

Dissección neumática en dos pasos para la preparación del tejido donante en queratoplastia endotelial de la membrana de Descemet

Two-step pneumatic dissection in the preparation of donor tissue for Descemet membrane endothelial keratoplasty

Dr. Armando Capote Cabrera, Dra. Wina Ravelo Vázquez, Dra. Susana Vinardell Pérez, Dra. Taimi Cárdenas Díaz, Dr. Iván Hernández López, Dr. Lázaro Vigoa Aranguren

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

RESUMEN

Objetivos: evaluar los resultados de una variante técnica para la preparación del tejido donante en la queratoplastia endotelial de la membrana de Descemet.

Métodos: se realizó un estudio experimental exploratorio en 20 córneas donantes humanas no útiles para trasplante corneal en el Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer". La variante técnica consistió en la dissección neumática en dos pasos y abordaje posterior hasta conseguir la total separación de la membrana de Descemet. Se midió el tiempo quirúrgico, el diámetro del desprendimiento y la aparición de complicaciones. Se realizó estudio histológico de córneas con resultados biomicroscópicos atípicos.

Resultados: se obtuvo el 95 % de tejido útil para trasplante en base a la integridad del tejido. El tiempo quirúrgico medio fue de 8,5 minutos y el diámetro medio de la bula de 9,3 mm. Ocurrió ruptura de la membrana de Descemet en dos casos. En tres discos se formaron dobles bulas, una parcial y dos completas. El estudio histológico mostró que la bula interna estaba compuesta por capa aislada de estroma posterior y la externa por membrana de Descemet y endotelio.

Conclusiones: la variante técnica resultó reproducible y segura en la preparación del tejido donante. Las características ultraestructurales del estroma posterior permiten la dissección de una capa independiente lisa, resistente y transparente. En algunos especímenes se observó la dissección no solo de la membrana de Descemet y endotelio, sino que se presenciaron remanentes de capa de estroma posterior en las bulas simples.

Palabras clave: Descemet, estroma posterior, queratoplastia endotelial, neumática, DMEK.

ABSTRACT

Objective: to evaluate an alternative of double pneumatic dissection in the preparation of donor tissue for Descemet Membrane endothelial keratoplasty.

Methods: experimental exploratory study of 20 human donor corneas that were useless for corneal transplant was performed in the "Ramón Pando Ferrer" Cuban Institute of Ophthalmology. The technical variant was two-step pneumatic dissection and posterior approach in order to completely detach Descemet membrane. The mean surgical time, the size of the detachment, the arisen complications and histologic examination in cases of atypical biomicroscopic findings were evaluated.

Results: ninety five percent of useful tissue for transplant was obtained. The mean surgical time was 8.5 min and the mean size of bubble was 9.3 mm. Rupture of Descemet membrane occurred in two cases. Three discs presented formation of double bubbles, one partial or two complete ones. The histological study showed that the innermost bubble was made up of an isolated layer of posterior stroma and the outer bubble made up of Descemet membrane and endothelial cells.

Conclusions: this technical variant proved to be reproducible and safe for donor tissue preparation. The ultra-structural characteristics of the posterior deep stroma allow the dissection of an independent layer which is thin, smooth, resistant and transparent. In some specimens, the dissected tissue included not only Descemet membrane and endothelium, but also remnants of the posterior stroma layer in simple bubbles.

Keywords: Descemet, posterior stroma, endothelial keratoplasty, pneumatic, Descemet membrane endothelial keratoplasty.

INTRODUCCIÓN

En el año 2006, *Melles* y otros,^{1,2} ponen en práctica la queratoplastia endotelial de membrana de Descemet (DMEK, por su sigla en inglés), un nuevo tipo de trasplante selectivo en el cual son sustituidos la membrana de Descemet (MD) y el endotelio del paciente por un tejido donante sano anatómicamente similar. Esta técnica posee varias ventajas informadas por diversos autores,³⁻⁹ relacionadas principalmente con más rápida y mejor recuperación visual, la posibilidad de emplear injertos de mayor tamaño y de utilizar una misma córnea donante en más de un procedimiento quirúrgico. No obstante, lo más difícil de esta cirugía lo constituyen la preparación y el manejo del tejido donante debido a que el complejo Descemet-endotelio es extremadamente delgado, frágil y transparente, a lo que se añade su caprichosa forma de enrollarse como papiro dejando el lado endotelial expuesto hacia fuera.

La manera más sistematizada de obtener MD/Endotelio a partir de córneas donantes mediante pelado con ayuda de pinzas y espátulas, implica gran manipulación y tracción con alto potencial de producir desgarros, estrías y pérdida de células endoteliales que pudieran comprometer la funcionalidad y supervivencia del

injerto,^{10,11} es por esto que varios autores¹²⁻¹⁵ han introducido otras formas de preparación del tejido donante.

La compleja organización histológica y ultraestructural de las capas corneales posteriores (estroma posterior, MD y endotelio) influye en la disección para la preparación del tejido donante en DMEK y para las técnicas de queratoplastia lamelar anterior profunda. Se requiere una mejor caracterización y comprensión de los eventos relacionados con la manipulación del tejido para proveer técnicas más seguras y reproducibles.¹⁶

El propósito de este trabajo experimental es la evaluación de una variante técnica de disección neumática diseñada para la preparación del injerto en la DMEK, con la intención de hacerla menos traumática, más reproducible y por tanto más accesible a los cirujanos. Se pretende evaluar las características de la separación del tejido usando una doble disección neumática, al establecer una correlación biomicroscópica, imaginológica (tomografía por sistema *Scheimpflug*, tomografía de coherencia óptica y biomicroscopía ultrasónica) e histológica de los hallazgos en las córneas preparadas mediante esta técnica.

MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental exploratorio en el Laboratorio de Investigaciones del Sistema Óptico Ocular (LISOO) del Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer" en el período comprendido entre septiembre 2011 y diciembre del 2012. La muestra estuvo conformada por 20 botones esclero-corneales extraídos de donantes humanos no útiles para trasplante, a los que se les realizó disección neumática en dos pasos. El estudio fue aprobado por el comité de ética de la institución y se ejecutó de acuerdo a la declaración de Helsinki. El tejido para experimentación fue manejado siguiendo los principios establecidos en el Código de ética de la Asociación Panamericana de Banco de Ojos (APABO).

Se midió el diámetro del desprendimiento mediante el sistema *Scheimpflug* del pentacam (OCULUS Optikgerate GmbH, Wetzlar, Germany) utilizando la Imagen *Scheimpflug* en escaneo 3-D, mediante la función manual de examen. Se colocó el anillo esclero-corneal en situación vertical, con la cara endotelial en un plano frontal hacia la cámara del pentacam, sin establecer una posición de rotación precisa del mismo con respecto al eje Z. Se marcó la distancia (mm) entre los puntos en que se iniciaba el desprendimiento a ambos lados en los meridianos de 90° y 180°. Se realizó la captura de video (Dazzle DVC 100, Pinnacle, RP China. Instant DVD Recorder) de todos los procedimientos. Se midió el tiempo quirúrgico utilizando la escala de la barra de progresión de video de Windows Media Player Classic (Microsoft Windows XP), desde el momento de la inserción de la aguja a través de la esclera, hasta que quedó completamente separada la capa de membrana de Descemet y endotelio del estroma subyacente. La observación de los videos se realizó en la totalidad de los casos para determinar la presencia o no de complicaciones y de existir alguna, analizar la maniobra o factor que pudo desencadenarla. Se calcularon las medias de los valores de tiempo y diámetro del desprendimiento en la base de datos creada en Microsoft Excel 2010 y se analizaron comparativamente con respecto a los publicados en la literatura en técnicas de preparación de tejido donante en DMEK.

Descripción de la variante de disección neumática en dos pasos

- El anillo esclero-corneal es colocado con la cara endotelial hacia arriba sobre un ponche de Barron (*Jedmed Instrument Co. St. Luis, EE. UU.*) para córnea donante. Se introduce aguja fina (26 a 30 G) acoplada a una jeringa cargada con 0,8 mL de aire, desde la periferia escleral hasta el espesor estromal a 2 o 3 mm del limbo (Fig. 1: 1a, 1b, 1c).
- Se infiltra aire intraestromal, en el tercio posterior, hasta observar un aspecto blanquecino y esponjoso del estroma (Fig. 1: 2a, 2b, 2c).
- Con espátula fina se disecciona y avanza hacia el centro, realizando ligeros movimientos laterales y hacia arriba, hasta apreciar el brillo del metal, que indica que se encuentra en el plano predescemético (Fig. 1: 3a, 3b, 3c).
- Se infiltra 0,5 mL de aire utilizando una cánula de 23-25 G, de punta aplanada con filo atenuado, bisel central y agujero superior de 0,3 a 0,5 mm de la punta. A 3,0 mm del extremo distal la cánula tiene un engrosamiento en forma de vientre 0,75 mm más grueso que el diámetro exterior de la misma.
- Se forma una bula al despegarse la MD del estroma subyacente, que se amplía hasta obtener el diámetro deseado (Fig 1: 4a, 4b, 4c).
- Se aspira el aire hasta que la MD vuelva a tomar su posición cóncava y se tiñe con azul de trypan (*Vision Blue 0,06 %*, DORC, Zuidland, The Netherlands), quedando el tejido listo para ser cortado.

En los discos esclero-corneales donde se obtuvo más de una bula, el tejido se analizó además con tomografía de coherencia óptica (SL OCT, Heidelberg Engineering GmbH, Germany) y biomicroscopía ultrasónica (HiScan, Optikon, Italy) y se preparó para examen histológico y análisis mediante microscopía óptica. Después de procesar con formalina e incluir en bloques de parafina los dos hemi-anillos, se hicieron cortes que se tiñeron con hematoxilina y eosina, *Luxol Fast Blue*, *Van Gieson*, y *Argentafin Reticulum*, y ulteriormente se hizo examen en microscopio de luz (Olympus CX21FS1, Tokyo, Japan).

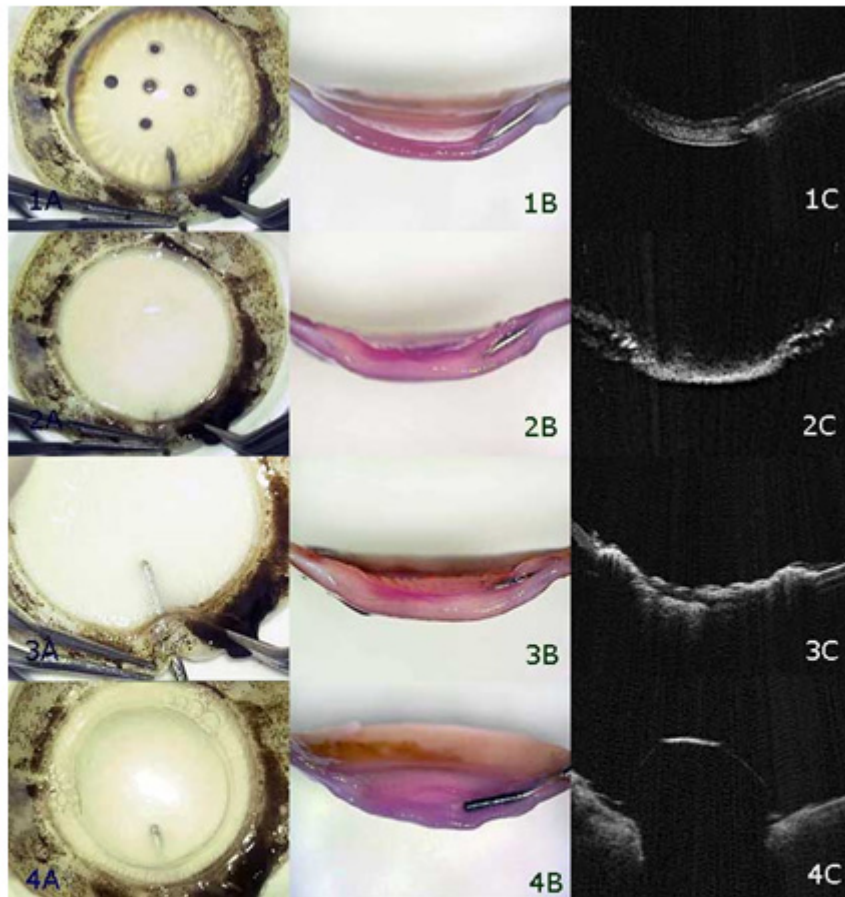


Fig. 1. Secuencia de imágenes capturadas de video y biomicroscopía ultrasónica de técnica de disección neumática en dos pasos usando abordaje posterior. (1a, 1b, 1c): aguja 26G penetrando desde la periferia escleral hasta el espesor estromal a 2 o 3 mm del limbo. (2a, 2b, 2c): infiltración de aire intraestromal, que proporciona aspecto blanquecino al estroma. (3a, 3b, 3c): disección con espátula hasta apreciar el brillo del metal, que indica el plano predescemético. (4a, 4b, 4c): infiltración de aire utilizando una cánula específicamente diseñada, forma una bula de MD y endotelio.

RESULTADOS

De los 20 botones esclero-corneales en los que se practicó la disección neumática en dos pasos de la MD se completó el procedimiento sin complicaciones en 18 de ellos. En 2 casos se produjo una ruptura de la membrana de Descemet durante el proceder, que se registró como la única complicación asociada. Una de las rupturas se debió a una maniobra inadecuada en el proceso de disección de la MD con la espátula y fue paracentral, por lo que el tejido resultó no útil para trasplante. La otra ruptura ocurrió mientras se intentaba ampliar el diámetro de la bula a más de 8,5 mm en el segundo paso de la disección y fue periférica, lo que no compromete su ulterior uso para trasplante, por lo que el resultado final fue de 95 % de tejido útil. En 3 de los casos el desprendimiento comenzó a formarse desde un área más periférica y se produjo un escape de aire a través del trabéculo que impidió la total disección neumática, se consiguió completar el procedimiento de forma exitosa usando viscoelástico. Se logró un diámetro promedio de desprendimiento de 9,3 mm. El tiempo quirúrgico medio fue de 8,5 min.

En tres discos esclero-corneales se formaron dos bulas durante la segunda inyección de aire en el plano posterior, en dos casos y en una oportunidad durante la primera inyección de aire en estroma menos posterior.

El examen biomicroscópico en lámpara de hendidura demostró en estos tres casos una bula externa (posterior) de una total transparencia y lisura. La bula más interna (anterior) también de apariencia fina y transparente mostraba, a la retroiluminación, un patrón microfibrilar irregular en todos los casos de dobles bulas.

Los estudios tomográficos proporcionaron las mediciones de los diámetros de las bulas (caso 1: bula externa de 9,08 mm y bula interna de 3,3 mm; caso 2: bula externa de 9,8 mm y bula interna de 6,1 mm; caso 3: bula interna de 6,5 mm y bula externa incompleta) (Fig. 2).

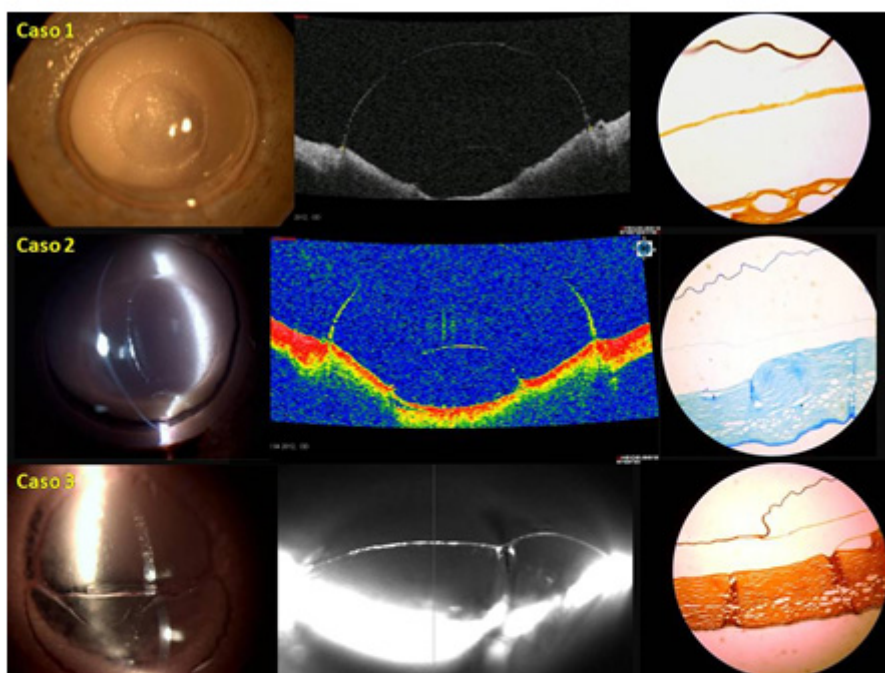


Fig. 2. Caso 1: imagen biomicroscópica con luz difusa, OCT y corte histológico con tinción de *Argenta-fine Reticulum*. Caso 2: imagen biomicroscópica con hendidura fina oblicua, OCT y corte histológico con tinción de *Luxol Fast Blue*. Caso 3: imagen biomicroscópica con hendidura oblicua, pentacam y corte histológico con tinción de *Argenta-fine Reticulum*. Las imágenes biomicroscópicas muestran bula externa de aspecto completamente transparente y liso, las bulas internas tienen tenue aspecto de retículo microfibrilar en todos los casos.

El estudio histológico exhibió la formación en los casos 1 y 2 de dos capas, la más interna tenía la misma coloración y aspecto que el resto de las capas de lamelas estromales con las diferentes tinciones histológicas empleadas, la capa más externa estaba formada en los tres casos por MD y células endoteliales.

El caso 3, mostró en el área donde la bula no estaba dividida, la MD y endotelio con una capa de lamelas corneales de estroma posterior. El sitio de inicio del desdoblamiento donde comienzan a formarse una bula interna y otra externa muestra la separación de la capa compuesta por MD/Endotelio y las lamelas estromales posteriores. En ninguno de los casos se observó división de las capas de la MD.

DISCUSIÓN

El pensamiento inicial para el desarrollo de esta variante de disección neumática en dos pasos, se basó en la cualidad que tiene el estroma corneal de tornarse blanco al entrar aire en su espesor, formando microbublas difusas entre las bandas de fibras de colágeno que causan dispersión de la luz y desestructuración de la regularidad de las capas de fibras estromales (Fig. 3).



Fig. 3. Corte histológico de córnea después de disección neumática en dos pasos. Desorganización de la estructura estromal con espacios irregulares creados por las microbublas de aire. MD y endotelio desprendidos. Tinción de Van Gieson (Magnificación 40X).

La consistencia más compacta de la MD hace que no sea infiltrada por el aire y mantenga su transparencia, lo que ayuda a precisar cuando el instrumento disector entra al plano predescemético, pues antes es escasamente visible por la matidez blanca escleral que adquiere el estroma infiltrado por el gas.

Se utiliza para la disección una cánula prototipo especialmente diseñada. La configuración de la punta reduce el riesgo de traumatizar la delgada MD. El agujero localizado en posición superior dirige la salida del aire hacia arriba y facilita el desprendimiento de la MD y un engrosamiento en forma de vientre actúa como obturador que reduce el flujo retrógrado del gas durante la infiltración.

El uso de aire inyectado en el espesor corneal para separar la MD fue descrito previamente por *Anwar*,¹⁷ con la técnica lamelar anterior profunda que denominó "gran burbuja" (*Big Bubble*). Basado en este principio, existen otros precedentes de la utilización de aire infiltrado desde la cara posterior. *Busin*,¹³ describió una técnica de disección neumática mediante infiltración de aire desde la cara endotelial, previo corte con microquerátomo. Utiliza una aguja de 25 o 30 G que penetra hasta el plano predescemético entrando a un milímetro del limbo y avanzando 2 mm tangencialmente, entonces infiltra aire para separar la MD a medida que pasa la bula de aire. En la denominada técnica de la "gran burbuja invertida", descrita por *Zarei-Ghanavati* y

otros,¹⁸ para la preparación del tejido donante para DMEK, se emplea una jeringa de 2 mL llena de aire y se infiltra el estroma formando microburbujas que coalescen y desprenden la MD. Tras las observaciones realizadas durante la realización de la variante de disección neumática en dos pasos, se apreció que el desprendimiento al infiltrar el aire en estroma solo ocurre ocasionalmente. En la técnica de la "gran burbuja invertida", el aire en estroma se emplea para directamente desprender la MD, lo cual difiere de la variante descrita en este estudio, en la que se utiliza un volumen menor de aire, solo para lograr un contraste entre el color blanco adquirido por el estroma y la MD que permanece transparente y localizar así con mayor certeza el plano predescemético. Aunque *Zarei-Ghanavati* describe una instilación del gas de forma suave, se observó que para que se provoque este enfisema y desprendimiento es imprescindible realizar una fuerte compresión sobre el émbolo de la jeringa que produce salida del aire rápidamente haciendo difícil controlar la formación de la bula.

En el caso de la ruptura que ocurrió mientras se intentaba ampliar el diámetro de desinserción, se observó bajo el microscopio quirúrgico con gran magnificación, presencia de fibras entrelazadas con distribución multidireccional, concordante con la descripción de la ultraestructura de las fibras colágenas del estroma posterior adyacente a la MD.

El escape de aire a través del trabéculo que ocurrió en algunos de los casos durante la infiltración impidió, en la serie estudiada, completar la disección con este elemento. Esto contrasta con los resultados publicados por *Busin*¹³ en los que, excepto en un caso, logra obtener y ampliar el desprendimiento realizando la infiltración de aire. Esta autor plantea que, aun cuando se escape aire por la periferia corneal, la infiltración perseverante logra completar la separación de la MD. Ante este evento, en el presente estudio, se usó viscoelástico para continuar la maniobra, teniendo en cuenta que la mayor densidad de este impediría el escape de aire por el área anatómica en cuestión, completándose la desinserción satisfactoriamente y logrando obtener un disco de MD/endotelio de un diámetro adecuado. El inconveniente en el uso del aire, radica en que la persistencia de algún remanente sobre la cara descemética puede comprometer la adherencia entre donante y receptor. Se usó azul de Trypan en todos los casos al completar el procedimiento, para teñir el tejido resultante y facilitar su visualización una vez insertado en la cámara anterior del receptor.

La posibilidad que brinda la DMEK, de obtener y poder utilizar discos de tejido donante con diámetros amplios, que permitan trasplantar mayor número de células endoteliales en relación con injertos de menor diámetro y densidad celular similar, y que compense la pérdida celular que se espera que ocurra debido a la manipulación del tejido durante su preparación e implantación, es conservada con la variante de disección propuesta.

El tiempo quirúrgico medio fue corto, aún en la fase de aprendizaje, si es comparado 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 disección.^{14,15,17-19} *Studený*¹² refiere que con la DMEK con anillo estromal (DMEK-S) toma de 20 a 30 min preparar el tejido donante.

La presencia de dos capas decoladas es indicativa de que la córnea posterior puede ser disecada no exclusivamente a nivel de la matriz de la entrecara entre la MD y las lamelas estromales posteriores, sino que otros planos de clivaje también existen y que se pueden separar, incluso simultáneamente. Este segundo plano de separación pudiera estar localizado dentro de la misma membrana de Descemet por separación entre la capa anterior en banda y la posterior en no banda, como fue descrito previamente por *Hirano*,²⁰ o de forma más probable entre capas de lamelas de

colágeno estromales posteriores. Algunos estudios han demostrado la presencia de lamelas estromales residuales adheridas a la MD en la queratoplastia lamelar anterior profunda o en tejido de banco de ojos preparado para DMEK.²¹⁻²³ Otros autores,²⁴ no han encontrado adherencia de tejido estromal usando diferentes técnicas de disección. En un caso de este estudio en el que se observó bula única de aspecto reticular a la retroiluminación, se observó remanente de tejido estromal adherido a la MD (Fig. 4). No se hizo estudio histológico a todos los especímenes, por lo que no se puede establecer proporción de casos de MD/ Endotelio solos o con capa estromal posterior adherida obtenidos en nuestra serie de casos.

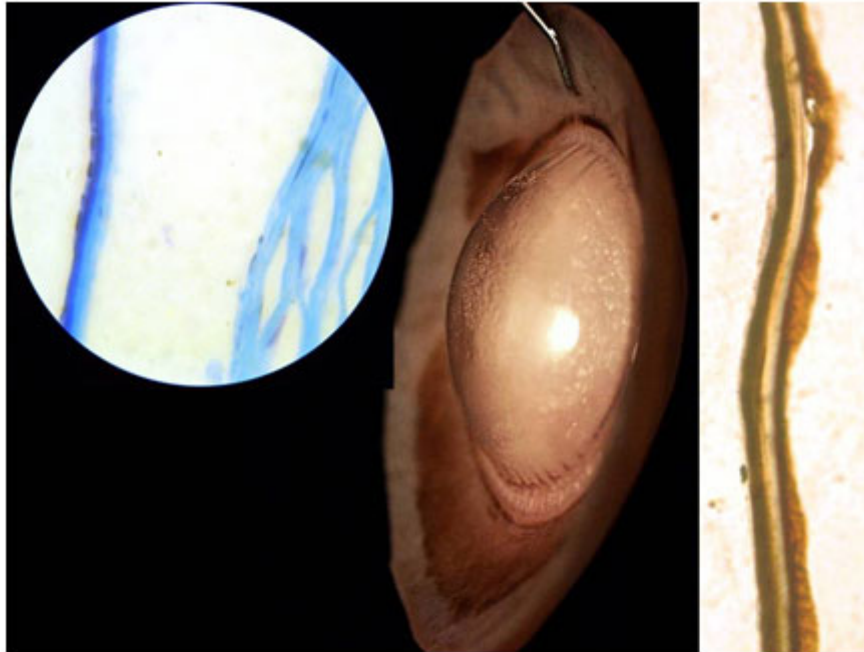


Fig. 4. Bula de MD y endotelio en la que la observación de líneas entrelazadas con distribución irregular adheridas a la membrana de Descemet sugieren la presencia de fibras estromales posteriores cuya capa se ve en corte histológico teñido con *Luxol Fast Blue* (Izquierda) y *Argentafin Reticulum* (Derecha).

No encontramos antecedentes en la literatura revisada de la formación de dos bulas durante ninguna variante de disección de la MD. Constituye este un hallazgo de interés por demostrar la propiedad de la capa más posterior del estroma de ser separada limpiamente y constituirse como una túnica independiente muy compacta impermeable al aire, capaz de formar una bula de buena transparencia, lisura y resistencia.

La explicación de la posibilidad de disecarse nítidamente esta capa puede estar dada por las características del estroma posterior donde, a diferencia de las capas más anteriores, las lamelas son más anchas, tienen de 100 a 200 μm de ancho y 1,0 a 2,5 μm de espesor, las fibras se ubican de manera más organizada, de forma tal que se disponen paralelas al plano de la córnea, estos paquetes de fibras en forma de banda tienen fuertes uniones horizontales lo que facilita su hermeticidad, y no fuertes uniones verticales lo que permite su separación. El hecho de que en el estroma posterior las lamelas cruzan toda la córnea sin interrupción puede contribuir igualmente a la formación de la bula interna, cuyo tamaño puede estar limitado además de por la presión externa proporcionada por el aire entre ella y la bula externa, por la organización arqueada que toman las fibras cerca del limbo formando el ligamento circular de la córnea.²⁵ Un estudio con microscopía electrónica

después de digestión de los elementos celulares con hidróxido de sodio, muestra que en la capa más interna del estroma, las fibras de colágenas no se encuentran alineadas, sino que corren irregularmente en distintas direcciones formando una red de fibras muy entrelazadas entre sí. Presumiblemente esa organización contribuye a la hermeticidad de la capa de estroma posterior que forma la bula interna. Esta capa puede ser responsable del aspecto de red microfibrilar observado a la retroiluminación en labiomicroscopia.²⁵

Las lamelas estromales anteriores más finas y con abundantes uniones antero posteriores, no pueden ser disecadas al no existir planos de clivaje y el aire se distribuye irregularmente creando microburbujas intraestromales (Fig. 3).

La DMEK aún se encuentra en fase de perfeccionamiento para lograr establecerse como una técnica accesible para la mayoría de los cirujanos de córnea, no obstante, el restablecimiento anatómico y la elevada calidad visual que brinda en los casos en que resulta exitosa, estimula a continuar desarrollándola para lograr su incorporación como proceder habitual para restaurar la función endotelial en córneas enfermas.

La variante propuesta puede significar una modalidad que contribuya a una preparación reproducible y poco traumática del tejido donante, lo cual requiere para su validación de estudios más extensos que incluyan el análisis del efecto de la misma sobre el mosaico endotelial. El presente estudio ha permitido realizar observaciones de interés en cuanto a la relación anatómica-quirúrgica del estroma corneal, la MD y el endotelio.

AGRADECIMIENTOS

A los miembros del departamento de Histopatología del ICO "Ramón Pando Ferrer" por la asistencia en la preparación de las imágenes histológicas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. John T, Regis-Pacheco LF, Pecego J, Terry MA. History of lamellar and Penetrating Keratoplasty. Corneal Endothelial Transplant, DSAEK, DMEK and DLEK. New Delhi: Jaypee-Highlights; 2010. p. 143-53.
2. Melles GRJ, Ong S, Ververs B, Van der Wees J. Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK). Cornea. 2006;25(8):987-90.
3. Melles GR, Ong TS, Ververs B, van der Wees J. Preliminary clinical results of Descemet membrane endothelial keratoplasty. Am J Ophthalmol. 2008;145(2):222-7.
4. Dapena I, Ham L, Melles GRJ. Endothelial keratoplasty: DSEK/DSAEK or DMEK - the thinner the better? Curr Opin Ophthalmol. 2009;20(4):299-307.
5. Price MO, Giebel AW, Fairchild KM, Price FW, Jr. Descemet's membrane endothelial keratoplasty: Prospective multicenter study of visual and refractive outcomes and endothelial survival. Ophthalmology. 2009;116(12):2361-8.

6. 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*. 2009;23(10):1990-8.
7. Dapena I, Melles GR. Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK): two-year results. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2009;84(5):237-44.
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(3):252-5.
9. Lie T, Groeneveld-van Beek EA, Ham L, van der Wees J, Melles GR. More efficient use of donor corneal tissue with Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK): two lamellar keratoplasty procedures with one donor cornea. *Br J Ophthalmol*. 2010;94(9):1265-6.
10. 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(9):1578-83.
11. Zhu Z, Rife L, Yiu S, Trousdale MD, Wasilewski D, Siqueira A, Smith RE. Technique for preparation of the corneal endothelium-Descemet membrane complex for transplantation. *Cornea*. 2006;25(6):705-8.
12. 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(7):909-14.
13. Busin M, Scorgia 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(8):1517-20.
14. Busin M, Patel AK, Scorgia V, Galan A, Ponzin D. Stromal Support for Descemet's Membrane Endothelial Keratoplasty. *Ophthalmology*. 2010;117(12):2273-7.
15. Kymionis G, Yoo S, Diakonis V, Grentzelos M, Naoumidi I, Pallikaris I. Automated Donor Tissue Preparation for Descemet Membrane Automated Keratoplasty (DMAEK): An Experimental Study. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging*. 2011;42(2):158-61.
16. 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(10):1950-7.
17. Anwar M, Teichmann K. Big-bubble technique to bare Descemet's membrane in anterior lamellar keratoplasty. *J Cataract Refract Surg*. 2002;28(3):398-403.
18. 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(8):1110-1.
19. Sikder S, Ward D, Jun AS. A surgical technique for donor tissue harvesting for Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Cornea*. 2011;30(1):91-4.
20. Hirano K, Sugita J, Kobayashi M. Separation of corneal stroma and Descemet's membrane during deep lamellar keratoplasty. *Cornea*. 2002;21(2):196-9.

21. McKee HD, Irion LC, Carley FM, Jhanji V, Brahma AK. Donor preparation using pneumatic dissection in endothelial keratoplasty: DMEK or DSEK? *Cornea*. 2012;31(7):798-800.
22. McKee HD, Irion LC. Residual corneal stroma in big-bubble deep anterior lamellar keratoplasty: a histological study in eye-bank corneas. *Br J Ophthalmol*. 2011;95(10):1463-5.
23. Melles GR, Remeijer L, Geerards AJ, Beekhuis WH. A quick surgical technique for deep, anterior lamellar keratoplasty using visco-dissection. *Cornea*; 2000;19(4):427-32.
24. Yoeruek E, Bayyoud T, Hofmann J, Szurman P, Bartz-Schmidt KU. Comparison of pneumatic dissection and forceps dissection in Descemet membrane endothelial keratoplasty: histological and ultrastructural findings. *Cornea*. 2011;30(12):1436-41.
25. Komai Y, Ushiki T. The three-dimensional organization of collagen fibrils in the human cornea and sclera. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1991;32(8):2244-58.

Recibido: 15 de abril de 2013.
Aprobado: 2 de mayo de 2013.

Dr. *Armando Capote Cabrera*. Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer". Ave. 76 No. 3104 e/ 31 y 41 Marianao, La Habana, Cuba.
Correo electrónico: capotear@infomed.sld.cu