatorios, sobretodo interleucinas, y que varias de ellas se asociaban con opacidad de la cápsula posterior, concluyendo que el perfil de citocinas es muy diferente en las cataratas congénitas y que, además, el nivel de las mismas puede llevarnos a un diagnóstico etiológico ⁽¹⁰⁾.

Las trombospondinas son una familia de grandes glucoproteínas extracelulares que se unen a receptores específicos expresados en diversas células y modulan funciones tales como la migración, proliferación o muerte celular. Hasta el momento cinco miembros han sido identificados (TSP-1 a TSP-5)⁽¹¹⁾.

Debido a sus interacciones con los receptores de superficie celular , factores de crecimiento , citocinas o componentes de la matriz extracelular, las trombospondinas pueden influir en muchos procesos específicos de tejidos complejos. En el ojo se ha visto inmiscuida en la angiogénesis retiniana, reparación de heridas y como proteína estructural en diversas estructuras del segmento anterior ⁽¹²⁾.

Dada la capacidad de TSP1 para regular las enzimas y factores de crecimiento, parece plausible que la proteína esté implicada en la regulación del microambiente local durante la formación continua de estructuras oftálmicas como la membrana de Descemet y la cápsula anterior del cristalino. De hecho, se ha observado recientemente TSP1 en cápsula anterior del cristalino humano (observaciones no publicadas) ⁽¹³⁾.

Aunque se sabe que varios factores de crecimiento afectan la diferenciación de las células del cristalino, el mecanismo de control no está del todo entendido. Por ejemplo, el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) puede ser requerido durante eventos moleculares relacionados con la diferenciación fibrilar. De manera particular, el TGF- β facilita la transición epitelial-mesenquimal activando la vía de la cinasa MAPK-Erk1/2 dando lugar a la expresión de más proteínas con funciones relativas a la migración y adhesión de las células epiteliales cristalinas como la fibronectina, lumican, laminina, osteopontina, fibrilina y metaloproteinasas así como sus inhibidores⁽¹³⁾.

La TSP1 es secretada en la superficie celular y en la matriz extracelular en varios grupos celulares y esta involucrada en la activación de las isoformas 1 y 2 del TGF- β las cuales, son requeridas en el desarrollo ocular normal. Sin embargo, se ha demostrado que existen otras proteínas específicas que activan la vía de señalización del TGF- β permitiendo un adecuado desarrollo del cristalino en modelo murino con inactivación génica de la TSP1. A pesar de este conocimiento, no se puede excluir la posibilidad de que la proteína en cuestión module la

función celular durante la reparación tisular en cristalinos dañados, induciendo opacidad durante este proceso⁽¹³⁾.

La presencia de TSP1 y TSP2 en el epitelio periférico del cristalino va acorde con el concepto de que estas dos proteínas están implicadas en el crecimiento del cristalino. Además, TSP1 tiene una ubicación sutil en la región basal en las células del epitelio cristalino: una distribución que es consistente con la función propuesta de TSP1 en la membrana basal o en la configuración de la matriz extracelular. A pesar de haber sido descrita en estas localizaciones, existe poca información concerniente a la relación entre el subgrupo A de las trombospondinas (TSP1 y 2) y la aparición de catarata. Sin embargo, hay buena evidencia de que la TSP1 está involucrada en la fibrosis capsular tras la cirugía de catarata, la llamada "catarata secundaria". La expresión de TSP-1 en las células que han sufrido metaplasia hacia células mesenquimales, específicamente fibroblastos, hace recordar con la regulación a la alta de esta proteína en queratocitos y células del epitelio pigmentario de la retina en procesos de reparación como heridas corneales o vitreorretinopatía proliferativa, respectivamente⁽¹⁴⁾.

Justificación

En la actualidad, a nuestro conocimiento, no contamos con estudios científicos que reporten la cuantificación de la molécula trombospondina-1 en catarata congénita que, se ha documentado, es un potente activador de factores de crecimiento, entre los que destaca el factor de crecimiento transformante beta y que, gracias a sus funciones en la migración, diferenciación y proliferación celular, son posibles responsables de la opacificación del cristalino embrionario.

Este trabajo podría abrir una nueva línea de investigación dirigida a analizar la presencia de otras proteínas relacionadas con la molécula en cuestión, como algunos factores de crecimiento específicos, intentando dar explicación y un método de detección temprano para la aparición de esta anomalía congénita.

Planteamiento del problema

El presente trabajo pretende responder y aportar información acerca de la presencia de trombospondina en catarata congénita, dicha molécula es conocida por ser una potente activadora de factores de crecimiento que pudieran llevar a una opacificación precoz del cristalino durante el desarrollo embrionario.

Pregunta de investigación

¿Cuáles son los niveles de trombospondina-1 en cataratas congénitas? ¿Existe diferencia en los niveles de trombospondina-1 en otro tipo de catarata?

Hipótesis

De investigación: Habrá expresión de trombospondina-1 en catarata congénita.

Nula: No habrá expresión de trombospondina-1 en catarata congénita.

Objetivos

El objetivo general de nuestro trabajo es estudiar los niveles de trombospondina-1 en catarata congénita.

El objetivo específico de esta investigación es estudiar niveles de trombospondina-1 en catarata senil, así como realizar la comparación entre

ambos grupos que permita magnificar los resultados obtenidos en el grupo de catarata congénita.

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio prospectivo, transversal, analítico, observacional y comparativo en el departamento de Segmento Anterior de la Fundación Hospital de Nuestra Señora de la Luz (FHNSL) en colaboración con el Centro de Investigación Biomédica ubicado en la calle de Ezequiel Montes número #135, colonia Tabacalera, Delegación Cuauhtémoc, C.P. 06030 México, D.F. En el periodo comprendido entre abril de 2016 y noviembre de 2016; para realizar el cálculo del tamaño muestral, que en este caso es para universo finito, se tomó en cuenta el número total de casos esperados de catarata congénita y se utilizaron las tablas correspondientes para dicho propósito, obteniendo un mínimo de 8 pacientes; los criterios de inclusión fueron todos aquellos pacientes con catarata congénita de etiología idiopática; pacientes con catarata senil sin antecedentes de otras cirugías intraoculares o enfermedades oculares o sistémicas asociadas; los criterios de exclusión fueron todos los pacientes que no cumplieron con los criterios de inclusión así como aquellos que no estuvieran de acuerdo en incluirse en el estudio; los criterios de eliminación fueron todo aquel paciente que no deseara continuar en el trabajo de investigación y aquellas muestras que se consideraran insuficientes para el análisis molecular. a todo paciente que acudió con los diagnósticos de catarata congénita ó senil y que

cumplía con los criterios de inclusión, se sometió a cirugía de extracción de catarata y previo consentimiento informado, se tomaron muestra de material cristalino, a los primeros mediante técnica de facoaspiración y a los segundos mediante técnica de extracción extracapsular de catarata y se sometió a análisis molecular con método de ELISA según las instrucciones del fabricante (R P Systems) para medir la concentración de trombospondina-1. Las muestras se mantuvieron en congelación hasta su procesamiento y, tras centrifugación durante un minuto, se realizó extracción de proteínas y cuantificación de las mismas de la siguiente manera: las placas ELISA se prepararon recubriendo los pocillos con la solución obtenida tras la extracción de proteína en las que se encuentra la proteína estudiada. Se incubaron con anticuerpos marcados los cuales indican la presencia de antígeno en la solución analizada. Se registraron en una base de datos física y electrónica. Para el análisis estadístico, se utilizaron pruebas de Kolmogorov-Smirnov para conocer la distribución de la población con la consiguiente prueba de T no pareada con corrección de Welch al haber obtenido una distribución normal, no homogénea. Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

Recursos financieros y de factibilidad

Este estudio fue llevado a cabo en el Centro de Investigación biomédica de la Fundación Hospital de Nuestra Señora de la Luz que cuenta con la infraestructura necesaria para realizar los procedimientos que ameritó este trabajo de investigación. Los reactivos e insumos utilizados fueron adquiridos con recursos de la Fundación Hospital de Nuestra Señora de la Luz destinados para dicho propósito.

Bioseguridad

Se aplicaron conocimientos, técnicas y equipamientos para prevenir a personas, laboratorios, áreas hospitalarias y medio ambiente de la exposición a agentes potencialmente infecciosos o considerados de riesgo biológico-químico.

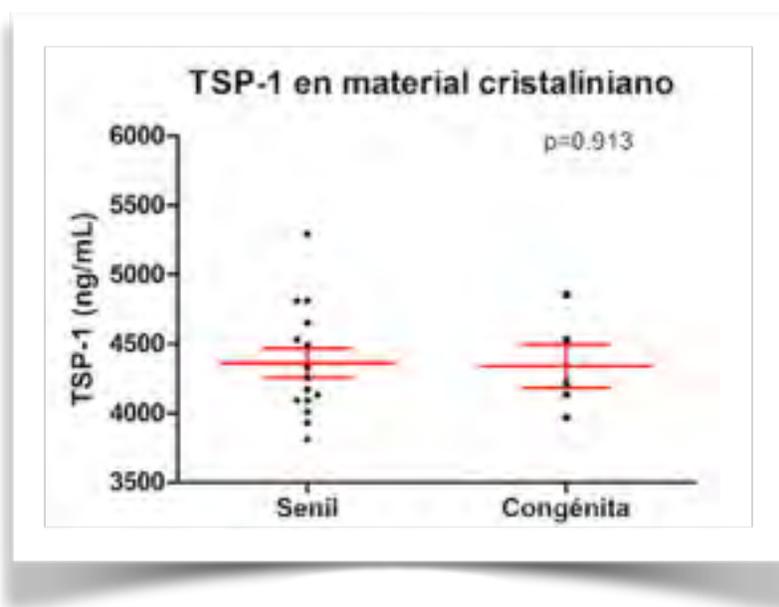
Resultados

Se recolectaron un total de 8 cataratas congénitas y 19 seniles, 3 muestras del primer grupo y 4 del segundo tuvieron que ser eliminadas por muestra insuficiente, éste último grupo se incluyó con el único afán de obtener un parámetro de magnificación de la molécula en nuestro grupo de interés. El promedio de edad fue de 3.5 años para el grupo de catarata congénita y de 69 para el de catarata senil. Se tuvo una cuantificación promedio en el grupo de catarata congénita de 4338 ng/ml y en el grupo de catarata senil de 4360 ng/ml con una desviación estándar de ± 351.5 y ± 401.6 respectivamente (tabla 1). Se

realizó el análisis estadístico, descrito en la metodología, encontrando que no hubo diferencia significativa en los niveles de trombospondina-1 entre los dos grupos de estudio con una $p=0.913$ (gráfica 1).

	Catarata congénita	Catarata senil
Tamaño de la muestra (n)	5	15
Edad promedio (años)	3.5	69
Media (ng/ml)	4338	4360
Desviación estándar (σ)	± 351.5	± 401.6

Tabla 1. Características de la población y cuantificación proteica.



Gráfica 1. Cajas y bigotes que muestran la distribución de los valores de TSP-1.

Discusión

La TSP-1, ya estudiada previamente a nivel ocular y con múltiples funciones durante el desarrollo embrionario y en la vida adulta, ha tenido un rol importante en el estudio de la cataratogénesis, así como en la inmunoregulación ocular, tal y como describió Zamiri y colaboradores en 2005, cuando demostraron que los ratones con bloqueo génico para el gen de la TSP-1 cursaban con procesos inflamatorios más intensos con acúmulo de factores de crecimiento, quimiocinas y citocinas que aumentaban la permeabilidad vascular⁽¹⁵⁾. Es importante el estudio de este tipo de proteínas del desarrollo ya que podría explicar la etiología de la mayoría de las cataratas congénitas unilaterales y casi la mitad de las bilaterales que hasta el momento quedan encasilladas en "idiopáticas".

Por citar algunos otros estudios, Bornstein et al. en 2002 demostró que embriones de ratón con bloqueo génico de la TSP-1 tenían un efecto leve en el fenotipo ocular de todos los especímenes concluyendo que hay redundancia en cuanto a funciones en el desarrollo de las estructuras del segmento anterior se refiere, por lo que la falta de esta molécula no es vital para una adecuada formación ocular a nivel embrionario ⁽¹⁶⁾. Empero, Aikio et al en 2013 publicó que una sobre-expresión del dominio de TSP-1 en modelo murino produjo aparición de catarata en todos los especímenes ⁽¹⁷⁾.

Además Saika et al demostraron en 2004 la presencia de la expresión de TSP-1 en las células epiteliales del cristalino y como en ratones knock-out para el gen que

expresa la proteína en cuestión existe un desarrollo normal, lo que sugiere que existen otras moléculas que activan al TGF- β permitiendo un desarrollo ocular sin complicaciones, también demostraron la presencia de TSP-1 en cristalino de embrión sano y también en la cápsula anterior fibrótica tras infligir daño a la misma mediante métodos de histología con tinción de hematoxilina y eosina donde se aplicaron técnicas inmunofluorescencia indirecta, a través de anticuerpos específicos anti-TSP-1, lo anterior nos permite comprobar que la molécula de interés se encuentra tanto en el desarrollo normal del cristalino como en proceso de reparación y fibrosis del mismo. Por lo que puede ser un factor importante en el desarrollo de opacidad cristalina.

Como ya se mencionó, la TSP-1 es un potente activador del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) el cual tiene un papel importante en la regulación del microambiente ocular durante el desarrollo del mismo por lo que la activación directa y/o indirecta de este factor también podría alterar la formación de estructuras oculares como lo demostró Kondo et al. en 2014 el cual encontró aumento de TGF- β y de factor de crecimiento de fibroblastos y de sus receptores en catarata de modelo murino mediante técnica de inmunohistoquímica, comprobando que es un factor cataratogénico que media la polaridad y el patrón de crecimiento de las células epiteliales lenticulares⁽¹⁸⁾.

En otro estudio Spomer et al, describieron como el TGF- β , sobretodo su isoforma 1, esta estrechamente relacionado con la opacidad de la cápsula posterior del cristalino al ser el responsable de la transformación epitelio-mesenquimal de las

células epiteliales cristalinas en células parecidas al fibroblasto adquiriendo movilidad a partir de filopodios y la capacidad de acumular actina, característica del músculo liso, induciendo también la síntesis de proteínas de matriz extracelular en placas que producen opacidad lenticular. En su estudio, como en el nuestro, describieron un factor activador del TGF- β , el Alfa-v-beta6 ($\alpha\beta6$) expresado sobretodo en epitelios durante la embriogénesis no así en la mayoría de los tejidos de adultos sanos, reafirmando que algún activador específico de este factor de crecimiento puede inducir opacidad cristalina. Mencionando también a la TSP-1 y cómo se encuentra de manera intracelular en células epiteliales durante el desarrollo embrionario, siendo secuestrada en membranas basales en etapa adulta ⁽¹⁹⁾.

Por último, Flügel-Koch y colaboradores indujeron la expresión de TGF- β 1 en el cristalino de ratones, encontrando a través de microscopía electrónica inclusiones acumuladas a lo largo del citoplasma tanto de fibras lenticulares como de células epiteliales y en sus núcleos lo cual, tras la fijación del tejido, se observaron como cataratas focales ⁽²⁰⁾.

A pesar de todo lo que se sabe acerca de la molécula en cuestión, no se tiene estudiada ni cuantificada por método de ELISA esta proteína (la mayoría de los estudios la identifican por métodos de inmunofluorescencia ó reacción en cadena de la polimerasa) en catarata congénita humana por lo que nuestros resultados, sin precedentes, requieren ser comparados con los niveles de TSP-1 en un

cristalino sano para fijar un parámetro basal y saber si los niveles que se reportan en este estudio son bajos, normales o altos.

Además el hecho de que no haya habido diferencia en los niveles de TSP-1 en los dos grupos que se incluyeron en el estudio no descarta la participación de esta proteína en la cataratogénesis a nivel embrionario y/o fetal. Por lo que las líneas de futuras investigaciones deberán tomar en cuenta el incluir un grupo de cristalino sano los cuales pueden ser obtenidos mediante cirugía facorefractiva o en modelo murino ya que se ha demostrado que existe una homología de la TSP-1 en esta especie del 95% en comparación con la humana.

Dentro de las limitaciones de nuestro estudio tenemos que fue una muestra pequeña de pacientes y que el grupo comparativo no era de población sana, es decir, con cristalino transparente sino de aquellos que ya sufrían opacidad de características seniles. A pesar de lo anterior, el haber demostrado la presencia y cuantificación de TSP-1 en catarata congénita permite incentivar la búsqueda de nuevas moléculas proteicas específicas que puedan dar explicación y determinar factores cataratogénicos en cristalinos en edad pediátrica, una incógnita en la mayoría de los casos.

Conclusión

En nuestro estudio se demostró la presencia de trombospondina-1 en catarata congénita así como, de manera secundaria, en catarata senil, obteniendo también su cuantificación mediante método de ELISA. Dichos niveles obtenidos, al compararlos, no tuvieron una diferencia estadísticamente significativa. No se encuentran reportados, al momento, los niveles específicos de dicha proteína en cristalinos sanos ni cataratosos por lo que los obtenidos en nuestro estudio marcan un parámetro para futuras líneas de investigación.

Bibliografia

1. Pichi, F. Lembo, A. Serafino, M. Genetics of congenital caratact. Dev Ophthalmol. Basel, Karger, 2016, vol 57, pp 1-14.
2. Stewart, C. E., Stephens, D. A., Fielder, A. R., Moseley, M. J. & the ROTAS Cooperative 2007 Objectively monitored patching regimens for treatment of amblyopia: randomised trial. Br. J. Med. 335, 707.
3. Reddy MA, Francis PJ, Berry V, Bhattacharya S, Moore AT: Molecular genetic basis of inherited cataract and associated phenotypes. Surv Ophthalmol 2004;49:300-315.
4. Hejtmamcik JF, Smaoui N: Molecular genetics of cataract. Dev Ophthalmol 2003;37:67-82
5. Messina-Baas, O. Cuevas, S. Inherited congenital cataract: a guide to suspect the genetic etiology in the cataract genesis. Mol Syndromol 2017;8:58-78
6. Churchill, A. Graw, J. Clinical and experimental advances in congenital and paediatric cataracts. Phil. Trans. R. Soc. B (2011) 366, 1234-1249.
7. Santana, A. Waiswol, M. The genetic and molecular basis of congenital cataract. Arq Bras Oftalmol. 2011;74(2):136-42.

8. Léonard A, Bernard P, Hiel AL, Hubinont C. Prenatal diagnosis of fetal cataract: Case report and review of the literature. *Fetal Diagn Ther* 2009;26:61-7.
9. Chan, W. Biswas, S. Ashworth, J. Congenital and infantile cataract: aetiology and management. *Eur J Pediatr* (2012) 171:625-630.
10. Santana, A. Waiswol, M. The genetic and molecular basis of congenital cataract. *Arq Bras Oftalmol*. 2011;74(2):136-42.
11. Sauer, A. Bourcier, T. Gaucher, D. Candolfi, E. Intraocular cytokines imbalance in congenital cataract and its impact on posterior capsule opacification. *Graefes Arch Clin Exp Ophtalmol* 2016 Mar 12.
12. Hiscott, P. Paraoan, L. Choudhary, A. Ordonez, J. Thrombospondin 1, thrombospondin 2 and the eye. *Progress in Retinal and Eye Research* 25 (2006) 1-18
13. Saika, S. Miyamoto, T. Ishida, I. Barbour, W. Accumulation of thrombospondin-1 in post-operative capsular fibrosis and its down-regulation in lens cells during lens fiber formation. *Experimental Eye Research* 79 (2004) 147-156.
14. Masil, S. Sheibani, N. Cursiefen, C. Zieske, J. Matricellular protein thrombospondin: influence on ocular angiogenesis, wound healing, and immunoregulation. *Curr Eye Res*. 2014 August ; 39(8): 759-774.

15. Zamiri, P. Masli, S. Kitaichi, N. Thrombospondin Plays a Vital Role in the Immune Privilege of the eye. *IOVS*, March 2005, Vol. 46, No. 3
16. Bornstein, P., Sage, E.H. Matricellular proteins: extracellular modulators of cell function. *Curr. Opin. Cell Biol.* 2002.14, 608-616.
17. Aikio M, Hurskainen M, Brideau G, et al. Collagen XVIII short isoform is critical for retinal vascularization, and overexpression of the Tsp-1 domain affects eye growth and cataract formation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54:7450-7462.
18. Kondo, T. Ishiga-Hashimoto, N. Nagai H. et al. Expression of transforming growth factor β and fibroblast growth factor 2 in the lens epithelium of Morioka cataract mice. *Congenital Anomalies* 2014; 54, 104-109.
19. Sponer, U. Pieh, S. Soleiman, A. Upregulation of $\alpha\text{V}\beta 6$ integrin, a potent TGF- $\beta 1$ activator, and posterior capsule opacification. *J Cataract Refract Surg—vol* 31, march 2005.
20. Fügel-Koch, C. Ohlmann, A. Platigorsky, J. Disruption of Anterior Segment Development by TGF- $\beta 1$ Overexpression in the Eyes of Transgenic Mice. *Developmental Dynamics* 225:111-125(2002).