



Catarata: ¿intervención quirúrgica o gotas oculares?

Mario Castañeda-Morales

RESUMEN

La catarata (“la cascada de agua cuyo color se torna blanco”) de la lente humana ha sido tratada invasivamente desde la época de la Roma antigua y, después, en la India y el territorio árabe. El mismo enfoque continúa a la fecha y adornado últimamente con el uso del *femtosecond* laser para la cápsulorrexia. El conocimiento obtenido sobre la formación celular y molecular de la lente ocular indica que la patología se debe a la precipitación de sus especiales moléculas; es decir, de sus cristalinós. La propiedad de “ser transparente como el cristal” depende de que dichas moléculas permanezcan solubles. En células metabólicamente activas, el proceso de homeostasis proteica (proteostasis) es controlado por una serie de organelos (fagosomas, lisosomas) y chaperones moleculares. Las células de la lente, en su diferenciación, pierden esta función. La búsqueda y hallazgo de chaperones farmacológicos con efecto clarificador de la catarata cuando aplicados localmente, tanto *in vitro* como *in vivo* (en el perro y el ratón) y en material humano, abre la posibilidad de un tratamiento no invasivo.

Palabras clave: catarata, cristalinós, proteostasis, chaperones, tratamiento local.

Cataract Treatment: Surgical or Medical?

ABSTRACT

The human lens cataract has traditionally been treated by invasive procedures. Alfa crystallines function as chaperones restoring the original 3D structure and solubility properties that impart the transparency of the lens. Loss of proteostasis in the lens's cells in their differentiation process, result in an age-related protein precipitation of these molecules. Recent experiments show that some pharmacologic chaperones restore solubility and transparency. Data obtained *in vitro* and *in vivo* (dog, mice), and in human material with local application, indicate a pathway for translational medicine of a non-invasive treatment.

Key words: Cataract, Crystallines, Proteostasis, Chaperones, Medical-Treatment, Translational-Medicine

Recibido: 19 de enero 2016

Aceptado: 23 de marzo 2016

Correspondencia

Cor. M.C. Ret. doctor en Bioquímica Mario Castañeda Morales.

Flores Magón 1711
91910 Veracruz, Ver
marjorcast@att.net



Ésta parece ser la disyuntiva en un futuro cercano. Cuestión importante por su prevalencia de un 50% en mayores de 60-70 años. Conocimientos recientes en Medicina Molecular sitúan su tratamiento médico en el horizonte terapéutico.

La lente ocular es un producto, finamente orquestado, de diferenciación celular de células epiteliales. De una diferenciación particularmente extrema y, final. Dichas células desechan tanto su núcleo como sus mitocondrias. Las células fibrilares de la lente van secuencialmente posicionando, del centro hacia la periferia, capas celulares con pérdida de organelos, suspensión de síntesis de proteínas e, importantemente, reciclaje de las mismas. Paralelamente, van acumulando las proteínas características de la lente; es decir, las denominadas “cristalinos”. Proteínas que evolutivamente se han ido seleccionando para evitar, precisamente, la formación de cristales; cristales que darían al traste con la transparencia de la lente.

Los cristalinos son proteínas estructurales solubles en agua, propiedad sine qua non para la transparencia. Existen en varios grupos de acuerdo a su secuencia de amino ácidos: alfa, beta y gamma en vertebrados (gamma ausente en la lente de las aves); delta en reptiles y sus descendientes, las aves; épsilon y lambda en algunos vertebrados. Constituyen el 90% de la proteína total de cada célula fibrilar. Las alfa (a) son las más abundantes y las más interesantes en cuanto a función desde hace algún tiempo.¹ Existen en dos tipos: la A y la B (aA y aB). Las aA y las aB se asocian en complejos esféricos de unas 40 cadenas polipeptídicas; las beta forman complejos de unas 4-6 cadenas. Las gamma son monoméricas. Las aA y aB provienen de la duplicación del gen original con divergencia posterior y se encuentran, en mucho menor concentración, en otros tejidos. Las aA y las aB existen en una relación de 3 a uno y esta relación es más estable a la termo-desnaturalización

que aA y aB por separado. El gen de las aA se encuentra en el cromosoma 21, el polipéptido es de 173 aminoácidos (aa). El de las aB en el cromosoma 11 y el polipéptido es de 175 aa. La homología entre ambas es de un 57% y forman oligómeros de 0.3 a un poco más de 1 millón de daltons (Da); cada polipéptido es de unos 20 kDa. La concentración de los cristalinos requiere ser alta para alcanzar el índice de refracción de la lente. Las alfa llegan a concentraciones de 450 mg/ml y ellas constituyen un 35-40% de la lente.

El dominio, conjunto secuencial característico, de las alfa es la secuencia consenso común a todos los miembros del grupo sHSP (*small Heat Shock Proteins*) de unos 20- 27 kDa. Este grupo tiene la función de chaperón, de dirigir, conducir por el buen camino a un individuo; y, en el mundo molecular, cada molécula es un individuo con temperamento y carácter propios. Ese buen camino aquí, es la conservación o restitución de la estructura tridimensional original y funcional. Con el paso del tiempo, las moléculas envejecen; así como envejecen los metales, incluyendo al titanio –componente importante en todo metal que requiere una alta conservación de su integridad y, aún sin someterlos a ninguna fuerza exterior. Las moléculas polipeptídicas envejecen por modificaciones post-traduccionales y por oxidación; los polipéptidos se desdobl原因 perdiendo su estructura 3D original modificando sus interacciones iónicas intra- e inter-polipeptídica, se desnaturalizan exponiendo sus superficies hidrofóbicas y se precipitan en agregados insolubles. Y en la lente, los agregados se organizan en fibras similares al amiloide y forman las cataratas.

¿Qué tan viejas son esas moléculas? La lente empieza a formarse unas 4 semanas después de la fertilización. Al nacimiento, las células fibrilares son ya unos 1.6 millones; a los 20 años, 3 millones y a los 80, 3.5 millones. ¡El centro de la lente a los 60-80 años contiene proteínas sintetizadas durante la embriogénesis! Hacia los

40 años existe ya una pérdida gradual de las alfa solubles en agua y después una casi total desaparición.² La fracción insoluble de la lente, además de las alfa, contiene las beta, las gamma S y D y enzimas del metabolismo intermedio como enolasa y la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa. En cuanto a la función de chaperón, las alfa también interactúan con las del citoesqueleto (más abundantes en el epitelio y en las fibrilares corticales). La concentración de las aB aumenta en enfermedades neurodegenerativas como la de Alexander, de Parkinson y de Alzheimer y en Creutzfeldt-Jacob.

El desequilibrio en favor de la insolubilidad de esta superfamilia de cristalinos, es pues, la causa más importante en la formación de catarata. Cuando las patologías, en general, presentan datos de transmisión hereditaria, los casos índice y sus familias abren la puerta hacia las posibles causas en los casos no hereditarios; sobre todo cuando se las tiene en modelos de animales de experimentación. Tal es el caso en una cepa de ratas con catarata en la que se encontraron mutaciones en el gen LSS de la enzima lanosterol sintasa³ con datos indicando cierto papel del colesterol.

Esta enzima sintetiza lanosterol a partir de un óxidoescualeno en la ruta de la biosíntesis de esteroides. El lanosterol es una molécula interesante en la fisiopatología de catarata: es anfipática (relevante en solubilidad-insolubilidad) y se encuentra en concentraciones importantes en la lente. A la fecha se han identificado dos mutaciones homocigotas nuevas del gen LSS en dos familias consanguíneas con catarata hereditaria. Una con la transición de guanina a adenosina en una familia y otra (transición T a C) en la segunda familia. Ambas en el cromosoma 21 y padres sanos heterocigotos.⁴ Las mutaciones producen una enzima inactiva que no cambia su localización intracelular ni causa, ella misma, agregados. La expresión de cristalinos mutantes productores

de agregación fue inducida en células normales crecidas *in vitro* con el resultado esperado de agregados; la co-expresión de la enzima normal redujo los agregados tanto en número como en tamaño. De interés, el cristalino aA mutado fue liberado de los agregados y resultó más soluble. El control con la enzima mutada resultó negativo. La adición de lanosterol al cultivo de células co-expresando la enzima mutada, redujo los agregados de aA (la de colesterol fue negativo); y el efecto, mostró dependencia de la concentración de lanosterol en el medio. En los lisados celulares, la fracción soluble de aA mutado aumentó. Este efecto de redisolución de agregados por lanosterol en el medio de cultivo, dio lugar a usarlo directamente sobre la lente opacificada, tanto *in vitro* en material de conejo como *in vivo* en perros. En ambos casos, se obtuvo una mejoría importante; indicando que el tratamiento local temprano pudiera ser factible.

Otro grupo de trabajo ha ampliado estos conocimientos con la búsqueda específica de chaperones farmacológicos que pudieran mostrar ventaja.⁵ Usando un ensayo para medir la estabilidad térmica (*Differential Scanning Fluorimetry*) de la proteína blanco en presencia de los posibles chaperones. Las proteínas blanco usadas fueron cristalino aB normal con una temperatura de fusión (T_m) de 64 °C y un recombinante aB con T_m de 68 °C. Las moléculas que redujeran este último T_m serían los buenos candidatos. Sin embargo y para reducir el índice señal/ruido, escogieron a la molécula HSP 27 con un T_m de 72 °C. De unos 2,450 compuestos (naturales y sintéticos) a una concentración de 20-40 nM, identificaron 45 (1.8%) que produjeron una disminución de al menos 3 desviaciones estándares (0.6 °C). De éstos, obtuvieron 32 (1.3% del total) con actividad a concentraciones menores de 20 nM; doce pertenecieron a una clase de esteroides. Uno de ellos, débilmente activo y poco soluble, fue el lanosterol. Finalmente se quedaron con el compuesto 29 (5-colesten-3b,25 diol) que mos-



tró mayor potencia y fue entonces ensayado en: a) su interacción adecuada en el dominio de la interfase del dímero de aB; b) la formación de y disminución de agregados aB con su liberación a la fracción soluble; c) probado contra 3 mutantes de aA; d) en el ratón con aB mutado y cataratas severas asociadas a la edad y en 100% de los animales, aplicado en un ojo (el otro como control) 3 veces por semana y durante 2 semanas con opacidades medidas al final del tratamiento y 4 semanas después (tanto en los adultos como en los viejos); y finalmente, e) en el humano, con material de la lente obtenido de pacientes de 63-80 años con grado de catarata 1 a 4 expuesto por 6 días ex vivo. En todos ellos, dichos ensayos dieron resultados positivos. Nuevamente, estos resultados indican la existencia de un futuro en el papel que puedan jugar los chaperones

farmacológicos en el tratamiento médico, si no absoluto, de la catarata.

REFERENCIAS

1. Takemoto L y Sorensen CM. Protein-protein interaction and lens transparency. *Exp Eye Res* 2008; 87: 496-501.
2. Sharma KK y Santhoshkumer P. Lens aging: effect of crystallins. *BiochimBiophys Acta* 2009; 1790: 1095-1108.
3. Mori M, Li G, Abe I, Nakayama J, Guo Z, Sawashita J, et al. Lanosterol synthase mutations cause cholesterol deficiency-associated cataracts in the Sumiya cataract rat. *J Clin Invest* 2006; 116: 395-404.
4. Zhao L, Chen X-J, Zhu J, Xi Y.B, Yang X, Hu L-D, et al. Lanosterol reverses protein aggregation in cataracts. *Nature* 2015; doi: 10. 1038/14650.
5. Makley L, McMenimen KA, DeVree BT, Goldman JW, McGlasson BN, Rajagopal P, et al. Pharmacological chaperones of α -crystallin partially restores transparency in cataract models. *Science* 2015; 350: 674-677.