

## **Caracterización de la membrana basal, los plexos nerviosos y el grosor corneal mediante microscopia confocal en pacientes diabéticos**

Characterization of basal membrane, nervous plexus and corneal thickness by confocal microscopy in diabetic patients

Marietta Gutiérrez Castillo<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9736-5345>

Alexeide de la C. Castillo Pérez<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-8319-6592>

Meysi Ramos López<sup>1</sup>

Zaadia Pérez Parra<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-7019-3491>

Yanay Ramos Pereira<sup>1</sup>

Raúl Barroso Lorenzo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Cubano de Oftalmología “Ramón Pando Ferrer”. La Habana, Cuba.

\*Autor para la correspondencia: [mgcastillo@infomed.sld.cu](mailto:mgcastillo@infomed.sld.cu)

### **RESUMEN**

**Objetivo:** Identificar las características morfológicas y morfométricas de las capas de la córnea mediante microscopia confocal en pacientes diabéticos.

**Métodos:** Se realizó un estudio descriptivo, comparativo, en 90 ojos, 60 de ellos pertenecientes a pacientes diabéticos (30 tipo 1 y 30 tipo 2) y 30 a pacientes supuestamente sanos. El estudio se realizó en el Instituto Cubano de Oftalmología “Ramón Pando Ferrer” entre enero del año 2012 y enero de 2017.

**Resultados:** El espesor del epitelio, el estroma y el endotelio corneal fue mayor en los ojos de diabéticos tipo 1 con una media de 54,6; 506,7 y 26,7 micras respectivamente. La membrana basal epitelial se observó en el 20 % de los ojos de pacientes con diabetes mellitus tipo 1, y en el 10 % de los diabéticos tipo 2. El grupo de diabéticos tipo 1 mostró uno y dos plexos nerviosos por campo de microscopia confocal para el 33,3 % cada uno. En los diabéticos tipo 2, predominó un plexo nervioso (40 %) y en pacientes sanos predominaron 4 plexos nerviosos (66,7 %). Ambos grupos de pacientes diabéticos presentaron plexos verticales tortuosos (40 % y 53,3 % respectivamente) y plexos nerviosos oblicuos en el grupo de pacientes supuestamente sanos (80 %).

**Conclusiones:** El estudio de la córnea por microscopia confocal en pacientes diabéticos evidencia mayor espesor corneal total y por capas, membrana basal visible, disminución del plexo nervioso sub-basal con disposición vertical y tortuosidad de las fibras.

**Palabras clave:** Microscopia confocal; córnea; diabetes mellitus.

## ABSTRACT

**Objective:** To identify the morphological and morphometric characteristics of the corneal layers by confocal microscopy in diabetic patients.

**Methods:** A descriptive and comparative study was carried out in 90 eyes, 60 of which belonged to diabetic patients (30 type 1 and 30 type 2) and 30 to supposedly healthy patients. The study was conducted at Ramón Pando Ferrer Cuban Institute of Ophthalmology, between January 2012 and January 2017.

**Results:** Epithelial thickness, stroma and corneal endothelium was greater in the eyes of type 1 diabetics with a mean of 54.6, 506.7 and 26.7 microns, respectively.

The epithelial basement membrane was observed in 20% of the eyes of patients with type 1 diabetes mellitus, and in 10% of type 2 diabetics.

The group of type 1 diabetics showed one and two nerve plexuses per confocal microscopy field for 33.3% each. In type 2 diabetics, one nerve plexus (40%) predominated, while in healthy patients, four nerve plexuses (66.7%) predominated. Both groups of diabetic patients presented tortuous vertical plexuses (40% and 53.3%, respectively) and oblique nerve plexuses in the group of supposedly healthy patients (80%).

**Conclusions:** The study of the cornea by confocal microscopy in diabetic patients showed greater total and layered corneal thicknesses, visible basal membrane, decrease in the sub-basal nerve plexus with vertical arrangement, and tortuous fiber.

**Keywords:** Confocal microscopy; cornea; diabetes mellitus.

Recibido: 30/09/2018

Aceptado: 28/05/2019

## Introducción

El sistema visual es el encargado de la percepción de los estímulos luminosos presentes en el ambiente. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), estos corresponden a cerca del 80 % del total de los estímulos percibidos en el ser humano.<sup>(1)</sup>

La córnea constituye el elemento más importante del sistema óptico al ser la primera superficie refringente y el lente transparente del globo ocular, que aporta a dicho sistema 43 dioptrías del poder refractivo, lo que representa el 79 % del poder total del ojo. Es la lente más potente de este; constituye 1/6 de la superficie ocular externa y su estructura es notablemente resistente, por lo que su carácter transparente resulta de extraordinaria importancia para la función visual.

La diabetes mellitus constituye hoy una verdadera epidemia en el mundo por su alta prevalencia. Se estima que para el año 2025 alcance la cifra de 300 millones y se plantea, que por cada paciente que ha sido diagnosticado existe al menos uno por diagnosticar. En Cuba existe una prevalencia de 30 x 1 000 habitantes y la incidencia aumenta con la edad. Según el Anuario Estadístico Nacional de Salud, en el año 2017 la diabetes mellitus constituyó la octava causa de muerte por enfermedades en uno y otro sexo en el país.<sup>(2,3)</sup>

La diabetes mellitus es la afección endocrina más frecuente en la práctica oftalmológica, y los desórdenes del segmento anterior se describen con menos frecuencia que los de la retina, a pesar de que están presentes en muchos pacientes. Esta enfermedad afecta la biomecánica del epitelio y el endotelio corneales.

La diabetes provoca un efecto significativo sobre la morfología, el metabolismo y los aspectos clínicos y fisiológicos de la córnea. Los desórdenes metabólicos propios de los diabéticos constituyen un factor importante en la aparición de la neuropatía diabética y de otras patologías subsecuentes.<sup>(2)</sup>

La aplicación de la microscopia confocal en el estudio de la córnea se ha convertido en una poderosa herramienta para el diagnóstico y la evolución de la patología corneal en general, con las ventajas de tratarse de un estudio inocuo, no invasivo y rápido que permite estudiar los tejidos a nivel celular. En este estudio nos proponemos identificar las características morfológicas y morfométricas de las capas de la córnea mediante microscopia confocal en pacientes diabéticos.

## Métodos

Se realizó un estudio descriptivo, comparativo, en pacientes diabéticos cuyo resultado se comparó con una serie de pacientes aparentemente sanos quienes asistieron a la consulta en el Instituto Cubano de Oftalmología “Ramón Pando Ferrer” (ICO) en el período comprendido entre enero del año 2012 y enero de 2017. La muestra quedó conformada por un total de 90 ojos de los pacientes tratados. De ellos, 60 ojos pertenecían a pacientes diabéticos (30 diabéticos tipo 1 y 30 diabéticos tipo 2) y sus resultados fueron analizados y comparados con 30 ojos pertenecientes a pacientes supuestamente sanos. Para la selección de pacientes diabéticos se tuvieron en cuenta los siguientes criterios de inclusión: edades comprendidas entre 15 y 65 años, antecedentes de diabetes mellitus con 5 años o más de padecer la enfermedad y la ausencia de enfermedades corneales y/o cirugías oculares previas. Además, se obtuvo el consentimiento informado del paciente.

Se excluyeron pacientes que presentaron alguna otra enfermedad sistémica que pudiera cursar con manifestaciones corneales.

Se seleccionaron pacientes aparentemente sanos dentro de los mismos grupos de edades comprendidos para los pacientes diabéticos. A todos se les realizó una historia clínica detallada donde se recogieron los siguientes datos: edad, sexo, color de la piel, antecedentes patológicos personales y familiares tanto generales como oftalmológicos, tiempo de evolución de la enfermedad (en el caso de los pacientes diabéticos) así como su método de control y examen oftalmológico completo que incluía biomicroscopia en lámpara de hendidura y tonometría.

El estudio de la microscopia confocal de la córnea se realizó con el uso del Confoscan 4, (Nidek), microscopio confocal de 4ta. generación que usa plataforma Linux y software NAVIS. Este equipo registra todas las imágenes de cada paciente. Se compararon los hallazgos de la microscopia confocal de los pacientes diabéticos con el grupo de pacientes aparentemente sanos.

Las variables estudiadas fueron: grosor del epitelio, estroma, endotelio y paquimetría de la córnea expresados en micras y clasificado para uso de la base de datos en: aumentado, disminuido o normal, a partir de los siguientes valores considerados como normales: grosor del epitelio, 50 micras; grosor de estroma, 500 micras; y grosor del endotelio, 5 micras. Además, se estudió la morfología y el grosor de la membrana basal, la membrana de Descemet y el plexo nervioso sub-basal. En cuanto a la morfología de la membrana basal, se tuvo en cuenta la visualización o no de esta teniendo en cuenta que normalmente dicha estructura, por su transparencia, no es visible y llega a observarse solo cuando existe alguna enfermedad asociada que la afecta. Se informó como visible o no visible. Para la densidad del plexo nervioso se

consideró como normal la presencia de 3 fibras nerviosas del plexo sub-basal por campo de microscopia confocal.

## Resultados

El espesor del epitelio corneal fue mayor en los ojos de diabéticos tipo 1 con una media de 54,6 micras así como el grosor del estroma y del endotelio corneal con valores promedio de 506,7 y 26,7 micras respectivamente. En este grupo la paquimetría corneal también resultó ser la más elevada, con una media de 588,1 micras para una desviación estándar de 66,6. El grupo de pacientes supuestamente sanos mostró los grosores más bajos en cada una de las capas corneales, así como las menores cifras de paquimetría. Exceptuando el espesor del epitelio (tabla 1), los resultados estadísticos mostraron diferencias significativas entre los promedios de los grosores de las diferentes capas en los tres grupos de estudio ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 1** - Promedio del grosor de las diferentes capas celulares corneales y del grosor total de la córnea

Capas de la córnea	Espesor según grupo de estudio (micras)						Significación estadística (valor de $p$ )
	Diabetes mellitus tipo 1		Diabetes mellitus tipo 2		Supuestamente sanos		
	X	DE	X	DE	X	DE	
Epitelio	54,6	11,2	48,8	8,6	49,3	9,5	0,061
Estroma	506,7	51,2	477,0	13,5	463,1	21,9	0,000
Endotelio	26,7	10,4	21,5	3,8	9,1	2,3	0,000
Espeor total	588,1	66,6	547,4	14,9	521,7	21,9	0,000

$P < 0,05$ .

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Uno de los elementos que se tiene en cuenta en la literatura en relación con las córneas de pacientes diabéticos está relacionado con las características de la membrana basal. La membrana basal epitelial se observó en el 10 % de la muestra estudiada, en el 20 % de los ojos de pacientes con diabetes mellitus tipo 1 y en el 10 % de los ojos de diabéticos tipo 2. La membrana basal no se observó en el 90 % del total de ojos analizados, así como tampoco en el 100 % de los ojos del grupo de pacientes no diabéticos (tabla 2). Este comportamiento mostró resultados estadísticamente significativos ( $p = 0,002$ ).

**Tabla 2** - Visualización de la membrana basal por microscopia confocal

Membrana basal epitelial	Espesor según grupo de estudio (micras)					
	Diabetes mellitus tipo 1		Diabetes mellitus tipo 2		Supuestamente sanos	
	No.	%	No.	%	No.	%
No visible	24	80,0	27	90,0	100	100,0
Visible	6	20,0	3	10,0	0	0,0

$p= 0,002$ .

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Los grupos de diabéticos 1 y 2 presentaban alrededor de dos plexos nerviosos por campo de microscopia confocal (1,60 y 1,76 respectivamente), en tanto que los pacientes del grupo de no diabéticos mostraron una media de alrededor de 4 (3,88) plexos nerviosos por campo de microscopia confocal. Existió una diferencia estadísticamente significativa ( $p= 0,000$ ) entre los diferentes grupos (tabla 3).

**Tabla 3** - Número promedio de plexos nerviosos sub-basales por cada grupo estudiado

Grupo	Promedio	No.	Desviación típica	Mínimo	Máximo
Diabetes mellitus tipo 1	1,60	25	913	0	4
Diabetes mellitus tipo 2	1,76	25	926	1	4
Supuestamente sanos	3,88	50	982	2	6
Total	2,78	100	1,454	0	6

$p= 0,000$ .

Fuente: Hoja de recolección de datos.

La cantidad de plexos nerviosos encontrados por campo de microscopia confocal en los ojos analizados se refleja en la tabla 4. En el grupo de diabéticos tipo 1 no se observaron plexos nerviosos en el 6,7 % de los ojos analizados. En este grupo predominaron los ojos con uno y dos plexos nerviosos por campo de microscopia confocal para el 33,3 % cada uno. En el grupo de ojos de diabéticos tipo 2, predominó la existencia de un plexo nervioso por campo, para el 40 %. En el grupo de pacientes sanos predominaron los ojos con 4 plexos nerviosos sub-basales por campo de microscopia confocal para el 66,7 %.

**Tabla 4** - Número de plexos nerviosos sub-basales por campo de microscopia confocal

Número de plexos	Grupo de estudio					
	Diabetes mellitus tipo 1		Diabetes mellitus tipo 2		Supuestamente sanos	
	No.	%	No.	%	No.	%
0	2	6,7	0	0,0	0	0,0
1	10	33,3	12	40,0	0	0,0
2	10	33,3	9	30,0	4	13,3
3	2	6,7	2	6,7	13	43,3
4	1	3,3	2	6,7	20	66,7
5	0	0,0	0	0,0	11	36,7
6	0	0,0	0	0,0	2	6,7

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Los plexos nerviosos en su recorrido también mostraron características específicas en cada uno de los grupos analizados según se aprecia en la tabla 5. En los grupos de pacientes diabéticos tipos 1 y 2 predominaron los plexos verticales tortuosos con el 40 y el 53,3 % respectivamente. En el grupo de pacientes supuestamente sanos el 80 % de los ojos presentaban plexos nerviosos oblicuos.

**Tabla 5** - Distribución según las características morfológicas del plexo nervioso sub-basal

Características del plexo nervioso	Grupo de estudio					
	Diabetes mellitus tipo 1		Diabetes mellitus tipo 2		Supuestamente sanos	
	No.	%	No.	%	No.	%
Ninguno	2	6,7	0	0,0	0	0,0
Horizontales	1	3,3	4	13,3	0	0,0
Oblicuos	5	16,7	8	26,7	24	80,0
Oblicuos tortuosos	1	3,3	2	6,7	0	0,0
Verticales	9	30,0	0	0,0	6	20,0
Verticales tortuosos	12	40,0	16	53,3	0	0,0

Fuente: Hoja de recolección de datos.

## Discusión

Uno de los aspectos fundamentales a tener en cuenta cuando evaluamos la córnea de un paciente diabético es el espesor de cada una de sus capas y el grosor corneal total. En este estudio, los ojos de pacientes diabéticos tipo 1 mostraron los mayores grosores, seguidos por los ojos de diabéticos tipo 2. Se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre ellos ( $p < 0,05$ ). El valor promedio del espesor del epitelio corneal estuvo alrededor de las 54,6 micras para el grupo 1, en tanto que el valor promedio para el grosor del estroma corneal en este mismo grupo fue de 506,7 micras y el del endotelio de 26,7 micras. Encontramos un aumento estadísticamente significativo ( $p < 0,001$ ) en el grupo de pacientes diabéticos al compararlos con los no diabéticos.

Se ha demostrado la existencia de cambios en el control de la hidratación del estroma corneal y de una relación entre el espesor corneal central y los pacientes diabéticos. En estudios realizados se observó que la paquimetría central media en el grupo de diabéticos era mayor que los no diabéticos. El aumento del espesor corneal central se ha interpretado como un edema corneal mínimo aparentemente relacionado con la existencia de una disfunción del endotelio corneal que resulta en un pobre control de la hidratación del estroma corneal.<sup>(4-5)</sup>

*Weston* y otros<sup>(6)</sup> plantearon la asociación del aumento del espesor corneal al tiempo de evolución y severidad de la afección, así como la asociación de esta alteración a la existencia de una retinopatía diabética. No encontramos en la literatura revisada artículos que se refieran al grosor específico de cada capa corneal por separado, aunque algunos autores consideran que unido a la existencia de un elevado coeficiente de variabilidad de las células endoteliales existe un aumento de su espesor.

La membrana basal del epitelio corneal también sufre algunas modificaciones que parecen estar relacionadas con la diabetes mellitus. En condiciones normales no puede ser visualizada por medio de la microscopia confocal, por tratarse de una estructura transparente. En nuestro estudio no se observó la membrana basal en la mayoría de los ojos analizados; sin embargo, sí se observó en 9 ojos de pacientes diabéticos, y fue más frecuente en el grupo de pacientes diabéticos tipo 1 (6 ojos).

Estudios experimentales han demostrado retraso en la cicatrización corneal y disrupción de las uniones de células en córneas diabéticas. Otros hallazgos incluyen compromiso de la función epitelial corneal como incremento del espesor del epitelio corneal, disrupción de las *tight junctions* y pérdida de las células basales epiteliales; todo esto favorece los defectos epiteliales y las erosiones corneales recidivantes.<sup>(6)</sup>



La neuropatía diabética periférica incluye fibras nerviosas largas y pequeñas, pero las fibras nerviosas pueden ser un indicador más sensible de neuropatía periférica porque se afectan tempranamente. Los cambios en los parámetros de los nervios corneales incluyen la reducción de la densidad de las fibras nerviosas subbasales, longitud y densidad de ramas, comparado con individuos sin diabetes mellitus y con diabéticos sin neuropatía periférica.<sup>(6)</sup>

Debemos tener en cuenta que se consideran como características normales las fibras nerviosas finas, brillantes, distribuidas de manera paralela u oblicua y con diversas bifurcaciones que se conectan entre sí. En esta investigación se observó una disminución estadísticamente significativa ( $p= 0,000$ ) en el número de plexos nerviosos subbasales en los ojos de pacientes diabéticos, especialmente en diabéticos tipo 1, lo cual coincide con la literatura revisada, así como alteraciones morfológicas en la distribución de estos plexos. Fue particularmente frecuente la disposición vertical de los nervios acompañados de una evidente tortuosidad de estos.

Se ha observado una significativa disminución de las ramas distales en pacientes jóvenes con diabetes mellitus tipo 1 sin retinopatía diabética y una reducción de los nervios proximales en pacientes con retinopatía diabética. Esto es consistente con un proceso retrógrado de neurodegeneración.<sup>(7)</sup>

El daño precoz de las fibras nerviosas corneales se ha atribuido a la elevación de la hemoglobina A y los triglicéridos y disminución de lipoproteínas de alta densidad. Un estudio reciente en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 mostró que una intervención multifactorial para reducir la hemoglobina A elevada, la presión sanguínea y el peso corporal, resultó en regeneración de las fibras nerviosas corneales.<sup>(8)</sup>

*Mocan* y otros<sup>(9)</sup> también coincidieron con este estudio. Evaluaron 35 córneas de pacientes diabéticos que compararon con 24 córneas de sujetos sanos y demostraron una disminución estadísticamente significativa de la densidad del plexo nervioso sub-basal con un incremento del grosor y la tortuosidad de este en los pacientes diabéticos.

*Liu* y otros<sup>(10)</sup> también demostraron, al estudiar la córnea de 85 pacientes y 56 controles, que existía una disminución estadísticamente significativa de la densidad de las fibras nerviosas del plexo nervioso sub-basal, así como la asociación de ciertos cambios morfológicos de estos como: menor número de ramas, menor longitud de estas, así como incremento de la tortuosidad y presencia de edema.

Por otra parte, *Midena* y otros<sup>(11)</sup> después de estudiar 42 pacientes diabéticos y 27 controles, obtuvieron similares resultados, y concluyeron que los nervios corneales son esenciales para un buen desarrollo de las funciones de protección y trofismo de la córnea, por lo que la existencia

de una neuropatía corneal del diabético interfiere con el metabolismo epitelial normal, así como con una adecuada adhesión epitelial y una adecuada cicatrización corneal, especialmente después de intervenciones o manipulaciones quirúrgicas.

Este estudio concluye que se observa mayor espesor corneal total y por capas con diferencias estadísticamente significativas. La membrana basal es visible en pacientes diabéticos. Se aprecia una disminución del plexo nervioso sub-basal en los ojos de diabéticos, y la disposición vertical y la tortuosidad de las fibras son las características morfológicas más evidentes, fundamentalmente en diabéticos tipo 1.

### Referencias bibliográficas

1. Jurado I. Fase teórica: Ceguera. Documento; 2019 [acceso: 25/10/2019]. Disponible en: <https://www.scribd.com/document/216409932/Fase-Teorica-ceguera-docx>
2. Dirección Nacional de Registros Médicos y Estadísticas de Salud. Anuario Estadístico de Salud. La Habana: MINSAP; 2016:4.
3. Weston BC, Bourne WM, Polse WB, Hodge DO. Corneal hydration control in Diabetes Mellitus. Rochester, Minnesota: Mayo Clinic; 2005. p. 38-41.
4. Caixinha M, Oliveira P, Aires ID, Ambrósio AF, Santiago AR, Santos M, Santos J. *In vivo* characterization of corneal changes in a type 1 diabetic animal model. *Ultrasound Med Biol*. 2019;45(3):823-32.
5. Deardorff PM, McKay TB, Wang S, Ghezzi CE, Cairns DM, Abbott RD, et al. Modeling Diabetic Corneal Neuropathy in a 3D *In Vitro* Cornea System. *UetgpvTgr* 02018;8(1):17294.
6. Sang Beom H, Hee Kyung Y, Joon Young H. Influence of diabetes mellitus on anterior segment of the eye. *Clin Interv Aging*. 2019;14:53-63.
7. Deák EA, Szalai E, Tóth N, Malik RA, Berta A, Csutak A. Longitudinal Changes in Corneal Cell and Nerve Fiber Morphology in Young Patients with Type 1 Diabetes with and without Diabetic Retinopathy: A 2-Year Follow-up Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2019;60:830-7.
8. Ishibashi F, Taniguchi M, Kosaka A, Uetake H, Tavakoli M. Improvement in neuropathy outcomes with normalizing HbA(1c) in patients with type 2 diabetes. *Diab Care*. 2018;42:110-8.
9. Mocan M, Durukan I, Irkek M, Orhan M. Morphologic alterations of both the stromal and subbasal nerves in the corneas of patients with diabetes. *Cornea*. 2006;25(7):769-73.
10. Liu XW, Pang GX, Wang Z. *In vivo* confocal microscopy observation and evaluation of sensation in diabetic corneas. *\ j qpi j wc [ cp "Mg" \ c" \ j k02005;41(10).920-3.*

11. Midená E, Brugin E, Ghirlando A, Somnavilla M, Avogaro A. Corneal diabetic neuropathy: a confocal microscopy study. J Refract Surg. 2006;22 (Suppl.):47-52.

### **Conflicto de intereses**

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.