



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

**Formación de vesícula posterior a la aplicación de trehalosa en
conejos operados de trabeculectomía comparado con control a tres
meses de seguimiento**

TESIS

Para obtener el grado de:
Especialista en Medicina (Oftalmología)

PRESENTA

Lorena María Wheelock Gutiérrez

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Félix Gil Carrasco



Asociación para Evitar
la Ceguera en México I.A.P.

Ciudad de México

2019

Asociación para Evitar la Ceguera en México, 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.

Índice

1.	Resumen	3
2.	Marco teórico	3
3.	Antecedentes	4
3.1	Justificación	4
3.2	Planteamiento del problema	4
3.3	Objetivos	5
Objetivo general.....	5	
Objetivo específico	5	
3.4	Hipótesis.....	5
Hipótesis específicas	5	
3.5	Pregunta de investigación	5
4.	Metodología.....	5
4.1	Tipo de investigación	5
4.2	Recursos materiales y financieros	5
Recursos humanos.....	5	
Recursos Materiales.....	5	
Recursos del Hospital.....	6	
Financiamiento	6	
4.3	Metodología.....	6
Experimentación con animales:.....	6	
Descripción de las maniobras principales	6	
a. Evaluación preoperatoria.....	6	
b. Cirugía	6	
c. Seguimiento postoperatoria	7	
d. Preparación para estudio histopatológico	7	
Recolección de Datos:.....	7	
Plan de Análisis	7	
5.	Resultados.....	7
6.	Discusión	10
7.	Conclusión.....	11
8.	Anexos	11
Anexo I:.....	11	

Anexo II.....	11
Anexo III:.....	11
9. Agradecimientos:.....	13
10. Referencias.....	13

1. Resumen

Objetivo: Reportar la proporción de formación de vesícula después de la colocación de trehalosa al 20% en el lecho escleral de conejos operados de trabeculectomía comparado con control a los 3 meses post-quirúrgicos.

Diseño: experimental, prospectivo, longitudinal, y descriptivo.

Métodos: se estudiaron 5 conejos por grupos (n=10) operado de trabeculectomía con la aplicación transquirúrgica subconjuntival de trehalosa al 20% contra grupo control de solución salina balanceada. Prequirúrgicamente y postquirúrgicamente se realizó conteo de células endoteliales. Se midió el porcentaje de formación de vesícula posterior al procedimiento y finalmente se estudiaron en estudio anatomopatológico. Los resultados se reportan en estadística descriptiva con rangos.

Resultados: La formación de vesícula se encontró en el 90% de los conejos (9/10). El conteo prequirúrgico de células endoteliales para el grupo de trehalosa fue de 2468.5 (1413 – 3524) y en el postquirúrgico un promedio de 2529.75 (1387–3324) células. El grupo control, presentó un conteo prequirúrgico de 2842.667 (2635–3064) células; en el postquirúrgico presentó 2410 (1781–2663) células. En el estudio histopatológico los grupos controles tienen una mayor respuesta tipo granulomatosa y células gigantes multinucleadas. Ninguno de los grupos presentó complicaciones graves durante el seguimiento, no se presentaron infecciones en el sitio quirúrgico, vesiculitis o endoftalmitis.

Conclusión: La aplicación subconjuntival de trehalosa al 20% durante la trabeculectomía en conejos tipo Nueva pudiera ser una alternativa en la modulación de la actividad anti-inflamatoria post-traumática quirúrgica. Este estudio demuestra el uso de esta molécula como segura en tejidos animales.

Palabras clave: Tratamiento quirúrgico, Glaucoma, Trabeculectomía, Prevención de fibrosis, Trehalosa, conjuntiva-Tenon.

2. Marco teórico

El glaucoma es la primera causa de morbilidad visual irreversible a nivel mundial con una prevalencia relativamente alta (2-3%) en poblaciones mayores a 40 años de edad, ¹ donde hasta ahora el control de la presión intraocular es la única medida o factor de riesgo que evita la progresión de la enfermedad, por lo que su control es de suma importancia. Dentro de las intervenciones quirúrgicas que permiten una disminución de la presión intraocular se encuentra la trabeculectomía, la cual presenta diferentes tasas de éxito, pero que el fracaso funcional de la misma se debe generalmente a la cicatrización de la filtración extensa a nivel de la conjuntiva y la cápsula de Tenon con la formación de los fibroblastos e inducción de factores de crecimiento remodeladores de tejido, ² mismos que desencadena este procedimiento.¹¹ Ante el inminente fracaso, se han utilizado diferentes moduladores de la cicatrización dentro de los que destaca el uso de antimetabolitos como la Mitomicina C ¹² y el 5-fluorouracilo; estos no están exentos de riesgos ya que, desgraciadamente, el uso de estos antimetabolitos presentan efectos adversos tales como: reducción excesiva de la presión intraocular con hipotonía ocular secundario a toxicidad del cuerpo ciliar,⁴ riesgo elevado de formación de catarata, ⁵ desprendimiento coroideo¹, fuga de humor acuoso a través de las paredes de la vesícula de filtración, ³ adelgazamiento y reblandecimiento de la esclera y endoftalmitis tardía ⁵ entre otras complicaciones.

Sabiendo de antemano los efectos fibroblasto-tóxicos de la trehalosa en la cicatrización conjuntival,⁶ con la investigación de la misma como potencial inhibidor de los procesos de cicatrización en la trabeculectomía pretendemos encontrar una alternativa segura para ser usada en este tipo de procedimiento.

En este estudio es describimos la seguridad y los efectos de la trehalosa al 20% en la cicatrización subconjuntival en conejos operados de trabeculectomía a tres meses de seguimiento contra sus homólogos a los que se les administró solución salina balanceada.

3. Antecedentes

3.1 Justificación

El glaucoma de ángulo abierto es una enfermedad crónica con una prevalencia relativamente alta en poblaciones de más de 40 años de edad, en relación con los niveles de presión intraocular elevada (PIO), que, induce cambios en los campos visuales y deterioro progresivo del nervio óptico, que de no tratarse es capaz de producir ceguera. Afecta al 2-3% de la población mayor de 40 años pasando, es prácticamente asintomática, por lo que puede pasar desapercibida en un gran porcentaje de los casos hasta que se encuentra en estadios muy avanzados.¹ Dentro de las intervenciones quirúrgicas usadas, cuando el tratamiento médico es insuficiente para lograr el control de la PIO, se encuentra la Trabeculectomía, la cual presenta diferentes tasas de éxito, pero que el fracaso funcional de la misma se debe generalmente a la cicatrización de la filtración que se induce con ese procedimiento¹¹ y para lo que se han utilizado diversos métodos inhibitorios de los procesos de cicatrización dentro de los cuales el uso de antimetabolitos como la Mitomicina C¹² y el 5-fluorouracilo, son los más frecuentemente usados, pero que la dosificación, el tiempo de permanencia y el tiempo de lavado se han determinado en forma empírica y que a su vez tienen un potencial riesgo de complicaciones desde leves hasta muy serias como efectos adversos bien conocidos.

La Trehalosa es un agente biológico natural que pudiera prevenir la formación de la cicatriz fibrosa que está implicada en el fracaso de la cirugía filtrante en el Glaucoma tipo Trabeculectomía, sin existir hasta el momento los estudios clínicos suficientes para demostrar su efecto, en la aplicación en este tipo de cirugía filtrante.¹³

Sabiendo de antemano los efectos fibroblastostóxicos de la Trehalosa en la cicatrización conjuntival,⁶ con la investigación de la misma como potencial inhibidor de los procesos de cicatrización en la Trabeculectomía pretendemos encontrar una alternativa segura para ser usada en este tipo de procedimiento.

Así mismo, uno de los objetivos finales de este estudio prospectivo es analizar el comportamiento de esta sustancia en los tejidos oculares como la esclera, la Tenon, la conjuntiva, y los elementos estructurales del segmento anterior (córnea, iris, cristalino, trabéculo y cuerpo ciliar en conejos en los que se aplicará, en un procedimiento semejante a la Trabeculectomía pero sin penetrar a la cámara anterior, sino solamente el manejo de conjuntiva y Tenon, el tallado del colgajo escleral superficial, la sutura del mismo y la de la conjuntiva. Para el estudio del comportamiento en el segmento anterior se inyectará la sustancia en forma directa.

3.2 Planteamiento del problema

Es necesaria la búsqueda de novedosas alternativas eficaces y seguras para evitar la cicatrización conjuntival después de la trabeculectomía. ¿La trehalosa al 20% reduce la fibrosis y cicatrización en conejos operados de trabeculectomía comparado con control a los 3 meses postquirúrgicos?

3.3 Objetivos

Objetivo general

Reportar la proporción de formación de vesícula después de la colocación de trehalosa al 20% en el lecho escleral de conejos operados de trabeculectomía comparado con control a los 3 meses post-quirúrgicos

Objetivo específico

- Reportar la proporción de fibrosis en la cicatriz fibrosa de ambos grupos.
- Reportar la densidad celular endotelial en el pre y post-quirúrgico en ambos grupos.

3.4 Hipótesis

La proporción de formación de vesícula en el grupo de Trehalosa al 20% de concentración será de un 80% comparado con un 20% en el grupo control.

Hipótesis específicas

- El porcentaje de fibrosis o fibroblastos en la cicatriz fibrosa será 80% menor en el grupo de Trehalosa el 20% comparado con el grupo control.
- La densidad celular endotelial en el pre y post-quirúrgico será similar (diferencia menor o igual a 10%) en ambos grupos.

3.5 Pregunta de investigación

¿Cuál es la proporción de formación de vesícula después de la colocación de trehalosa al 20% en el lecho escleral de conejos operados de trabeculectomía comparado con control a los 3 meses post-quirúrgicos?

4. Metodología

4.1 Tipo de investigación

El tipo de estudio es experimental, prospectivo, longitudinal, y comparativo.

4.2 Recursos materiales y financieros

Recursos humanos.

Dr. Francisco Alvarado – Médico Veterinario Oftalmólogo - Como orientador en el manejo y cuidado de los conejos

Dr. Abelardo Rodríguez – Médico Patólogo – Como encargado de realizar estudio histopatológico

Recursos Materiales

Alimento especial para conejos

Fármacos de Sedación Animal

Jaulas para conejos

Recursos del Hospital.

Bioterio del Hospital

Instrumental de Cirugía Experimental

Área de Cirugía Experimental con equipos médicos y quirúrgicos

Tinciones y utensilios del Departamento de Patología para realizar el diagnóstico histológico

Financiamiento

El financiamiento fue de tipo interno

4.3 Metodología

El presente estudio se llevó a cabo en el laboratorio de Cirugía Experimental del Hospital “Dr. Luis Sánchez Bulnes” de la Asociación para Evitar la Ceguera en México, la fecha de inicio fue el 1 de agosto del 2017 y finalizó el 1 de julio del 2019.

Experimentación con animales:

Todos los animales fueron tratados según la Declaración de Uso de Animales para la Investigación en Oftalmología y Visión de la Asociación de Investigación en Visión y Oftalmología (ARVO por sus siglas en inglés) y según los manuales operativos de nuestra institución. Un total de 10 conejos albinos tipo Nueva Zelanda (peso: 1 kg, obtenidos de la Facultad de Veterinaria, UNAM) fueron usados. Para todos los procedimientos, los conejos fueron anestesiados usando 25 mg/kg de peso de pentobarbital sódico. Todas las manipulaciones quirúrgicas, descritas posteriormente, fueron además realizadas con anestesia tópica adicional consistiendo en tetracaína sódica en gotas oftálmicas. Todos los experimentos en animales fueron llevados a cabo en ojos derechos.

Los criterios de inclusión abarcaban que los especímenes fueran obtenidos del mismo centro de control animal, que los mismos vivan en el bioterio del hospital donde se llevara a cabo el estudio y durante toda la duración del mismo y que previamente los conejos no hayan sido sometidos a ningún tipo de intervención ocular previa o sistémica. Criterios de exclusión correspondían a la falla en la realización en la técnica quirúrgica de la trabeculectomía, enfermedad o muerte del animal.

Los conejos fueron divididos en dos grupos cada uno conformado por cinco conejos. Al grupo 1 se le administró trehalosa al 20% subconjuntival en el lecho escleral de la trabeculectomía en el transquirúrgico y al grupo 2 se le colocó solución salina balanceada subconjuntival en el mismo sitio y tiempo quirúrgico.

Descripción de las maniobras principales

a. Evaluación preoperatoria

Se realizó un conteo de células endoteliales por microscopia especular (Topcon®, SP-2000P) previo a la cirugía filtrante.

b. Cirugía

El protocolo de sedación de los conejos se llevó a cabo con 25 mg/kg de peso de fenobarbital. Todos los procedimientos quirúrgicos descritos fueron realizados bajo anestesia tópica adicional con clorhidrato de tetracaína en gotas oftálmicas.

Para la trabeculectomía, se siguió el protocolo quirúrgico con sedación de los conejos, anestesia subtenoniana con lidocaína al 2%. Se realizó colgajo conjuntival en ojo derecho base limbo a 7 mm del mismo, se disecciona conjuntiva y cápsula de Tenon con tijeras corneales y se realizará hemostasia con cauterio en los casos necesarios. Se procederá a realizar colgajo escleral rectangular a 3 mm del limbo de 2.5 mm de largo y grosor parcial, disecándose hacia el limbo hasta llegar a cornea clara. Posterior a ello se realiza la paracentesis de la cámara anterior con aguja hipodérmica. Se realiza la escisión del colgajo esclero-corneal profundo con pinza sacabocado (punch) de 2 mm e iridectomía periférica con tijeras de Vannas. Se colocara 0.1 ml de trehalosa sobre la esclerótica (o bien 0.1 ml de Solución Salina Balanceada dependiendo el caso). El colgajo escleral se suturó con un punto simple en cada vértice de la incisión con Nylon de 10-0. Se procede al cierre de conjuntiva y Tenon con surgete continuo con Nylon 10-0. La cámara anterior se reforma con viscoelástico. Se aplicarán gotas con antibiótico y dexametasona, el primer día cada dos horas y luego 4 veces al día por tres semanas.

c. Seguimiento postoperatoria

Se realizó un conteo de células endoteliales por microscopia especular (Topcon®, SP-2000P) durante el primer día del postquirúrgico y en el postquirúrgico temprano o tardío. Se valoró la formación de la vesícula filtrante o ausencia de la ella en el mismo tiempo que las revisiones mencionadas.

d. Preparación para estudio histopatológico

Los conejos fueron estudiados histopatológicamente para clarificar el efecto de la trehalosa al 20% en la actividad proliferativa de los fibroblastos con relación a la formación de la cicatriz fibrosa postoperatoria.

Posteriores a los 3 meses de seguimiento, los conejos fueron perfundidos en la vena auricular rápidamente con 250 mg de pentobarbital sódico. Los globos oculares fueron enucleados y fijados en solución de formaldehído al 4%. Posterior a la fijación, el departamento de Patología de nuestra institución se encargó de la colocación del tejido en parafina, de la realización ulterior de cortes a nivel del lecho escleral de la trabeculectomía, previamente marcado con sutura de Nylon 10-0, seguida finalmente de la tinción con hematoxilina y eosina para su estudio.

Recolección de Datos:

La recolección de datos se realizó con Excel en una plantilla previamente diseñada con las variables a estudiar. El análisis estadístico se realizará mediante SPSS Versión 6.0.

Plan de Análisis

Las variables cuantitativas se reportaron por medio de o medianas e intervalos intercuantiles de acuerdo a la distribución de la población. Se reportará la proporción de casos con formación de vesícula.

5. Resultados

Los conejos obtenidos fueron 10 conejos tipo Nueva Zelanda de 3 meses de edad. A los cuáles se les realizó el procedimiento de trabeculectomía y se les dio un seguimiento a 3 meses con posterior documentación de la formación de vesícula postquirúrgica (Imagen 1) y su estudio anatomopatológico.

La formación de vesícula posterior a la cirugía de trabeculectomía se encontró en todos los conejos operado menos en el conejo #2 que no formó vesícula (Tabla 1). Únicamente el conejo #1 tuvo una

complicación en el desarrollo de la técnica quirúrgica, teniendo una ciclectomía por lo que posteriormente no pudo ser preparado para la muestra histopatológica.

En cuanto al conteo de células endoteliales por grupos, el grupo de Trehalosa presentó un conteo prequirúrgico de 2468.5 (1413 – 3524) células, en el postquirúrgico se presentó un promedio de conteo de 2529.75 (1387 – 3324) células; siendo para el postquirúrgico temprano (1ª semana) de 2355.5 (1387 – 3324) células, mientras que para el postquirúrgico tardío de 2704 (2670 – 2738) células. El grupo control, presentó un conteo prequirúrgico de 2842.667 (2635 – 3064) células; en el postquirúrgico presentó un conteo total de 2410 (1781 – 2663) células (Figura 1).

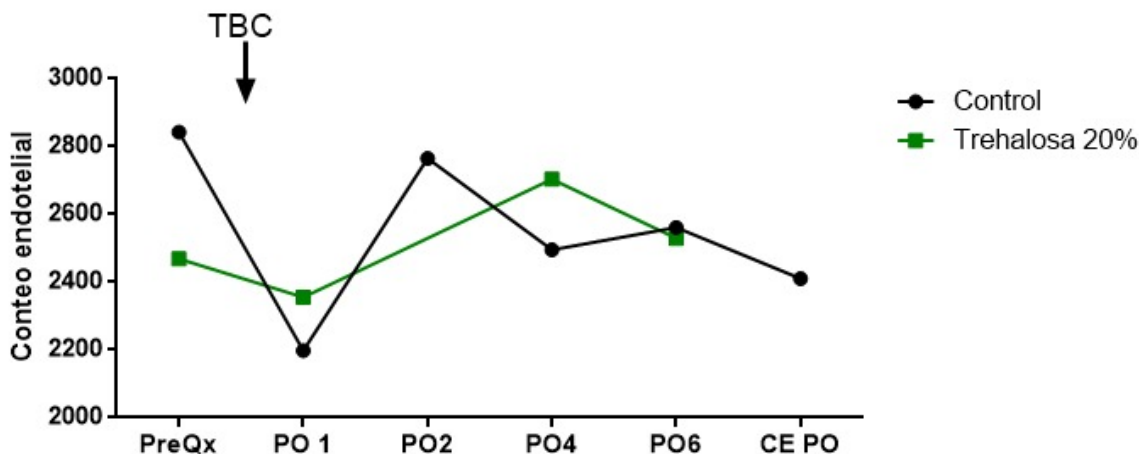


FIGURA 1. CONTEO DE CÉLULAS ENDOTELIALES A LO LARGO DEL ESTUDIO. PREQX = PREQUIRÚRGICO, PO 1 = POST-OPERADO 1 SEMANA, PO 2 = POSTOPERADO 2 SEMANAS, PO 4 = POSTOPERADO 4 SEMANAS, PO 6 = POSTOPERADO 6 SEMANAS. CE PO = PROMEDIO DE CONTEO DE CÉLULAS ENDOTELIALES EN EL GRUPO CONTROL. TBC = TRABECULECTOMÍA

Conejo	Aplicación de Trehalosa o SSB	Formación de vesícula	Hematoxilina y eosina	Complicaciones y eventualidades
#1	Trehalosa	Sí	No procesado por complicación en técnica quirúrgica	Ciclectomía
#2	SSB	No	Aumentada la proliferación de fibroblastos con células gigantes multinucleadas	Inyección de Trehalosa en cámara anterior
#3	Trehalosa	Sí	Poca reacción de granulación, únicamente algo de infiltración linfocitaria	Burbuja en cámara anterior en el primer día del PO
#4	SSB	Sí	Muestra insuficiente	Edema corneal post-quirúrgico
#5	Trehalosa	Sí	Sutura subconjuntival muy superficial, respuesta escasa, más epiteloides que gigantes. Estroma de escalera laxo. No se ve reacción fibroblástica. No se ve formación de colágena.	
#6	SSB	Sí	Muestra insuficiente	
#7	Trehalosa	Sí	Se aprecia sutura longitudinal, sin reacción importante a cuerpo extraño. No se aprecia reacción granulomatosa	
#8	SSB	Sí	Respuesta granulomatosa con células gigantes multinucleadas.	

#9	Trehalosa	Sí	Se ven pocas células epiteloides y poca reacción fibrosa
#10	SSB	Sí	Hay colágeno interrumpido, sin sutura. Existe zona que simulara ciclodíálisis, células epiteliales edematosas. Se ve un espacio grande, pero no se ve la formación de colágeno

TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DE LOS CONEJOS OPERADOS. TREHALOSA USADA A UNA CONCENTRACIÓN DE 20%. SSB= SOLUCIÓN SALINA BALANCEADA.

El resultado del estudio histopatológico pudiera demostrar que el grupo control tiene más reacción de cuerpo extraño, respuesta granulomatosa y presentación de células gigantes multinucleadas que nos hablan de la cicatriz fibrosa que se pudiera estar instaurando, mientras que para el grupo de trehalosa existía poca reacción de granulación, una respuesta inflamatoria escasa con presencia de células epiteloides y poca formación de colágeno. Cabe mencionar que una muestra del grupo de trehalosa y dos muestras para el grupo control resultaron insuficientes para su estudio histopatológico (Tabla 1).

Ninguno de los grupos presentó complicaciones graves durante el seguimiento, no se presentaron infecciones en el sitio quirúrgico, vesiculitis o endoftalmitis.



IMAGEN 1. FOTOGRAFÍA CLÍNICA DEL OJO DERECHO DEL CONEJO #3 EN EL 3ER. DÍA POSTQUIRÚRGICO DE LA TRABECULECTOMÍA CON TREHALOSA AL 20%

6. Discusión

La reparación de la herida escleral inducida durante la trabeculectomía tiene como innegable desenlace la migración de fibroblastos al sitio de la lesión, la angiogénesis vascular, con la consecuente formación de tejido de granulación y finalmente la instauración de una cicatriz fibrosa. Los antimetabólitos, la mitomicina-C y el 5-fluoracilo, son agentes quimioterapéuticos con propiedades antiproliferativas que interfieren en la síntesis del ADN terminando en la muerte y apoptosis celular sin mostrar tropismo por alguna clase de células, teniendo potencialmente complicaciones devastadoras para la evolución clínica de la cirugía y de los pacientes.¹⁵ Es por eso que no es novedad la búsqueda constante de alternativas más seguras para evitar la cicatrización ocular; por lo que la trehalosa surge como candidato debido a que estudios previos invitro con este disacárido a diferentes concentraciones ha demostrado tener un efecto tóxico para los fibroblastos;¹³ por lo que se espera que en la reparación celular de la trabeculectomía únicamente incida en este momento de la cicatrización.

La trehalosa es un disacárido ampliamente distribuido en la comunidad biológica siendo encontrado en plantas, algas, hongos, levaduras, bacterias, insectos y otros invertebrados⁷ que ha sido ampliamente usada en la industria cosmética y de alimentos.⁸ En el ámbito médico se ha usado como vehículo de inyecciones y como sustancia conservadora de tejidos para trasplante.⁹ Actualmente en el campo de las ciencias visuales el uso de la trehalosa está limitado, sirviendo como excipiente de inyecciones intravítreas; como las de Avastin® (bevacizumab) o Lucentis® (ranibizumab), y recientemente como reepitelizador corneal (Thealoz 3%; Thea Laboratorios)¹⁰ presentando prometedores resultados. Así mismo, se menciona que inhibe potencialmente la angiogénesis y la proliferación fibroblástica en el tejido de cicatrización escleral.⁶

La trehalosa es un agente biológico natural que pudiera ser usado en pacientes con glaucoma para prevenir la formación de la cicatriz fibrosa implicada en el fracaso de la trabeculectomía. Hasta el momento, no existen los estudios clínicos suficientes para demostrar el efecto de la aplicación de dicho material en esta cirugía filtrante.¹³ En este estudio prospectivo reportamos que la trehalosa al 20% es inocua al colocarse de forma subconjuntival en animales y que notoriamente presenta menos reacción de granulación que el grupo control con solución salina balanceada. En nuestro conocimiento, es el primer estudio de este tipo en el continente americano.

La formación de vesícula, que sucedió en el 90% de la muestra y ninguno de los pacientes demostró un efecto secundario, adverso o alguna complicación subsecuente a su administración por lo que pudiera ser un indicador de la buena aceptación de la molécula por parte de los tejidos animales

Takeuchi et al documentaron que la expresión de un marcador de fibroblastos de modificaba significativamente con el uso de trehalosa al instilarse tópicamente durante la incisión conjuntival simple o la trabeculectomía y que la proliferación fibroblástica y queratonocítica estaba fuertemente inhibida en una forma dosis dependiente; este estudio también realizó pruebas in-vitro de trehalosa a diferentes concentraciones usando también al 20% teniendo efectos tóxicos para los fibroblastos;¹³ de la misma manera nosotros pensamos que nuestro estudio fue capaz de demostrar una falta de reacción granulomatosa y de respuesta con células gigantes multinucleadas en el grupo de trehalosa

cuando se realizó el estudio histopatológico por esta potente actividad del disacárido contra la fibrosis.

En el estudio encontramos diversas fluctuaciones en el conteo de células endoteliales, incluso pudiendo llegar a pesar que posterior al trauma quirúrgico, los conejos tuvieron una especie de regeneración en su endotelio (Figura 1), Valdez-García et al explican que esto sucede debido a que los conejos tienen una actividad mitótica en el endotelio corneal que tiene como pico de regeneración a los 3 meses de edad y persiste durante el resto de la vida,¹⁴ por lo que estudios con diferentes modelos deben de realizarse para verificar la repercusión que tiene el uso de trehalosa en el conteo de células endoteliales.

Debido a la naturaleza del estudio, la muestra no fue calculada con un poder o un nivel de supresión estandarizado debido a que actualmente existen pocos estudios sobre la molécula y por lo tanto las variables no pueden ser manipuladas para su análisis estadístico y los hallazgos abiertos a su interpretación; de la misma manera, los hallazgos a los que se llegaron no pueden ser usados para demostrar una causalidad.

Al haber demostrado con estos resultados la seguridad de la molécula, podríamos plantear a futuro un estudio Fase 1^a para demostrar seguridad y eficacia en grupos humanos seleccionados.

7. Conclusión

La trehalosa a una concentración del 20% puede ser una alternativa menos nociva para prevenir la fibrosis y la transformación a cicatriz fibrosa posterior a la cirugía filtrante de glaucoma. Este estudio demuestra que el uso de esta molécula es noble y segura en tejidos oculares animales.

8. Anexos

Anexo I: Revisión de Medline

Hoy en día, la búsqueda en PubMed de “Trehalosa” arroja un total de 7137 resultados; sin embargo, la búsqueda de “Trehalosa glaucoma” no muestra más que 2 resultados. Esto podría ser consecuencia de que a pesar de haber sido descubierta desde el siglo 19, los usos de la trehalosa enfocados a la oftalmología no comienzan a visualizarse sino hasta el 2002 con estudios en córnea y superficie ocular los cuales tienen 36 artículos en conjunto en dicho buscador.⁷

Anexo II. Formatos para recolección de datos

No aplica

Anexo III: Declaración de la Asociación Médica Mundial sobre el uso de animales en la investigación biomédica

Adoptada por la 41^a Asamblea Médica Mundial, Hong Kong, septiembre 1989

Introducción

La investigación biomédica es esencial para la salud y bienestar de cada persona en nuestra sociedad. Los avances en la investigación biomédica han mejorado mucho la calidad de vida y la duración de ésta a través de todo el mundo. Sin embargo, la posibilidad de la comunidad científica de continuar sus esfuerzos para mejorar la salud privada y pública se ve amenazada por un movimiento que tiene

como finalidad eliminar el uso de animales en la investigación biomédica. Este movimiento está liderado por grupos radicales de activistas por los derechos de los animales, cuyos puntos de vista están muy alejados de la principal corriente de actitudes públicas y sus tácticas van desde sofisticadas campañas para influenciar a legisladores, recolección de fondos, campañas de propaganda y desinformación, hasta violentos ataques a establecimientos de investigación biomédica y a científicos.

La magnitud de las violentas actividades de los defensores de los derechos de los animales es increíble. Sólo en Estados Unidos, desde 1980 los grupos por los derechos de los animales han protagonizado más de 29 asaltos a instalaciones de investigación estadounidenses, han robado más de 2.000 animales, causado daños por más de 7 millones de dólares y arruinado muchos años de investigación científica. Estos grupos han realizado actividades similares en Gran Bretaña, Europa Occidental, Canadá y Australia. Varios grupos en estos países se han responsabilizado por atentados con bombas a vehículos, instituciones, tiendas y domicilios particulares de los investigadores.

La violencia de los grupos por los derechos de los animales ha tenido un efecto amedrentador en la comunidad científica a escala internacional. Se ha intimidado a científicos, organismos de investigación y universidades para que alteren o incluso terminen importantes trabajos de investigación que dependen del uso de animales. Los laboratorios han sido obligados a invertir miles de dólares, que estaban reservados a la investigación, en la compra de sofisticados equipos de seguridad. Los jóvenes que podrían seguir una carrera en el campo de la investigación biomédica, cambian de parecer y optan por otras profesiones.

A pesar de los esfuerzos de muchos grupos que luchan por proteger la investigación biomédica del activismo sobre los animales, la respuesta a los movimientos por los derechos de los animales ha sido fragmentada, con pocos fondos económicos y principalmente defensiva. Muchos grupos dentro de la comunidad biomédica no se atreven a adoptar una posición pública frente al activismo sobre los animales por temor a represalias. Como resultado de esto, el establecimiento de la investigación ha sido relegado a una posición defensiva. Se cuestionan sus motivaciones y se desafía repetidamente la necesidad de usar animales en la investigación.

Si bien la investigación que debe hacer uso de animales es necesaria para aumentar la atención médica de todas las personas, reconocemos también que se debe asegurar un trato humano de los animales en investigación. Se debe establecer una formación adecuada para todo el personal de investigación y se debe contar con una atención veterinaria apropiada. Los experimentos deben cumplir con las disposiciones o regulaciones que rigen el manejo humano, albergue, cuidado, trato y transporte de los animales.

Las organizaciones internacionales médicas y científicas deben realizar una campaña más fuerte y cohesiva para contrarrestar la creciente amenaza a la salud pública que representan los activistas por los animales. Se debe crear un liderazgo y coordinación al respecto.

Por lo tanto, la Asociación Médica Mundial afirma los siguientes principios:

1. El uso de animales en la investigación biomédica es esencial para el progreso médico.

2. La Declaración de Helsinki de la AMM exige que la investigación biomédica en seres humanos debe estar basada en la experimentación animal, pero también exige que se respete el bienestar de los animales usados en la investigación.
3. El trato compasivo de los animales usados en la investigación biomédica es esencial.
4. Todos los establecimientos de investigación deben cumplir con todas las normas que rigen el trato compasivo de los animales.
5. Las sociedades médicas deben resistir todo intento cuyo propósito sea rechazar el uso apropiado de animales en la investigación biomédica, porque dicho rechazo comprometería la atención del paciente.
6. Aunque no se debe comprometer el derecho a la libertad de expresión, se debe condenar el elemento anárquico que existe entre los activistas por los derechos de los animales.
7. Se debe condenar internacionalmente el uso de amenazas, intimidación, violencia y hostigamiento personal de los científicos y sus familias.
8. Se debe solicitar un esfuerzo coordinado máximo de parte de los organismos encargados de hacer cumplir la ley, a fin de proteger a los investigadores y a los establecimientos de investigación de actividades de naturaleza terrorista.

9. Agradecimientos:

- Dr. Abelardo Rodríguez Reyes, Dra. Nallely Ramos Betancourt, Q. F. B. Virginia Vanzini Zago, Dra. María Fernanda Golzarri Millote, Dra. Mary L. González Suriel y M.V.Z Francisco Alvarado.

10. Referencias

1. B. Bowling, Kanski: Oftalmología Clínica, España: Elsevier, 2016.
2. T. Van Bergen, S. Van de Velde, E. Vandewalle, L. Moons y I. Stalmans, «Improving patient outcomes following glaucoma surgery: state of the art and future perspectives,» Dove Press, vol. 8, p. 857—867, 2014.
3. S. Ilgaz, N. Ayse, K. Canan, K. Remzi y D. Sunay, «The Results of Trabeculectomy with and without Mitomycin C in Young Patients,» Ophthalmologica, vol. 212, pp. 399-403, 1998.
4. G. Spaeth, «A prospective, controlled study to compare the Scheie procedure with Watson's trabeculectomy,» Ophthalmic Surgery, vol. 11, nº 10, pp. 688-694, 1980.
5. E. Cabourne, J. Clarke, P. Schlottmann y J. Evans, «Mitomycin C versus 5-Fluorouracil for wound healing in glaucoma surgery (Review),» Cochrane Database of Systematic Reviews, nº 11, p. Art. No.: CD006259, 2015.
6. T. Kimio, N. Mitsuru, E. Yuichi, S. Kota, M. Tomomi, M. Yasuhiro y I. Tadashi, «Inhibitory effects of trehalose on fibroblast proliferation and implications for ocular surgery,» Experimental Eye Research, vol. 91, pp. 567-577, 2010.
7. J. Luyckx y C. Baudouin, «Trehalose: an intriguing disaccharide with potential for medical application in ophthalmology,» Clinical Ophthalmology, vol. 5, pp. 577-581, 2011.
8. A. Richards, S. Krakowka, L. Dexter, H. Schmid, A. Worterbeek, D. Waalkens-Berendsen, A. Shigoyuki y M. Kurimoto, «Trehalose: A review of properties, history of use and human tolerance, and results of multiple safety studies,» Food Chemistry Toxicology, nº 40, pp. 871-898, 2002.

9. S. Matsumoto , H. Noguichi, M. Shimoda, T. Ikemoto , B. Naziruddin , A. Jackson, Y. Tamura, G. Olson, Y. Fujita, D. Chujo , M. Takita y N. Kobayashi, «Seven consecutive successful clinical islet isolations with pancreatic ductal injection,» *Cell Transplant*, vol. 19, nº 3, pp. 291-297, 2010.
10. T. Matuso, H. Noguichi, M. Shimoda y M. Morimoto, «Trehalose eye drops in the treatment of dry eye syndrome,» *Ophthalmology*, vol. 109, nº 11, pp. 2024-9, 2002.
11. G. Skuta y R. K. Parrish II, «Wound healing in glaucoma filtering surgery,» *Survey of Ophthalmology*, vol. 32, pp. 149-170, 1987.
12. H. Mietz, G. Arnold, B. Kirchhof, M. Diestelhorst y G. Krieglstein, «Histopathology of episcleral fibrosis after trabeculectomy with and without mitomycin C,» *Graefes Archive Clinical Experimental Ophthalmology*, vol. 234, pp. 364-368, 1996.
13. N. Takeuchi, M. Nakazawa, Y. Ebina, K. Sato, T. Metoki, Y. Miyagawa y T. Ito, «Inhibitory effects of trehalose on fibroblast proliferation and implications for ocular surgery,» *Experimental Eye Research*, vol. 91, pp. 567-577, 2010.
14. Valdez-Garcia, Jorge E, et al. «Adult White New Zealand Rabbit as Suitable Model for Corneal Endothelial Engineering.» *BMC Research Notes*, vol. 8, no. 1, 2015, p. 28., doi:10.1186/s13104-015-0995-1.
15. Bergen, Tine Van, et al. «Improving Patient Outcomes Following Glaucoma Surgery: State of the Art and Future Perspectives.» *Clinical Ophthalmology*, 2014, p. 857., doi:10.2147/opth.s48745.