Efecto de la trehalosa tópica al 3% en la velocidad de epitelización corneal en pacientes operados de queratectomía fotorrefractiva

Effect of 3% topical trehalose on the rate of corneal re-epithelialization in patients undergoing photorefractive keratectomy

Alberto Haber^{1,2*} y Eduardo J. Polania-Baron¹

¹Departamento de Córnea, Enfermedades Externas y Cirugía Refractiva, Instituto de Oftalmología Conde de Valenciana I.A.P.; ²Aris Vision Institute. Ciudad de México, México

Resumen

Objetivo: Estudiar el cambio en la velocidad de epitelización corneal en pacientes sometidos a cirugía de queratectomía fotorrefractiva de superficie en los que se aplicó trehalosa al 3%. **Método:** Se trata de un ensayo clínico prospectivo, aleatorizado y controlado. Los criterios de inclusión fueron ser mayor de 18 años, con criterios clínicos y topográficos para realizar cirugía refractiva, y aceptar participar en el protocolo. La asignación aleatoria se llevó a cabo para asignar a uno de los dos ojos de cada paciente para conformar el grupo control con el tratamiento convencional y el grupo de tratamiento con la instilación, además del tratamiento convencional, de trehalosa al 3%. Para cuantificar el área de desepitelización en milímetros cuadrados se utilizó el software libre de procesamiento de imágenes Image J. **Resultados:** El promedio de días de epitelización en el grupo de casos fue de 2.984 días y en el grupo de control fue de 2.954 días (diferencia no estadísticamente significativa; $p = 0.1624063$). El área de desepitelización en la revisión previa a alcanzar el 100% de epitelización en el grupo de casos fue de 4.255 mm² y en el grupo de control fue de 3.1762 mm² (diferencia no estadísticamente significativa; $p = 0.0899374$). **Conclusiones:** La trehalosa tópica al 3% no aumenta la velocidad de epitelización corneal en pacientes sometidos a queratectomía fotorrefractiva.

Palabras clave: Procedimientos quirúrgicos refractivos. Queratectomía fotorrefractiva. Reepitelización. Trehalosa.

Abstract

Purpose: To study the changes in corneal re-epithelialization rate in patients undergoing surface photorefractive keratectomy by using 3% trehalose. **Methods:** This is a prospective, randomized, controlled clinical trial. The inclusion criteria were patients older than 18 years, with clinical and topographic criteria for refractive surgery, who agreed to participate in the protocol. Randomization was carried out to assign one eye of each patient to the control group with conventional treatment and the other eye to the experimental group with 3% trehalose plus conventional treatment. The free image processing software Image J was used to quantify the area of de-epithelialization in square millimeters. **Results:** The average number of epithe-

Correspondencia:

*Alberto Haber

Vito Alessio Robles, 39

Col. Chimalistac, Del. Álvaro Obregón

C.P. 01050, Ciudad de México, México

E-mail: doctorhaber@gmail.com

Fecha de recepción: 17-02-2020

Fecha de aceptación: 24-10-2020

DOI: 10.24875/RMO.M20000149

Disponible en internet: 19-01-2021

Rev Mex Oftalmol. 2021;95(2):71-75

www.rmo.com.mx

0187-4519/© 2020 Sociedad Mexicana de Oftalmología. Publicado por Permanyer. Este es un artículo open access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

lialization days was of 2.984 days in the experimental group and of 2.954 days in the control group (not statistically significant; $p = 0.1624063$). The area of de-epithelialization in the examination prior to reaching 100% epithelialization was of 4.255 mm² in the experimental group and 3.1762 mm² in the control group (not statistically significant; $p = 0.0899374$). **Conclusions:** Topical instillation of 3% trehalose does not increase the rate of corneal re-epithelialization in patients undergoing photorefractive keratectomy.

Key words: Refractive surgical procedures. Photorefractive keratectomy. Re-epithelialization. Trehalose.

Introducción

La trehalosa es un disacárido, un elemento clave para la anhidrobiosis (capacidad de sobrevivir a una deshidratación casi completa) en muchos organismos¹. El papel de la trehalosa se ha expandido y ahora se ha visto implicada en una variedad de tratamientos potenciales en oftalmología^{2,3}.

La trehalosa se sintetiza como un factor sensible al estrés cuando las células están expuestas a tensiones ambientales, como el calor, el frío, la oxidación, la desecación, etc. Cuando los organismos unicelulares están expuestos al estrés, se adaptan sintetizando grandes cantidades de trehalosa, lo que les ayuda a retener la integridad celular. Se cree que esto ocurre al prevenir la desnaturalización de las proteínas por la trehalosa, que de lo contrario se degradarían bajo estrés⁴.

Los estudios preclínicos han demostrado que los fibroblastos primarios humanos transfectados con genes de enzimas biosintéticas de trehalosa fueron capaces de sobrevivir a la desecación hasta 5 días⁵. Las células epiteliales corneales incubadas con trehalosa también pudieron sobrevivir a la desecación⁶⁻⁸. Se ha observado que la trehalosa protege contra la apoptosis a las células corneales y conjuntivales (incluidas las células caliciformes) en un modelo murino de síndrome de ojo seco^{9,10}, y contra el daño oxidativo inducido por los rayos ultravioleta en las células corneales¹¹. En un modelo murino de síndrome de ojo seco, la trehalosa redujo las concentraciones de citocinas inflamatorias en la conjuntiva⁹.

Los estudios clínicos en los que se instiló trehalosa tópica al 3% en pacientes con síndrome de ojo seco han demostrado una mejoría significativa en la estabilidad de la película lagrimal y la tinción ocular^{12,13}, así como después del procedimiento denominado *cross-linking*, en el que algunas de sus variedades incluyen la desepitelización corneal y se observa una regeneración más rápida de esta¹⁴.

La queratectomía fotorrefractiva (PRK, *photorefractive keratectomy*) constituye una de las opciones quirúrgicas refractivas más utilizadas debido a la posibilidad de llevarse a cabo en pacientes que no son candidatos

a otras técnicas quirúrgicas refractivas substractivas, como LASIK (*laser assisted in situ keratomileusis*). La PRK incluye en su procedimiento la desepitelización corneal para dar lugar a la fotoablación y la remodelación corneal mediante láser excímer. El proceso de recuperación, así como sus principales síntomas, están directamente relacionados con el proceso de epitelización, el cual se lleva al cabo después de 3-7 días en promedio; una vez que el epitelio corneal ha cubierto por completo la superficie de la córnea, los síntomas y la calidad visual mejoran drásticamente. Los síntomas que se presentan en la fase de epitelización corneal posterior a la PRK incluyen dolor, sensación de cuerpo extraño, fotofobia y visión borrosa¹⁵⁻²¹.

El objetivo del presente estudio fue estudiar el cambio en la velocidad de reepitelización corneal en pacientes sometidos a PRK en quienes se aplicó trehalosa al 3%.

Método

Este es un ensayo clínico prospectivo, aleatorizado y controlado, realizado en el Instituto de Oftalmología en la Ciudad de México. El estudio se realizó dentro de los estándares éticos considerados en la Declaración de Helsinki y obtuvo autorización del comité de ética de la institución (ARIS Vision Institute). Se redactó y distribuyó a los participantes el consentimiento informado, el cual fue leído en su totalidad en presencia del investigador principal.

Los criterios de inclusión fueron ser pacientes mayores de 18 años, con criterios clínicos y topográficos para realizar cirugía refractiva, que aceptaron participar en el protocolo. Los criterios de exclusión fueron ser pacientes menores de 18 años, con cirugía o patología corneal previa (síndrome de ojo seco grave, conjuntivitis aguda, cicatrices corneales, ectasia corneal, glaucoma, queratitis infecciosa), patología sistémica (enfermedad autoinmunitaria), en tratamiento farmacológico sistémico oral (esteroides, medicamentos modificadores de la enfermedad, biológicos [medicamentos usados en casos graves de enfermedad

autoinmunitaria no controlada]) o tópico (antibióticos, esteroides o lubricantes en las últimas 6 semanas), o con alergia conocida a cualquiera de los compuestos que iban a ser utilizados tanto en el grupo control como en el grupo de tratamiento.

Aceptando un error bilateral alfa del 5% y una potencia del 80%, se calculó la diferencia estandarizada (DE), siendo esta el cociente entre las diferencias de medias y la desviación estándar $n = 16 / (DE)^2$. En el caso del presente estudio, la potencia se incrementa al comparar un ojo contra otro.

La aleatorización se llevó a cabo mediante la generación de números aleatorios con ayuda de un ordenador y del programa Labview para la generación de la lista, según la cual se asignó a cada participante el tratamiento convencional o trehalosa al 3%, ya fuera para el ojo derecho o izquierdo.

El esquema de tratamiento en ambos ojos consistió en hialuronato al 0.15% (Hyabak®, caja con frasco gotero de 10 ml) una gota en cada ojo cada 4 horas en vigilia por 10 días, moxifloxacino al 0.5% (Vigamoxi®, caja con frasco gotero de 10 ml) una gota cada 4 horas en vigilia por 10 días, y acetato de fluorometolona al 0.1% en suspensión (Flumetol®, caja con frasco gotero de 5 ml) una gota en cada ojo cada 4 horas en vigilia por 5 días, seguido de una gota en cada ojo cada 8 horas en vigilia por 5 días y suspender. En el ojo de intervención se adicionó trehalosa al 3% (Thealoz®, caja con frasco gotero de 10 ml) una gota cada 6 horas por 10 días. A los paciente se les proveyó el hialuronato y la trehalosa, mientras que el antibiótico y el esteroide se les prescribió mediante receta médica.

Durante cada visita se verificó en todos los pacientes que la presentación y el nombre comercial coincidieran con lo prescrito. Durante las revisiones se les preguntó explícitamente sobre su apego al tratamiento y se les instruyó sobre cómo programar alarmas en su teléfono móvil para no olvidar la instilación de los medicamentos.

La cirugía fue realizada por un solo cirujano (A.H.O.). Durante la intervención se marcó un círculo de 8 mm de diámetro con un marcador del mismo diámetro (MacRae Mini LASEK/PRK Well 8.0 mm, Storz®) para el área de desepitelización previa a la ablación con láser. La desepitelización se realizó mediante el instrumento Mini-Blade (Beaver® Visitec Int.). Para la ablación con láser excímer se utilizó el NIDEK EC 5000 (NIDEK Inc). Al final del procedimiento se colocó una lente de contacto terapéutica (B&L, polymacon, 14 mm de diámetro) previamente a la instilación de moxifloxacino en

combinación con dexametasona como profiláctico (Vigadexa® 0.5%/0.1%).

La primera revisión se llevó a cabo a las 24 horas del procedimiento, en la cual se registró la agudeza visual binocular, se realizó autoqueratorrefractometría y en la biomicroscopía se evidenció la presencia de la lente de contacto, así como la transparencia corneal.

A las 72 horas se realizó la segunda revisión, en la cual se registró la agudeza visual binocular, se realizó autoqueratorrefractometría, se extrajeron las lentes de contacto y se realizó tinción con fluoresceína y evaluación en lámpara de hendidura con filtro azul cobalto.

Se adquirieron fotografías digitales de la córnea (todas las tomó la misma persona [no enmascarada] siempre con la misma cámara [adaptador mecánico para acoplar al objetivo de la lámpara de hendidura el teléfono celular con cámara posterior Samsung® Galaxi S 10]), así como también de las tinciones con fluoresceína para evidenciar el porcentaje de epitelización corneal en ambos ojos (utilizando un filtro de cobalto a media intensidad axial al plano corneal).

A los pacientes que no alcanzaron al momento de la revisión el 100% de epitelización se les recolocó una lente de contacto terapéutica nueva posterior a la revisión y el registro fotográfico.

Las fotografías digitales fueron analizadas mediante el *software* especializado Image J (programa de procesamiento de imagen digital de dominio público; National Institutes of Health, 1.52 P). Mediante este *software* especializado, utilizando visión artificial y algoritmos de umbral de color RGB, se determinó el área en milímetros cuadrados de la tinción fluoresceínica correspondiente al área sin epitelio del total de la superficie corneal.

Debido a cuestiones éticas y de seguridad, se decidió realizar la primera tinción de fluoresceína después de 72 horas, y la fotografía se tomó solo una vez al día. Se midió la tasa de epitelización corneal como variable principal. La revisión, así como las fotografías digitales, se hicieron cada 24 horas después de la segunda revisión hasta lograr el 100% de epitelización en ambos ojos. Se comparó en cada paciente la epitelización del ojo derecho contra la del ojo izquierdo, definiendo el grupo control y de tratamiento la aleatorización por participante.

En el análisis estadístico se utilizó la prueba deductiva t de Student para evaluar la diferencia entre las medias de los dos grupos con ayuda del paquete estadístico SPSS (IBM SPSS Statistics 26.0, 2019).

Figura 1. Se evidencian en verde la coloración con fluoresceína y en rojo la delimitación del defecto epitelial con el programa Image J para calcular el área de desepitelización.

Resultados

En total se estudiaron 66 ojos de 33 pacientes; el 72.7% eran mujeres y la edad promedio era de $24,8 \pm 4,5$. Se aleatorizaron 33 ojos (16 derechos y 17 izquierdos) en el grupo de trehalosa y 33 ojos en el grupo de control. El promedio de días de epitelización en el grupo de casos fue de 2.984 días, y en el grupo de control fue de 2.954 días (diferencia no estadísticamente significativa; $p = 0.1624063$).

El área de desepitelización antes de alcanzar el 100% de epitelización en el grupo de casos fue de 4.255 mm^2 , y en el grupo de control fue de 3.1762 mm^2 (diferencia no estadísticamente significativa; $p = 0.0899374$) (Fig. 1).

Ningún paciente presentó ninguna complicación relacionada con la cirugía (infecciones, *haze* o defecto epitelial persistente).

Discusión

La aplicación de trehalosa restauró la integridad de la superficie ocular y suprimió la MMP 9 inflamatoria y proteolítica, así como la queratinización en estudios preclínicos en un modelo animal de ojo seco diseñado por Li, et al.⁹

En un ensayo clínico aleatorizado, doble enmascarado, cruzado y controlado, con 36 pacientes con síndrome de ojo seco de moderado a grave, la solución de trehalosa fue el mejor tratamiento porque mostró mejores resultados con respecto a las puntuaciones de tinción ocular en comparación con dos gotas para los ojos disponibles en el mercado que contienen hialuronato o hidroxipropilmetilcelulosa^{6,12,13}.

Otro estudio de grupo paralelo aleatorizado, doble enmascarado y controlado¹⁵ que evaluó el grosor de la película lagrimal después del tratamiento con lágrimas artificiales en pacientes con enfermedad moderada del ojo seco mostró que la instilación única de trehalosa (30 mg/ml) y hialuronato de sodio (1,5 mg/ml) aumentó el grosor de la película lagrimal en pacientes con enfermedad del ojo seco. Los datos también indican una retención corneal más larga de las gotas para los ojos que contienen trehalosa.

Consideramos que estos hallazgos podrían explicarse porque se sabe que la mayor eficacia de las gotas oculares a base de trehalosa se observa en la prevención de la muerte celular por desecación, por lo que actúa como un agente citoprotector²², y como mencionamos anteriormente, su actividad principal es ayudar a tratar el ojo seco en la práctica clínica¹⁷ y también mejorar los parámetros objetivos y subjetivos de la calidad de la lágrima en pacientes después de la cirugía refractiva²³.

Por lo tanto, esto podría significar que, si la trehalosa tiene capacidad citoprotectora, podría preservar la morfología celular normal y las funciones de las membranas celulares, así como la actividad proliferativa de manera más efectiva²², por lo que en la práctica oftalmológica podría usarse como agente para favorecer la epitelización durante la cirugía de fotoablación de superficie o PRK.

Respecto al uso de trehalosa al 3% en cirugía refractiva, solo existe un estudio clínico en pacientes sometidos a LASIK, en el que se evaluaron parámetros de calidad y cantidad de la película lagrimal antes y después de la cirugía en dos grupos de pacientes: uno con trehalosa al 3% y otro con tratamiento estándar con lágrimas artificiales²³. En este estudio, aunque se realizó con pacientes sometidos a cirugía refractiva, no se evaluó la tasa de epitelización corneal por el tipo de cirugía que se llevó a cabo, en la que no existía un defecto epitelial.

Durante la cirugía fotorrefractiva de superficie o PRK se inducen una desepitelización y un daño a los plexos nerviosos corneales²⁴, que son los implicados en el dolor durante el posoperatorio. Los sistemas de regeneración corneal, como fibronectina, integrinas, colagenasas, factores de crecimiento y factores nerviosos, bastan para estimular la cicatrización estromal y epitelial²⁴⁻²⁶. La velocidad de epitelización corneal es distinta en las enfermedades oculares o sistémicas, lo cual nos hace pensar que los sujetos que participaron en el estudio constituyen un grupo de estudio interesante para valorar la utilidad de la trehalosa en la velocidad de epitelización en sujetos sanos.

Una de las limitaciones del estudio es el número de revisiones para cuantificar el área de epitelización, pues si bien habría sido más preciso instilar fluoresceína y llevar el control fotográfico cada hora, esto se alejaría de una práctica ética.

Conclusiones

La trehalosa tópica al 3% no aumenta la velocidad de epitelización corneal en pacientes sometidos a PRK.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes y/o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

Bibliografía

- Crowe JH, Hoekstra FA, Crowe LM. Anhydrobiosis. *Annu Rev Physiol.* 1992;54:579-99.
- Cejka C, Kubinova S, Cejkova J. Trehalose in ophthalmology. *Histol Histopathol.* 2019;34:611-8.
- Cejková J, Cejka C, Ardan T, Sirc J, Michálek J, Luyckx J. Reduced UVB induced corneal damage caused by reactive oxygen and nitrogen species and decreased changes in corneal optics after trehalose treatment. *Histopathol.* 2010;25:140316.
- Jain NK, Roy I. Effect of trehalose on protein structure. *Protein Sci.* 2009;18:24-36.
- Guo N, Puhlev I, Brown DR, Mansbridge J, Levine F. Trehalose expression confers desiccation tolerance on human cells. *Nat Biotechnol.* 2000;18:168.
- Matsuo T. Trehalose protects corneal epithelial cells from death by drying. *Br J Ophthalmol.* 2001;85:610-2.
- Hovakimyan M, Ramoth T, Löbner M, Schmitz K, Witt M, Guthoff R, et al. Evaluation of protective effects of trehalose on desiccation of epithelial cells in three dimensional reconstructed human corneal epithelium. *Curr Eye Res.* 2012;37:982-9.
- Aragona P, Colosi P, Rania L, Colosi F, Pisani A, Puzzolo D, et al. Protective effects of trehalose on the corneal epithelial cells. *ScientificWorldJournal.* 2014;2014:717835.
- Li J, Roubeix C, Wang Y, Shi S, Liu G, Baudouin C, et al. Therapeutic efficacy of trehalose eye drops for treatment of murine dry eye induced by an intelligently controlled environmental system. *Mol Vis.* 2012;18:317-29.
- Chen W, Zhang X, Liu M, Zhang J, Ye Y, Lin Y, et al. Trehalose protects against ocular surface disorders in experimental murine dry eye through suppression of apoptosis. *Exp Eye Res.* 2009;89:311-8.
- Cejková J, Cejka C, Luyckx J. Trehalose treatment accelerates the healing of UVB irradiated corneas. Comparative immunohistochemical studies on corneal cryostat sections and corneal impression cytology. *Histol Histopathol.* 2012;27:1029-40.
- Matsuo T. Trehalose versus hyaluronan or cellulose in eyedrops for the treatment of dry eye. *Jpn J Ophthalmol.* 2004;48:321-7.
- Matsuo T, Tsuchida Y, Morimoto N. Trehalose eye drops in the treatment of dry eye syndrome. *Ophthalmology.* 2002;109:2024-9.
- Ozek D, Kemer O. Effect of the bioprotectant agent trehalose on corneal epithelial healing after corneal cross-linking for keratoconus. *Arq Bras Oftalmol.* 2018;81:505-9.
- Akcam HT, Unlu M, Karaca EE, Yazici H, Aydin B, Hondur AM. Autologous serum eye-drops and enhanced epithelial healing time after photorefractive keratectomy. *Clin Exp Optom.* 2018;101:34-7.
- Marino GK, Santhiago MR, Santhanam A, Torricelli AAM, Wilson SE. Regeneration of defective epithelial basement membrane and restoration of corneal transparency after photorefractive keratectomy. *J Refract Surg.* 2017;33:337-46.
- Taneri S, Oehler S, MacRae S, Dick HB. Influence of a therapeutic soft contact lens on epithelial healing, visual recovery, haze, and pain after photorefractive keratectomy. *Eye Contact Lens.* 2018;44 (Suppl 1):S38-S43.
- Ilhan A. Autologous serum eye drops accelerate epithelial healing after LASEK. *Curr Eye Res.* 2016;41:872.
- Serrao S, Lombardo M. Corneal epithelial healing after photorefractive keratectomy: analytical study. *J Cataract Refract Surg.* 2005;31:930-7.
- Verma S, Corbett MC, Marshall J. A prospective, randomized, double-masked trial to evaluate the role of topical anesthetics in controlling pain after photorefractive keratectomy. *Ophthalmology.* 1995;102:1918-24.
- Zarei-Ghanavati S, Jafarpour S, Radyn-Majd A, Hosseinihah-Manshadi H. Evaluation of early postoperative ocular pain after photorefractive keratectomy and corneal crosslinking. *J Cataract Refract Surg.* 2018;44:566-70.
- Hill-Bator A, Misiuk-Hojlo M, Marycz K, Grzesiak J. Trehalose-based eye drops preserve viability and functionality of cultured human corneal epithelial cells during desiccation. *Biomed Res Int.* 2014;2014:292139.
- Mateo Orobia AJ, Casas Pascual P, Cristóbal Bescós JA, Pérez García D, Peiro Embid C, Del Buey Sayas MA, et al. Effects of 3% trehalose as an adjuvant treatment after LASIK. *Clin Ophthalmol.* 2017;11:347-53.
- Marshall J, Trokel SL, Rothery S, Krueger RR. Long-term healing of the central cornea after photorefractive keratectomy using an excimer laser. *Ophthalmology.* 1988;95:1411-21.
- Kinoshita JH. Physiological chemistry of the eye. *Arch Ophthalmol.* 1962;68:554-70.
- Gandhi S, Jain S. The anatomy and physiology of cornea. *Keratoproseses Artif Corneas Fundam Surg Appl.* 2015;37:19-25.