

Queratoplastia endotelial de membrana de Descemet: alternativas experimentales para la preparación del tejido donante

C. Taimi Cárdenas Díaz, Iván Hernández López, Armando Capote Cabrera, Wina Ravelo Vázquez, Dunia Cruz Izquierdo

Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer". Laboratorio de Investigaciones del Sistema Óptico Ocular (LISOO), La Habana, Cuba.

Recibido: 15 de mayo de 2016.

Aceptado: 23 de junio de 2016.

Correspondencia:

Dra. C. Taimi Cárdenas Díaz
Calle Canal #3116 entre 11 y 12, reparto Antonio Maceo
13400 Municipio Cerro, provincia La Habana, Cuba
Teléfonos: 5376481839 y 5352660905
taimicar@infomed.sld.cu

Oftalmol Clin Exp (ISSN 1851-2658)

2016; 9(3): 98-107.

Resumen

Objetivos: comparar alternativas en la preparación del tejido donante en la queratoplastia endotelial de membrana de descemet (DMEK).

Métodos: se realizó un estudio experimental en 40 globos oculares humanos no útiles para trasplante corneal en el Laboratorio de Investigaciones del Sistema Óptico Ocular (LISOO) del Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer". Para la obtención del disco de membrana de Descemet (MD) y endotelio a partir de un anillo esclero-corneal se experimentó con dos opciones de disección diferentes. Como *variante 1* se probó la técnica de viscodisección mediante abordaje anterior esclero-limbal, que se detalla en el trabajo y como *variante 2* se realizó la disección neumática en dos pasos previamente descrita por el LISOO. Se midió el tiempo quirúrgico, el diámetro del desprendimiento, la aparición de complicaciones y factor desencadenante.

Resultados: El tiempo quirúrgico medio fue en la variante 1 de 18,4 minutos y el diámetro medio de desinserción fue de 8,5 mm; con la variante 2 fueron de 8,5 minutos y el 9,3 mm respectivamente. Al comparar ambas técnicas se obtuvo una diferencia promedio de los tiempos de 9,9 minutos y del diámetro de 0,5 mm; ambas significativas ($p=0,0000$). Ocurrió ruptura de la membrana de Descemet en dos casos en cada variante por manipulación inadecuada.

Conclusiones: el tiempo quirúrgico es corto para ambas variantes de disección y el diámetro del desprendimiento obtenido con cada una resulta suficiente para obtener un disco viable para DMEK. Las técnicas probadas resultan seguras y reproducibles. **Palabras clave:** Descemet, queratoplastia endotelial, DMEK.

Descemet membrane endothelial keratoplasty: experimental alternatives for donor tissue preparation

Abstract

Objectives: to compare different alternatives for donor tissue preparation in Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK).

Methods: experimental study of 40 human eyeballs that were useless for corneal transplants conducted in “Laboratorio de Investigaciones del Sistema Óptico Ocular (LISOO)” of the Ramón Pando Ferrer Cuban Ophthalmology Institute. The endothelium-Descemet membrane disc (MD) was obtained from a corneoscleral ring after experimenting with two different dissection options. For *Option 1*, a sclerolimbal anterior approach with the viscodissection technique, as described in the paper, was used, while *Option 2* involved the two-step pneumatic dissection technique already described by the LISOO. Surgical time, detachment diameter, occurrence of complications and triggering factors were evaluated.

Results: Mean surgical time for option 1 was 18.4 minutes and mean disinsertion diameter was 8.5 mm; with option 2, values of 8.5 minutes and 9.3 mm, respectively, were found. Comparison of both techniques revealed an average difference in time of 9.9 minutes and of 0.5 mm in diameter; in both cases, these differences were significant ($p=0.0000$). Descemet membrane tear occurred in two cases of both options due to inadequate manipulation.

Conclusions: The surgical time is short for both dissection options, and the detachment diameter observed with each option is enough to obtain a viable disc for DMEK. The techniques tested have proven to be safe and reproducible.

Keywords: Descemet, endothelial keratoplasty, DMEK.

Ceratoplastia endotelial de membrana de Descemet: alternativas experimentais para a preparação do tecido doador

Resumo

Objetivos: comparar alternativas na preparação do tecido doador na ceratoplastia endotelial de membrana de Descemet (DMEK).

Métodos: Realizou-se um estudo experimental em 40 globos oculares humanos não úteis para transplante corneano no Laboratório de Pesquisas do Sistema Óptico Ocular* (LISOO) do Instituto Cubano de Oftalmologia “Ramón Pando Ferrer”. Para a obtenção do disco de membrana de Descemet (MD) e endotélio a partir de um anel esclero-corneano se experimentou com duas opções de disseção diferentes. Como *variante 1* se provou a técnica de *viscodisseção* mediante abordagem anterior esclero-limbal, detalhado no trabalho e como *variante 2* se realizou a disseção pneumática em dois passos previamente descrita pelo LISOO. Mediu-se o tempo cirúrgico, o diámetro do desprendimento, a aparição de complicações e fator desencadeante.

Resultados: O tempo cirúrgico médio foi na variante 1 de 18,4 minutos e o diámetro médio de *desinserção* foi de 8,5 mm; com a variante 2 foram de 8,5 minutos e o 9,3 mm respectivamente. Ao comparar ambas as técnicas se obteve uma diferença média dos tempos de 9,9 minutos e do diámetro de 0,5 mm; ambas significativas ($p=0,0000$). Ocorreu ruptura da membrana de Descemet em dois casos em cada variante por manipulação inadequada.

Conclusões: O tempo cirúrgico é curto para ambas as variantes de disseção e o diámetro do desprendimento obtido com cada uma resulta suficiente para obter um disco viável para DMEK. As técnicas provadas resultam seguras e reproduzíveis.

Palavras chave: Descemet, ceratoplastia endotelial, DMEK.

Introducción

El trasplante corneal lamelar, conocido también como trasplante selectivo de tejido corneal (STCT), término introducido por Thomas John en 2008, es aquel en el que se extrae selectivamente la porción

enferma de la córnea del paciente y se sustituye por tejido donante sano anatómicamente similar¹.

Como concepto, la queratoplastia lamelar posterior (PLK) fue establecida por José Ignacio Barraquer en un artículo publicado en 1950, donde describió una técnica quirúrgica que consistía en levantar un *flap* de las capas anteriores de la córnea a través del cual accedía a las capas posteriores, las que resecaba y sustituía por una lamela que incluía estroma posterior, membrana de Descemet (MD) y endotelio. El *flap* luego se recolocaba y suturaba. En su artículo Barraquer afirma que este tipo de trasplante sería usado “para casos de distrofia endotelial incipiente”¹.

En 2004, Melles y colaboradores pusieron en práctica el “pelado” de la MD del receptor², esto mejoró la adherencia del tejido donante a la córnea receptora al lograr una superficie más homogénea y optimizó la interfase donante-receptor. Se conoce esta maniobra como descemetorrexix. Price continuó la aplicación de esta técnica y nombró la cirugía como queratoplastia endotelial con pelado de la Descemet (DSEK, por sus siglas en inglés)¹.

Aunque con la puesta en práctica de la descemetorrexix se había simplificado la cirugía en su fase receptora, la disección manual del botón donante seguía como un inconveniente. En 2006, Gorovoy combinó el uso de la cámara anterior artificial con el microquerátomo de Moria para la preparación del botón donante y renombró la técnica como queratoplastia endotelial automatizada con pelado de la Descemet (DSAEK)^{1,3}.

Más recientemente, en 2009, Capote realizó otra modificación a la técnica al usar el láser de excímero para tallar el disco donante y la llamó queratoplastia endotelial con pelado de la Descemet asistida con excímer láser (EL DSEK)⁴.

Todas estas variantes de PLK donde el botón donante está compuesto por parte de estroma posterior, MD y endotelio, se consideran procedimientos aditivos y en consecuencia se obtiene una córnea receptora más gruesa lo cual puede inducir hipermetropía⁵.

Melles y colaboradores pusieron en práctica en 2006 la queratoplastia endotelial de membrana de Descemet (DMEK), un nuevo tipo de trasplante selectivo en el cual se sustituyen exclusivamente la MD y el endotelio del paciente por un tejido sano

anatómicamente similar. Se trata de un procedimiento de sustitución que deja una córnea con un espesor muy cercano al preoperatorio^{1-2, 6-7}. Básicamente la DMEK consiste en obtener la MD y el endotelio a partir de un disco córneo-escleral donante⁸⁻⁹. La membrana, que por sus propiedades elásticas tiende a enrollarse con el endotelio hacia fuera¹⁰⁻¹², se coloca desenrollada en la cámara anterior del receptor con la ayuda de fluidos y se deja adherida al estroma posterior con el uso de la misma técnica de la burbuja de aire¹³⁻¹⁴.

Dentro de las técnicas de trasplante endotelial, la DMEK tiene el potencial de suministrar los mejores resultados anatómicos y ópticos. Sin embargo, tiene en su contra la elevada complejidad para la preparación del tejido donante. Esto hace que se dificulte su reproducibilidad y se retrase su generalización. Lo anterior hace de vital importancia el desarrollo y estudio de innovaciones para la mejora y el perfeccionamiento de la técnica de trasplante endotelial. Precisamente con este objetivo, en el Laboratorio del Sistema Óptico Ocular (LISOO) del Instituto Cubano de Oftalmología (ICO) “Ramón Pando Ferrer” se propuso en 2013 la disección neumática en dos pasos¹⁵ para la obtención del tejido donante para la DMEK. Previamente se había propuesto la viscodisección mediante abordaje anterior esclero-limbal, que fue descrita para la queratoplastia lamelar anterior profunda¹⁶. Esta última variante se describe en el presente trabajo, que tiene como objetivo comparar alternativas en la preparación del tejido donante en la queratoplastia endotelial de membrana de descemet (DMEK).

Métodos

Se realizó un estudio experimental exploratorio desde octubre de 2013 a 2014 en el LISOO del ICO. La muestra estuvo conformada por 40 globos oculares procedentes de varios hospitales del país que, acorde con la información brindada por el Banco de Ojos del ICO, no resultaron útiles para trasplante corneal.

Para la obtención del disco de membrana de Descemet (MD) y endotelio a partir de un anillo esclero-corneal se experimentó con dos opciones



Figura 1. Montaje de anillo esclerocorneal en cámara anterior artificial.

de disección diferentes. Como variante 1 se probó la técnica de viscodisección mediante abordaje anterior esclero-limbal, que se detalla a continuación, y como variante 2 se realizó la disección neumática en dos pasos¹⁵.

Descripción de la variante 1. Viscodisección mediante abordaje anterior esclero-limbal

- Se monta el anillo esclero-corneal en una cámara anterior artificial (CAA) (fig. 1).
- Se llena la CAA con el medio de conservación (Eusol-C, AL.CHI.MI.A S.R.L.) hasta lograr una tensión adecuada.
- Incisión radial de 1,5 mm, que se comienza en limbo corneal y se extiende hacia esclera, se va profundizando hasta visualizar el techo del canal de Schlemm y el plano predescemético o zona de transición de coloración más oscura.
- Con una espátula delgada, de punta fina, redondeada y semirroma, se hacen movimientos late-

rales y hacia el centro hasta 3-4 mm del limbo, hasta alcanzar el plano predescemético en la córnea media-periférica.

- Se realiza paracentesis y se drena líquido hasta disminuir ligeramente la presión, lo cual facilita y hace más seguro el momento de la desinserción.
- Inyección de viscoelástico controladamente (fig. 2), visualización del desprendimiento hasta formar un bolsón con los bordes del diámetro deseado (figs. 3 y 4).
- Se trepana con un trépano 8,5 mm u otro diámetro seleccionado de acuerdo con el desprendimiento hasta observar la salida de viscoelástico a través de la incisión.
- Se completa el corte con tijera de rama derecha e izquierda de ser necesario, cuidando no traumatizar la fina membrana de Descemet.
- Se remueven las capas anteriores de la córnea donante, quedando la MD traslúcida y homogénea que se mantiene unida en la periferia al anillo esclero-corneal.

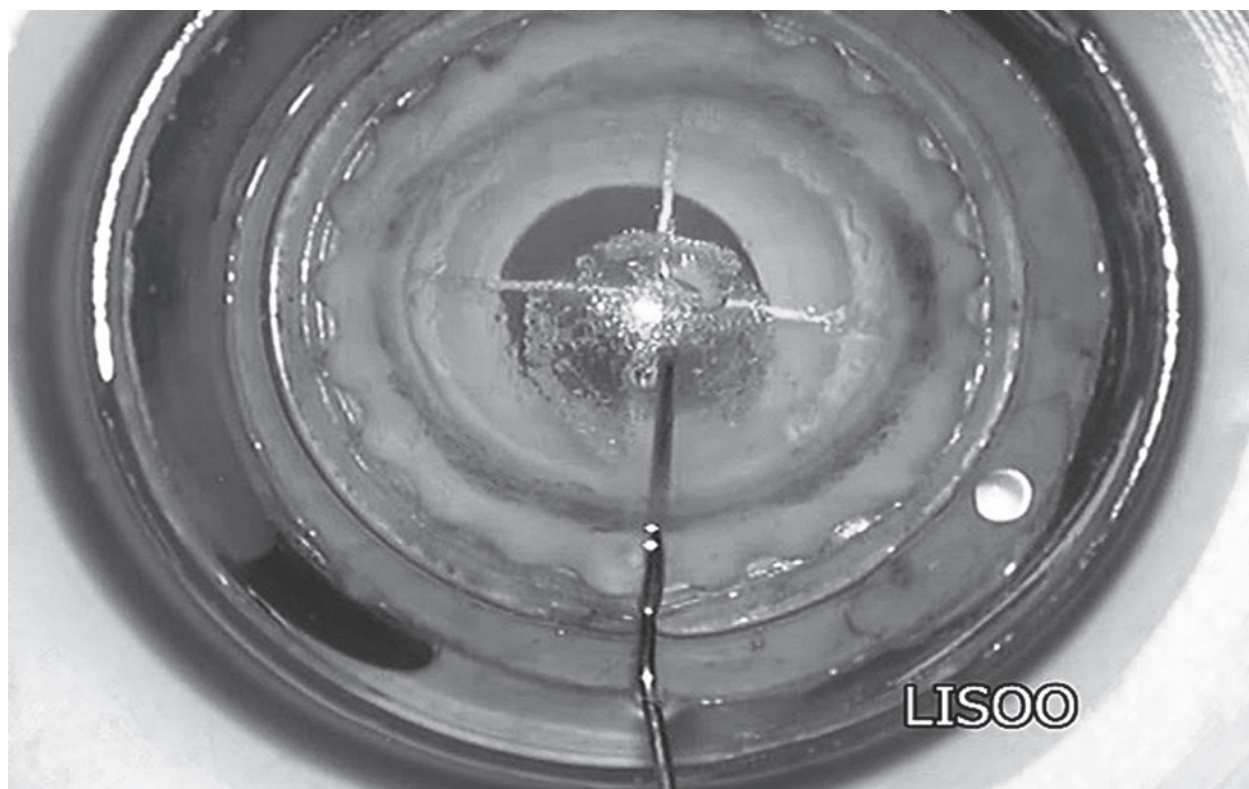


Figura 2. Inyección controlada de viscoelástico y comienzo del desprendimiento de la MD.

- Se lava abundantemente con solución salina balanceada (SSB) hasta eliminar completamente el viscoelástico.

Descripción de la variante 2. Disección neumática en dos pasos¹⁵

- Se coloca el anillo esclero-corneal sobre un ponche de Barron (Jedmed Instrument, St. Luis, Estados Unidos) para córnea donante con la cara endotelial hacia arriba.
- Se fija el anillo con la ayuda de una pinza corneo-escleral y se utiliza una aguja fina (26 a 30 G) acoplada a una jeringuilla cargada de 0,8 ml de aire, la cual se introduce desde la periferia escleral hasta penetrar en el espesor del estroma corneal, a 2 o 3 mm del limbo.
- Se infiltra aire hasta que se observa que las fibras estromales tomen un aspecto blanquecino y esponjado por debajo de la MD que se mantiene translúcida.
- Con espátula fina y a través del mismo canal que se formó previamente con la aguja, se decola y se avanza hacia el centro; se realizan ligeros movimientos laterales, con cuidado de no ampliar demasiado el canal y se superficializa hasta llegar al plano predescemético. Se sabe que se está en el lugar indicado cuando deje de verse la coloración blanquecina de las fibras estromales desorganizadas por las microburbujas de aire por encima de la espátula y se comience a apreciar el brillo natural del metal.
- Se retira la espátula y se introduce una cánula acoplada a una jeringuilla cargada con 0,3 a 0,5 ml de aire. Esta cánula, de 23-25 G, consta de punta aplanada semirroma y bisel compartido central, con agujero superior de 0,3 mm ubicado a 0,5 mm de la punta. A 3,0 mm del extremo distal tiene un engrosamiento en forma de vientre 0,75 mm más grueso que su diámetro exterior.
- Se avanza hacia el centro corneal buscando acceder al plano predescemético alcanzado previamente con la espátula y cuando se visualice

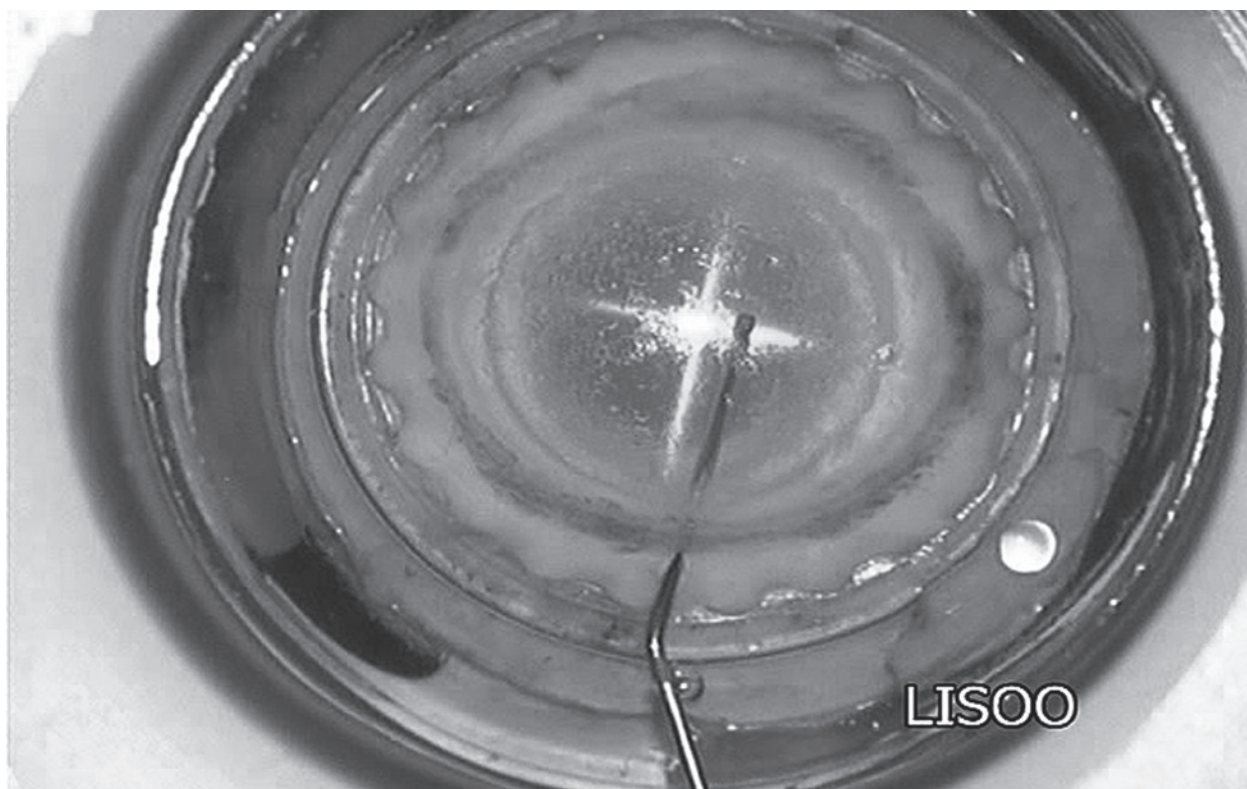


Figura 3. Desprendimiento total de la MD en una vista superior (cara epitelial).

que el agujero de la cánula está en la posición deseada, se infiltra aire hasta que se forme una bula al desprenderse la MD del estroma subyacente. Ésta se amplía para obtener el diámetro de desinserción deseado.

- Se aspira el aire con el objetivo de aplanar la bula y que la MD vuelva a tomar su posición cóncava y se instilan unas gotas de azul de trypan (Vision Blue, DORC, 0.06%) para teñir la capa de MD/endotelio.

Para el análisis de los datos se utilizó la estadística descriptiva. La información se resumió en valores absolutos, media, intervalo de confianza al 95% para una media, mínimo (Mín) y máximo (Máx) y la desviación estándar (DS). Para la comparación de los valores promedios se utilizaron los métodos no paramétricos: *p* asociada a prueba U de Mann-Whitney y *p* asociada a prueba de los rangos con signo de Wilcoxon.

El estudio cumplió con la II Declaración de Helsinki y con la legislación vigente en Cuba, de acuerdo con lo establecido en el Sistema

Nacional de Salud y previsto en la Ley No.41 de Salud Pública¹⁷. El tejido para experimentación fue manejado según los principios establecidos en el código de ética de la Asociación Panamericana de Banco de Ojos (APABO).

Resultados

El tiempo promedio transcurrido hasta lograr la completa disección de la MD por la variante 1 fue de 18,4 minutos con una desviación estándar de 0,3 y un tiempo mínimo y máximo de 17,9 y 19,0 respectivamente (tabla 1).

El diámetro medio de desinserción logrado con esta técnica fue de 8,5 mm con una desviación estándar de 0,2 y un mínimo y máximo de 8,0 y 8,9 mm (tabla 2).

Con la variante de neumodisección de la MD el tiempo quirúrgico fue corto, con una media de 8,5 minutos, una desviación estándar de 0,4 y un mínimo y máximo de 7,0 y 9,0 mm (tabla 1). Con

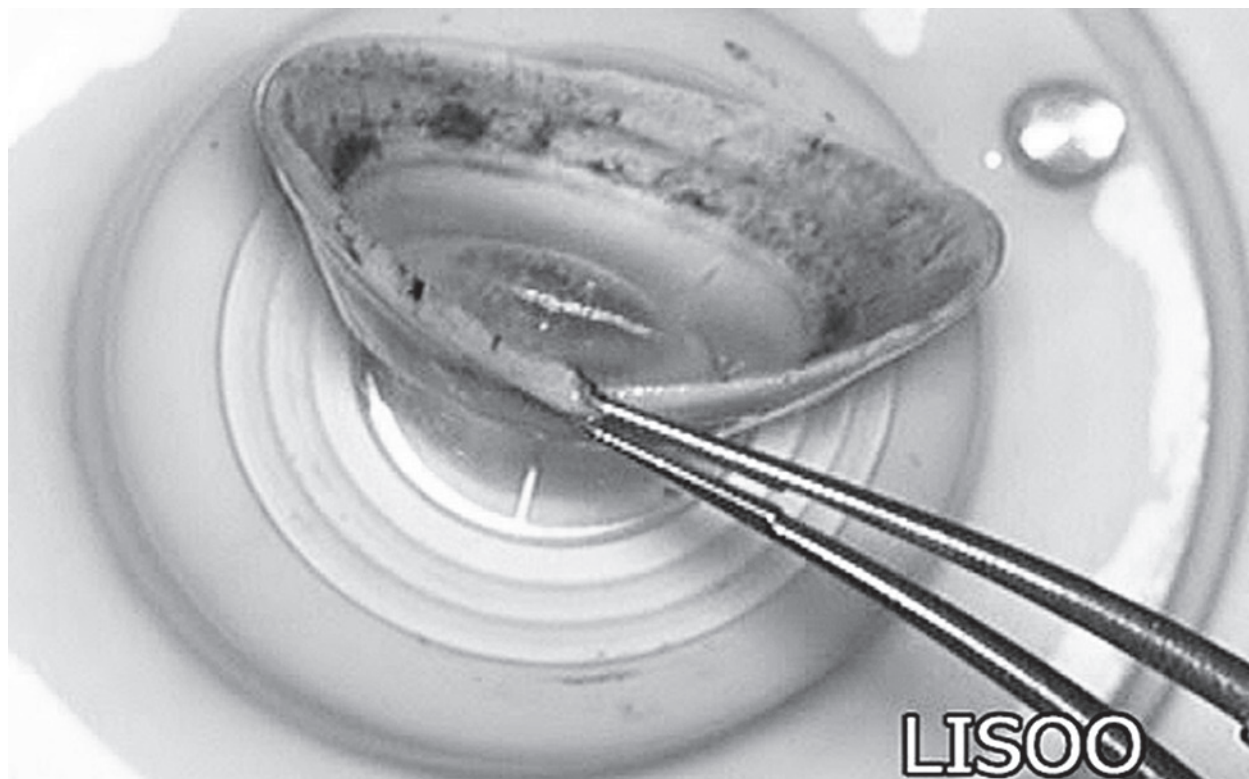


Figura 4. Desprendimiento total de la MD en una vista endotelial una vez desmontado de la cámara artificial el anillo esclerocorneal.

ella se logró un diámetro promedio de desprendimiento de 9,0 mm, con una desviación estándar de 0,2 y un mínimo y máximo de 8,7 y 9,3 mm (tabla 2).

De los 20 anillos esclerocorneales utilizados para la técnica de viscodisección mediante abordaje anterior esclerolimbial se pudo completar el procedimiento satisfactoriamente en 18 de ellos (80%). En dos (20%) de ellos se produjo una ruptura de la MD durante la desinserción, manifestándose como la única complicación surgida durante la disección y en ambos el factor desencadenante fue la manipulación inadecuada del tejido. En uno se produjo un opérculo central de 2,5 mm que impidió continuar el procedimiento y hubo que desechar el tejido. En el otro se originó un agujero pequeño periférico que permitió completar la disección de forma que la capa de tejido resultó adecuada para ser utilizada en la DMEK, lo cual constituye un 95% de eficacia para el aprovechamiento del tejido.

Coincidió que, de los 20 anillos esclerocorneales en los que se practicó la variante de doble neumodisección, se completó el procedimiento en 18

(80%) de ellos, en dos (20%) se produjo la ruptura de la membrana de Descemet durante la desinserción debido a una manipulación inadecuada del tejido como factor desencadenante; en uno de los ojos fue central, por lo que fue necesario desecharlo. La otra ruptura ocurrió mientras se intentaba ampliar el diámetro de desinserción más allá de los 8,0 mm y fue periférica, lo que no afecta el uso del tejido para el trasplante (DMEK), lo cual constituye un 95% de eficacia para el aprovechamiento del tejido.

Al comparar ambas variantes, la neumodisección posterior, con intervalo de confianza para la media al 95% (IC) entre 8,3-8,7 minutos, ofrece un tiempo quirúrgico menor con respecto de la viscodisección por vía anterior con IC de 18,3-18,5 minutos, los cuales no se cortan. La diferencia promedio de los tiempos entre ambas variantes fue de 9,9 minutos (tabla 1). Además, permite un diámetro mayor del desprendimiento con IC que tampoco se cortan: 8,9-9,1 mm en la variante 2 y 8,4-8,6 mm en la variante 1 y diferencia promedio de los diámetros obtenidos por ambas variantes de

Tabla 1. Comparación del tiempo quirúrgico según la variante de disección.

Tiempo quirúrgico (minutos)	Variante 1 N(20)	Variante 2 N(20)
Media	18,4	8,5
DS	0,3	0,4
Mín.-Máx.	17,9-19,0	7,0-9,0
Intervalo de confianza para la media al 95%	18,3-18,5	8,3-8,7
Diferencia promedio	9,9	
p* comparación de media	0,0000	

Fuente: base de datos.

*p asociada a prueba U de Mann-Whitney y p asociada a prueba de los rangos con signo de Wilcoxon.

Tabla 2. Comparación del diámetro del desprendimiento de la MD según la variante de disección.

Diámetro del desprendimiento (mm)	Variante 1 N(20)	Variante 2 N(20)
Media	8,5	9,0
DS	0,2	0,2
Mín.-Máx.	8,0-8,9	8,7-9,3
Intervalo de confianza para la media al 95%	8,4-8,6	8,9-9,1
Diferencia promedio	0,5	
p* comparación de media	0,0000	

Fuente: base de datos.

*p asociada a prueba U de Mann-Whitney y p asociada a prueba de los rangos con signo de Wilcoxon.

0,5 mm (tabla 2). Ambas comparaciones fueron significativas.

En cuanto a las complicaciones presentadas, no se encontró diferencias entre ambas variantes ya que fue la ruptura de la MD la única complicación presentada en ambos grupos, en dos ojos cada uno y como factor desencadenante la manipulación inadecuada del tejido.

Discusión

En este caso se sometió a cirugía experimental dos variantes técnicas, en un intento de simplificar y optimizar la DMEK, en la fase de preparación del tejido donante.

Con el empleo de la viscodisección mediante abordaje anterior esclero-limbal (variante 1) propuesta por el LISOO del ICO, se tiene la ventaja de que al realizar la disección desde un área perifé-

rica de la córnea, si se produce una ruptura a este nivel, no obliga a abortar el procedimiento ya que en la zona de trepanación más central el tejido se mantiene íntegro.

El área esclerolimbal donde se realiza la incisión de entrada da una referencia externa y visible del plano predescemético. Es indicador del plano correcto el cambio de coloración que se produce en la zona de transición entre la esclera —de color blanco— y las capas más profundas, correspondientes a la córnea encima del canal de Schlemm y línea de Schwalbe, que adoptan una coloración más oscura. Para acceder al plano predescemético se utiliza una espátula de configuración delgada y punta fina semirroma que permite decolar las capas estromales hasta llegar al área correcta con menor riesgo de perforar la fina MD.

Exploratoriamente se probó el uso de aire para conseguir la separación de la MD del resto de las capas corneales, pero teniendo en cuenta que al

estar accediendo desde la superficie anterior, si accidentalmente se instila el aire en el estroma en lugar de hacerlo en el plano correcto, se forman microburbujas que dificultan la visualización para lograr un adecuado desprendimiento y que con aire la formación de la pseudocámara se obtiene de manera más abrupta, se determinó utilizar viscoelástico para esta vía de abordaje anterior, pues al introducirlo más lenta y controladamente —de apreciar que se engruesa y opacifica el estroma en lugar de formarse un anillo posterior de desprendimiento, lo cual es indicio de que se está en un plano más anterior que el predescemético—, se puede retirar tempranamente la cánula, disecar hasta el plano correcto con ella o con la espátula y ulteriormente continuar la infiltración del viscoelástico. El agente viscoelástico logra una desinserción más pausada que permite medir durante el proceso hasta alcanzar un desprendimiento preciso con el diámetro programado, debe tener la precaución de eliminar bien los restos que queden antes de la inserción del disco de MD/endotelio en el paciente. De no ser así se comprometería la adherencia del tejido donante al receptor. Con esta técnica se logra un disco donante de tamaño suficiente factible para trasplante en un tiempo breve.

Al comparar ambas variantes es importante señalar que en las dos el 95% del tejido resultó útil y el tiempo quirúrgico medio fue corto, aun en la fase de aprendizaje, si se compara con la técnica de disección mediante pelado con ayuda de espátulas o con variantes en las que se eliminan capas de estroma anterior previo a la disección¹⁸⁻²⁴. Studeny refiere que con la DMEK con anillo estromal (DMEK-S) toma de 20 a 30 minutos preparar el tejido donante²⁵. En un trabajo realizado en banco de ojos, Jardine obtuvo tiempos promedios de 19,9 y 23,4 minutos en la preparación de tejido donante para DMEK¹⁴; mientras que en un estudio reciente Gorovoy consiguió un 97% de tejido útil en un tiempo medio de 10,1 ± 3,3 minutos con un rango entre 6 y 24 minutos²². Sin embargo, la neumodisección posterior ofrece un tiempo quirúrgico menor, el cual se reduce a más de la mitad con respecto de la viscodisección por vía anterior y permite un diámetro mayor del desprendimiento sin diferencias en cuanto a complicaciones y factor desencadenante. Resultado

similar al encontrado en investigaciones previas en el LISOO¹⁵.

Se concluye que el tiempo quirúrgico es corto para ambas variantes de disección y el diámetro del desprendimiento obtenido con cada una de las técnicas resulta suficiente para obtener un disco viable para DMEK. Además, ambas técnicas probadas resultan seguras y reproducibles tras obtener un 95% de tejido útil para trasplante, aún en su fase de aprendizaje y de perfeccionamiento.

Referencias

1. John T. *Corneal endothelial transplant: DSAEK, DMEK and DLEK*. New Delhi: Jaypee-Highlights, 2010.
2. Satué M, Rodríguez-Calvo-de-Mora M, Naveiras M, Cabrerizo J, Dapena I, Melles GR. La estandarización en el trasplante endotelial de membrana de Descemet: resultados de las primeras 450 cirugías. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2015; 90: 356-64.
3. Capote A, Ríos M, Cárdenas T. Excimer laser Descemet stripping endothelial keratoplasty. En: Garg A, Alió JL (eds.). *Surgical techniques for corneal transplantation*. New Delhi: Jaypee-Highlights, 2010, p.157-65.
4. John T. Descemet's membrane endothelial keratoplasty: a useful technique for selective tissue corneal transplantation. *Ocular Surg News U.S. ed*, August 25, 2010.
5. Melles GR, Ong TS, Ververs B, van der Wees J. Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK). *Cornea* 2006; 25: 987-90.
6. Lie JT, Birbal R, Ham L, van der Wees J, Melles GR. Donor tissue preparation for Descemet membrane endothelial keratoplasty. *J Cataract Refract Surg* 2008; 34: 1578-83.
7. Dapena I, Ham L, Melles GR. Endothelial keratoplasty: DSEK/DSAEK or DMEK: the thinner the better? *Curr Opin Ophthalmol* 2009; 20: 299-307.
8. Ham L, Balachandran C, Verschoor CA, van der Wees J, Melles GR. Visual rehabilitation rate after isolated Descemet membrane transplantation: Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Arch Ophthalmol* 2009; 127: 252-55.

9. Balachandran C, Ham L, Verschoor CA, Ong TS, van der Wees J, Melles GR. Spontaneous corneal clearance despite graft detachment in Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 2009; 148: 227-34.
10. Dapena I, Ham L, Lie J, van der Wees J, Melles GR. Queratoplastia endotelial de membrana de Descemet (DMEK): resultados a dos años. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2009; 84: 237-43.
11. Melles GR, Ong TS, Ververs B, van der Wees J. Preliminary clinical results of Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 2008; 145: 222-7.
12. Tappin M. A method for true endothelial cell (Tencell) transplantation using a custom-made cannula for the treatment of endothelial cell failure. *Eye (Lond)* 2007; 21: 775-9.
13. Melles GR, Lander F, Rietveld FJ. Transplantation of Descemet's membrane carrying viable endothelium through a small scleral incision. *Cornea* 2002; 21: 415-8.
14. Jardine GJ, Holiman JD, Stoeger CG, Chamberlain WD. Imaging and quantification of endothelial cell loss in eye bank prepared DMEK grafts using trainable segmentation software. *Curr Eye Res* 2014; 39: 894-901.
15. Capote A, Ravelo W, Vinardell S, Cárdenas T, Hernández I. Disección neumática en dos pasos para la preparación del tejido donante en queratoplastia endotelial de la membrana de Descemet. *Rev Cubana Oftalmol* 2013; 26: 3-14.
16. Capote A, Cruz D, Cárdenas T, Hernández I, Ravelo W, Vinardell S. Queratoplastia lamelar anterior profunda: nueva variante de viscodisección mediante abordaje esclero-limbal. *Rev Cubana Oftalmol* 2013; 26: 427-38.
17. Di Ruggiero M. Declaración de Helsinki, principios y valores bioéticos en juego en la investigación médica con seres humanos. *Rev Colombiana Bioética* 2011; 6: 125-44.
18. Schlötzer-Schrehardt U, Bachmann BO, Laaser K, Cursiefen C, Kruse FE. Characterization of the cleavage plane in Descemet's membrane endothelial keratoplasty. *Ophthalmology* 2011; 118: 1950-7.
19. Ham L, Dapena I, van Luijk C, van der Wees J, Melles GR. Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK) for Fuchs endothelial dystrophy: review of the first 50 consecutive cases. *Eye (Lond)* 2009; 23: 1990-8.
20. Zarei-Ghanavati S, Khakshoor H, Zarei-Ghanavati M. Reverse big bubble: a new technique for preparing donor tissue of Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Br J Ophthalmol* 2010; 94: 1110-1.
21. Hirano K, Sugita J, Kobayashi M. Separation of corneal stroma and Descemet's membrane during deep lamellar keratoplasty. *Cornea* 2002; 21: 196-9.
22. Gorovoy IR, Cui QN, Gorovoy MS. Donor tissue characteristics in preparation of DMEK grafts. *Cornea* 2014; 33: 683-5.
23. Busin M. DMEK latest in selective tissue corneal transplantation surgery. *Ocular Surg News U.S. Ed*, Nov. 10, 2008.
24. Busin M, Scorcio V, Patel AK, Salvalaio G, Ponzin D. Pneumatic dissection and storage of donor endothelial tissue for Descemet's membrane endothelial keratoplasty: a novel technique. *Ophthalmology* 2010; 117: 1517-20.
25. Studeny P, Farkas A, Vokrojova M, Liskova P, Jirsova K. Descemet's membrane endothelial keratoplasty with a stromal rim (DMEK-S). *Br J Ophthalmol* 2010; 94: 909-14.