



Universidad de Oviedo
Universidá d'Uviéu
University of Oviedo

**Programa de Doctorado de Investigación en
Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas**

(RD 1393/2007)

Tesis Doctoral

Queratoplastia endotelial de membrana de descemet asociada a cirugía de catarata

Doctorando

Miguel L. Naveiras Torres-Quiroga

Oviedo, 2 de Abril de 2017



Universidad de Oviedo
Universidá d'Uviéu
University of Oviedo

Programa de Doctorado de Investigación en
Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas
(RD 1393/2007)

Tesis Doctoral

Queratoplastia endotelial de membrana de descemet asociada a cirugía de catarata

Doctorando

Miguel L. Naveiras Torres-Quiroga

Director

José Fernando Alfonso Sánchez

Co-Director

Álvaro Meana Infiesta

Tutor

José Fernando Alfonso Sánchez

Oviedo, 2 de Abril de 2017

Dedicatoria:

A los Dres. Alfonso y Meana por su inestimable ayuda e inolvidables enseñanzas impartidas. Al Prof. Fernández-Vega, Dr. Merayo y Dra. Riestra por su fundamental apoyo.

A los pacientes; que han depositado su confianza y el preciado bien de su vista en nuestras manos; a los donantes que hacen posible que otros vean con su altruismo; y al equipo del Centro Comunitario de Tejidos que lo hace todo posible.

Al Dr. Melles y su equipo del NIIOS, que nos ha regalado todo su conocimiento y apoyo para implantar esta técnica revolucionaria.

Deseo expresar además todo mi agradecimiento a mi familia, especialmente a María, por su apoyo incondicional a lo largo de este trayecto. Sin sus sacrificios no habría podido llegar hasta aquí.



RESUMEN DEL CONTENIDO DE TESIS DOCTORAL

1.- Título de la Tesis	
Español/Otro Idioma: QUERATOPLASTIA DE MEMBRANA DE DESCOMET ASOCIADA A CIRUGIA DE CATARATA	Inglés: DESCOMET MEMBRANE ENDOTHELIAL KERATOPLASTY ASSOCIATED TO CATARACT SURGERY

2.- Autor	
Nombre: Miguel Leonardo Naveiras Torres-Quiroga	DNI/Pasaporte/NIE: -G
Programa de Doctorado: Investigación en Cirugía y Esp. Médico-Quirúrgicas	
Órgano responsable: Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas.	

RESUMEN (en español)

Objetivos: Comparar los resultados visuales y la supervivencia del procedimiento combinado de trasplante DMEK, facoemulsificación e implante de lente intraocular (FACODMEK) con la cirugía diferida de catarata y DMEK, para el tratamiento de distrofia endotelial de Fuchs.

Método: Estudio clínico analítico, observacional, longitudinal, retrospectivo y no aleatorizado de no inferioridad de casos sobre controles. Se compara el porcentaje de éxito del trasplante y la supervivencia endotelial de las células implantadas en



trasplantes tipo DMEK, cuando se realiza la cirugía asociada de catarata de manera simultánea (casos) o diferida (controles). Además se estudian los resultados visuales a 6 y 12 meses tras el trasplante en ambos grupos. Se incluye seguimiento de hasta 24 meses en casos que lo han alcanzado. El grupo control es el de la cirugía secuencial (n=25) y el grupo de casos a estudio (n=25) es el de la cirugía simultánea.

Los tejidos donantes se prepararon en el banco de tejidos y fueron almacenados en medio de cultivo de órganos a 31° hasta la implantación. Los injertos se insertaron con un inyector ICL y de LIO. La variable principal fue el porcentaje de éxito del trasplante a 3 meses. Variables secundarias: Densidad celular endotelial (DCE) implantada y pérdidas a 6 meses. Agudeza visual sin y con corrección (AVsc y AVcc) pre y post operatorias; refracciones pre y post operatorias. Índices refractivos, evolución paquimétrica, complicaciones y gasto relativo de tejido.

Resultados: El trasplante fue exitoso en el 72,7% de los DMEK y en el 75% de los FACODMEK. La DCE a los 6 meses de $1354,3 \pm 561,8$ y $1327,4 \pm 561,8$ células/mm²; lo que supuso una pérdida media de celularidad del $52,3 \pm 16,03\%$ en DMEK y $51,7 \pm 16,07\%$ en FACODMEK. La AVsc media mejoró de $0,24 \pm 0,22$ a $0,61 \pm 0,27$ en grupo DMEK y mejoró de $0,25 \pm 0,2$ a $0,65 \pm 0,02$ en grupo FACODMEK. La AVcc media mejoró de $0,32 \pm 0,23$ a $0,83 \pm 0,2$ en DMEK y $0,65 \pm 0,2$ a $0,85 \pm 0,1$ en FACODMEK. Los índices de eficacia fueron de 1,9 y 1,3; índices de seguridad 3,5 y 3,4 y la predictibilidad del 62,6% y 79,2% a $\pm 1,0D$ de equivalente esférico. El diferencial del equivalente esférico de $+0,5$ en DMEK y $-0,25D$ en FACODMEK. La reducción de paquimetría fue de $679,2 \pm 97,6$ a $516 \pm 61,2$ micras en DMEK y de $644,2 \pm 55,8$ a $515,7 \pm 47,8$ en FACODMEK. Las diferencias globales antes y después de la intervención fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$) pero no lo fueron significativas ente grupos. Ratio de gasto de tejido 1.26/1.25.

Conclusiones: El triple procedimiento simultáneo FACODMEK consiguió una



rehabilitación visual tan eficaz en el tratamiento de la distrofia endotelial de Fuchs con catarata que la cirugía secuencial DMEK, con el mismo perfil de seguridad. Es posible considerarlo como un procedimiento cuasi-refractivo.

RESUMEN (en Inglés)

Objectives: To compare the visual and survival results of the combined DMEK transplantation, phacoemulsification and intraocular lens implantation (FACODMEK) with delayed cataract and DMEK surgery for the treatment of Fuchs endothelial dystrophy.

Method: Clinical, observational, longitudinal, retrospective and non-randomized clinical study of non-inferiority of cases on controls. The percentage of transplant success and endothelial survival of cells implanted in DMEK type transplants is compared when simultaneous (case) or delayed (control) cataract surgery is performed. In addition, the visual results are studied at 6 and 12 months after transplantation in both groups. Follow-up of up to 24 months in cases that have reached it. The control group is sequential surgery (n = 25) and the group of cases under study (n = 25) is simultaneous surgery. Refractive indexes, pachymetry evolution, complications, tissue expenditure.

Donor tissues were prepared in the tissue bank and stored in organ culture medium at 31° until implantation. The grafts were inserted with an ICL and IOL injector. The main variable was the transplant success rate at 3 months. Secondary variables: Implanted endothelial cell density (ECD) and losses at 6 months. Pre and post-operative visual acuity without and with correction (UCVA, BCVA); Pre and post-operative optical refraction.

Results: Transplantation was successful in 72.7% of DMEK and in 75% of



FACODMEK. The ECD at 6 months of 1354.3 ± 561.8 and 1327.4 ± 561.8 cells / mm²; which resulted in mean cell loss of $52.3 \pm 16.03\%$ in DMEK and $51.7 \pm 16.07\%$ in FACODMEK. The mean UCVA improved from 0.24 ± 0.22 to 0.61 ± 0.27 in the DMEK group and improved from 0.25 ± 0.2 to 0.65 ± 0.2 in the FACODMEK group. The mean BCVA increased from 0.32 ± 0.23 to 0.83 ± 0.2 in DMEK and 0.65 ± 0.2 to 0.85 ± 0.1 in FACODMEK. Efficacy rates were 1.9 and 1.3; Safety indexes 3.5 and 3.4 and the predictability of 62.6% and 79.2% at $\pm 1.0D$ spherical equivalent. The differential of the spherical equivalent of +0.5 in DMEK and -0.25D in FACODMEK. The reduction in pachymetry was 679.2 ± 97.6 to 516 ± 61.2 microns in DMEK and 644.2 ± 55.8 to 515.7 ± 47.8 in FACODMEK. The overall differences before and after the intervention were statistically significant ($p < 0.05$) but were not significant between groups. Tissue expenditure ratio 1.26/1.25.

Conclusions: The triple simultaneous procedure FACODMEK achieved a visual rehabilitation as effective in the treatment of Fuchs endothelial dystrophy with cataract as DMEK sequential surgery, with the same safety profile. It is possible to consider it as a quasi-refractive procedure.

SR. DIRECTOR DE DEPARTAMENTO DE _____ /

SR. PRESIDENTE DE LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA DE DOCTORADO EN

ÍNDICE

1. Pregunta de Investigación	10
1.1 Enunciado	10
1.2 Motivación.....	10
2. Introducción: Estado actual del tema	11
2.1 Distrofia endotelial de Fuchs.....	11
2.2 Evolución de la queratoplastia endotelial.....	13
2.3 Aparición de la DMEK.....	14
2.4 Cambio de tendencia	15
2.5 El problema de la catarata asociada a disfunción endotelial	16
3. Justificación.....	18
4. Hipótesis.....	19
5. Objetivos	20
5.1 Objetivo principal	20
5.2 Objetivos específicos.....	20
6. Pacientes, material y método.....	21
6.1 Diseño del estudio	21
6.1.1 Variable principal	21
6.1.2 Variables secundarias.....	21
6.2 Pacientes	22
6.3 Material.....	24
6.3.1 Transformación del establecimiento de tejidos para poder producir injertos endoteliales para DMEK.....	24
6.3.2 Obtención y conservación del tejido donante	28
6.3.3 Técnica quirúrgica de facoemulsificación.....	30
6.3.4 Técnica quirúrgica de DMEK.....	31

6.3.5	Técnica quirúrgica de “rebubbling”	32
6.3.6	Tratamiento postoperatorio	32
6.3.7	Seguimiento postoperatorio.....	33
6.4	Método.....	34
7.	Resultados	36
7.1	Demografía de pacientes	36
7.1.1	7.1.1 Cohorte completa.....	36
7.1.2	Cohorte de alto potencial visual	38
7.2	Características de los endotelios.....	39
7.3	Porcentaje de éxito.....	40
7.4	Supervivencia celular endotelial.....	41
7.5	Agudeza visual	45
7.5.1	Agudeza visual de la cohorte completa	45
7.5.2	Agudeza visual de la cohorte de alto potencial visual	48
7.6	Índices de evaluación refractiva	51
7.7	Disminución de paquimetría.....	54
7.8	Complicaciones postoperatorias	59
7.9	Gasto relativo de tejido donante	62
8.	Discusión.....	65
8.1	Demografía de pacientes	65
8.1.1	Características de pacientes.....	65
8.1.2	Características de los ojos receptores.....	65
8.2	Características de las córneas donantes	72
8.3	Porcentaje de éxito.....	75
8.4	Supervivencia celular endotelial.....	76
8.5	Agudeza visual	79
8.6	Índices de evaluación refractiva	80

8.7	Complicaciones intra y postoperatorias.....	81
8.8	Gasto relativo de tejido donante	83
8.9	Abordaje general del problema.....	83
9.	Futuros proyectos	86
10.	Conclusiones.....	87
11.	Referencias	88
12.	Financiación	93
13.	Divulgación científica.....	94
13.1	Artículos científicos relacionados con el estudio en los que se ha participado.....	94
13.2	Capítulos en libro relacionados con el estudio en los que se ha participado.....	95
13.3	Comunicaciones en congreso relacionadas con el estudio en los que se ha participado como primer autor	95
14.	Anexos.....	96
14.1	Protocolos de banco de tejidos, cirugía y postoperatorio	96
14.1.1	Procedimientos Operativos Estandarizados (POEs) en extracción de tejido ocular	97
14.1.1.1	Identificación del donante potencial de tejidos.....	98
14.1.1.2	Criterios de selección y evaluación del donante de tejidos	98
14.1.1.3	Realización de los tests de laboratorio requeridos para la evaluación y selección	99
14.1.1.4	Normas de actuación en la petición de tejidos a la familia del donante. ..	100
14.1.1.5	Recogida de datos del donante.....	100
14.1.1.6	Técnicas quirúrgicas de extracción de globo ocular.	102
14.1.1.7	Preparación, conservación, envasado, etiquetado y transporte de tejidos	105
14.1.1.8	Normas de actuación con su banco de tejidos.	106
14.1.1.9	Funciones del Coordinador y de los distintos agentes que intervienen en el proceso de extracción de tejidos.....	106
14.1.1.10	Inventario unidad móvil.....	108

14.1.2 Procedimientos Operativos Estandarizados (POEs) en procesamiento de tejido ocular	110
14.1.2.1 Descontaminación del globo ocular.....	111
14.1.2.2 Tallado globo ocular	112
14.1.2.3 Evaluación de anillo córneo – escleral	113
14.1.2.4 Asignación a tipo de injerto.....	113
14.1.2.5 Preparación de DMEK + estroma.....	114
14.1.2.6 Paso a medio de cultivo a medio de transporte.....	115
14.1.2.7 Asignación final a centro implantador.....	116
14.1.2.8 Empaquetado del injerto.	117
14.1.2.9 Facturación a centro implantador.	118
14.1.2.10 Seguimiento de eventos adversos	119
14.1.2.11 Control de Calidad	120
14.1.3 Protocolo cirugía DMEK.....	121
14.1.4 Protocolo lavado rollo DMEK.....	123
14.1.5 Protocolo rebubbling DMEK.....	124
14.1.6 DMEK Postoperado	125
14.1.7 Protocolo de seguimiento de DMEK	126
14.2 Índice de abreviaturas.....	127

1. Pregunta de Investigación

1.1 Enunciado

La presente Tesis Doctoral se plantea como consecuencia de un problema clínico que sucede con cierta frecuencia en el campo de la oftalmología. Cuando coinciden en un mismo paciente dos enfermedades de relativa frecuencia, distrofia de Fuchs y catarata, cuyas soluciones son exclusivamente quirúrgicas, ¿Cuál es la conducta que ofrece mejores resultados para el paciente?: Operación secuencial de ambas patologías o simultánea, trasplante de córnea y facoemulsificación de la catarata en el mismo acto quirúrgico. Esta cuestión ya antigua, se ve actualizada tras la aparición de las nuevas técnicas de trasplante endotelial.

Partiendo de un tejido donante homogéneo y siguiendo las nuevas técnicas de banco de tejidos oftálmicos, nos planteamos la siguiente pregunta:

En la distrofia endotelial de Fuchs de grado avanzado asociada a catarata. ¿Es posible, obtener los mismos resultados con la cirugía simultánea de catarata y trasplante DMEK que con la cirugía secuencial?

1.2 Motivación

La distrofia endotelial de Fuchs es una enfermedad degenerativa y progresiva que ocasiona una pérdida de agudeza visual progresiva y limitación severa para la vida laboral y diaria de los pacientes. Su único tratamiento es quirúrgico y necesita de un trasplante corneal en cada ojo. El trasplante clásico implica una cicatriz permanente y suturas que se mantienen a lo largo de muchos meses, con riesgo de infección, rechazo e inestabilidad de por vida.

Este proyecto sigue la línea de investigación clínica de nuestro grupo, tratando de unir nuestra experiencia en la cirugía del dioptrio ocular para alcanzar la emetropía, con la más moderna y revolucionaria técnica de trasplante corneal, la DMEK.

Nuestra pregunta de investigación va dirigida a esclarecer si se pueden unir los beneficios de ambos enfoques para conseguir una auténtica restauración anatómica y funcional del ojo enfermo. El requisito fundamental es que la unión de los dos esfuerzos no ponga en riesgo la factibilidad ni viabilidad a largo plazo del tejido implantado.

2. Introducción: Estado actual del tema

2.1 Distrofia endotelial de Fuchs

La distrofia de Fuchs se ha definido como “una enfermedad de herencia autosómica dominante con pérdida progresiva de agudeza visual secundaria a alteraciones histológicas a nivel del endotelio corneal”.(1)

Es la causa más frecuente de descompensación corneal tras cirugía de cataratas; y la indicación más frecuente de trasplante corneal endotelial. En un estudio reciente realizado en EE.UU., la indicación más frecuente para realizar una queratoplastia fue la endotelial con el 42,2% (siendo en este grupo 21,5% la distrofia de Fuchs y 12,2% la queratopatía bullosa pseudofáquica). El segundo lugar fue, por patología del estroma, para el queratocono con 10.1% y el tercero los trasplantes fallidos con 9,8% (2, 3). En otro estudio limitado a patología endotelial, las causas de disfunción endotelial más frecuentes resultaron en orden de importancia: la distrofia de Fuchs, la queratopatía bullosa (pseudofáquica o afáquica en función del resultado de la cirugía previa de catarata), la distrofia polimorfa posterior, la distrofia endotelial congénita hereditaria (CHED), el síndrome irido-corneal y finalmente las queratoplastias penetrantes agotadas (4, 5).

La herencia de la distrofia de Fuchs es autosómica dominante o esporádica. Es más frecuente en mujeres entre la quinta y sexta década de la vida. Anatómicamente la enfermedad se caracteriza por el depósito progresivo de láminas de colágeno alteradas sobre la membrana de Descemet provocando acúmulos llamados *guttas* que provocan la dispersión de la luz y la disminución progresiva de la población de células endoteliales. La evolución es lenta a lo largo de varios años, pero cuando avanza y la capacidad de bombeo del endotelio se vuelve insuficiente, aparece el edema corneal. Clínicamente se mide por el aumento de la paquimetría (grosor) corneal central y la molestia visual matutina. En etapas más avanzadas aparece un edema continuo que condiciona la visión borrosa y pérdida de sensibilidad al contraste.

La agudeza visual medida con optotipos estándar de alto contraste es una medida para evaluar el avance de la enfermedad pero no refleja la discapacidad de los pacientes en cuanto a pérdida de sensibilidad al contraste y la intensidad de los colores. De esta manera,

una afectación moderada puede permitir a un paciente una visión teórica del 90% de la letras proyectadas en una pared a 5 metros (0,9) pero impedirle percibir los matices de una imagen o conducir un vehículo durante toda la mañana.

El aspecto morfológico de las células endoteliales a través de la microscopía especular es de células agrandadas, polimórficas y adelgazadas alrededor de las guttas. La periferia corneal se puede mantener asintomática durante las fases iniciales de la enfermedad. La microscopía electrónica revela un engrosamiento de la membrana de Descemet de 2 a 4 veces su grosor normal. Las células endoteliales pueden llegar a diferenciarse a morfología fibroblástica o entrar en apoptosis (6).

Según avanza la enfermedad, la disfunción del endotelio corneal conlleva clínicamente la aparición el edema persistente provoca la aparición de bullas subepiteliales y finalmente fibrosis del estroma. La fase final de la enfermedad es la aparición de bullas epiteliales dolorosas, fibrosis subepitelial y eventualmente vascularización estromal. Entonces, la pérdida de transparencia corneal secundaria a este proceso, puede llevar incluso a la ceguera. Las úlceras epiteliales persistentes suelen llevar a infecciones secundarias y comprometer la integridad del ojo.

Dado que es la causa más frecuente de disfunción endotelial en la población adulta, se ha convertido en el patrón según el cual se desarrolla el enfoque terapéutico para el edema de córnea. Hasta bien entrado el S.XX no había tratamiento eficaz, pero la llegada de la queratoplastia penetrante en la década de 1950 trajo el primer tratamiento que podía devolver la funcionalidad a la córnea enferma.

Con el trasplante de córnea se podía devolver la vista a los pacientes y conseguir una visión funcional a partir del año de la intervención. Sin embargo, la queratoplastia penetrante condicionaba la debilidad del ojo trasplantado por la existencia de una cicatriz de espesor completo. Además, la presencia de puntos de sutura durante meses determinaba el riesgo de infecciones secundarias, rechazo por reacción a cuerpo extraño y un astigmatismo residual difícil de manejar. El riesgo de glaucoma asociado también podía afectar al nervio óptico y limitar severamente el campo visual del paciente.

2.2 Evolución de la queratoplastia endotelial

A partir de 1996, a llegada de la queratoplastia endotelial cambió radicalmente el manejo de la enfermedad. En vez de sustituir todo el espesor de la córnea por un injerto completo, por primera vez se pudo sustituir solamente la parte posterior de la córnea del paciente y evitar la cicatriz y los puntos de sutura. Los esfuerzos se dirigieron a partir de entonces a la restauración anatómica y selectiva de la cara posterior de la córnea (7). En los próximos párrafos se detallarán estos esfuerzos. Dada la complejidad de la nomenclatura, se incluye un diagrama explicativo (figura 1).

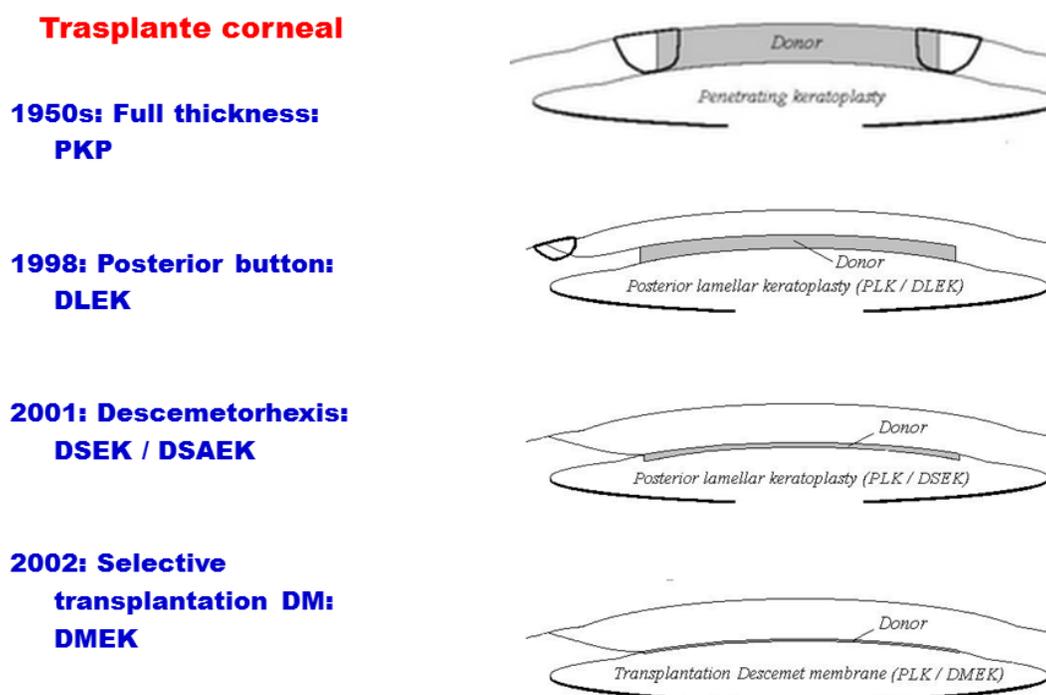


Figura 1. Diagramas detallando la evolución de la técnica. Cortesía NIIOS, Rotterdam, Holanda.

Melles desarrolló inicialmente el concepto de PLK (posterior lamellar keratoplasty) (8), basándose en los estudios de Tillet (9). Más tarde el concepto fue trasladado por Terry a América y renombrado como DLEK (deep lamellar endotelial keratoplasty) en 2001 (10). La PLK/DLEK Era una cirugía muy laboriosa con un acceso

amplio de 9mm con disección manual del estroma posterior con tijera. Los primeros resultados producían una limitación en la visión máxima por la interfase entre los estromas, pero demostró la viabilidad endotelial a largo plazo de esta técnica con acceso posterior. (11). En el año 2000 Terry mejora la técnica reduciendo a 5 mm la incisión necesaria para introducir el injerto donante y la denomina “small incision DLEK” (12).

Más tarde, Melles avanzó en el enfoque posterior mejorando la disección posterior del receptor con un pelado selectivo del complejo endotelio-membrana de Descemet, maniobrando bajo aire y sin viscoelástico. Dicho proceso lo estandarizó en 2004 y lo denominó descemetorrexix (13). Al dejar la cara posterior del estroma al descubierto desde dentro del ojo, se podía introducir después un injerto doblado en forma de “taco”, desplegarlo sobre el estroma desnudo y fijarlo con aire sin necesidad de suturas.

Un año más tarde Price popularizó esta técnica en América como DSEK (Descemet stripping endotelial keratoplasty) (14). Posteriormente, Gorovoy aplicó el microqueratomo automatizado para preparar el donante y dió a conocer la técnica como DSAEK (Descemet stripping automated endotelial keratoplasty), que rápidamente se convirtió en la técnica de elección para el tratamiento de la distrofia endotelial (15-18). La facilidad de automatizar la producción de lamelas precortadas de estroma posterior con endotelio en los bancos de ojos facilitó enormemente la difusión de la técnica. Según los datos de la Eye Bank Association of America (EBAA), en 2007 el 85% de los trasplantes por causa endotelial ya se habían hecho mediante la técnica de DSEK/DSAEK.

2.3 Aparición de la DMEK

A pesar de que la nueva técnica permitía hacer los trasplantes sin necesidad de suturas ni de incisiones de espesor completo en el estroma corneal, la agudeza visual no siempre era óptima. Tras estudiar los factores que favorecían el desprendimiento del injerto y de las causas de pobre agudeza visual, se descubrió que el grosor de estroma de la lamela donante estaba relacionado con la agudeza visual final (19). El problema se agravaba si existía fibrosis en la interfase entre las dos capas de estroma. Por ello, en 2006 Melles describe el modo de realizar una extracción selectiva del complejo membrana de Descemet

– endotelio donante sin dejar endotelio residual. Se observó que la lámina obtenida tenía la tendencia a enrollarse con el endotelio hacia a fuera. Una vez preservado y cultivado en el banco de ojos, ese injerto en forma de rollo podía insertarse en el ojo receptor a través de una incisión mínima de 2,7 mm para desplegarlo y fijarlo al estroma desnudo con una burbuja de aire. Se había conseguido la auténtica restauración anatómica de la córnea. Había nacido la DMEK (Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty).

2.4 Cambio de tendencia

La sustitución progresiva de la queratoplastia penetrante por DSAEK como técnica de elección para la distrofia endotelial se observa desde 2012 cuando la queratoplastia endotelial sobrepasó a la penetrante pasando a ser el trasplante ocular más realizado en EE.UU. De hecho, de 2004 a 2014 la queratoplastia penetrante había disminuido del 95% al 42% y las técnicas DSAEK/DMEK aumentado del 5% al 58% (20). De 2012 a 2014, la DMEK experimentó un aumento en número del 283%, llegando entonces a constituir el 11% de las queratoplastias endoteliales.(2) Desde entonces, la tendencia ha continuado, duplicando cada año el porcentaje observado.

Paralelamente a la popularización de la DMEK, el refinamiento de los microqueratomos automatizados con control de presión y velocidad de corte ha llevado a obtener injertos con una lamela de estroma inferior a 150 micrometros de grosor, que se han denominado “ultra-thin”. Estos injertos están llamados a refinar la DSAEK y en los próximos años se verá si son capaces de obtener resultados visuales que puedan equipararse a los obtenidos con DMEK (21).

A pesar de que la DMEK nació cuando ya la DSAEK estaba aceptada como la técnica de elección, cada vez más cirujanos han evolucionado a ella en los últimos años. La razón tiene que ver con la calidad de visión que se puede alcanzar con cada una de estas dos técnicas. En los estudios pivotaes iniciales, la DMEK demostró poder alcanzar unas agudezas visuales de 1.0, que rara vez era posible alcanzar con DASEK. Estos excelentes resultados se atribuyen a la ausencia de estroma donante. Al restaurar anatómicamente la córnea, ésta puede alcanzar su máxima agudeza visual.

2.5 El problema de la catarata asociada a disfunción endotelial

La prevalencia de las guttas extensas, patognomónicas de la distrofia de Fuchs se ha estimado en el 7% de los hombres y el 10% de la mujeres mayores de 55 años de Islandia (22). La prevalencia fuera de Europa, es ligeramente menor. En Estados Unidos se ha estimado en un 3,9% (23). En nuestro medio no hay estudios poblacionales, pero por la composición de nuestra población, la prevalencia puede estimarse entre ambas cifras. Teniendo en cuenta que la prevalencia de catarata con disminución asociada de visión va en aumento en las edades medias y tardías de la vida, la coexistencia de catarata en pacientes con distrofia de Fuchs es muy frecuente.

Desde la década de 1960 el tratamiento quirúrgico de la enfermedad asociada a la catarata fue el trasplante penetrante corneal y la extracción diferida de la catarata meses después. A partir de 1976 Taylor plantea el triple procedimiento simultáneo de trasplante corneal, extracción de la catarata e implante de lente intraocular (24, 25). Aunque con esta estrategia se podía realizar el procedimiento en un solo paso y proporcionaba buenos resultados anatómicos, la rehabilitación visual seguía siendo lenta por la presencia de suturas y una cicatriz completa en el espesor de la córnea (26).

En 2007 se plantea el “Nuevo triple procedimiento” que consistía en extracción de catarata, implante de lente intraocular y trasplante DSAEK (27, 28). Se descubrió que la presencia de viscoelástico residual utilizado sistemáticamente para proteger el endotelio durante la cirugía de la catarata, podía favorecer el desprendimiento del injerto. Se desarrollaron entonces estrategias para prevenirlo como las incisiones de ventilación, masaje externo de la córnea e incluso la sutura del injerto (29).

Desde sus inicios en 2006, la DMEK ha demostrado ser la técnica avanzada de trasplante endotelial con mejores resultados visuales y evita las complicaciones estructurales de la córnea, glaucoma, rechazo, limitación de agudeza visual y demora en la rehabilitación visual del trasplante penetrante (19, 21, 30). Sin embargo, las reintervenciones para facilitar la adhesión del injerto a estroma son más frecuentes que en DSAEK y la pérdida de densidad celular endotelial parece algo más acelerada en los primeros meses (18). Por los mejores resultados visuales, la DMEK sería teóricamente la técnica de elección para combinar con la cirugía de catarata, bien de manera diferida o

simultánea. Si bien la cirugía simultánea podría acelerar teóricamente la rehabilitación visual, la cirugía secuencial es la estrategia más conservadora y la más estudiada.

Por otro lado, la cirugía secuencial puede provocar una descompensación de la córnea que provoque un edema corneal severo a las pocas semanas de la facoemulsificación. Dicho edema puede dificultar una segunda intervención y empeorar los resultados, al deteriorarse el estado de la córnea. Debido a la escasez de tejido donante, no es posible prever el intervalo de tiempo hasta que se realiza el DMEK.

En la fecha de inicio del presente estudio en 2011 no había datos sobre cuál podría ser la mejor estrategia. Por la experiencia con el “nuevo triple procedimiento” con DSAEK había indicios de que el triple procedimiento era factible, pero las publicaciones de DMEK se habían hecho sobre casos operados de catarata previamente. Ya a partir de 2012 Price y Kruse aportan los primeros datos de series de casos en las que abordan el triple procedimiento simultáneo utilizando DMEK con buenos resultados en cuanto a seguridad y efectividad (31, 32).

3. Justificación

Desde sus inicios en 2006, la técnica de trasplante DMEK ha demostrado ser la técnica avanzada de trasplante endotelial con mejores resultados visuales para la distrofia de Fuchs y que evita además las complicaciones asociadas al trasplante penetrante usado hasta ahora en nuestro medio: Debilidad estructural asociada a la incisión perforante en la córnea, glaucoma, rechazo, limitación de agudeza visual y demora en la rehabilitación visual de (19, 21, 30).

Existe mucha variabilidad en la literatura científica en cuanto al método de obtención del tejido donante: en fresco, en crio-preservación a 4°C y en medio de cultivo de órganos a 31°C. Se sabe que los resultados del trasplante son variables en función del método de obtención del injerto. Hasta ahora, los mejores resultados visuales y de supervivencia se han obtenido con cultivo a 31°C (33).

En la comunidad científica existe discusión y preocupación sobre si es seguro abordar la cirugía de catarata y el trasplante DMEK de manera secuencial o simultánea. Las series retrospectivas de casos hasta ahora publicadas, que utilizan tejido endotelial de diversas fuentes a 4°C, no han encontrado diferencias entre la cirugía secuencial o simultánea (31, 32). Las series prospectivas de casos que parten de una fuente única de donantes de máxima calidad a 31°C, abogan por realizar solamente la cirugía secuencial (30, 33).

En la actualidad no existen establecimientos de tejidos en nuestro medio que dispongan capacidad para producir injertos endoteliales de alta calidad y de manera estandarizada para DMEK. Por ello, a partir de 2011 se establece una colaboración entre el Instituto Oftalmológico Fernández-Vega, la Fundación de Investigación Oftalmológica y el Centro Comunitario de Sangre y Tejidos de Asturias para adaptar todos los procesos desde la donación de las córneas hasta su implante como injertos endoteliales de máxima calidad cultivados a 31°C y precortados para DMEK a 31°C. Simultáneamente se inicia un estudio clínico observacional para comparar la supervivencia del injerto y la agudeza visual conseguida entre los procedimientos de facoemulsificación de catarata y DMEK secuenciales y aquellos en los que se realizan los procedimientos de manera simultánea.

4. Hipótesis

Partiendo un tejido donante homogéneo y de máxima calidad a 31°C, preparado y pre-cortado en sala blanca, cultivado a 31°C un mínimo de 7 días y garantizando una facoemulsificación de catarata reglada y sin complicaciones; en la distrofia endotelial de Fuchs severa con catarata, la cirugía simultánea de catarata y trasplante DMEK es igual de eficaz y segura que la cirugía secuencial.

5. Objetivos

5.1 Objetivo principal

Demostrar que el resultado con cirugía simultánea es al menos tan eficaz y con un perfil de seguridad similar a la cirugía secuencial.

5.2 Objetivos específicos

Para alcanzar este objetivo principal se establecerá previamente un procedimiento sistemático para llevar a cabo todo el proceso desde la donación del tejido hasta su implante. Se organizará la producción de injertos endoteliales cultivados a 31°C en condiciones estériles de sala blanca, la técnica quirúrgica, y el manejo postoperatorio. Una vez estandarizadas la producción y la cirugía, se medirán los parámetros que describen el éxito, la supervivencia y resultado visual de los trasplantes en cada grupo:

- Porcentaje de éxito de cada procedimiento quirúrgico.
- Supervivencia celular endotelial.
- Agudeza visual corregida a 6 meses de la cohorte completa.
- Agudeza visual corregida a 6 meses de la cohorte de alto potencial visual.
- Índices de evaluación como procedimiento refractivo.
- Evolución paquimétrica corneal.
- Complicaciones intraoperatorias.
- Gasto relativo de tejido donante.

6. Pacientes, material y método

6.1 Diseño del estudio

Estudio clínico analítico, observacional, longitudinal, retrospectivo y no aleatorizado de no inferioridad de casos sobre controles. Se compara el porcentaje de éxito del trasplante y la supervivencia endotelial de las células implantadas en trasplantes tipo DMEK, cuando se realiza la cirugía asociada de catarata de manera simultánea (casos) o diferida (controles). Además se estudian los resultados visuales a 6 y 12 meses tras el trasplante en ambos grupos. Se incluye seguimiento de hasta 24 meses en casos que lo han alcanzado.

El grupo control es el de la cirugía secuencial, ya que es la práctica habitual en los grupos que realizan DMEK. En adelante se denominará grupo “DMEK”.

El grupo de casos a estudio es el de la cirugía simultánea. En adelante se denominará grupo “FACODMEK”.

6.1.1 Variable principal

- El objeto del estudio es valorar el porcentaje de éxito del trasplante en cada grupo (DMEK y FACODMEK) a los tres meses.

6.1.2 Variables secundarias

Las variables secundarias ayudan a caracterizar los resultados visuales de las cirugías, la efectividad global y la velocidad de rehabilitación visual:

- Porcentaje de pérdida de densidad endotelial a seis meses. (Se complementa con el valor absoluto de densidad residual en células/mm²)
- La agudeza visual corregida a los seis meses, expresada en notación decimal.
- El número de retrasplantes necesarios para resolver el caso.
- El número de reinyecciones de aire (*rebubbling*) utilizados en el postoperatorio para favorecer la adhesión del injerto.

- Se documentan además todas las incidencias y complicaciones perioperatorias que puedan ocurrir.

El tiempo de seguimiento de ambos grupos es de un año, por lo que se facilitan datos en dos puntos temporales: 6 y 12 meses. Se acepta que el punto temporal más importante en el seguimiento de un trasplante endotelial es el sexto mes, cuando el injerto está completamente adherido, la córnea transparente y la refracción estable. En ese momento se alcanza la máxima agudeza visual (30). A largo plazo, la pérdida de densidad celular se va ralentizando tras los primeros seis meses llegando al 40-60% al año. Hay evidencias del injerto más longevo a 10 años con un 70% aproximado de pérdida y densidad suficiente de para mantener la claridad corneal.(34)

6.2 Pacientes

A partir de un grupo inicial de 100 ojos de 63 pacientes consecutivos con distrofia endotelial en los que se realizaron trasplantes endoteliales de membrana de Descemet, se analizaron los casos que habían sido operados con cirugía de facoemulsificación de catarata y trasplante DMEK, atendiendo a si fueron simultáneos o diferidos. Los donantes fueron preparados por un solo cirujano (MN) y las cirugías se realizaron también por un único equipo quirúrgico (JA+MN).

Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado para que sus datos clínicos fuesen registrados en el archivo institucional y que pudieran ser usados después para investigación clínica.

Criterios de inclusión

- Distrofia corneal endotelial de Fuchs intervenida por primera vez de trasplante DMEK.
- Estadío clínico moderado-severo con afectación visual
- Catarata significativa.

- Ausencia de intervenciones corneales previas.
- Seguimiento mínimo completo de 12 meses.
- Injerto DMEK preparado en sala blanca en condiciones estériles con un mínimo de 2500 células/mm² y conservado en medio de cultivo de órganos a 31°C

Criterios de exclusión

- Re operaciones de trasplantes endoteliales fallidos previos
- Distrofia corneal endotelial bullosa pseudofáquica, afáquica, Síndrome irido-corneal-endotelial, CHED.
- Distrofia de Fuchs precoz ya intervenida de DMEK con cristalino transparente.

Tras el cribado, que se hizo exclusivamente por la indicación de distrofia de Fuchs, se obtuvieron dos grupos homogéneos de 44 y 36 pacientes en los que las cirugías se habían hecho de manera simultánea (FACODMEK) o diferida (DMEK), con datos de supervivencia celular disponibles al menos a un año (en adelante la “cohorte completa”). Para el análisis de agudeza visual máxima se hizo además una selección de casos con alto potencial visual, que fueran casos de primera cirugía, y que su seguimiento alcanzase los 12 meses como mínimo. En esta selección se obtuvieron 2 grupos homogéneos de 20 pacientes cada uno (en adelante la “cohorte de alto potencial visual”)

Se definió como injerto fallido a aquel que no es capaz de aclarar la córnea tras tres meses. El fallo primario o “biológico” del injerto es aquel que se mantiene adherido pero que nunca llega a aclarar en 3 meses. El fallo secundario del injerto está relacionado con traumatismo quirúrgico, complicaciones médicas perioperatorias y se suele manifestar como desprendimiento completo precoz y densidad endotelial muy reducida al mes.

6.3 Material

6.3.1 Transformación del establecimiento de tejidos para poder producir injertos endoteliales para DMEK

La necesidad de disponer de injertos de endotelio adecuados para DMEK obligan a disponer de una logística y procesos específicos. Dado que nuestro estudio aspira a obtener el injerto en las mejores condiciones de seguridad y viabilidad posibles, hubo que adaptar los equipos y procesos del establecimiento de tejidos para la producción de injertos endoteliales precortados de antemano.

Los nuevos criterios de selección de córneas para preparar injertos endoteliales fueron generales y específicos. Los generales son aquellos para donación general de tejidos: Donante de córnea viable y seguro, con serología negativa para lúes, hepatitis y VIH; sin causa de muerte que impidiese la donación. Los específicos son para que la córnea sea adecuada para convertirla en un injerto endotelial:

- Edad mayor de 40 años, para minimizar el riesgo de rotura periférica por adhesión excesiva del injerto al espolón escleral. Ésta situación es típica de donantes jóvenes.
- Densidad celular endotelial >2500 células/mm² en el contador automatizado,
- Ausencia de guttas y $<20\%$ de núcleos marcados con azul tripán en la evaluación bajo microscopio óptico.
- Se descartaron además aquellas córneas con daños en la membrana de Descemet que pudieran inducir rotura catastrófica durante la preparación.

Para poder preparar del endotelio aislado, cultivarlo a 31°C y envasarlo en condiciones estériles, se realizó un estudio de validación del proceso completo en 2012 con las 13 córneas iniciales de 11 donantes de $52,1 \pm 10,6$ años de edad. Se comprobó la correspondencia entre medidas de densidad celular endotelial realizadas con el contador automático Konan Eb-100 y el contaje manual sobre microscopía óptica con el método de la interpolación de 2 lados de un cuadrado de 100 micrómetros. El porcentaje de éxito de la preparación del endotelio aislado fue del 93%. El porcentaje de células perdido tras la preparación fue un $1,8 \pm 6,8\%$, (límite superior de una desviación estándar 8,6%). El tiempo

en cultivo fue $18,9 \pm 4,7$ días. No se observó ninguna contaminación bacteriológica o fúngica durante el estudio de validación.

Una vez validado el proceso, se mantuvo con el mismo protocolo durante los siguientes 5 años. (Los protocolos están detallados en el Anexo, capítulo 14). Entre 2012 y 2017 se procesaron 862 córneas en el establecimiento de tejidos; de ellas se eligieron como candidatas para DMEK un 18,1%. Todas las evaluaciones y preparaciones fueron realizadas por el mismo cirujano (MN). El porcentaje de éxito en la preparación de la córnea a endotelio aislado fue del 96,4%. El 3,6% de casos con roturas catastróficas se produjeron por adhesiones centrales de la membrana de Descemet al estroma. El tiempo de cultivo post-mortem hasta el implante fue de $20,5 \pm 6,2$ días.

En cuanto a la seguridad biológica: Un 1,9% de las córneas seleccionadas para DMEK tuvieron resultados positivos en la primera muestra bacteriológica a 4°C en Eusol, pero fueron negativos tras el paso a TissueC a 31°C. Todos los endotelios permanecieron en cuarentena durante 7 días tras la manipulación de la córnea en sala blanca. Ningún endotelio preparado tuvo que ser desechado por contaminación.

Hubo una leve diferencia en la edad de los donantes preparados para DMEK y los destinados a queratoplastia penetrante o DALK ($59,5 \pm 9,5$ frente a $58,2 \pm 11,5$ $p=0,46$) y en la densidad celular endotelial ($2532,2 \pm 403,9$ frente a $2831,4 \pm 252,5$ células /mm² $p=0,001$); siendo ambas mayores en el grupo de córneas destinadas a DMEK. Sin embargo, no hubo asociación entre la edad y la densidad celular endotelial en las seleccionadas para DMEK. Se demuestra que córneas de edad avanzada pueden tener una población celular endotelial adecuada para DMEK. Es decir, la edad avanzada no es un criterio para descartar la córnea. Ambas relaciones se muestran en la figura 2

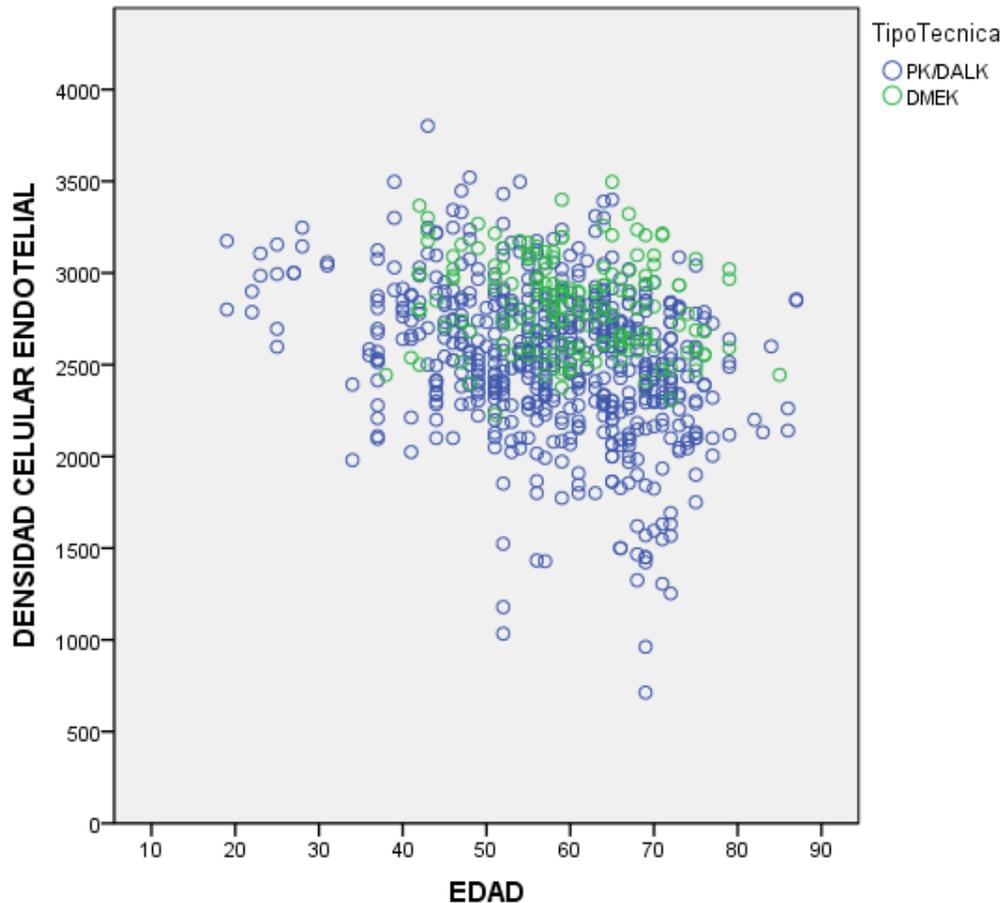


Figura 2 Diagrama de dispersión mostrando la densidad celular endotelial y la edad de las córneas donantes seleccionadas para DMEK o para queratoplastia penetrante o DALK. Nótese la falta de asociación de ambos parámetros en las córneas seleccionadas para DMEK.

Como subproducto de una separación completa del endotelio del estroma, se puede obtener un estroma que es válido para su implante posteriormente como trasplante lamelar de tipo DALK. En nuestro medio, es difícil poder programar un trasplante DALK en solo 36 horas desde la preparación del DMEK, disponiendo además de una córnea completa de reserva para utilizar en el caso de una perforación intraoperatoria del endotelio del receptor. Por ello, los estromas desnudos se sometieron a congelación en rampa de 1°C cada hora en

un medio de glicerol 10% albúmina 10% y DMEM 80%. Así se pueden conservar hasta 5 años, y solicitarlos cuando se dispone de un receptor adecuado y una córnea entera a 4°C de reserva. Durante el período de este estudio, se obtuvieron 37 estromas congelados a partir de las preparaciones de DMEK (figura 3).

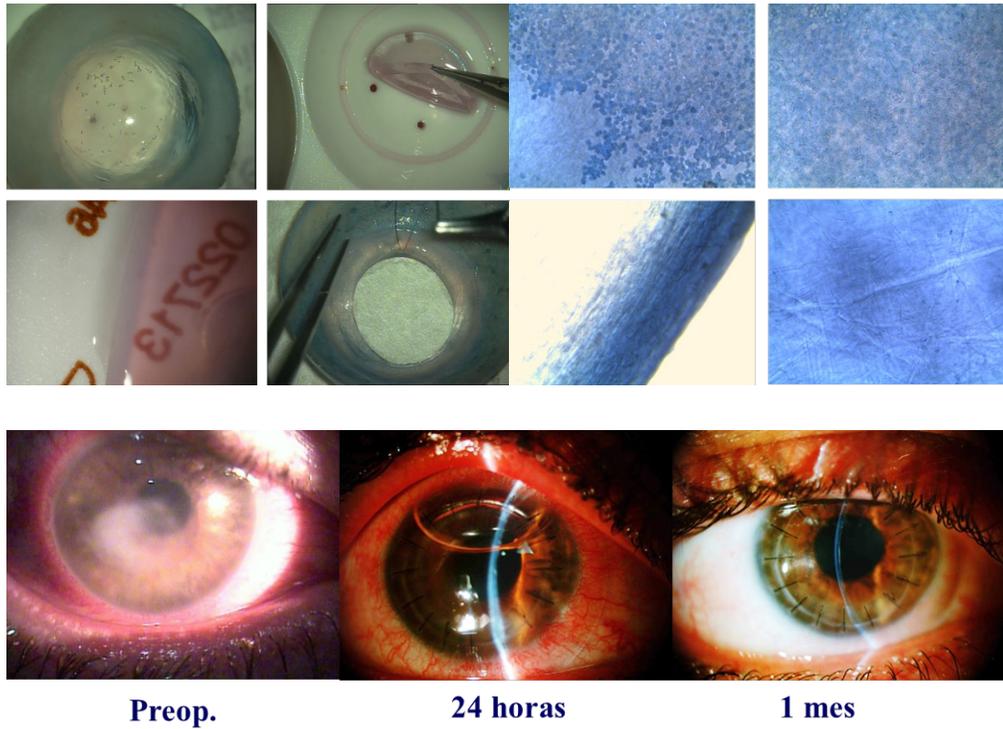


Figura 3. Microscopía de aumento de estroma congelado, epitelio y las fibras de estroma, e imagen de lámpara de hendidura del postoperatorio de un DALK.

6.3.2 Obtención y conservación del tejido donante

El proceso de obtención, preparación e implante de tejido endotelial de membrana de Descemet ha sido descrito en detalle por el equipo pionero de Melles. Para poder trasladar el proceso exactamente del Netherlands Institute for Innovative Ocular Surgery a nuestra institución, se realizó allí una estancia de 6 meses de aprendizaje (MN). El proceso se realizó de acuerdo con el sistema estandarizado para la técnica “no-touch” de obtención de tejido endotelial (35). A partir de globos oculares de donantes obtenidos <36 horas post-mortem y en refrigeración, se escindieron los botones córneo-esclerales y se almacenaron en medio de conservación a 4°C (Eusol; Alchimia, Padova, Italia) durante 2-3 días. La morfología y densidad de las células endoteliales fueron evaluadas mediante un contador de células automatizado (Konan eb-10, Irvine CA, EE.UU). La media de densidad celular endotelial fue $2821,92 \pm 257,8$ células / mm^2 . Los criterios para la pre-asignación a trasplante endotelial fueron: Edad mínima de 50 años, densidad endotelial mínima de 2500 células / mm^2 , ausencia de guttas u otra morfología anormal, y una membrana de Descemet intacta.

Si el tiempo de espera hasta la preparación superaba los 7 días, los injertos se transfirieron de Eusol 4°C (Eusol; Alchimia, Padova, Italia) a medio de cultivo de órganos en 31°C (TissueC; Alchimia, Padova, Italia). Una vez asignados a preparación de injertos tipo DMEK, los anillos córneo-esclerales fueron extraídos del medio de conservación y teñidos durante 30 segundos en azul tripan 0,006% (Vision Blue, DORC, Rotterdam, Países Bajos). Después se sumergieron en sucrosa hipotónica 1.4% (SR-S; Alchimia, Padova, Italia) y se fotografiaron bajo microscopio invertido con objetivo a 10x y ocular x10 aumentos. Se verificó la ausencia de pliegues faltos de celularidad, la ausencia de núcleos teñidos en más del 25% del campo central y la ausencia de roturas en la membrana de Descemet.

Diez días antes de la cirugía, los anillos córneo-esclerales fueron montados con el lado endotelial hacia arriba sobre un soporte para trepanación de donante tipo Barron equipado con una copa de succión bajo control microscópico y estrictas condiciones estériles en la sala blanca del banco de tejidos (figuras 4 y 5). Las membranas de Descemet fueron denudadas del estroma posterior mediante raspado y tracción suave con pinzas

Kellman-McPherson. Se realizaron tinciones adicionales de un minuto de solución de azul tripán, para facilitar la visualización de la membrana durante las maniobras. Finalmente, las membranas fueron transferidas a una lentilla de contacto (Proclear; Bausch & Lomb, Inc., Irvine, EE.UU). y trepanados a 8,75 mm con un trépano Barron (Katena, Nueva Jersey, EE.UU). Los rollos de Descemet-endotelio se transfirieron a continuación con una pipeta Pasteur de 250 μm (Modelo 612-2297, VWR, España), por su boca ancha, y se conservaron hasta la implantación en medio de cultivo de órganos en 31°C (TissueC; Alchimia, Padova, Italia). (Véanse figuras 4 y 5).



Figura 4. Microscopía óptica de la preparación del injerto endotelial

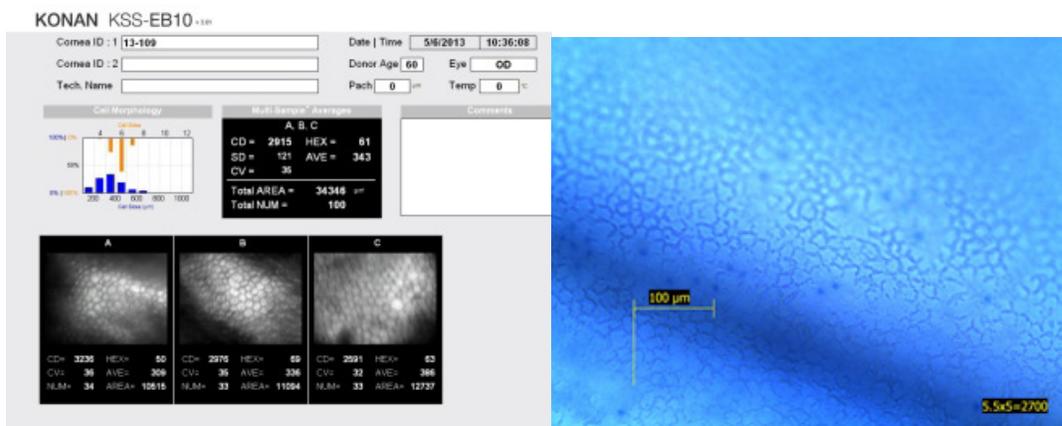


Figura 5. Microscopía óptica de la evaluación del injerto endotelial

Según los protocolos validados del banco de tejidos, se garantizó la esterilidad de los tejidos tras cada paso: Tallado del globo, paso a medio Eusol, paso a TissueC y preparación del rollo de Descemet. Se obtuvo una muestra de 10ml de medio de cultivo pasadas 48 horas tras cada manipulación. Esta muestra se sembró en placas de Agar-Sangre, Agar-Chocolate, Agar-Sabouraud y tubos automatizados de hemocultivo para descartar contaminación bacteriana aerobia, anaerobia o fúngica. En todos los casos, los resultados tras la última manipulación fueron negativos.

Los estromas desnudos restantes de la preparación fueron evaluados bajo microscopía directa para ser congelados en DMEM 80% albumina 10% y glicerol 10%. Los controles post manipulación se hicieron con una muestra de conjuntiva y estroma periférico. Fueron negativos en todos los casos. El estroma congelado se conserva hasta 5 años para utilizarse después como injerto en trasplantes tipo DALK urgentes por perforación o con indicaciones tectónicas no refractivas.

6.3.3 Técnica quirúrgica de facoemulsificación

En los ojos receptores, se realizó una incisión en córnea clara de 2,2 mm y se introdujo viscoelástico cohesivo (Provisc Plus, Alcon, EE.UU). para llenar la cámara anterior. La capsulorrexis circular continua de 4.8 mm de diámetro fue creada con un cistitomo preformado, y seguidas por hidrodisección, rotación y facoemulsificación del núcleo (Infinity Ozil, Alcon, EE.UU). Después, la incisión principal se amplió a 3,2 mm y un anillo de tensión capsular (Morcher GmbH., Stuttgart, Alemania) se implantó junto con una lente intraocular de cámara posterior (Acrysof SN60WF natural; Alcon, Fort Worth, EE.UU). Todos los rastros de material visco elástico fueron cuidadosamente aspirados y la incisión ampliada a 4 mm con un cuchillete oftálmico pre-calibrado. Como variante, a partir de mediados de 2012 se utilizó el láser de femtosegundo para asistir la capsulorrexis y la fragmentación del núcleo (LenSx; Alcon, Fort Worth, EE.UU).

6.3.4 Técnica quirúrgica de DMEK

En los ojos de cirugías diferidas, el DMEK se realizó al menos tres meses tras la facoemulsificación. En los ojos de cirugías simultáneas, inmediatamente después. La anestesia fue siempre peri bulbar con 10ml de solución de hialuronidasa, bupivacaína y lidocaína. Para reducir la presión vítrea, se aplicó un masaje ocular durante 3 minutos y se colocó al paciente ya sedado en posición de anti-Trendelemburg. En caso necesario se pasó una infusión de manitol intravenoso a lo largo de 30 minutos.

Para el DMEK, se hizo una marca epitelial de 9,0 mm para delinear el área de la escisión planeada de la membrana de Descemet. La cámara anterior se llenó con aire. Después marcar el endotelio receptor con un gancho Sinsky invertido, una parte circular de la membrana de Descemet fue desnuda del estroma posterior, de modo que una Descemetorhexis 9,0 mm de diámetro fue creada. Se realizó una iridotomía superior con pinza de vitrectomía, tijera de Vannas y aspiración del epitelio pigmentario de la raíz del iris hasta alcanzar tras iluminación. Los injertos fueron encapsulados en solución salina balanceada entre dos tapones de viscoelástico (Pro Visc Plus, Alcon, Fort Worth, EE.UU) dentro de un cartucho e inyector de lente implantable de colámero (Staar, Nidau, Suiza). Los rollos de membrana de Descemet se insertaron en la cámara anterior, se aspiraron los restos de viscoelástico y a continuación se orientó el lado endotelial hacia abajo mediante manipulación cuidadosa indirecta del tejido con aire y BSS. Una sutura de nylon 10/0 en forma de X se utilizó para sellar la incisión principal. Se introdujo una burbuja de aire dentro del injerto para extenderlo y luego se re-inyectó por debajo para adherirlo al estroma posterior receptor. La cámara anterior se llenó completamente con aire durante 60 minutos, seguido por el intercambio de aire-líquido para presurizar el ojo. Se dejó una burbuja de aire residual del 60% del volumen de la cámara anterior (figura 6).

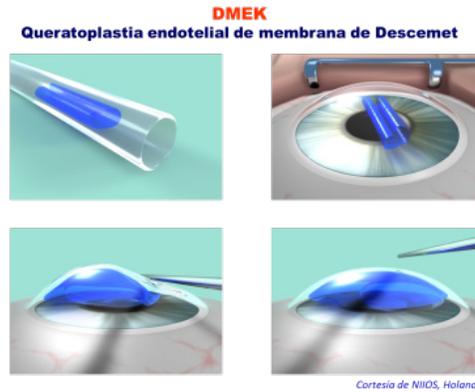
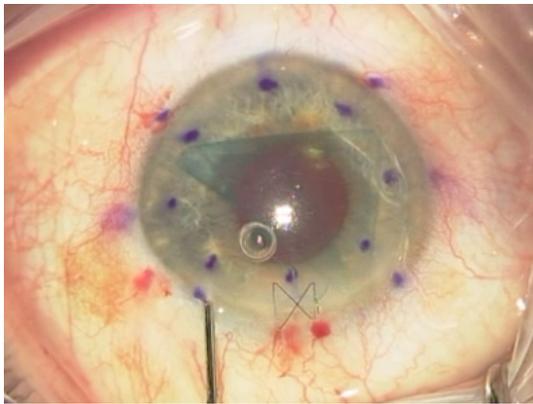


Figura 6. Captura de vídeo intraoperatorio de la cirugía de DMEK en el momento de desplegar el injerto. Diagrama mostrando los pasos de la cirugía.

6.3.5 Técnica quirúrgica de “rebubbling”

En los casos en los que se produjo un desprendimiento del injerto mayor de un tercio, y que se estimó por tomografía de coherencia óptica que no iban a adherirse espontáneamente, se realizó una reinyección de aire bajo anestesia peri bulbar y sedación. Se mantuvo la cámara anterior llena de aire durante 60 minutos y tras ese tiempo se hizo un intercambio de líquido-aire para dejar una burbuja del 60% del volumen de la cámara anterior. En casos de desprendimientos recidivantes se utilizó una mezcla no expansible de aire y SF6 al 10%.

6.3.6 Tratamiento postoperatorio

Para reducir el riesgo de rechazo, todos los pacientes se trataron con una pauta descendente de dexametasona 1% tópica en monodosis, 1 gota cuatro veces al día durante 4 semanas. Luego pasaron a fluorometolonona tópica 4 veces al día durante 3 meses, 3 veces al día durante 3 meses, 2 veces al día durante 3 meses, 1 vez al día hasta acabar el año; y cada 2 días después del año.

6.3.7 Seguimiento postoperatorio

Después de la operación, los pacientes fueron evaluados en 1 día, 1 semana, y 1, 3 y 6 y 12 meses tras de la cirugía. Los datos de agudeza visual corregida, microscopía especular endotelial (CSO s.r.l., Florencia, Italia), fotografías de lámpara de hendidura y tomografía de coherencia óptica de segmento anterior (Visante; Carl Zeiss Meditec, Henningsdorf, Alemania) se registraron en una base de datos Excel (Microsoft, Richmond, EE.UU). Véase ejemplo del seguimiento de un caso (figura 7).

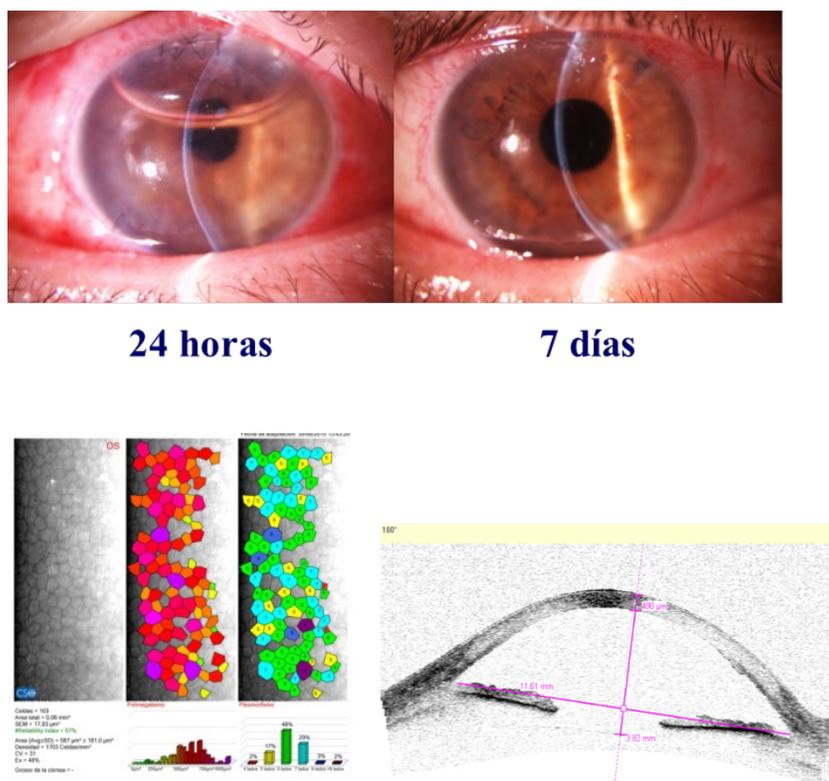


Figura 7. Imágenes de lámpara de hendidura, tomografía de coherencia óptica de segmento anterior y contaje endotelial automatizado de un caso a lo largo de su seguimiento.

6.4 Método

Análisis estadístico.

Basándose en el estudio piloto de los resultados de la DMEK sin catarata en nuestro centro ($n=15$) y los datos de literatura científica, se realizó un doble cálculo de n previo al inicio del estudio. El objeto fue buscar una potencia estadística suficiente para poder demostrar un exceso de pérdida celular a 6 meses de 500 células/ mm^2 o de un 15% entre grupos. La cifra de 500 corresponde a la densidad mínima considerada necesaria para que una córnea sea viable para que un trasplante penetrante se mantenga claro y transparente. La diferencia de un 15% de exceso sobre la pérdida celular de nuestro estudio piloto corresponde la mitad de la pérdida celular media de un DMEK a los 6 primeros meses en la literatura(36). De esta manera se podría detectar que el grupo de casos tuviera un exceso de pérdida celular a 6 meses que pusiera en riesgo la viabilidad del trasplante. Para establecer el porcentaje de casos en riesgo de descompensación a largo plazo se tomó el límite de densidades endoteliales inferiores a 500 células/ mm^2 . El límite es aproximado pero indicativo según los estudios a largo plazo de queratoplastias penetrantes (37, 38).

Los parámetros fueron alfa 0,05 potencia 0,8; dos colas, y las desviaciones conocidas del estudio piloto. El resultado fue de 15 y 11 casos necesarios respectivamente en cada grupo para dicha potencia estadística (figura 8).

The figure displays two screenshots of a Power/Sample Size Calculator. The left screenshot is titled "Power/Sample Size Calculator Inference for a Mean: Comparing a Mean to a Known Value". It shows the following inputs: mu0 (known value) = 60, mu1 (mean of the population to be sampled) = 75, sigma (standard deviation) = 17, alpha (default is .05) = .05, and desired power (default is .80) = .80. The result is "The sample size is: 11". The right screenshot is titled "Power/Sample Size Calculator Inference for Means: Comparing Two Independent Samples". It shows the following inputs: mu1 (mean of population 1) = 1000, mu2 (mean of population 2) = 500, sigma (common standard deviation) = 479.1, alpha (default is .05) = .05, and desired power (default is .80) = .80. The result is "The sample size (for each sample) is: 15".

Figura 8. Cálculo de n necesaria para el estudio. Tomado de <http://statistics.msi.meduniwien.ac.at/index.php?page=SSPC&sp=n1>

Los datos demográficos entre los dos grupos se compararon con tablas y test de Chi cuadrado, en n pequeñas con el test exacto de Fisher. Los datos comparativos del postoperatorio se analizaron mediante el test de test de Kosmogrov-Smirnov con corrección de Lillefors y al test de Shapiro-Wilk para normalidad. Los datos paramétricos se analizaron con T de Student y ajuste de Levene de dos colas y los no paramétricos con el test U Mann Whitney y test de Wilcoxon. En todos los casos se consideró estadísticamente significativa una $p < 0,05$.

Para analizar las agudezas visuales se trasformaron a LogMAR y se sometieron al test de Kosmogrov-Smirnov con corrección de Lillefors y al test de Shapiro-Wilk; dado que no seguían una distribución normal, se realizaron los contrastes de muestras mediante el test de U de Mann-Whitney. Los datos pareados de AV antes y después, mediante los correspondientes no paramétricos a datos pareados.

Para evaluar los resultados visuales en la práctica clínica real, se incluyeron todos los casos de bajo potencial visual y aquellos que habían sido re intervenidos. Para evaluar los resultados visuales máximos se excluyeron todos los casos de bajo potencial visual y aquellos que habían sido re intervenidos. Se exigió un seguimiento mínimo documentado de un año.

El paquete informático utilizado para el análisis estadístico fue SPSS 17.0 (IBM, Nueva York, EE.UU). .

7. Resultados

7.1 Demografía de pacientes

Se estudió una cohorte de 80 ojos con distrofia de Fuchs intervenidos con DMEK (44) o FACODMEK (36) a lo largo de seis años (2012-2017). Se utilizó el grupo completo de DMEK y FACODMEK para los análisis de éxito de la cirugía, supervivencia de células endoteliales y agudeza visual global. Después, se excluyeron los casos de bajo potencial visual y aquellos que no superaron los 12 meses de seguimiento para el análisis refractivo. En adelante se referirá a ellos como “cohorte completa” y “cohorte de alto potencial visual”

7.1.1 Cohorte completa

La edad media de los pacientes afectados de distrofia endotelial de Fuchs fue superior en el grupo secuencial DMEK, mientras que el grupo de cirugía simultánea FACODMEK fue inferior. Por otro lado, la diferencia en el sexo en ambos grupos fue estadísticamente significativa, con un claro predominio de mujeres en ambos grupos, pero especialmente en el grupo DMEK. Todos los pacientes fueron de raza caucásica. La paquimetría inicial fue más alta en el grupo DMEK pero sin diferencia significativa (tabla 7.1 y figura 9).

La comorbilidad previa al trasplante fue principalmente a expensas de patología retiniana. En el grupo DMEK se identificó un caso con edema macular diabético y en el grupo FACODMEK se identificó un caso de membrana epirretiniana grado II de Gass y una trombosis antigua de rama en otro caso. Estos tres casos fueron incluidos en el análisis de supervivencia, éxito y re intervenciones; pero se excluyeron del análisis de agudeza visual por su bajo potencial visual. Dos casos del grupo control tenían un glaucoma severo, controlado con fármacos, previo al trasplante. En cuanto al estadio clínico, más del 80% de los casos se encontraron entre el estadio II y III en ambos grupos, siendo los estadios extremos I y IV infrecuentes.

Tabla 7.1. Características de los receptores en la cohorte completa

	Grupo DMEK (n=44)	Grupo FACODMEK (n=36)	Valor p
Edad media (años)	72,1±89,9	63,3±6,3	0,0001
Sexo	79,5% mujeres	52,8% mujeres	0,011
Raza	100% caucásicos	100% caucásicos	1
Causa	100% Fuchs	100% Fuchs	1
Paquimetría inicial	679,3±97,7	620,9±140,2	0,09
Comorbilidad	1 EMD, 2 glaucoma	1 MEPR, 1 TRV	
Bajo potencial visual	9,1%	5,6%	0,55
Estadío clínico	I 13,6% II 31,8% III 50% IV 4,5%	I 8,0% II 48,0% III 44,0% IV 0%	0,506

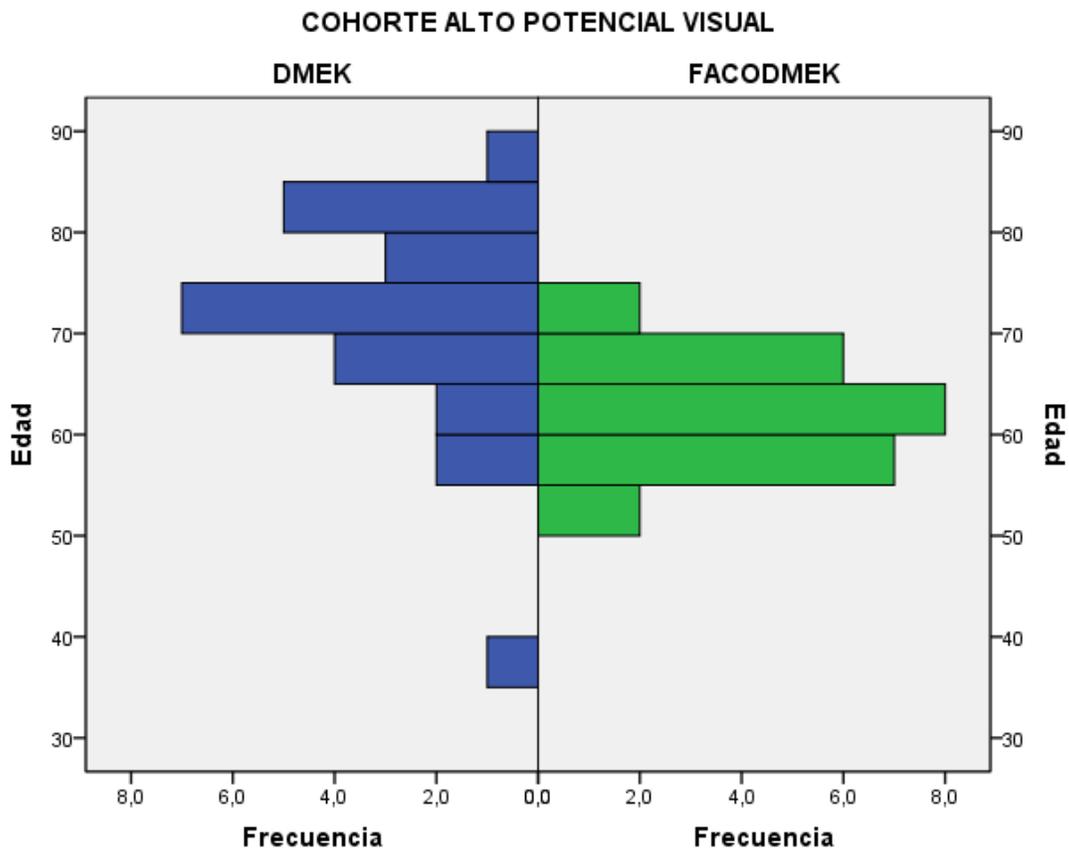


Figura 9. Histogramas de la edad de todos los pacientes receptores incluyendo bajo potencial visual; divididos por grupos.

7.1.2 Cohorte de alto potencial visual

Al analizar el grupo de alto potencial visual, se observó que la edad media de los pacientes era también superior en el grupo DMEK pero no con una diferencia significativa. El predominio de mujeres se mantuvo en el grupo DMEK pero en el FACODMEK, predominaron escasamente los hombres de manera significativa. La paquimetría fue significativamente mayor en el grupo DMEK así como la profundidad de cámara. En cuanto al estadio clínico (de I a IV), en ambos grupos más del 80% se encontraban entre el II y III, siendo los estadios extremos I y IV infrecuentes. (tabla 7.2 y figura 10).

Tabla 7.2. Características de los receptores en la cohorte de alto potencial visual

	Grupo DMEK (n=25)	Grupo FACODMEK (n=25)	Valor p
Edad media (años)	71,1±9,8	62,4±5,4	0,001
Sexo	80% mujeres	44,0% mujeres	0,09
Raza	100% caucásicos	100% caucásicos	1
Causa	100% Fuchs	100% Fuchs	1
Paquimetría inicial	679,3±97,7	620,9±140,2	0,062
Profundidad de cámara anterior (mm)	3,3±2,24	2,5±0,37	0,001
Estadio clínico	I 14,3% II 33,3% III 47,6% IV 4,8%	I 8,3% II 50,0% III 41,7% IV 0%	0,508

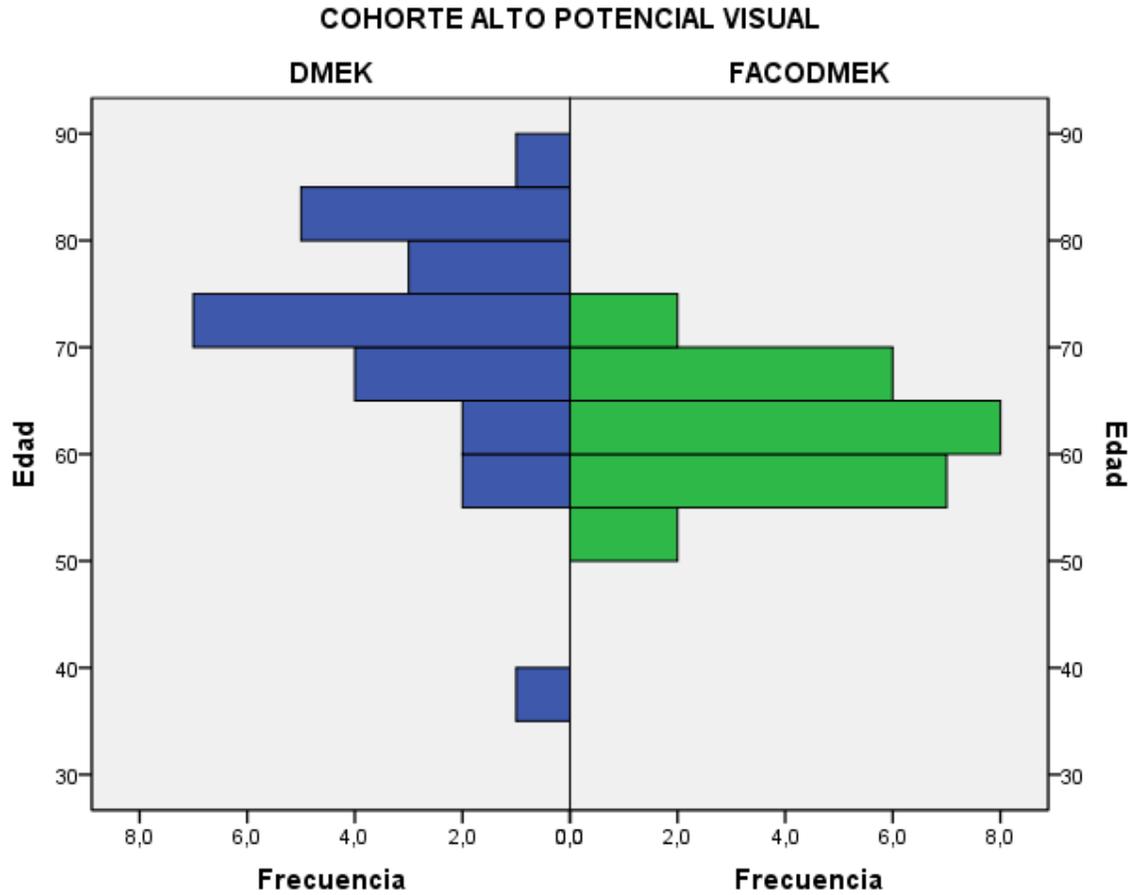


Figura 10. Histogramas de la edad de los pacientes receptores con alto potencial visual; divididos por grupos.

7.2 Características de los endotelios.

Los endotelios donantes fueron preparados de la misma manera ya descrita e implantados aproximadamente 7 días después (rango entre 6 a 20 días). La edad media del donante fue de $60,4 \pm 9,6$ y $60,3 \pm 9,6$ años. Por debajo de 40 años la preparación tiende a evitarse por la dificultad técnica de despegar las fuertes adhesiones periféricas sin rasgar la membrana de Descemet. No hubo diferencias significativas entre grupos ($p=0,851$)

En cuanto a la densidad endotelial previa a la preparación del injerto, las densidades medias fueron de $2791,7 \pm 258,7$ y $2823,9 \pm 266,6$ células/mm² respectivamente en cada grupo. La densidad mínima para preparar un injerto endotelial para DMEK es de 2500 células/mm² porque se anticipa una pérdida celular significativa a lo largo de los meses del postoperatorio. No hubo diferencias significativas entre grupos ($p=0,593$). Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos en edad ni en densidad endotelial del donante (tabla 7.3).

Tabla 7.3. Características de los donantes en cohorte completa

	Grupo DMEK (n=43)	Grupo FACODMEK (n=34)	Valor p
Edad media (años)	60,4±9,6	60,3±9,6	0,851
Densidad endotelial (células/mm ²)	2791,7±258,7	2823,9±266,6	0,593

7.3 Porcentaje de éxito

Se consideró éxito un injerto que transparentaba la córnea de manera progresiva a lo largo de los primeros tres meses. A partir del tercer mes, si la córnea no se había aclarado, se desprendía completamente a pesar de reinyecciones de aire o a pesar de estar adherido nunca se aclaraba, se consideró como un fracaso.

En caso de desprendimiento significativo que afectase al aclaramiento y que con reinyección de aire se solucionase, también se consideró un éxito. Cuando el desprendimiento fue parcial y no afectaba al centro, se consideró opcional la reinyección de aire.

La tasa de éxito en primera intención en el grupo DMEK fue del 72,7% el FACODMEK 75% respectivamente. En los casos en los que falló el primer injerto, se procedió a una re intervención con un nuevo injerto endotelial. La tasa de éxito la segunda cirugía de rescate en el grupo DMEK fue del 66,7% y el FACODMEK 62,5% respectivamente. De esta manera se con dos injertos se consiguió resolver el 90,7% de los

casos en el grupo DMEK y el 90,6% en el grupo de FACODMEK. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos en el porcentaje de éxito en primera ni segunda intención. (tabla 7.4).

Tabla 7.4. Tasa de éxito primario

	Grupo DMEK (n=43)	Grupo FACODMEK (n=34)	Valor p
Éxito primario	72,7%	75%	0,818
Éxito reintervención	66,7%	62,5%	0,848
Éxito con dos cirugías	90,7%	90,6%	0,873

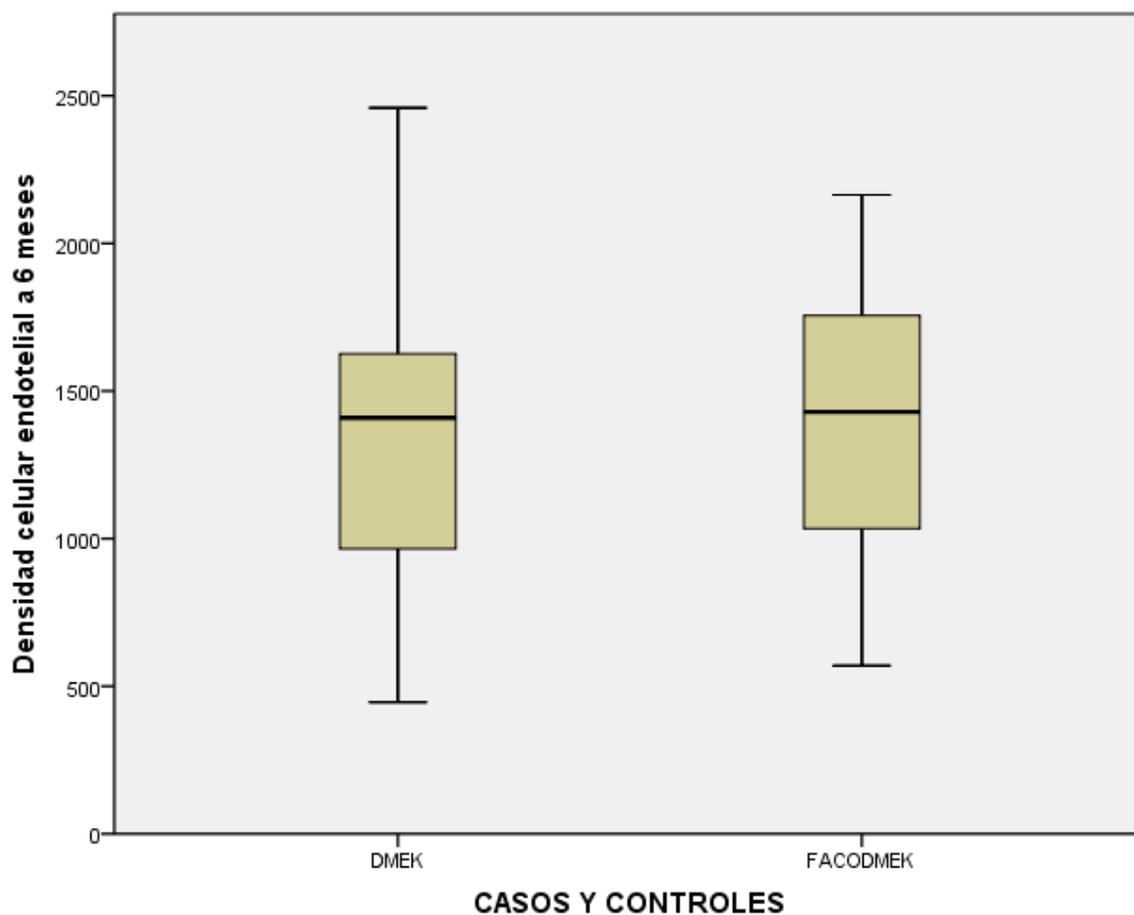
7.4 Supervivencia celular endotelial

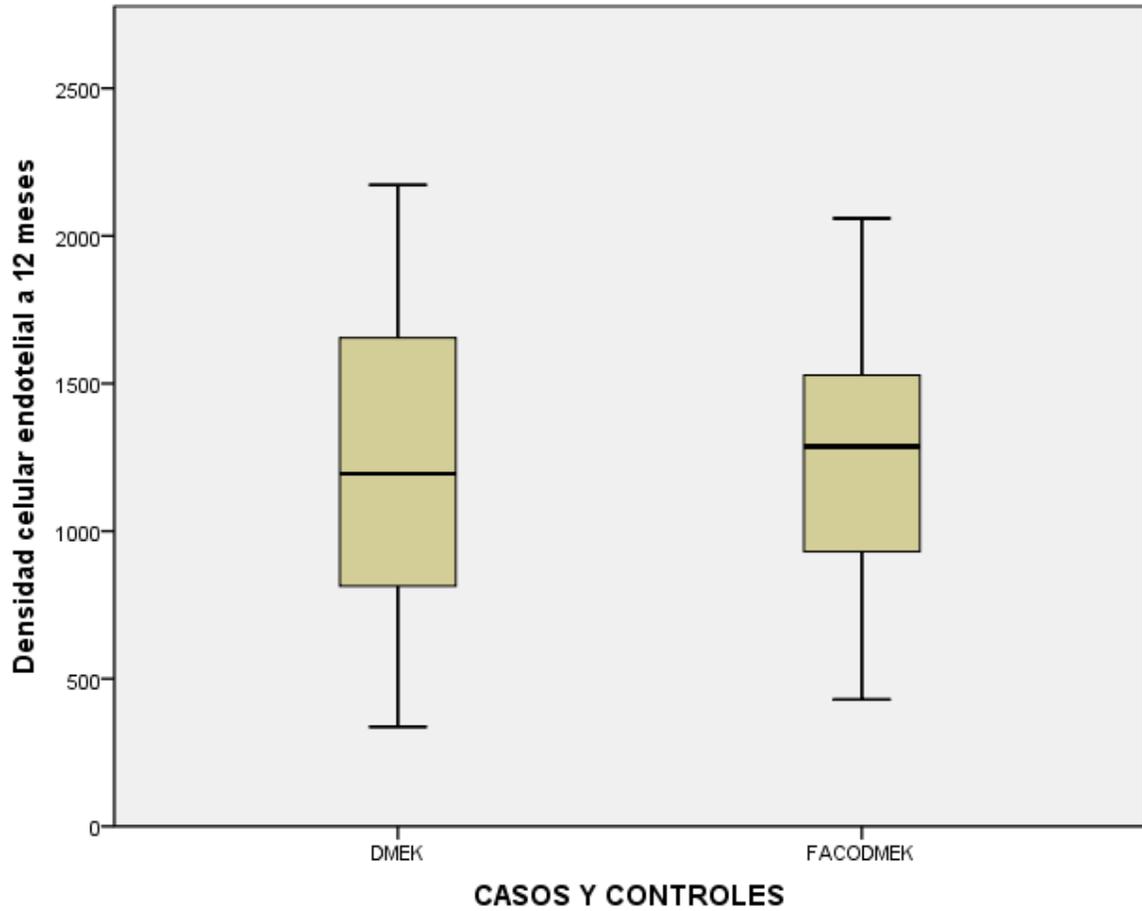
La supervivencia de los injertos exitosos en primera intención fue parecida en ambos grupos. Se evaluó a 6 y 12 meses, como densidad celular endotelial (DCE) residual, como pérdida absoluta y como porcentaje de pérdida respecto a la densidad del donante antes del trasplante. A seis meses el porcentaje de pérdida fue del 52,3±18,5% en los controles DMEK y del 51,7±16,7% en los casos FACODMEK. Más tarde, a los doce meses, la pérdida se estabilizó en 57,3±17,8% 54,9±16,2% respectivamente. Tanto a seis como a doce meses, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en supervivencia del endotelio entre los dos grupos (tabla 7.5 y figuras 11 y 12). Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas por el uso del láser de femtosegundo como apoyo durante en las cirugías de cataratas en los casos de FACODMEK.

Tabla 7.5. Supervivencia de las células endoteliales

Datos a 6 meses	Grupo DMEK (n=26)	Grupo FACODMEK (n=26)	Valor p
DCE (cél/mm ²)	1354,3±561,8	1327,43±561,85	0,835
DCEperdida(cél/mm ²)	-1441,4±547,6	-1459,7±456,3	0,896
% perdido	52,3±18,5	51,7±16,7	0,911

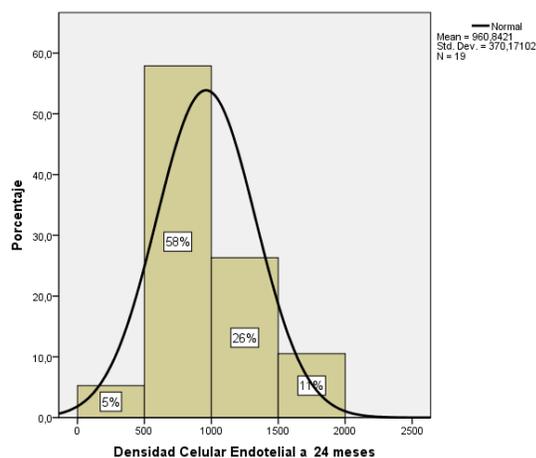
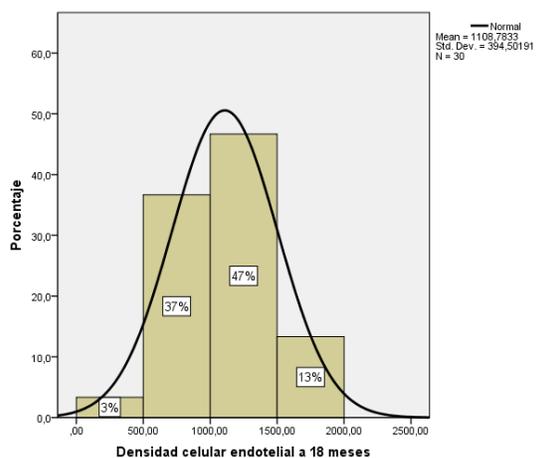
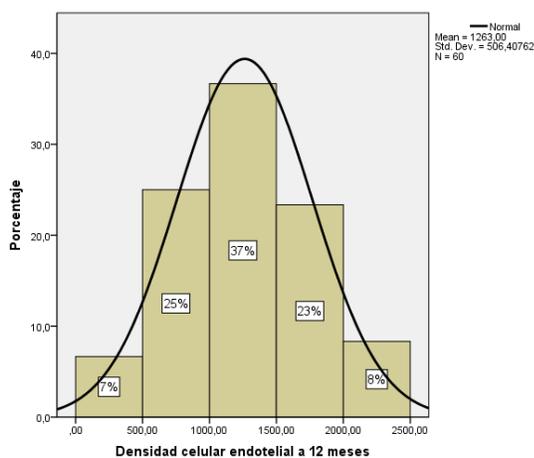
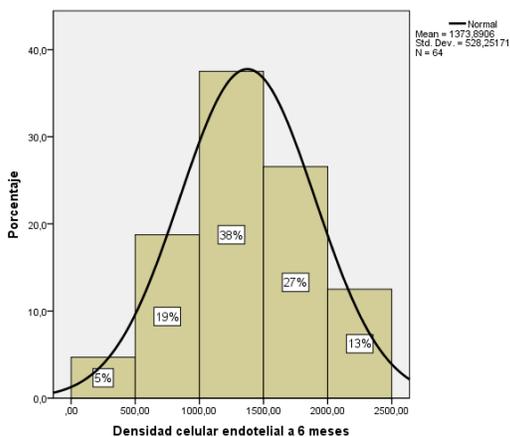
Datos a 12 meses	Grupo DMEK (n=26)	Grupo FACODMEK (n=26)	Valor p
DCE (cél/mm ²)	1210±468,4	1212,8±463,9	0,783
DCEperdida(cél/mm ²)	-1589,5±466,6	-1663,3±481,6	0,924
% perdido	57,3±17,8	54,9±16,2%	0,620





Figuras 11 y 12. Diagrama de caja de la densidad celular endotelial residual. Los corchetes representan rango, la línea la media y la caja las dos desviaciones estándar.

El porcentaje de casos con densidades endoteliales inferiores a 500 células/mm² indica aquellos que están en riesgo de agotarse a largo plazo. A los seis meses el 95,3% de los injertos se mantuvieron por encima de este límite. A los 12 meses, el 93,3% también se mantenía por encima, y a los 24 el 94,4%. De este modo, el porcentaje de injertos en riesgo teórico de agotamiento se ha mantenido alrededor del 5% durante el seguimiento, incluso extendiéndolo a 24 meses (figuras 13, 14, 15 y 16).



Figuras 13, 14, 15 y 16. Histograma agrupado de la densidad celular endotelial residual a 6, 12, 18 y 24 meses. Se muestra el porcentaje de injertos en riesgo de agotamiento tardío a lo largo de intervalos de 6 meses hasta los dos años. Nótese que a lo largo del seguimiento se mantiene estable alrededor del 5%.

7.5 Agudeza visual

7.5.1 Agudeza visual de la cohorte completa

Para analizar las agudezas visuales decimales se transformaron a LogMAR y se sometieron al test de Kosmogrov-Smirnov con corrección de Lillefors y al test de Shapiro-Wilk. Dado que no seguían una distribución normal, se realizaron los contrastes de muestras mediante el test de U de Mann-Whitney.

Para evaluar los resultados en la práctica clínica real, se incluyeron todos los casos de bajo potencial visual y aquellos que habían sido re intervenidos. Los datos presentados son los de la cohorte completa.

La agudeza visual preoperatoria fue significativamente peor en el grupo DMEK. Sin embargo, la agudezas visuales corregidas postoperatorias a seis y doce meses si son comparables. Mejoraron significativamente en ambos grupos gracias el trasplante. A los seis meses la diferencia entre controles DMEK y casos FACODMEK es de 0,74 a 0,81; que no es estadísticamente significativa. Del mismo modo, a los 12 meses las agudezas visuales corregidas se mantuvieron similares a 0,81 y 0,83. Por ello, la recuperación visual final es similar en ambos grupos, aunque agudeza visual de partida fuera menor en el grupo DMEK (tabla 7.6).

Tabla 7.6. Agudeza visual corregida a lo largo del postoperatorio en la cohorte completa.

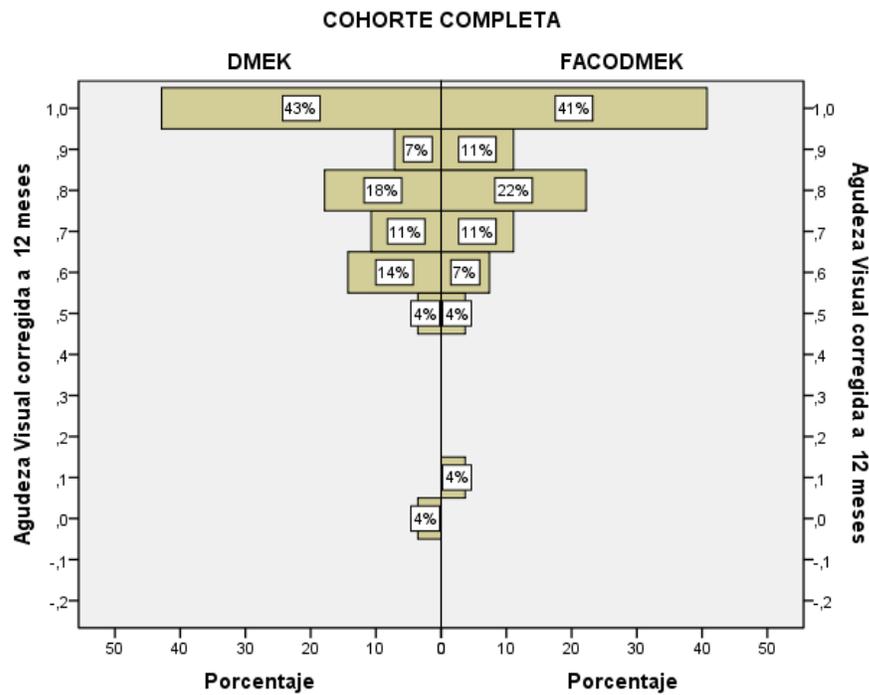
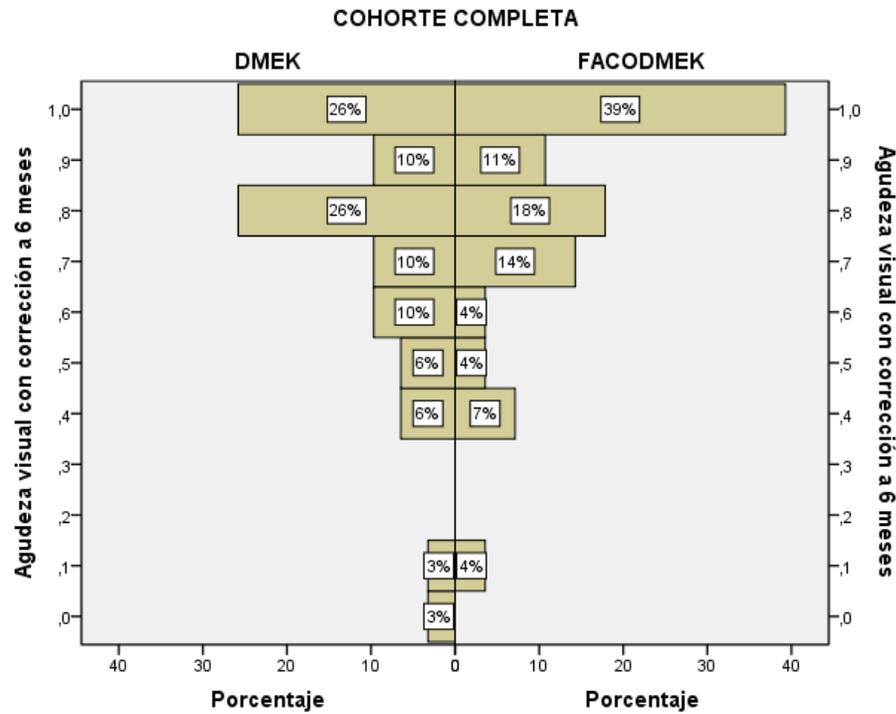
	Grupo DMEK (n=43)	Grupo FACODMEK (n=34)	Valor p
AVcc preoperatoria (decimal)	0,31±0,21	0,48±0,27	0,04
AVcc 6 meses (decimal)	0,74±0,26	0,81±0,23	0,376
AVcc 12meses (decimal)	0,81±0,23	0,83±0,2	0,964

Al estudiar los porcentajes de visión agrupados por tramos de visión decimal se observa la proporción de casos que alcanzan buena visión en seis meses. El 61-67% alcanzan una visión igual o mayor a 0,8 en ambos grupos. A doce meses la tendencia continúa e incluso aumenta el porcentaje de ellos que llegan a la visión de 1.0. (Tabla 7.7 y figuras 17 y 18)

Tabla 7.7. Porcentajes agrupados de agudeza visual corregida a lo largo del postoperatorio en la completa.

6 meses	Grupo DMEK (n=24)	Grupo FACODMEK (n=24)
AVcc \geq 0,5 (decimal)	83,88%	89,31%
AVcc \geq 0,8 (decimal)	61,3%	67,88%
AVcc \geq 1,0 (decimal)	25,81%	10,71%

12 meses	Grupo DMEK (n=24)	Grupo FACODMEK (n=24)
AVcc \geq 0,5 (decimal)	96,47%	96,23%
AVcc \geq 0,8 (decimal)	67,9%	74,01
AVcc \geq 1,0 (decimal)	42,88%	40,7%



Figuras 17 y 18. Histograma agrupado de la agudeza visual de la cohorte completa, agrupada de ambos grupos DMEK y FACODMEK a lo largo del postoperatorio, a seis y doce meses tras el trasplante.

7.5.2 Agudeza visual de la cohorte de alto potencial visual

Para evitar sesgos en la comparación de la máxima calidad de visión obtenida, se excluyeron los casos de bajo potencial visual y aquellos que habían sido re intervenidos. Los datos presentados son los de la cohorte de alto potencial visual.

La agudeza visual preoperatoria fue significativamente peor en el grupo DMEK. La agudeza visual preoperatoria no es comparable. Sin embargo, la agudezas visuales corregidas postoperatorias a seis y doce meses si son comparables. Mejoraron significativamente en ambos grupos gracias el trasplante. A los seis meses la diferencia entre controles DMEK y casos FACODMEK es de 0,83 a 0,85; que no es estadísticamente significativa. Del mismo modo, a los 12 meses las agudezas visuales corregidas se mantuvieron similares a 0,86. Por ello, la recuperación visual final es similar en ambos grupos, aunque agudeza visual de partida fuera menor en el grupo DMEK (tabla 7.8).

Tabla 7.8. Agudeza visual corregida a lo largo del postoperatorio en la cohorte de alto potencial visual .

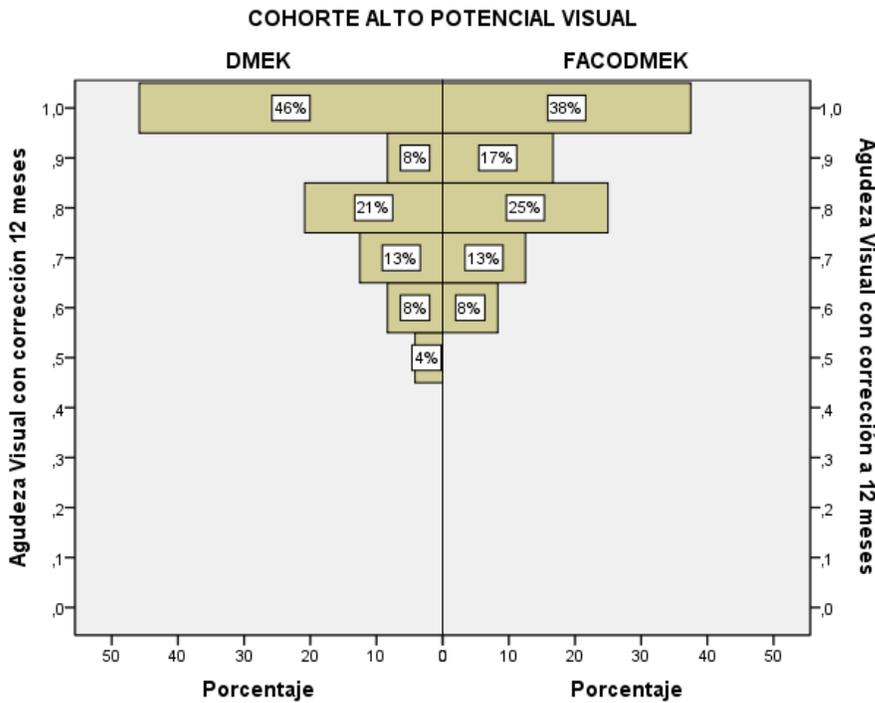
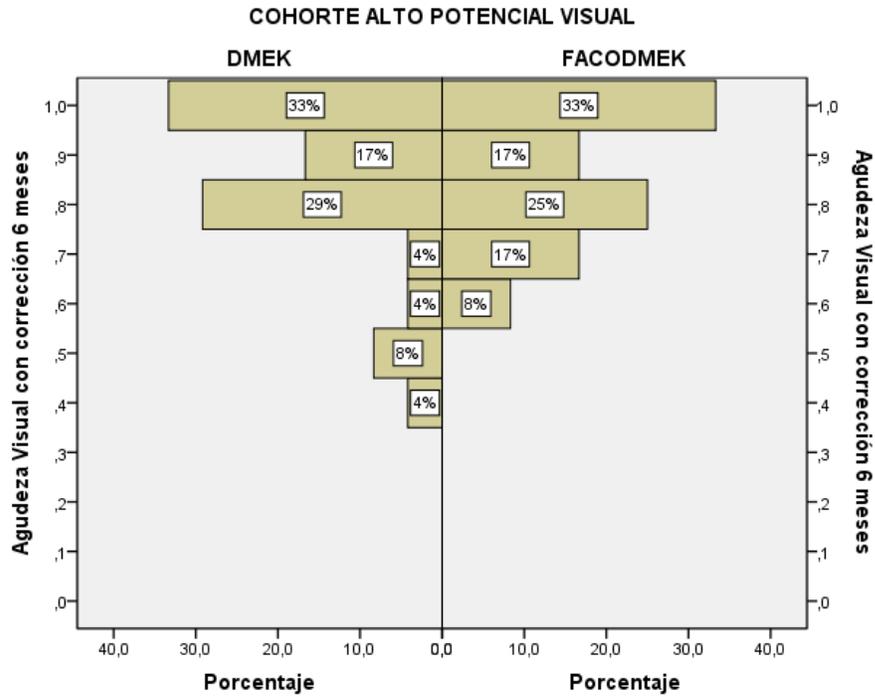
	Grupo DMEK (n=24)	Grupo FACODMEK (n=24)	Valor p
AVcc preoperatoria (decimal)	0,31±0,23	0,51±0,27	0,01
AVcc 6 meses (decimal)	0,83±0,18	0,85±0,13	0,932
AVcc 12meses (decimal)	0,86±0,16	0,86±0,13	0,914

Al estudiar los porcentajes de visión agrupados por tramos de visión decimal se observa la proporción de casos que alcanzan buena visión en seis meses. El 75-79% alcanzan una visión igual o mayor a 0,8 en ambos grupos. A doce meses la tendencia continúa e incluso aumenta el porcentaje de ellos que llegan a la visión de 1.0. (Tabla 7.9 y figuras 19 y 20)

Tabla 7.9. Porcentajes agrupados de agudeza visual corregida a lo largo del postoperatorio.

6 meses	Grupo DMEK (n=24)	Grupo FACODMEK (n=24)
AVcc \geq 0,5 (decimal)	95,84%	83,33%
AVcc \geq 0,8 (decimal)	79,17%	75%
AVcc \geq 1,0 (decimal)	33,33%	33,33%

12 meses	Grupo DMEK (n=24)	Grupo FACODMEK (n=24)
AVcc \geq 0,5 (decimal)	99%	100%
AVcc \geq 0,8 (decimal)	74,99%	79,17
AVcc \geq 1,0 (decimal)	45,83%	37,5%



Figuras 19 y 20. Histograma agrupado de la agudeza visual de la cohorte de alto potencial visual, agrupada de ambos grupos DMEK y FACODMEK a lo largo del postoperatorio, a seis y doce meses tras el trasplante.

7.6 Índices de evaluación refractiva

Los buenos resultados de visión a 6 meses permiten estudiar los procesos con el enfoque de la cirugía refractiva: Se analiza la efectividad, la seguridad y la predictibilidad del procedimiento atendiendo a las agudezas visuales sin y con corrección según las siguientes fórmulas:

INDICE DE EFICACIA: $AV_{sc} \text{ POST} / AV_{cc} \text{ PRE}$

INDICE DE SEGURIDAD: $AV_{cc} \text{ POST} / AV_{cc} \text{ PRE}$

PREDICTIBILIDAD % +/- 0,5D EE , % +/- 1,0D EE

En la tabla 7.10 se detallan las agudezas visuales y refracciones medias de ambos grupos antes y 6 meses después de la cirugía. También se incluyen los índices calculados en base a los datos mostrados.

Tabla 7.10. Agudezas visuales, refracción e Índices de eficacia, seguridad y predictibilidad del proceso de trasplante endotelial.

	Grupo DMEK (n=24)	Grupo FACODMEK (n=24)	Valor p
AVsc preoperatoria (decimal)	0,24±0,22	0,25±0,25	
AVcc preoperatoria (decimal)	0,32±0,23	0,51±0,27	0,01
AVsc 6meses (decimal)	0,61±0,27	0,65±0,2	
AVcc 6meses (decimal)	0,83±0,18	0,85±0,13	0,932
Esfera preoperatoria	0,13±1,92	0,73±2,04	0,298
Cilindro preoperatorio	-0,89±0,8	-0,94±0,83	0,792
Equivalente esférico preoperatorio	-0,4±1,9	-0,08±1,5	0,341
Esfera 6m	0,63±1,06	0,53±1,32	0,778
Cilindro 6m	-1,4±1,05	-0,96±0,7	0,113
Equivalente esférico 6m	0,005±1,14	-0,09±0,76	0,712

Preop. - 6 meses	Grupo DMEK (n=24)	Grupo FACODMEK (n=24)
Índice de eficacia	1,9 p=0.001	1,3 p=0.001
Índice de seguridad	3,5 p=0.001	3,4 p=0.001
Predictibilidad EE±0,5D	29,2%	45,9%
Predictibilidad EE±1,0D	62,6%	79,2%

Entre ambos grupos no hubo diferencias significativas en las agudezas visuales ni en las refracciones antes y después de la cirugía; excepto en la agudeza visual corregida preoperatoria que fue significativamente menor en el grupo DMEK.

La agudeza visual corregida mejoró globalmente tras la cirugía en ambos grupos DMEK y FACODMEK significativamente con $p=0,0001$. La magnitud del índice de eficacia es mayor el grupo DMEK (1,9 frente a 1,3) porque la agudeza visual corregida

media de partida era menor que en el grupo FACODMEK: $0,32 \pm 0,23$ frente a $0,51 \pm 0,27$. Sin embargo el índice de seguridad es muy similar en los dos (3,5 y 3,4) porque las agudezas corregidas a seis meses son muy similares en ambos grupos: $0,83 \pm 0,18$ frente a $0,85 \pm 0,13$.

La predictibilidad del procedimiento fue adecuada en ambos grupos, especialmente a una precisión de $\pm 1,0D$ de equivalente esférico respecto al objetivo de emetropía. En este rango de precisión el grupo FACODMEK lo alcanzó en casi el 80% de los casos, mientras que en el grupo DMEK fue en el 63%. A un rango de precisión mayor de $\pm 0,5D$ de equivalente esférico respecto al objetivo de emetropía, el procedimiento no fue suficientemente preciso alcanzándose el objetivo en el 46% de los casos del grupo FACODMEK y solamente en el 29% del grupo DMEK. (Figura 21)

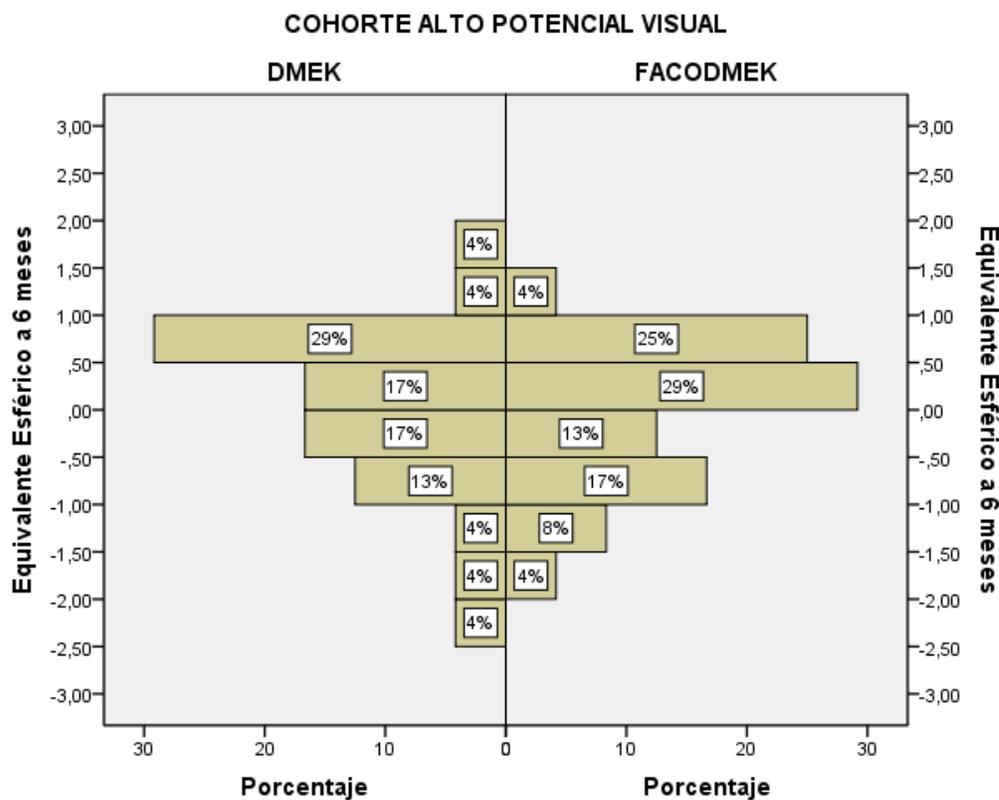


Figura 21 Histograma agrupado de la dispersión del equivalente esférico en dioptrías al sexto mes postoperatorio, en la cohorte de alto potencial visual, agrupada por grupos DMEK y FACODMEK.

En el cálculo del equivalente esférico el peso del componente esférico es el doble que el cilíndrico, por lo que se analizaran por separado: En cuanto a la esfera, se observó un cambio hipermetrópico de +0,5D en el grupo DMEK, mientras que el cambio fue miópico de -0,20D en el grupo FACOMEK. En el grupo DMEK, el cambio en la magnitud del cilindro fue de un aumento de 0,51D en el cilindro negativo, mientras que el grupo FACODMEK apenas aumentó 0,02D.

7.7 Disminución de paquimetría

El trasplante provocó un descenso global de la paquimetría corneal central estadísticamente muy significativo antes y después de la cirugía en todos los casos estudiados con $p=0,001$. (Tabla 7.11) Este descenso se correlaciona directamente con la mejoría de agudeza visual, dado que el edema corneal (paquimetría elevada) condiciona la pérdida de transparencia. Cuando desciende la paquimetría, se alivia el edema, aumenta la transparencia y secundariamente mejora la visión. Hubo una diferencia estadísticamente significativa en la paquimetría preoperatoria entre grupos, siendo mayor en el grupo DMEK (pacientes operados previamente de catarata y ya descompensados) que en el FACODMEK (córneas vírgenes) de $679,27 \pm 97,67$ frente a $644,2644,2 \pm 55,58$ con $p=0,033$; sin embargo no había diferencia entre los estadios clínicos entre grupos. A seis meses ya no había diferencia entre ambos grupos, igual que ocurre con la agudeza visual corregida. (Figura 22).

Tabla 7.11. Paquimetrías centrales corneales antes y 6 meses tras la cirugía.

	Grupo DMEK (n=24)	Grupo FACODMEK (n=24)	Global (n=53)
Paquimetría preoperatoria (micrometros)	679,27±97,67	644,2±55,58	657,98±11,87
Paquimetría 6 meses (micrometros)	516,04±61,24	515,7±47,83	512,83±54,37
Valor p	Entre grupos: Preoperatoria $p=0,033$ Postoperatoria $p=0,22$		Global 0,001

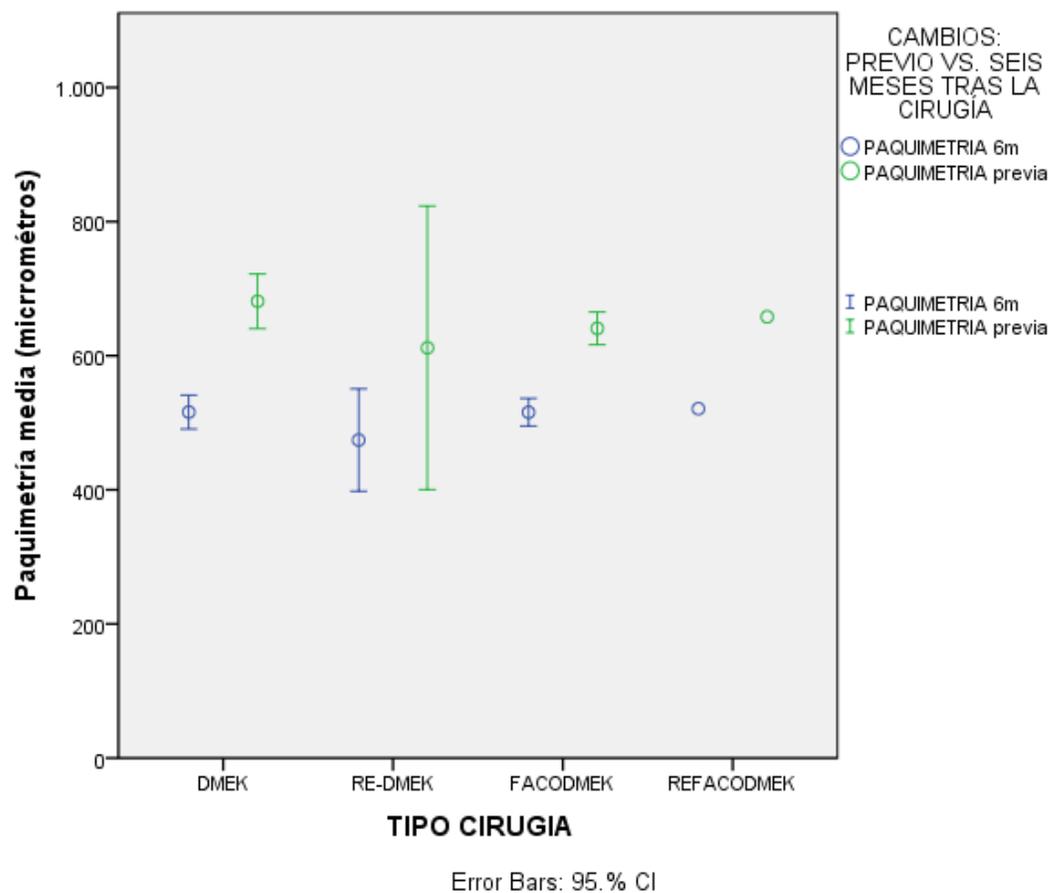
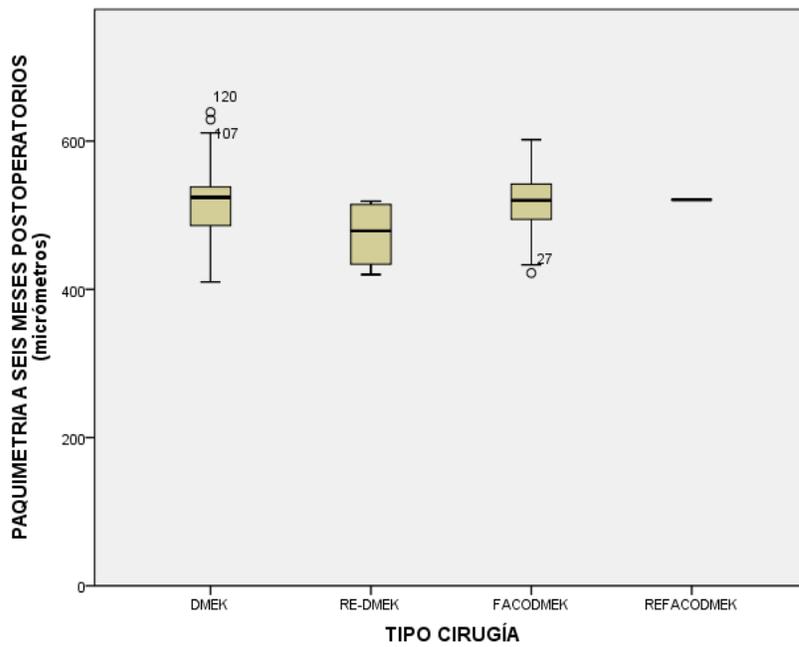
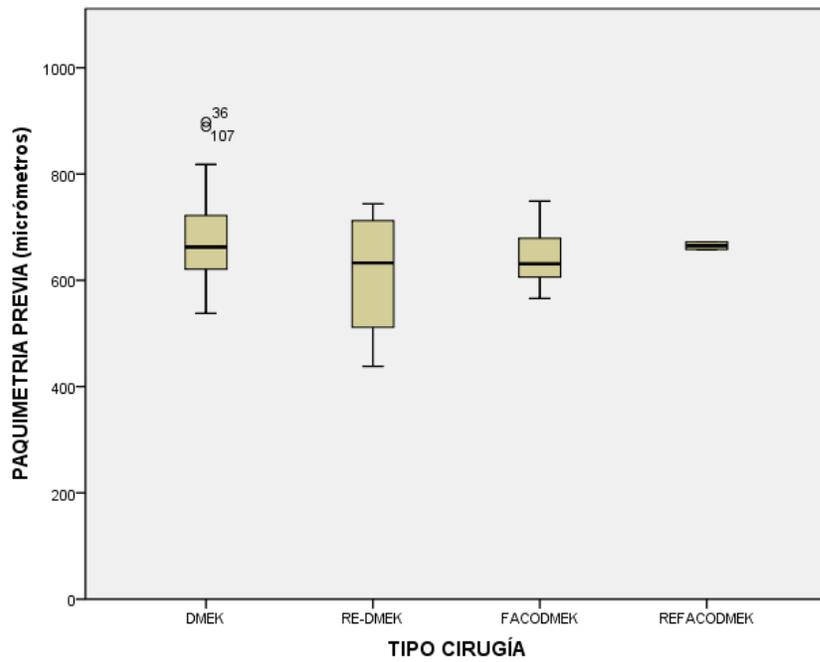


Figura .22. Diagrama de medias de paquimetrías preoperatorias (verde) y a seis meses del trasplante (azul) agrupadas por tipo de cirugía, con límites de intervalo de confianza.



Figuras 23 y 24 Diagrama de cajas de paquimetrías preoperatorias y a seis meses del trasplante agrupadas por tipo de cirugía.

Al analizar la paquimetría preoperatoria como factor predictor de resultado, no se pudo establecer una correlación directa (figura 25). Tampoco como predictor de agudeza visual final (figura 26). Por otro lado, se pudo observar una posible tendencia en la cual los casos fallidos del grupo DMEK parecían partir de paquimetrías inferiores a las originales antes de la re intervención (figura 25). Dicha tendencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,43$)

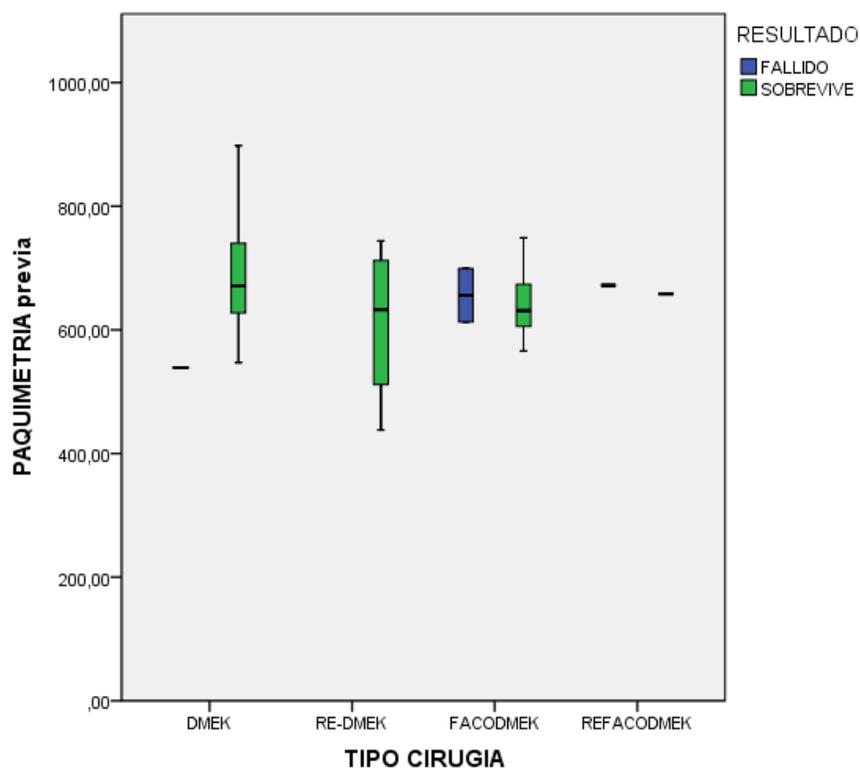


Figura 25 Diagrama de cajas de paquimetrías preoperatorias agrupadas por tipo de cirugía y por resultado.

Sin embargo, en el grupo DMEK, el intervalo entre la cirugía de catarata y la del trasplante fue $32,4 \pm 29,27$ (6-102) meses y se correlacionó levemente ($p=0,07$) con el resultado y el estadio clínico; pero no con la agudeza visual final ($p=0,460$). (figura 26 y 27)

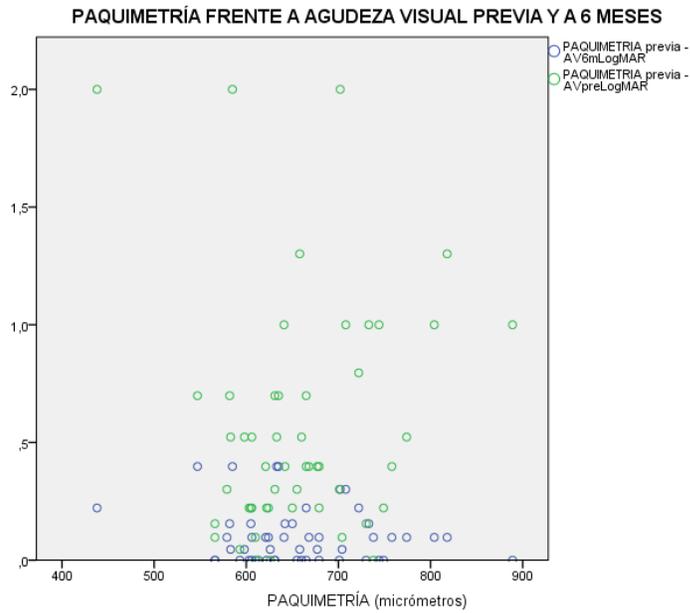


Figura 26 Diagrama de dispersión de paquimetría preoperatoria en mm (abcisas) y agudeza visual pre y postoperatoria (LogMAR) (ordenadas), mostrando la falta de asociación ente los dos parámetros.

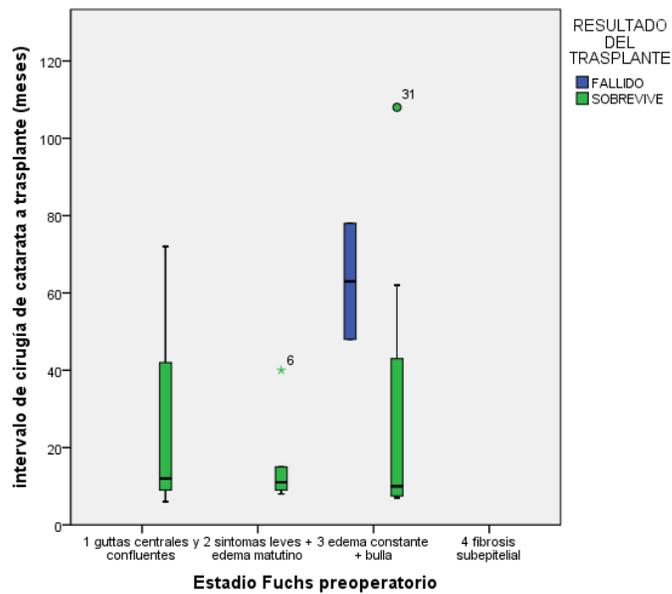


Figura 27 Diagrama de cajas relacionando estadio, intervalo y resultado del trasplante en el grupo DMEK. Nótese el punto de corte a 40 meses en el intervalo de cirugía de catarata a trasplante, más allá del cual se localizan los injertos fallidos de estadio III

7.8 Complicaciones postoperatorias

La complicación más frecuente en ambos grupos fue el desprendimiento del injerto endotelial, con un total de 31,8% en los DMEK y un 16,6% en los FACODMEK. La mayoría de los casos se pudieron resolver aclarando la córnea mediante un injerto primario, pero fue frecuente tener que hacer un ajuste durante las primeras semanas con una o incluso dos burbujas para conseguir la adhesión completa. De este modo, la re intervención más frecuente fue el “rebubbling” en una ocasión (25% y 25,7%) y en dos (4,5% y 5,7%);

La necesidad de un segundo injerto endotelial DMEK fue también relativamente frecuente (20,5% y 16,7%). Por el contrario, la necesidad de convertir a queratoplastia penetrante en tercera intención fue baja (4,5 y 5,6%)

El fracaso primario del injerto, entendido como un injerto perfectamente adherido que no termina de aclarar el estroma en tres meses, fue relativamente infrecuente (6,8 y 2,8%). El fracaso secundario a glaucoma, exceso de manipulación o presión positiva vítrea o malposición del injerto fue más frecuente (15,9 y 13,9%). El fracaso del injerto por malposición invertida del injerto fue infrecuente con 2,3% en ambos grupos, y se ha asociado a mala visibilidad de la cámara anterior por edema corneal. Con el uso de la OCT de segmento anterior intraoperatoria se ha evitado que ocurra de nuevo. El rechazo inmune fue infrecuente con la pauta intensiva de corticoides tópicos (2,3 y 0%). En un caso se tuvo que utilizar ciclosporina tópica al 2% como alternativa a la dexametasona.

El resto de complicaciones misceláneas como edema macular, sinequias inflamatorias o neuritis óptica isquémica anterior fueron infrecuentes.

Las diferencias entre los dos grupos no fueron clínicamente significativas. El exceso de desprendimientos significativos observado en los DMEK, no derivó en mayor necesidad de ajustarlos con burbuja de aire, ya que la tasa de “rebubbling” es similar en ambos grupos (Tabla 7.12).

Tabla 7.12. Complicaciones intra y postoperatorias

		TIPO CIRUGIA			
		DMEK		FACODMEK	
		Columna %	Media	Columna%	Media
Despremdimiento injerto	No	65,9%		69,4%	
	<1/3 superficie	13,6%		8,3%	
	>1/3 superficie	18,2%		8,3%	
	Completo	,0%		11,1%	
	Invertido	2,3%		2,8%	
Despremdimiento afecta visión central	No	13,6%		8,3%	
	Si	20,5%		22,2%	
Rebubbling número	,00	70,5%		68,6%	
	1,00	25,0%		25,7%	p>0,05
	2,00	4,5%		5,7%	
Rebubbling (meses)			,65		,52
Reoperaciones	No	75,0%		77,8%	
	reDMEK	20,5%		16,7%	p>0,05
	DSEK	,0%		,0%	
	PKP	4,5%		5,6%	
Glaucoma inducido	No	88,6%		91,7%	
	Asociado a presión posterior	4,5%		2,8%	
	asociado – cámara estrecha	,0%		2,8%	
	No asociado - crónico	4,5%		,0%	
	asociado – PIO alta	2,3%		2,8%	
Fallo del injerto	No	77,3%		83,3%	
	Primario	6,8%		2,8%	p>0,05
	Secundario	15,9%		13,9%	p>0,05
Fallo injerto, meses			1,69		2,26

Meses rechazo inmune			18,00		.
Catarata inducida		100,0%		100,0%	
	No	,0%		,0%	
	Si	,0%		,0%	
Complicaciones severas postoperatorias	Ninguna	93,2%		88,9%	p>0,05
	Miscelánea (NOIA)	2,3%		2,8%	
	EMQ	2,3%		2,8%	
	sinequias	2,3%		,0%	
	vitreo en CA	,0%		,0%	
	glaucoma exacerbación	,0%		5,6%	
	endofalmitis	,0%		,0%	

7.9 Gasto relativo de tejido donante

La complejidad del análisis de las re-intervenciones necesita de una estrategia específica ya que se mezclan los re injertos DMEK con los re injertos con queratoplastia penetrante como técnica de rescate. Las figuras 28 y 29 detallan la estrategia de análisis de gasto de tejido desarrollada por el Dr. JF. Alfonso:

Se documenta el número total y tipo de intervenciones realizadas para resolver los casos de la cohorte general (los 43 del grupo DMEK y los 34 casos del grupo FACODMEK). Cada casilla a la izquierda se sigue por dos a la derecha, indicando éxito y fracaso tras esa intervención. A continuación se subdividen de nuevo para indicar cuándo se realiza un reDMEK o un penetrante. Se marca en verde el porcentaje de casos exitosos y en rojo los fallidos para cada ronda de re intervención sucesiva. Después se calcula el número total de córneas utilizadas, incluyendo tanto endotelios para DMEK, como córneas enteras para trasplantes penetrantes; y se divide por el número de casos en cada grupo.

Dado que para resolver un caso es relativamente frecuente el necesitar una re-intervención, se calculó el exceso de tejido que se utilizó respecto a una situación ideal de un solo trasplante penetrante para resolver un caso de distrofia de Fuchs. El ratio de exceso de gasto de tejido al hacer DMEK y FACODMEK fue comparable. El resultado fue de 1,26 y 1,25 córneas gastadas por caso resuelto respectivamente en cada grupo.

DMEK en Distrofia de Fuchs

72,7% de éxito en una cirugía
90,7% de éxito en dos cirugías

**Resultados gasto de tejido en la cohorte completa,
grupo DMEK**

1er DMEK 43 ojos	72,7%					72,7%
	27,3%	2° DMEK	66,7%			66,7
			33,3%	3° DMEK	1 ojo	100%
		PK	3 ojos	100%		
	PK	4 ojos				100%
1.26 córneas / ojo trasplantado						43 Ojos

DMEK en Distrofia de Fuchs

75% de éxito en una cirugía
90,6% de éxito en dos cirugías

**Resultados gasto de tejido en la cohorte completa,
grupo DMEK**

1er FACO-DMEK 34 ojos	75%					75%
	25%	2° DMEK 5 ojos	80%			4
			20%	3° DMEK 1 ojo	1 ojo	100%
		PK	0	0		
	PK	2 ojos				100%
1.25 córneas / ojo trasplantado						34 ojos

Figuras 28 y 29. Recuento de tejido utilizado en los primeros 43 procedimientos consecutivos DMEK y 34 procedimientos consecutivos FACODMEK. Avance de izquierda a derecha. Verde cirugía exitosa, rojo cirugía fracasada. Amarillo rescate con queratoplastia penetrante.

Por otro lado, como se ha detallado en el capítulo de “material, pacientes y método”; durante la extracción del endotelio donante se puede obtener como subproducto un estroma congelado en el 95% de las preparaciones. Este estroma se congela para utilizarlo posteriormente como injerto lamelar DALK en casos seleccionados, cuando se puede disponer además de una córnea entera de reserva. Se puede así mantener un stock permanente de estromas congelados para uso inmediato en cuanto se descongelan y se sumergen en medio ThinC durante 1 hora. Durante el curso de este estudio, se pudo realizar este proceso de DALK con estromas congelados en 37 casos. Así se pudo mitigar el problema ético del exceso de tejido necesario para resolver cada caso.

8. Discusión

8.1 Demografía de pacientes

8.1.1 Características de pacientes

La edad media de los pacientes afectados de distrofia endotelial de Fuchs fue superior en el grupo de DMEK, mientras que el grupo de FACODMEK fue inferior con una diferencia media de 8,8 años. Aunque la diferencia en edad es significativa, se explica por el hecho de que los pacientes del grupo control ya habían sido operados con anterioridad de cirugía de cataratas. Al seleccionar la cohorte de alto potencial visual para evitar sesgos en la agudeza visual máxima, se descartó que hubiera un sesgo en edades: las diferencias en edad entre grupos en ambas cohortes completa y de alto potencial visual fueron similares en ambos: de 8,7 años de media.

Las diferencias de sexo en ambos grupos reflejan el predominio femenino ya conocido de la enfermedad (30), y fueron estadísticamente significativas. Únicamente en el grupo FACODMEK de la cohorte de alto potencial visual hubo un ligero predominio de los hombres (52,8% de mujeres en la cohorte completa y 44% en la cohorte de alto potencial visual). La diferencia se puede explicar por el hecho en el rango de edad ($62,4 \pm 5,4$ años) en el que los pacientes se operan en el grupo FACODMEK de ambas cohortes hay más hombres en el mercado laboral y necesitan de una rehabilitación precoz para reincorporarse al trabajo. Por ello son los que están más predispuestos a solicitar un procedimiento simultáneo que pueda rehabilitar ese ojo en un plazo mínimo de 3 meses.

Todos los pacientes fueron locales y de raza caucásica; por lo que se descartan sesgos en la prevalencia de la enfermedad entre diferentes poblaciones.

8.1.2 Características de los ojos receptores

Todos los ojos intervenidos estaban afectados de distrofia de Fuchs. Dado que los resultados son peores en las otras indicaciones de queratoplastia endotelial (queratopatía bullosa pseudofáquica o afáquica, síndrome iridocorneal endotelial, queratoplastias penetrantes agotadas y descompensaciones endoteliales por lentes fáquicas de cámara

anterior), se decidió limitar la indicación a la patología para la que fue desarrollada la técnica. Así se evitan sesgos de indicación y se homogeneiza la muestra. Por el contrario, limita ligeramente la n máxima de pacientes en el estudio de 135 posibles con seguimiento a 6 meses a 74 únicamente afectados de distrofia de Fuchs.

El estadio clínico de los ojos en ambos grupos y ambas cohortes era comparable, con más del 80% de los casos en estadios II y III en los que hay ya edema corneal, afectación visual significativa matutina o constante, y bullas subepiteliales. En ambos grupos hubo un pequeño porcentaje de estadios I con solo guttas en aproximadamente un 14% de los DMEK y un 8% de los FACODMEK; sin diferencias significativas entre ellos ni entre cohortes. Sin embargo, el porcentaje de casos en estadio IV con casos más severos ya afectados de fibrosis estromal y bullas con riesgo de úlcera fue del 4,5%-4,8% en los DMEK, y ausente en los FACODMEK. De nuevo, no fue estadísticamente significativo en la muestra, por lo que no provoca un sesgo en la comparación de las muestras. La variación de porcentaje de casos en estadio IV se puede explicar por dos razones:

Primera, los casos en estadio III del grupo DMEK tardaron globalmente $32,4 \pm 29,2$ meses ($23,3 \pm 25$ operados por nosotros, $39,8 \pm 31,2$ operados fuera $p=0,152$) desde que se operaron de catarata hasta ser intervenidos de trasplante. En ese tiempo pueden haber progresado al estadio IV al descompensarse su córnea. Segunda, un caso en estadio IV difícilmente será candidato a FACODMEK porque la córnea ya estará opaca y durante la cirugía la visibilidad dentro de la cámara anterior va a ser muy difícil. Como la visibilidad es más crítica en la cirugía de la catarata que en la del trasplante endotelial, los casos de estadio IV manejan preferentemente de manera secuencial: primero se opera la catarata y en segundo tiempo el trasplante endotelial.

La anatomía del ojo también fue diferente en ambos grupos por el hecho de que el grupo DMEK estaba operado de catarata previamente y el grupo FACODMEK no. La profundidad de cámara anterior fue menor en el en el grupo FACODMEK frente al DMEK (2,5mm frente a 3,3mm), pero la profundidad de cámara no se pudo relacionar como factor predictivo de fallo del injerto ni de mayor pérdida endotelial en ninguno de los grupos por separado ni globalmente. Por otro lado, la experiencia quirúrgica indica que una profundidad de cámara extrema sí puede condicionar complicaciones intraoperatorias: para

desplegar el injerto en caso de que sea muy estrecha, y para mantenerlo desplegado en caso de que sea muy amplia.

La paquimetría inicial también fue diferente entre DMEK y FACODMEK ($679\pm 97,7$ frente a $620,9\pm 140,2$) porque los pacientes de DMEK ya han sufrido un proceso de descompensación corneal tras la cirugía previa de la catarata. Por el contrario, a los 6 meses del trasplante ambos grupos tienen paquimetrías similares que se correlacionan con la mejoría de la de la visión corregida según avanza el aclaramiento de las córneas. La paquimetría preoperatoria por sí sola no se relaciona directamente con los estadios clínicos, pero ambos factores mejoran cuando el trasplante es exitoso.

Al analizar globalmente los 3 factores en combinación: profundidad de cámara anterior, paquimetría y tipo de cirugía se pueden observar ciertos patrones (figura 30): los casos de FACODMEK tienden a tener paquimetrías más bajas de $550-750\mu\text{m}$ y profundidades de cámara más estrechas, con un punto de corte de $2,7\text{mm}$; mientras que los DMEK tienen profundidades de cámara por encima de 3mm y paquimetrías más variadas desde los 500 a $700\mu\text{m}$. Las re intervenciones de reDMEK y reFACODMEK se comportan de manera parecida a los casos iniciales de DMEK porque han sufrido una descompensación acelerada al haberse eliminado el endotelio del receptor y no tener uno funcional en su lugar. Se puede observar además que no se dan las re intervenciones por debajo de profundidades de 3mm , independientemente de la paquimetría previa a la cirugía porque ya se ha eliminado el factor limitante de espacio de la catarata.

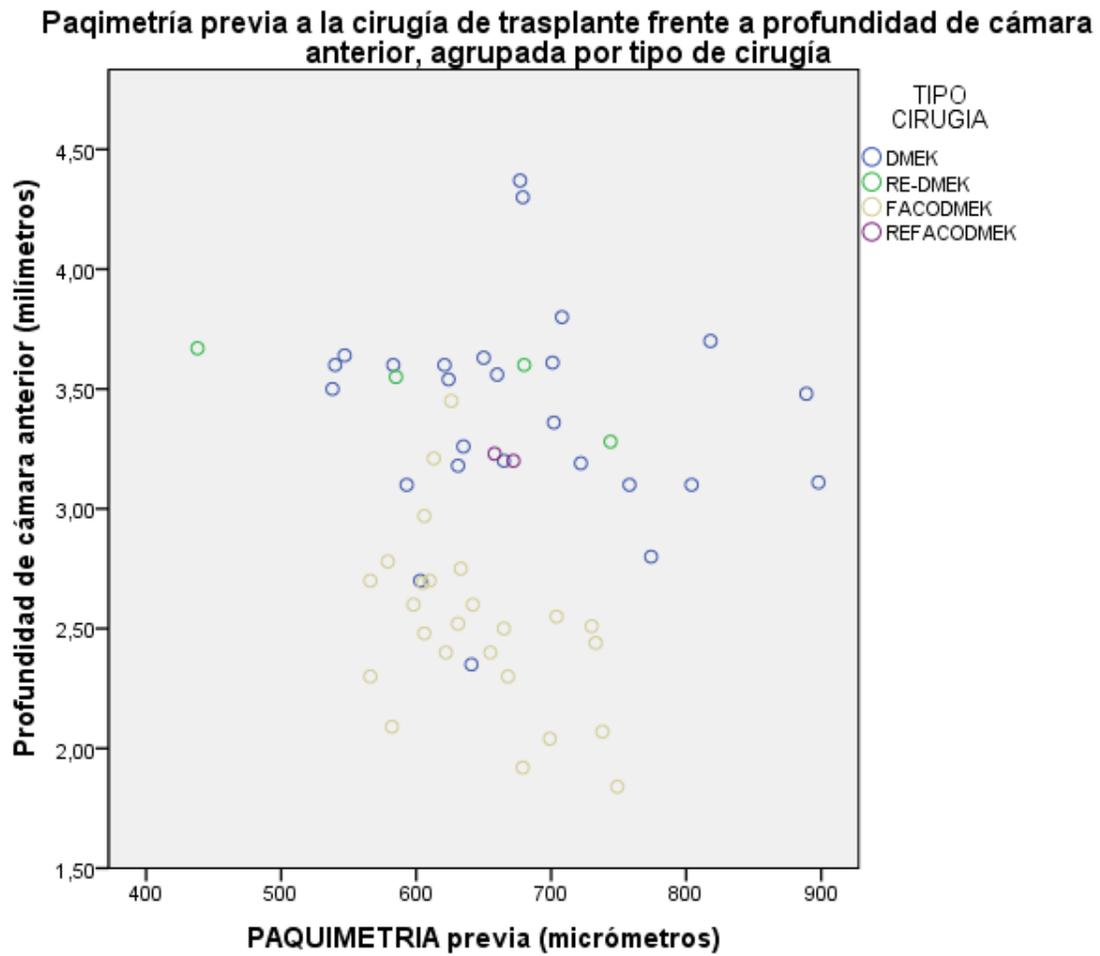


Figura 30. Diagrama de dispersión relacionando profundidad de cámara anterior, paquimetría previa a la cirugía y tipo de cirugía. Los casos de DMEK presentan paquimetrías previas y profundidades de cámara anterior mayores que las de FACODMEK. Las reintervenciones de DMEK tienen una cámara anterior parecida, pero sus paquimetrías son variables.

Cuando tratamos de correlacionar estos factores con el resultado del trasplante, no se observa un patrón claro que nos permita darles un valor predictivo de cara al resultado del trasplante (figura 31) o de cara a la pérdida endotelial a 6 meses (figura 32).

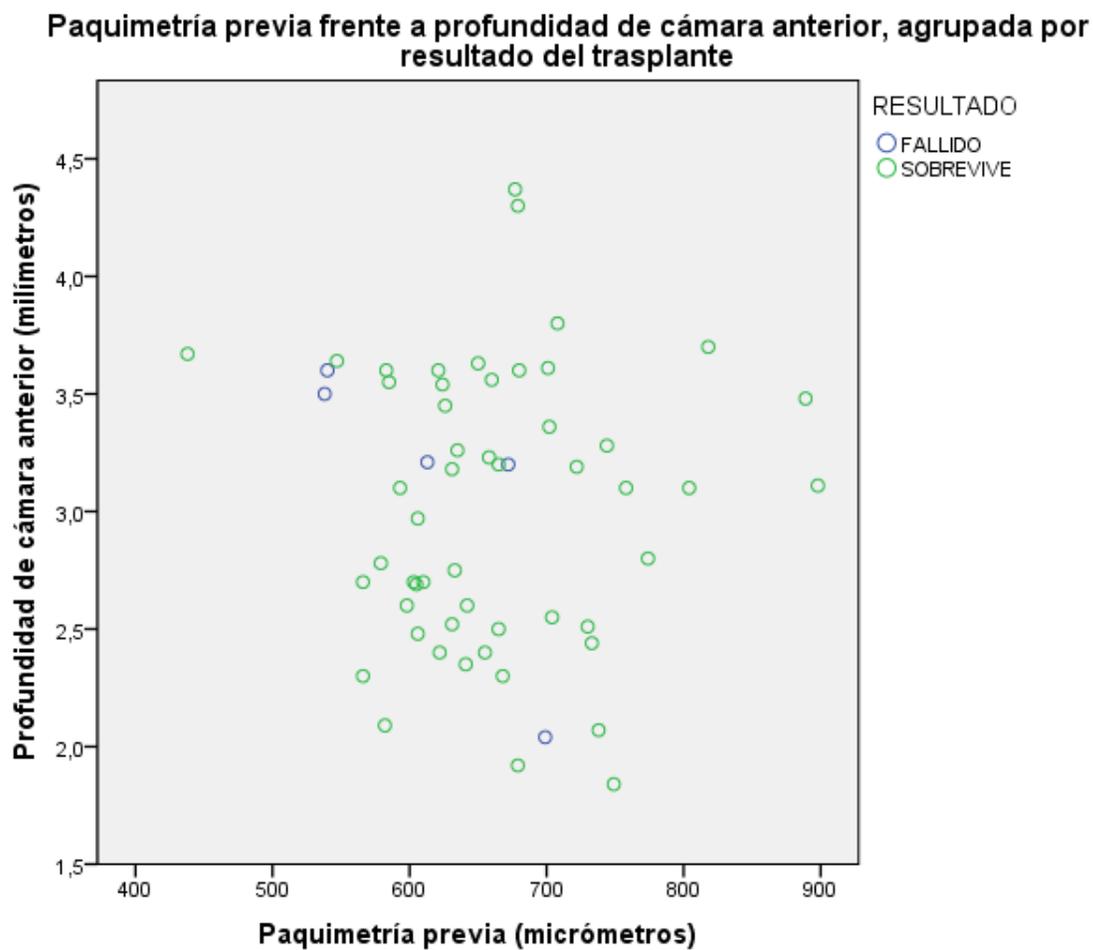


Figura 31, Diagrama de dispersión relacionando profundidad de cámara anterior, paquimetría previa al trasplante y resultado del injerto. No se observa una combinación de factores anatómicos preoperatorios que ayude a predecir el resultado del trasplante

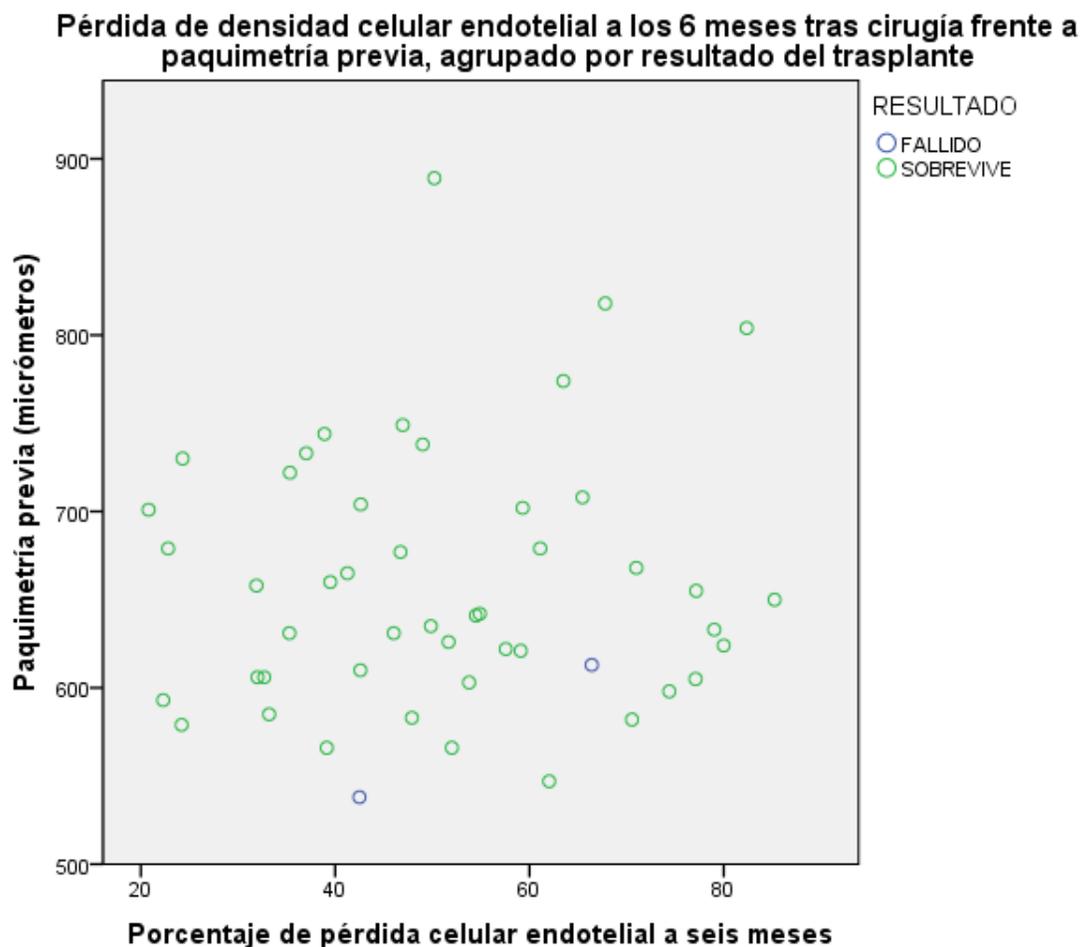


Figura 32. Diagrama de dispersión relacionando paquimetría previa, pérdida endotelial 6 meses tras a la cirugía y resultado del injerto. No se observa una combinación de factores anatómicos preoperatorios que ayude a predecir el la pérdida excesiva de densidad celular endotelial a seis meses tras el trasplante.

En conclusión: En nuestro estudio no existen factores anatómicos preoperatorios que nos permitan predecir el resultado final de la cirugía o la supervivencia del injerto.

Sin embargo, sí se pudo observar una tendencia según la cual, en grupo DMEK cuando el intervalo de tiempo entre la intervención de catarata y el trasplante superan los 40 meses y el estadio es III, las probabilidades que el trasplante sea fallido son mayores ($p=0,07$) (figura 33, barra azul en el estadio III). Sospechamos que este punto de corte en

los 40 meses tras la cirugía de cataratas está relacionado con la fibrosis progresiva y migración de queratocitos con metaplasia fibroblástica que está descrito en el edema crónico de córnea (6).

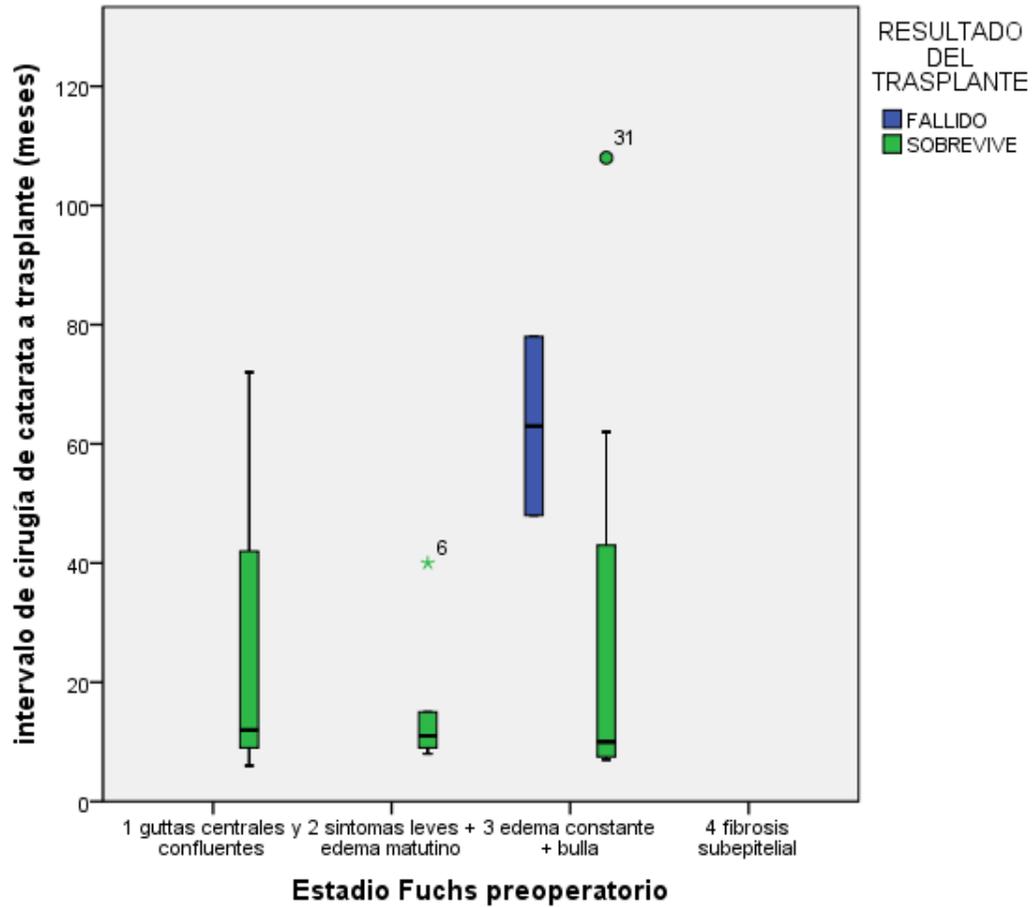


Figura 33. Diagrama de cajas relacionando intervalo previo a cirugía de cataratas, estadio clínico y resultado del injerto. A partir de los 40 meses de intervalo entre la cirugía de cataratas y el trasplante DMEK, la probabilidad de fracaso del injerto en los estadios III-IV es mayor.

8.2 Características de las córneas donantes

Los donantes fueron preparados por el mismo cirujano (MN), en el mismo establecimiento de tejidos, exactamente de la misma manera ya descrita en el capítulo de material y métodos, de manera que no hay posibilidad de sesgo en este apartado. Las diferencias de edad y densidad celular endotelial entre los donantes de los grupos DMEK y FACODMEK no son estadísticamente significativas.

A diferencia de varias de las series de casos publicadas donde el centro implantador recibe tejido de varios proveedores a 4°C o 31°C (31, 32), los donantes de este estudio provenían del mismo establecimiento de tejidos y fueron sometidos a un proceso homogéneo y conservación en DMEK a 31°C tal y como realiza el equipo pionero en la técnica (35).

La disponibilidad de tejido está limitada por los criterios específicos de selección de donantes para preparar DMEK: Edad superior a 40 años y densidad celular endotelial superior a 2500 células/mm². La edad es para evitar que en las córneas muy jóvenes, que típicamente presentan fuertes adhesiones en la zona del espolón escleral, se produzcan roturas catastróficas durante la preparación del injerto. En esta misma línea se trata de evitar pacientes diabéticos por la posibilidad de encontrar en ellos adhesiones centrales que puedan provocar una rotura catastrófica durante la preparación del injerto.

La densidad celular endotelial mínima se estableció desde los primeros estudios pivotaes en un intento de asegurar una mayor supervivencia del injerto, implantando la mayor cantidad de células posible. Esto es porque se cuenta con la pérdida progresiva que se va a producir a lo largo de los meses siguientes (33). Se sabe que la pérdida de densidad celular endotelial ocurre en dos fases: Durante los primeros 1-3 meses la pérdida es muy acusada, mientras que después entra en una fase de meseta con pérdidas mucho menores. Al comparar la curva de pérdida con otras técnicas, se sabe que en DSAEK el patrón de caída y meseta es parecido, aunque menos acelerado; y en queratoplastia penetrante es una caída lenta y continua (33).

Durante el curso de este estudio, nuestra capacidad de producción de tejido endotelial para DMEK siempre ha sido menor que la demanda del mismo. Las dos

estrategias que la comunidad científica ha propuesto a lo largo de estos años para aumentar la producción han sido las siguientes: Primero, reducir el límite de densidad celular endotelial exigido para seleccionar una córnea para DMEK y así acceder a un número mayor de candidatos potenciales. Segundo, escindir los injertos ya preparados hasta en cuatro fragmentos e implantarlos por separado en cuatro receptores diferentes. En este estudio no hemos considerado ninguna de las dos estrategias anteriores para no arriesgar la supervivencia de nuestros injertos.

Sin embargo, existen evidencias de que estas estrategias podrían ser eficaces en el futuro (39-41). En la línea de la primera estrategia, de haber bajado el límite exigido para la densidad celular endotelial a 2250 células /mm², se hubieran podido utilizar potencialmente un 12% más de córneas. Y si se hubiera bajado a 2000, un 25% adicional. (Figura 34). Es decir, se descartaron para DMEK el 37% de las córneas mayores de 40 años adecuadas para trasplante. De la misma manera, la segunda estrategia permitiría teóricamente cuadruplicar el rendimiento respecto al actual. En los próximos años se dilucidará la idoneidad de estas estrategias frente al riesgo de una supervivencia menor de los injertos..

Distribución de córneas mayores de 40 años asignadas a trasplante penetrante o DALK

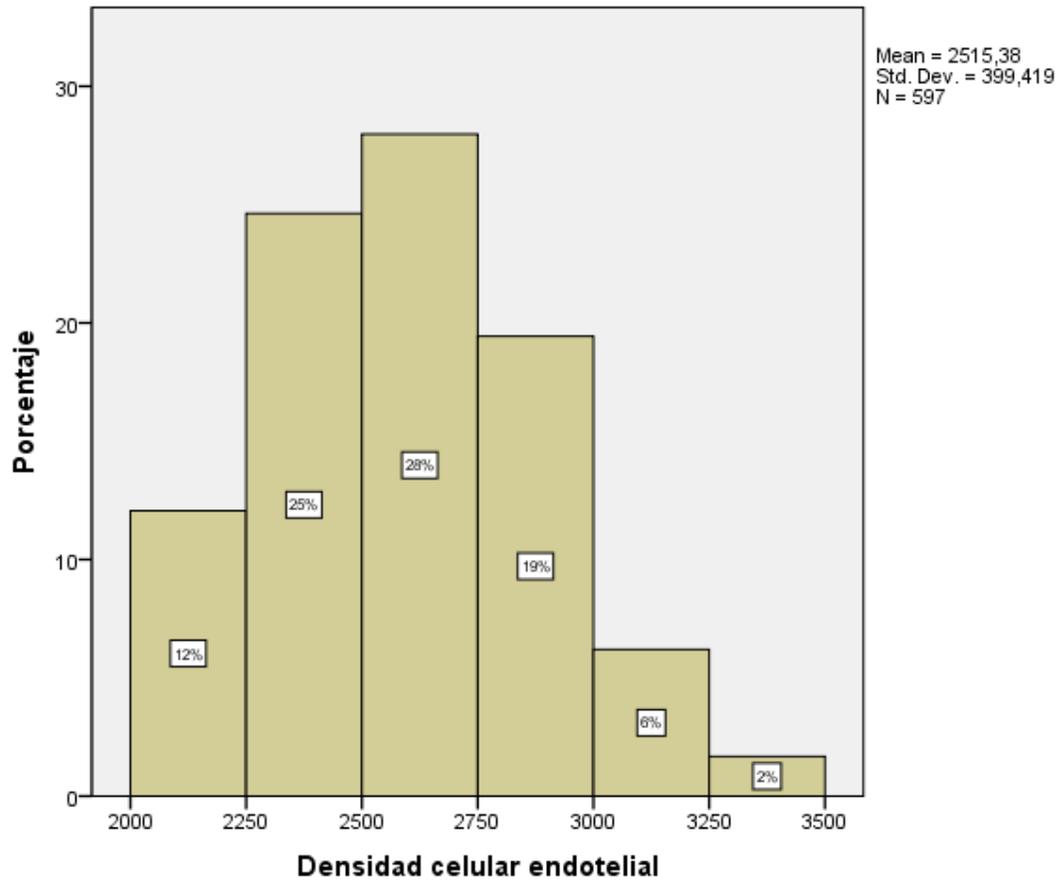


Figura 34. Diagrama de barras mostrando los porcentajes de córneas donantes mayores de 40 años que se seleccionaron para trasplante penetrante o lamelar DALK de 2012 a 2017.

8.3 Porcentaje de éxito

Todas las cirugías fueron realizadas con la misma técnica quirúrgica, por el mismo equipo quirúrgico (JA+MN) y utilizando los mismos protocolos a lo largo del estudio. Las únicas variaciones a lo largo del estudio fue el paso de un inyector de lente epicapsular (81% de los casos en ambos grupos) al paso a un inyector de lente tipo lente de saco (19%); eliminando así la necesidad de un tapón de viscoelástico para asegurar el injerto. Por otro lado, se pasó de una capsulorrexis manual en el 42% de los FACODMEK a utilizar un láser de femtosegundos en el 58% restante. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los grupos ni en los resultados de visión y supervivencia celular endotelial por estos dos factores. Dado que el estudio se ha limitado a casos de distrofia de Fuchs en su primer trasplante, excluyendo aquellos con lentes de cámara anterior de apoyo angular o válvulas de drenaje, se puede razonar que no existen sesgos significativos por ser ojos “vírgenes”, salvo la intervención de la catarata en el grupo DMEK.

El porcentaje de éxito fue similar en ambos grupos, tanto en las cirugías primarias como en las secundarias. El éxito inicial es del 72,2-75%. Aunque la rentabilidad del segundo injerto tiende a ser menor con un 62,5-66,7%; el poder resolver el 90,6%-93,2% de los casos con dos cirugías de trasplante endotelial es un muy buen resultado global; sobre todo teniendo en cuenta la buena agudeza visual que se alcanza y mantiene a partir del sexto mes tras la intervención. La posibilidad de un segundo injerto de rescate obliga a disponer de una logística que asegure una disponibilidad suficiente de donantes. El tiempo para obtener un nuevo donante es incierto dada la naturaleza de las donaciones altruistas, pero dado que el resultado global con un segundo injertos es menor que el primero, se debe considerar un caso preferente para mejorar las posibilidades de éxito. En nuestro centro, tras el diagnóstico de fracaso primario o secundario se trata de re trasplantar dentro de los tres meses siguientes.

Queda un 9,3-9,4% de casos que quedan fuera de estos buenos resultados y terminan necesitando un tercer injerto, incluso un trasplante penetrante. Por ello no se puede restar importancia al riesgo que conlleva una cirugía de trasplante endotelial; especialmente en casos de estadio I, que ya empiezan a tener catarata significativa. En estos

casos hay que buscar un equilibrio entre la disminución de capacidad visual frente al riesgo de llegar a un tercer injerto de resultado incierto. En este porcentaje de casos que no se pueden resolver en 2 injertos DMEK consecutivos, hay que reevaluar la comorbilidad ocular con atención al glaucoma, inflamación subclínica, e incluso reevaluar el diagnóstico inicial antes de la tercera cirugía.

En la literatura la necesidad de re operaciones de trasplante es variable, con un rango desde el 3%(42-44) ,5%(45), al 8% (32). En nuestra serie llega hasta el 25%. Aunque es una tasa elevada, con 2 injertos sucesivos se llega hasta una tasa más reducida de fracasos del 10%, más acorde con la literatura. Postulamos que nuestra tasa inicial elevada de fracaso secundario está relacionada con la curva de aprendizaje hasta la introducción sistemática del manitol preoperatorio para conseguir más espacio en el ojo para realizar la cirugía de manera más cómoda. Por otro lado está demostrado que los resultados de supervivencia y capacidad visual y ultraestructura tras un reinjerto pueden ser equivalentes al injerto inicial exitoso (4, 42, 46). De esta manera, podemos aspirar a alcanzar un buen resultado visual incluso tras dicho reinjerto, más frecuente en nuestra serie.

8.4 Supervivencia celular endotelial

La supervivencia celular endotelial es el parámetro más importante de cara a la supervivencia a largo plazo de un injerto. En nuestra serie, el caso más longevo lleva seis años y se mantiene transparente con un recuento endotelial residual de 753 células, 72% de pérdida desde el donante y agudeza visual corregida de 1.0 (figura 35). Como referencia, el primer DMEK operado en el mundo por Melles es el caso más longevo y lleva 10 años transparente con una pérdida endotelial del 68% (34).

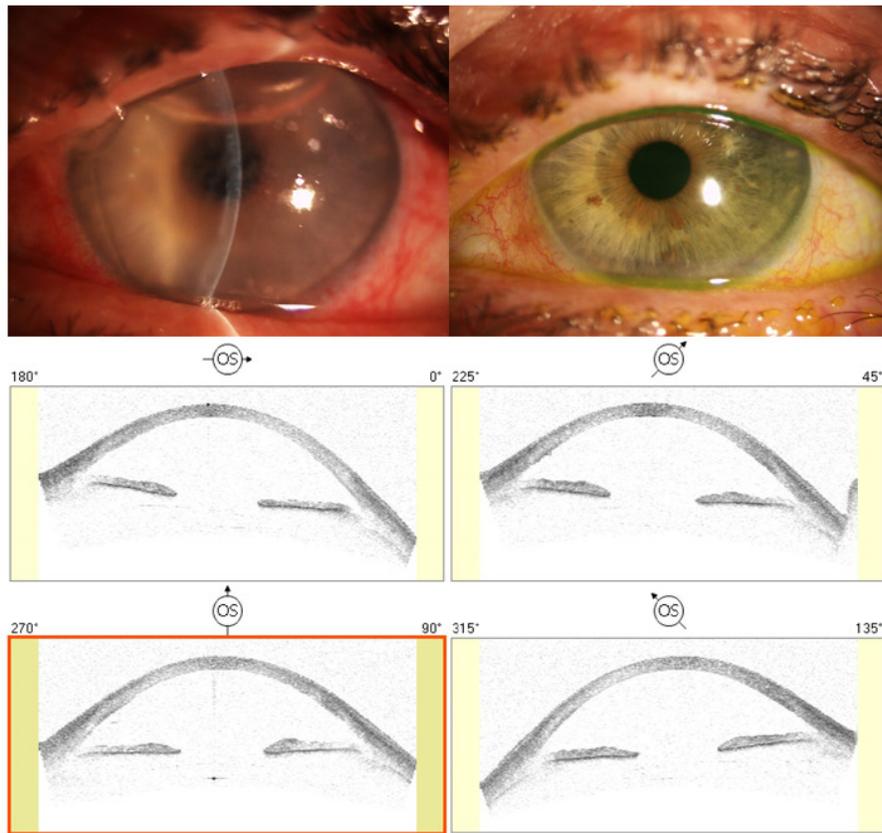


Figura 35. Fotografías de biomicroscopía del primer caso de nuestra serie, tras la cirugía y 6 años más tarde. Obsérvese la transparencia y adhesión mantenida del injerto al sexto año en el mosaico inferior de imágenes de OCT-Visante del segmento anterior.

Existe cierta variabilidad intrínseca en las medidas seriadas de densidad celular endotelial, incluso para el mismo paciente, pero en series amplias la variabilidad disminuye. Para reducir el sesgo del evaluador, y teniendo en cuenta que la curva de pérdida endotelial está bien documentada por los estudios de Price y Melles (30, 47), se utilizó preferentemente un sistema computarizado independiente del operador y se exigió una calidad de la interpretación mínima del 60%. Además se revisó la coherencia de las medidas seriadas de cada paciente y se excluyeron las que se desviaban exageradamente del patrón conocido de descenso precoz y meseta tardía.

En nuestra serie la pérdida endotelial a seis y doce meses no fue significativamente diferente entre ambos grupos y coincide con el patrón conocido para el trasplante endotelial DMEK. Ambos grupos sufrieron una pérdida media cercana al 51% a seis meses y del 54-57% a un año, correspondiente a la fase de meseta esperada. En la literatura científica los estudios pivotaes son series de casos monocéntricos que llegan a los 500 trasplantes, y revelan los datos de pérdida endotelial a seis meses en condiciones ideales (37-39,3%) (31, 33, 48). Los datos de la situación real provienen de la serie más larga publicada en un estudio multicéntrico de 18 equipos, incluyendo el nuestro, que analizó pérdidas a 6 meses de 275 casos (30). En ella, la pérdida a seis meses fue de $47\pm 20\%$; más parecida a nuestros resultados.

Para poder extraer conclusiones más sólidas hay que aumentar el tamaño de la muestra. En esa línea nuestros datos se han unido a los de 57 equipos seleccionados en todo el mundo, liderados por el Dr. Melles, para realizar el mayor estudio multicéntrico de DMEK hasta la fecha, con cerca de 2500 trasplantes. En los próximos meses se publicarán los resultados y podremos estimar si las pérdidas celulares endoteliales de nuestra serie son asumibles. El posible exceso de pérdida de densidad celular endotelial en nuestro estudio lo achacamos a nuestra propia curva de aprendizaje, ya que los casos correspondientes a la segunda mitad del estudio tienen resultados más acordes con la literatura.

Aunque muchos estudios limitan el seguimiento a seis meses (30, 47-49), el nuestro ha llegado a los dos años; como los mejores estudios de referencia. De este modo, podemos asegurar que los casos considerados como exitosos no tuvieron un agotamiento inesperado a medio plazo. Dicho agotamiento se observó dentro del primer año en un caso de cada grupo. Uno de ellos se puede achacar a exceso de manipulación y el otro se relaciona con una probable endotelitis herpética. Ambos se marcaron como fracasos tardíos. De este modo reducimos el impacto del sesgo de seguimiento escaso. Para estimar cuántos trasplantes están en riesgo de agotamiento tardío, se estudió el porcentaje de injertos con densidades celulares menores de 500 células/mm² a lo de dos años de seguimiento. Este porcentaje se ha mantenido en un rango constante de 3,3-6,7%. Este dato refleja una buena supervivencia de nuestros trasplantes a medio plazo.

8.5 Agudeza visual

Para analizar la recuperación visual de los pacientes en los dos grupos se ha utilizado un enfoque doble: Una cohorte completa que permite estudiar los resultados visuales “en la práctica real” y una segunda cohorte seleccionada para los casos de alto potencial visual para poder comparar la velocidad y máxima capacidad de visión entre ambos grupos. Con este segundo análisis se evita el sesgo potencial por los casos ya descompensados desde su cirugía de cataratas y con comorbilidades retinianas secundarias que puedan penalizar al grupo control. De hecho, aquellos pacientes ya intervenidos previamente de facoemulsificación de catarata, tienen endotelios que se habían agotado progresivamente hasta tener edema corneal. Por ello la agudeza visual preoperatoria no es comparable.

La notación decimal con desviación estándar es más intuitiva para apreciar las pequeñas diferencias en agudeza visual. Una vez convertida a LogMAR, la variable pasa de ser discontinua a continua y se pueden hacer cálculos más exactos. Sin embargo, dado que los estudios pivotaes pasados facilitan las visiones corregidas en tramos porcentuales como una variable discontinua, se indican también aquí de ese modo. En esa notación, la velocidad de avance en visión de 6 a 12 meses en el grupo DMEK puede inducir a apreciaciones inexactas.

Las agudezas visuales corregidas a seis meses fueron muy buenas con visión de 0,74 en DMEK y 0,81 en FACODMEK de media y dispersiones similares de su desviación estándar en 0,2 en la cohorte completa. Expresado en porcentajes agrupados, el 84% de DMEK y 89% de FACODMEK veían más de 0,5; el 61-68% más de 0,8 y el 26-11% llegaba a 1.0. De manera similar, en la cohorte de alto potencial visual se llegó a visión decimal de 0,83 en DMEK y 0,85 en FACODMEK con dispersión incluso menor de 0,1. No se han observado diferencias significativas entre ambos grupos en ninguna de las dos cohortes.

Atendiendo a la velocidad de recuperación visual, se observa una tendencia no significativa del grupo FACODMEK con mayor cantidad de casos agrupados en las

mejores agudezas visuales a seis meses. En los análisis intermedios esta tendencia era más clara con dos líneas de visión de diferencia, pero se fue atenuando según la muestra fue mayor y dispuso de más seguimiento. Se puede teorizar que la velocidad de recuperación del grupo FACODMEK fue más rápida porque esas córneas no tuvieron que sufrir la descompensación previa tras la catarata. De hecho, esta observación se apoya en que la tendencia sólo se observa en la cohorte completa, no en la cohorte de alto potencial visual.

Sin embargo, los datos a 12 meses son concluyentes: Ambos grupos llegan a la misma visión máxima en la cohorte completa ($0,81\pm 0,2$) y en la cohorte de alto potencial visual ($0,86\pm 0,1$). Expresado en porcentajes agrupados, el 96% veía más de 0,5; el 68-74% más de 0,8 y el 40-42% llegaban a 1.0. En la cohorte de alto potencial esos porcentajes suben al 100% más de 0,5; 79% más de 0,8 y 37-45% a 1.0. Las series pivotales publicadas tienen resultados similares a 6 y 12 meses (30-33), con un 75% por encima de 0,5, 41 por encima de 0,8, y 13% a 1.0. En la cohorte de alto potencial visual: 66 por encima de 0,8 y 36 por encima de 1.0.

8.6 Índices de evaluación refractiva

En los datos presentados en el grupo DMEK se induce un cambio esférico de +0,5D hipermetrópico, mientras que en el grupo FACODMEK se induce un -0,25 miópico. Dado que en el caso de FACODMEK el cálculo de la lente intraocular se planea con -0,75D respecto a la emetropía, ambos grupos no son comparables en este aspecto. El efecto refractivo del trasplante sobre la córnea sólo se puede evaluar en el grupo DMEK. En el grupo FACODMEK, el cambio miópico se debe por la hipocorrección planeada de antemano. Además, la diferencia en la dispersión en la magnitud de la esfera es menor en el grupo FACODMEK con 0,76D frente a 1,14D en DMEK y se explica por la mayor atención al cálculo de la lente en las cirugías combinadas (tabla 7.10). Esto se correlaciona con mayor precisión en el componente esférico de la predictibilidad en el grupo FACODMEK.

En cuanto al cilindro, se espera por nuestro nomograma de incisiones de catarata que la incisión corneal límbica de 3mm a 90° produzca un cambio refractivo aplanando el

meridiano de la incisión entre 1,0-1,5D. La inducción del cilindro depende del eje del meridiano más curvo preoperatorio, y ello puede explicar que al operar la catarata preferentemente por el meridiano más curvo en los FACODMEK y aprovechar la misma incisión para la introducción del injerto, el cambio cilíndrico sea menor en este grupo.

Desde los últimos 5 años se han empezado a estudiar los trasplantes endoteliales operados de catarata como una cirugía cuasi-refractiva (31, 50-54). Los índices refractivos observados en nuestra muestra en cuanto a eficacia (1,9 DMEK y 1,3 FACODMEK), seguridad (3,5 DMEK y 3,4 FACODMEK) y predictibilidad ($EE \pm 1D$ 63% DMEK y 79% FACODMEK) confirman las observaciones de la bibliografía de que efectivamente el proceso se puede entender desde el enfoque de la cirugía refractiva. Según estos resultados el grupo FACODMEK es el más beneficiado ya que al partir de córneas vírgenes la planificación y cálculo de la lente es más exacta en el triple procedimiento. A pesar de compensar el cambio hipermetrópico descrito de +0,5D con un rango de tras el DMEK (47, 48, 52, 55), la inducción de astigmatismo sigue siendo un tema complejo. En nuestra opinión, la planificación de la vía de acceso sea corneal, límbica o incluso escleral, generalmente es a 90° para facilitar la inserción del injerto y favorecer un correcto despliegue. Planearla al meridiano más curvo en una posición extrema y arriesgar el éxito del implante nos parecen consideraciones secundarias; especialmente dado que existe la posibilidad de realizar un tratamiento posterior con láser excímer. Aunque ha habido dudas sobre esta posibilidad y ningún estudio sobre el tema (56), en nuestra experiencia limitada de 3 ojos, la corrección al año del injerto con LASIK fue factible, estable y segura.

8.7 Complicaciones intra y postoperatorias

Las complicaciones registradas están sobre todo relacionadas con la adhesión del injerto. Al inicio del estudio se postulaba si los restos de viscoelástico cohesivo que pudieran quedar adheridos al estroma desnudo, podrían inducir mayor tasa de desprendimientos en el grupo FACODMEK. Sin embargo, en nuestro estudio hemos observado que tanto los desprendimientos parciales de menos y más de un tercio de la superficie fueron el doble de frecuentes en el grupo de DMEK. De todas maneras, no es significativo porque ambos grupos se equiparan en cuanto a la afectación de la visión central provocada por dicho

desprendimiento (20-22%). En consonancia, el porcentaje de rebubbling es similar en ambos grupos (25%). Como se ha comentado, el uso de una mínima cantidad de viscoelástico cohesivo como tapón en los inyectores de lente epicapsular no provocó diferencias entre grupos, pero globalmente si el doble de *rebubblings* respecto al inyector de lente de saco, que no lleva el tapón (27,5%-12,5%; $p=0,051$). No hubo diferencias en cuanto a éxito de trasplante ni supervivencia celular. Este hallazgo debe ser matizado, ya que el uso del inyector de lente epicapsular se realizó al principio de la curva de aprendizaje. En la literatura, la tasa de *rebubblings* no se ha asociado a mayor fracaso del injerto sino a cirujanos más veteranos que son más agresivos en el manejo del desprendimiento inicial(57). De hecho, las sucesivas series publicadas (58) tienen tasas de rebubbling muy variables 20-50% (32, 59). La necesidad de reinjerto ya se ha comentado anteriormente y la causa fue generalmente por fallo secundario, siendo el primario relativamente infrecuente 6-2,8%.

La inducción o exacerbación de un glaucoma previo se mantuvo en cifras de 2,8-4,5%, correspondientes a la literatura (60). Solo se documentó un evento en el postoperatorio inmediato y estuvo asociado al uso de una concentración excesiva de gas SF6 (>20%) en la burbuja residual postoperatoria. Con la realización de una iridotomía intraoperatoria, las elevaciones de presión intraocular se pudieron manejar sin dificultad ya que los pacientes por protocolo están en régimen de ingreso hospitalario las primeras 24h desde el trasplante. A pesar de que recientemente se ha descrito la aparición de parálisis pupilares de tipo Urrets-Zavalía en casos de cirugía combinada de “triple procedimiento” (61), en nuestra serie no se han descrito. El resto de complicaciones descritas durante el postoperatorio, fueron infrecuentes y en incidencia comparable a las otras series referenciadas previamente. Las consideraciones técnicas intraoperatorias específicas del grupo FACODMEK para prevenir complicaciones derivadas de la cirugía simultánea fueron: el uso rutinario de 100ml de manitol intravenoso preoperatorio, anestesia peribulbar con sedación profunda, capsulorrexia de 4,8mm para evitar desplazamiento de la lente intraocular recién implantada, uso de material hidrofóbico en las lentes intraoculares para evitar el daño del material con el contacto con el aire (*glistening*), sutura de la incisión de catarata tras su uso para introducir el injerto endotelial; y prevención de un contacto

prolongado entre el injerto y la cara anterior de la lente recién implantada en la fase de despegamiento a fin de evitar que algunas células endoteliales pudieran quedar adheridas a la cara anterior de la lente.

8.8 Gasto relativo de tejido donante

Dado que nuestra serie presenta un índice de re operaciones mayor que otras series de referencia, se hizo éticamente necesario calcular el exceso de tejido que se estaba utilizando globalmente para conseguir solventar los casos. En ambos grupos el ratio fue de 1,25 córneas utilizadas por caso resuelto. Este ratio es congruente con la falta de diferencias estadísticamente significativas en la efectividad del trasplante en ambos grupos de estudio. Como se ha mencionado anteriormente, se está obteniendo de rutina tejido estromal desnudo de endotelio como subproducto de la preparación de un injerto DMEK. A continuación es re envasado a -70°C en DMEM-albúmina-glicerol en condiciones estériles dentro del establecimiento de tejidos para su uso como injerto lamelar DALK en el futuro en casos seleccionados. Esta estrategia ya ha sido validada por otros equipos de referencia durante el curso del estudio (62-65), y permite subsanar el exceso de tejido endotelial utilizado.

8.9 Abordaje general del problema

El abordaje del problema de la catarata y distrofia endotelial de Fuchs concomitante en nuestro medio requiere de dos consideraciones: Primera, en manos expertas, la cirugía de la catarata mediante facoemulsificación y apoyada por láser de femtosegundo es un procedimiento muy eficaz, predecible y seguro para lograr la independencia de gafa. Nuestro grupo ha sido pionero durante años en ese compromiso con la emetropía.

Segundo, la queratoplastia de membrana de Descemet se ha impuesto como la técnica de mayor capacidad de rehabilitación visual en la distrofia de Fuchs.

Por ambas razones, el abordaje lógico es combinar ambos procesos en uno simultáneo. Dado que al inicio de este estudio en 2011 había indicios de que era factible

basándose en la experiencia con el “nuevo triple procedimiento” con DSAEK y de que se disponía de experiencia limitada sobre la combinación de ambas técnicas (47), decidimos aplicar nuestro bagaje en cirugía de catarata y combinarlo con el nuevo abordaje. Como cabía esperar que potencialmente la combinación de técnicas pudiera afectar al trasplante se decidió establecer un estudio comparativo y adherirse a un estricto protocolo con análisis intermedios semestrales. A lo largo de este tiempo se han ido acumulando las evidencias que apoyan la viabilidad del enfoque.

También han aparecido evidencias que avalan la posibilidad de realizar DMEK en casos precoces con cristalinos transparentes sin necesidad de abordar la cirugía de catarata durante muchos años, con mínimas pérdidas endoteliales tras ella (66). La realidad es que en nuestro medio dicha situación es altamente infrecuente y el diagnóstico de la disfunción visual por Fuchs rara vez coincide con un cristalino transparente.

Los resultados de nuestro estudio revelan que ambos abordajes simultáneo y diferido son equivalentes, siempre que se garantice una cirugía de catarata reglada y sin complicaciones. La elección de cómo abordar cada caso dependerá de los medios técnicos disponibles, la disponibilidad de tejido y la necesidad visual del paciente. En general el abordaje secuencial es el más sencillo y permite esperar un tiempo prudencial para ver si la córnea se mantiene relativamente estable y el paciente considera suficiente su visión tras la cirugía de catarata. En cuanto se observen signos de descompensación se debe ir planeando el trasplante ya que la disponibilidad de donante es incierta y en nuestro estudio un intervalo muy prolongado (superior a 40 meses) entre la cirugía de catarata y el trasplante se asoció con mayor riesgo de fracaso del mismo. En casos con buena visibilidad de la cámara anterior y comorbilidad ocular como glaucoma, presión vítrea posterior anticipada o sinequias, el abordaje secuencial es más adecuado.

En cambio, en los casos de gran anisometropía, con cámara anterior de anatomía normal y necesidad por parte del paciente de una rápida rehabilitación visual de ambos ojos, el abordaje simultáneo puede ser el más indicado. Una situación que anticipe una rápida descompensación y pérdida de visibilidad en la cámara anterior puede hacernos decantarnos por el abordaje simultáneo ya que en el secuencial podríamos encontrar que al llegar al segundo paso ya no es factible por mala visualización de las estructuras. Sin

embargo, es importante apuntar que las cámaras anteriores extremadamente estrechas (<2 mm) se suelen asociar a presión vítrea severa y no son buenos candidatos para el triple procedimiento simultáneo.

En cuanto a la elección de la lente intraocular, se debe evitar el uso de material hidrofílico acrílico (67) por la posibilidad de opacificación de la lente en contacto prolongado con el aire. También recomendamos calcular la potencia de LIO a -0,75D para compensar la variación hipermetrónica esperada y evitar el uso de lentes tóricas. En la literatura hay series con lentes tóricas(50), pero solo deberían indicarse en caso de que se dispongan de datos fiables del astigmatismo corneal previo al inicio de los síntomas de edema. Una vez implantada una LIO tórica, una sorpresa refractiva es de difícil manejo, mientras que un LASIK secundario o un implante de lente epicapsular tórica en *piggy-back* es más sencillo y potencialmente menos dañino al endotelio que un recambio de lente en saco.

Dada la excelente rehabilitación anatómica y funcional de la córnea tras un DMEK exitoso, se plantea para el futuro la posibilidad de estudiar cómo respondería a una lente multifocal. En nuestra experiencia, casos fuera del estudio previamente intervenidos con LIO multifocal que sufrieron una descompensación endotelial secundaria, han podido ser tratados con DMEK alcanzando una buena visión en los focos determinados por la lente intraocular. En el futuro será interesante realizar estudios más pormenorizados para saber si estas lentes *premium* son compatibles con un triple procedimiento simultáneo.

9. Futuros proyectos

Siguiendo con las líneas actuales de investigación en nuestro equipo del departamento de córnea del Instituto Oftalmológico Fernández-Vega y del laboratorio de histología de la Fundación de Investigación Oftalmológica:

- Estudiar el abordaje refractivo de un procedimiento en principio terapéutico: Estudiar el estado refractivo de los ojos rehabilitados de pacientes previamente afectados de distrofia endotelial y ya operados con lentes Premium bifocales y trifocales (en curso). En caso de observarse un buen resultado funcional en esos casos, pasaríamos a realizar triples procedimientos simultáneos en casos seleccionados con facoemulsificación de catarata asistida por láser de femtosegundo, implante de LIO Premium y trasplante DMEK.
- Desarrollo de un sustituto semi-sintético a los donantes de endotelio DMEK. Desarrollo de un soporte sintético alogénico de colágeno con características físico-químicas similares a la membrana de Descemet y expandir sobre el mismo un cultivo de células humanas endoteliales corneales (en curso). Potencialmente implantar el constructo en un modelo animal para confirmar sus propiedades biológicas. Eventualmente poder pasar de ingeniería de tejidos a investigación traslacional y poder implantarlo en pacientes humanos, con el objetivo de paliar la escasez crónica de donantes adecuados para DMEK.

10. Conclusiones

1. Partiendo de donantes de máxima calidad, conservados a 31°C y preparados con antelación en establecimiento de tejidos, y garantizando una cirugía de catarata sin complicaciones, la eficacia y seguridad de la cirugía simultánea de catarata y trasplante DMEK en la distrofia de Fuchs son comparables a las de la cirugía diferida.
2. Es posible establecer una normativa de procedimientos y operaciones para el proceso completo desde la donación hasta el implante del tejido en nuestro medio.
3. El porcentaje de éxito del trasplante es similar a corto y medio plazo en la cirugía simultánea y diferida.
4. La supervivencia del injerto, medida como densidad celular endotelial a seis y doce meses tras el trasplante endotelial es comparable en la cirugía simultánea y diferida.
5. La agudeza visual corregida a seis y doce meses tras la cirugía simultánea es comparable con la alcanzada con la cirugía diferida.
6. Los índices de evaluación de eficacia, seguridad y predictibilidad hacen que la cirugía de catarata combinada con trasplante DMEK en cirugía simultánea y diferida puedan ser consideradas como procedimientos cuasi-refractivos.
7. La paquimetría a seis meses tras la cirugía simultánea es comparable con la alcanzada con la cirugía diferida.
8. El porcentaje de complicaciones perioperatorias en cirugía simultánea es comparable con la experimentada en la cirugía diferida.
9. El gasto relativo de tejido en cirugía simultánea es comparable con el experimentado en la cirugía diferida.

11. Referencias

1. Seitzman GD. Cataract surgery in Fuchs' dystrophy. *Current opinion in ophthalmology*. 2005;16(4):241-5.
2. EBAo. A. Eye Banking Statistical Report. Washington, DC: Eye Bank Association of America. 2015.
3. Maria A. Woodward DLD, Shahzad Mian. Eyewiki. Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty: American Academy of Ophthalmology; 2015 [updated December 2105]. Available from: [http://eyewiki.org/Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty](http://eyewiki.org/Descemet_Membrane_Endothelial_Keratoplasty).
4. Dirisamer M, Parker J, Naveiras M, Liarakos VS, Ham L, van Dijk K, et al. Identifying causes for poor visual outcome after DSEK/DSAEK following secondary DMEK in the same eye. *Acta ophthalmologica*. 2013;91(2):131-9.
5. Kim P, Brodbaker E, Lichtinger A, Yeung SN, Bahar I, Iovieno A, et al. Outcomes of repeat endothelial keratoplasty in patients with failed deep lamellar endothelial keratoplasty. *Cornea*. 2011;30(11):1183-6.
6. Zhang J, Patel DV. The pathophysiology of Fuchs' endothelial dystrophy--a review of molecular and cellular insights. *Experimental eye research*. 2015;130:97-105.
7. Gerrit Melles ID. How to get started with standardized 'No-touch' DMEK. Sidestone Press, Leiden: The Netherlands Institute for Innovative Ocular Surgery 2014.
8. Melles GR, Eggink FA, Lander F, Pels E, Rietveld FJ, Beekhuis WH, et al. A surgical technique for posterior lamellar keratoplasty. *Cornea*. 1998;17(6):618-26.
9. Tillett CW. Posterior lamellar keratoplasty. *American journal of ophthalmology*. 1956;41(3):530-3.
10. Terry MA, Ousley PJ. Deep lamellar endothelial keratoplasty in the first United States patients: early clinical results. *Cornea*. 2001;20(3):239-43.
11. Melles GR, Lander F, Nieuwendaal C. Sutureless, posterior lamellar keratoplasty: a case report of a modified technique. *Cornea*. 2002;21(3):325-7.
12. Terry MA, Ousley PJ. Small-incision deep lamellar endothelial keratoplasty (DLEK): six-month results in the first prospective clinical study. *Cornea*. 2005;24(1):59-65.
13. Melles GR, Wijdh RH, Nieuwendaal CP. A technique to excise the descemet membrane from a recipient cornea (descemetorhexis). *Cornea*. 2004;23(3):286-8.
14. Price FW, Jr., Price MO. Descemet's stripping with endothelial keratoplasty in 50 eyes: a refractive neutral corneal transplant. *Journal of refractive surgery*. 2005;21(4):339-45.
15. Gorovoy MS. Descemet-stripping automated endothelial keratoplasty. *Cornea*. 2006;25(8):886-9.
16. Azar DT, Jain S, Sambursky R, Strauss L. Microkeratome-assisted posterior keratoplasty. *Journal of cataract and refractive surgery*. 2001;27(3):353-6.
17. Chen ES, Terry MA, Shamie N, Hoar KL, Friend DJ. Precut tissue in Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty donor characteristics and early postoperative complications. *Ophthalmology*. 2008;115(3):497-502.

18. Price MO, Gorovoy M, Benetz BA, Price FW, Jr., Menegay HJ, Debanne SM, et al. Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty outcomes compared with penetrating keratoplasty from the Cornea Donor Study. *Ophthalmology*. 2010;117(3):438-44.
19. Dapena I, Ham L, Melles GR. Endothelial keratoplasty: DSEK/DSAEK or DMEK--the thinner the better? *Current opinion in ophthalmology*. 2009;20(4):299-307.
20. Park CY, Lee JK, Gore PK, Lim CY, Chuck RS. Keratoplasty in the United States: A 10-Year Review from 2005 through 2014. *Ophthalmology*. 2015;122(12):2432-42.
21. Dickman MM, Kruit PJ, Remeijer L, van Rooij J, Van der Lelij A, Wijdh RH, et al. A Randomized Multicenter Clinical Trial of Ultrathin Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty (DSAEK) versus DSAEK. *Ophthalmology*. 2016;123(11):2276-84.
22. Zoega GM, Fujisawa A, Sasaki H, Kubota A, Sasaki K, Kitagawa K, et al. Prevalence and risk factors for cornea guttata in the Reykjavik Eye Study. *Ophthalmology*. 2006;113(4):565-9.
23. Lorenzetti DW, Uotila MH, Parikh N, Kaufman HE. Central cornea guttata. Incidence in the general population. *American journal of ophthalmology*. 1967;64(6):1155-8.
24. Pineros OE, Cohen EJ, Rapuano CJ, Laibson PR. Triple vs nonsimultaneous procedures in Fuchs' dystrophy and cataract. *Archives of ophthalmology*. 1996;114(5):525-8.
25. Taylor DM. Keratoplasty and intraocular lenses. *Ophthalmic surgery*. 1976;7(1):31-42.
26. Hayashi K, Hayashi H. Simultaneous versus sequential penetrating keratoplasty and cataract surgery. *Cornea*. 2006;25(9):1020-5.
27. Covert DJ, Koenig SB. New triple procedure: Descemet's stripping and automated endothelial keratoplasty combined with phacoemulsification and intraocular lens implantation. *Ophthalmology*. 2007;114(7):1272-7.
28. Terry MA, Shamie N, Chen ES, Phillips PM, Shah AK, Hoar KL, et al. Endothelial keratoplasty for Fuchs' dystrophy with cataract: complications and clinical results with the new triple procedure. *Ophthalmology*. 2009;116(4):631-9.
29. Tsui JY, Goins KM, Sutphin JE, Wagoner MD. Phakic descemet stripping automated endothelial keratoplasty: prevalence and prognostic impact of postoperative cataracts. *Cornea*. 2011;30(3):291-5.
30. Monnereau C, Quilendrin R, Dapena I, Liarakos VS, Alfonso JF, Arnalich-Montiel F, et al. Multicenter study of descemet membrane endothelial keratoplasty: first case series of 18 surgeons. *JAMA ophthalmology*. 2014;132(10):1192-8.
31. Laaser K, Bachmann BO, Horn FK, Cursiefen C, Kruse FE. Descemet membrane endothelial keratoplasty combined with phacoemulsification and intraocular lens implantation: advanced triple procedure. *American journal of ophthalmology*. 2012;154(1):47-55 e2.
32. McKee Y, Price MO, Gunderson L, Price FW, Jr. Rapid sequential endothelial keratoplasty with and without combined cataract extraction. *Journal of cataract and refractive surgery*. 2013;39(9):1372-6.

33. Rodriguez-Calvo-de-Mora M, Quilendrin R, Ham L, Liarakos VS, van Dijk K, Baydoun L, et al. Clinical outcome of 500 consecutive cases undergoing Descemet's membrane endothelial keratoplasty. *Ophthalmology*. 2015;122(3):464-70.
34. Baydoun L, Muller T, Lavy I, Parker J, Rodriguez-Calvo-de-Mora M, Liarakos VS, et al. Ten-Year Clinical Outcome of the First Patient Undergoing Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *Cornea*. 2017;36(3):379-81.
35. Lie JT, Birbal R, Ham L, van der Wees J, Melles GR. Donor tissue preparation for Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Journal of cataract and refractive surgery*. 2008;34(9):1578-83.
36. Droutsas K, Giallourous E, Melles GR, Chatzistefanou K, Sekundo W. Descemet membrane endothelial keratoplasty: learning curve of a single surgeon. *Cornea*. 2013;32(8):1075-9.
37. Lass JH, Sugar A, Benetz BA, Beck RW, Dontchev M, Gal RL, et al. Endothelial cell density to predict endothelial graft failure after penetrating keratoplasty. *Archives of ophthalmology*. 2010;128(1):63-9.
38. Patel SV. Graft survival and endothelial outcomes in the new era of endothelial keratoplasty. *Experimental eye research*. 2012;95(1):40-7.
39. Gerber-Hollbach N, Parker J, Baydoun L, Liarakos VS, Ham L, Dapena I, et al. Preliminary outcome of hemi-Descemet membrane endothelial keratoplasty for Fuchs endothelial dystrophy. *The British journal of ophthalmology*. 2016.
40. Vianna LM, Stoeger CG, Galloway JD, Terry M, Cope L, Belfort R, Jr., et al. Risk Factors for Eye Bank Preparation Failure of Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Tissue. *American journal of ophthalmology*. 2015.
41. Boynton GE, Woodward MA. Eye-bank preparation of endothelial tissue. *Current opinion in ophthalmology*. 2014;25(4):319-24.
42. Baydoun L, van Dijk K, Dapena I, Musa FU, Liarakos VS, Ham L, et al. Repeat Descemet membrane endothelial keratoplasty after complicated primary Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Ophthalmology*. 2015;122(1):8-16.
43. Gorovoy MS. DMEK Complications. *Cornea*. 2014;33(1):101-4.
44. Hlinomazova Z, Horackova M, Pirnerova L. [DMEK (Descemet membrane endothelial keratoplasty)--early and late postoperative complications]. *Ceska a slovenska oftalmologie : casopis Ceske oftalmologicke spolecnosti a Slovenske oftalmologicke spolecnosti*. 2011;67(3):75-9.
45. Ciechanowski PP, Droutsas K, Baydoun L, Dirisamer M, Oellerich S, Melles GR. [Standardized Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK): technique and latest results]. *Der Ophthalmologe : Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*. 2014;111(11):1041-9.
46. Cirkovic A, Schlotzer-Schrehardt U, Weller JM, Kruse FE, Tourtas T. Clinical and ultrastructural characteristics of graft failure in DMEK: 1-year results after repeat DMEK. *Cornea*. 2015;34(1):11-7.
47. 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.

48. Schoenberg ED, Price FW, Jr., Miller J, McKee Y, Price MO. Refractive outcomes of Descemet membrane endothelial keratoplasty triple procedures (combined with cataract surgery). *Journal of cataract and refractive surgery*. 2015;41(6):1182-9.
49. Dapena I, Ham L, Lie J, Van-Der-Wees J, Melles GR. [Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK): two-year results]. *Archivos de la Sociedad Espanola de Oftalmologia*. 2009;84(5):237-43.
50. Yokogawa H, Sanchez PJ, Mayko ZM, Straiko MD, Terry MA. Astigmatism Correction With Toric Intraocular Lenses in Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Triple Procedures. *Cornea*. 2017;36(3):269-74.
51. Girbardt C, Wiedemann P, Nestler A. [Triple Descemet membrane endothelial keratoplasty : Indications, variations and results]. *Der Ophthalmologe : Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*. 2016;113(3):213-6.
52. Girbardt C, Oertel N, Adamek-Dyk J, Wiedemann P, Nestler A. [Refractive changes in triple Descemet membrane endothelial keratoplasty]. *Der Ophthalmologe : Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*. 2016;113(3):217-22.
53. Hoerster R, Stanzel TP, Bachmann BO, Siebelmann S, Cursiefen C. Intensified Early Postoperative Topical Steroids Do Not Influence Endothelial Cell Density After Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Combined With Cataract Surgery (Triple-DMEK). *Cornea*. 2016;35(11):1396-400.
54. Chaurasia S, Price FW, Jr., Gunderson L, Price MO. Descemet's membrane endothelial keratoplasty: clinical results of single versus triple procedures (combined with cataract surgery). *Ophthalmology*. 2014;121(2):454-8.
55. Ham L, Dapena I, Moutsouris K, Balachandran C, Frank LE, van Dijk K, et al. Refractive change and stability after Descemet membrane endothelial keratoplasty. Effect of corneal dehydration-induced hyperopic shift on intraocular lens power calculation. *Journal of cataract and refractive surgery*. 2011;37(8):1455-64.
56. Price FW, Jr., Price MO, Guerra F. Is excimer laser corneal surgery appropriate after resolution of corneal edema in fuchs dystrophy by descemet membrane endothelial keratoplasty? *Journal of refractive surgery*. 2011;27(4):299-302.
57. Monnereau C, Bruinsma M, Ham L, Baydoun L, Oellerich S, Melles GR. Endothelial cell changes as an indicator for upcoming allograft rejection following descemet membrane endothelial keratoplasty. *American journal of ophthalmology*. 2014;158(3):485-95.
58. Kruse FE, Schrehardt US, Tourtas T. Optimizing outcomes with Descemet's membrane endothelial keratoplasty. *Current opinion in ophthalmology*. 2014;25(4):325-34.
59. Yoeruek E, Bayyoud T, Rock D, Szurman P, Bartz-Schmidt KU. [Clinical results after Descemet membrane endothelial keratoplasty]. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. 2012;229(6):615-20.
60. Naveiras M, Dirisamer M, Parker J, Ham L, van Dijk K, Dapena I, et al. Causes of glaucoma after descemet membrane endothelial keratoplasty. *American journal of ophthalmology*. 2012;153(5):958-66 e1.
61. Arnalich-Montiel F, Perez-Sarriegui A, Lauzirika G, Porrúa L, Hernandez-Verdejo JL. Pupillary Abnormalities in Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty After Nearly Full Tamponade. *Cornea*. 2017;36(3):290-4.

62. Yoeruek E, Bartz Schmidt KU. Current approaches to combat the shortage of corneal tissues: split-DMEK and double-split keratoplasty. *Cornea*. 2015;34(3):e6-9.
63. Tenkman LR, Price FW, Price MO. Descemet membrane endothelial keratoplasty donor preparation: navigating challenges and improving efficiency. *Cornea*. 2014;33(3):319-25.
64. Heindl LM, Cursiefen C. [Split-cornea transplantation - a novel concept to reduce corneal donor shortage]. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. 2012;229(6):608-14.
65. Groeneveld-van Beek EA, Lie JT, van der Wees J, Bruinsma M, Melles GR. Standardized 'no-touch' donor tissue preparation for DALK and DMEK: harvesting undamaged anterior and posterior transplants from the same donor cornea. *Acta ophthalmologica*. 2013;91(2):145-50.
66. Parker J, Dirisamer M, Naveiras M, Tse WH, van Dijk K, Frank LE, et al. Outcomes of Descemet membrane endothelial keratoplasty in phakic eyes. *Journal of cataract and refractive surgery*. 2012;38(5):871-7.
67. Milojcic C, Latz C, Tandogan T, Auffarth GU, Holz FG, Choi CY, et al. [Opacification of a hydrophilic acrylic intraocular lens after DMEK : A material analysis]. *Der Ophthalmologe : Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*. 2016.

12. Financiación

Beca SECOIR 2011 para iniciar el entrenamiento en NIIOS y estandarización de los procesos de establecimiento de tejidos y cirugía en el Centro Comunitario de Sangre y Tejidos de Asturias en colaboración con la Fundación de Investigación Oftalmológica, y procesos médico-quirúrgicos en el Instituto Oftalmológico Fernández-Vega.

No se han recibido otras fuentes de financiación para el desarrollo de este estudio.

13. Divulgación científica

13.1 Artículos científicos relacionados con el estudio en los que se ha participado

1. Melles G, Silke Oellerich, PhD; Lamis Baydoun, MD; Jorge Peraza-Nieves, MD; Abbas Ilyas; Laurence Frank, PhD; Perry S. Binder, MS MD; Gerrit Melles, MD PhD; on behalf of the International DMEK Study Group: (57 cirujanos seleccionados en todo el mundo. Entre ellos **Dr. Alfonso y Dr. Naveiras**) 2750 ojos estudiados. En revisión por Ophthalmology. 2017
2. Vazquez N, Chacon M, **Meana A**, Menendez-Menendez Y, Ferrero-Gutierrez A, Cereijo-Martin D, **Naveiras M**, Merayo-Lloves J: Keratin-chitosan membranes as scaffold for tissue engineering of human cornea. Histology and histopathology 2015, 30(7):813-821.
3. Satue M, Rodriguez-Calvo-de-Mora M, **Naveiras M**, Cabrerizo J, Dapena I, Melles GR: Standardization of the Descemet membrane endothelial keratoplasty technique: Outcomes of the first 450 consecutive cases. Archivos de la Sociedad Espanola de Oftalmologia 2015.
4. Monnereau C, Quilendrin R, Dapena I, Liarakos VS, **Alfonso JF**, Arnalich-Montiel F, Bohnke M, Pereira NC, Dirisamer M, Parker J, **Naveiras M** et al: Multicenter study of descemet membrane endothelial keratoplasty: first case series of 18 surgeons. JAMA ophthalmology 2014, 132(10):1192-1198.
5. Dirisamer M, Parker J, **Naveiras M**, Liarakos VS, Ham L, van Dijk K, Melles GR: Identifying causes for poor visual outcome after DSEK/DSAEK following secondary DMEK in the same eye. Acta ophthalmologica 2013, 91(2):131-139.
6. **Naveiras M**, Lisa C, Almanzar D, Alfonso JF. Combined Descemet's membrane endothelial keratoplasty, phacoemulsification and intraocular lens implantation in Fuchs' dystrophy. J Emmetropia 2013; 4: 65-71
7. **Naveiras M**, Dirisamer M, Parker J, Ham L, van Dijk K, Dapena I, Melles GR: Causes of glaucoma after descemet membrane endothelial keratoplasty. American journal of ophthalmology 2012, 153(5):958-966 e951.
8. Parker J, Dirisamer M, **Naveiras M**, Tse WH, van Dijk K, Frank LE, Ham L, Melles GR: Outcomes of Descemet membrane endothelial keratoplasty in phakic eyes. Journal of cataract and refractive surgery 2012, 38(5):871-877.

13.2 Capítulos en libro relacionados con el estudio en los que se ha participado

1. “Queratoplastia descemeto-endotelial y cirugía de catarata”. Queratoplastias, nuevas técnicas para el SXXI. Sociedad Española de Oftalmología. 2016
2. “DMEK complications”. How to get started with “Standardized “no-touch” Descemet Endothelial Keratoplasty. NIIOS. 2014
3. “Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty”. Córnea, Copeland and Asfhari. 2012

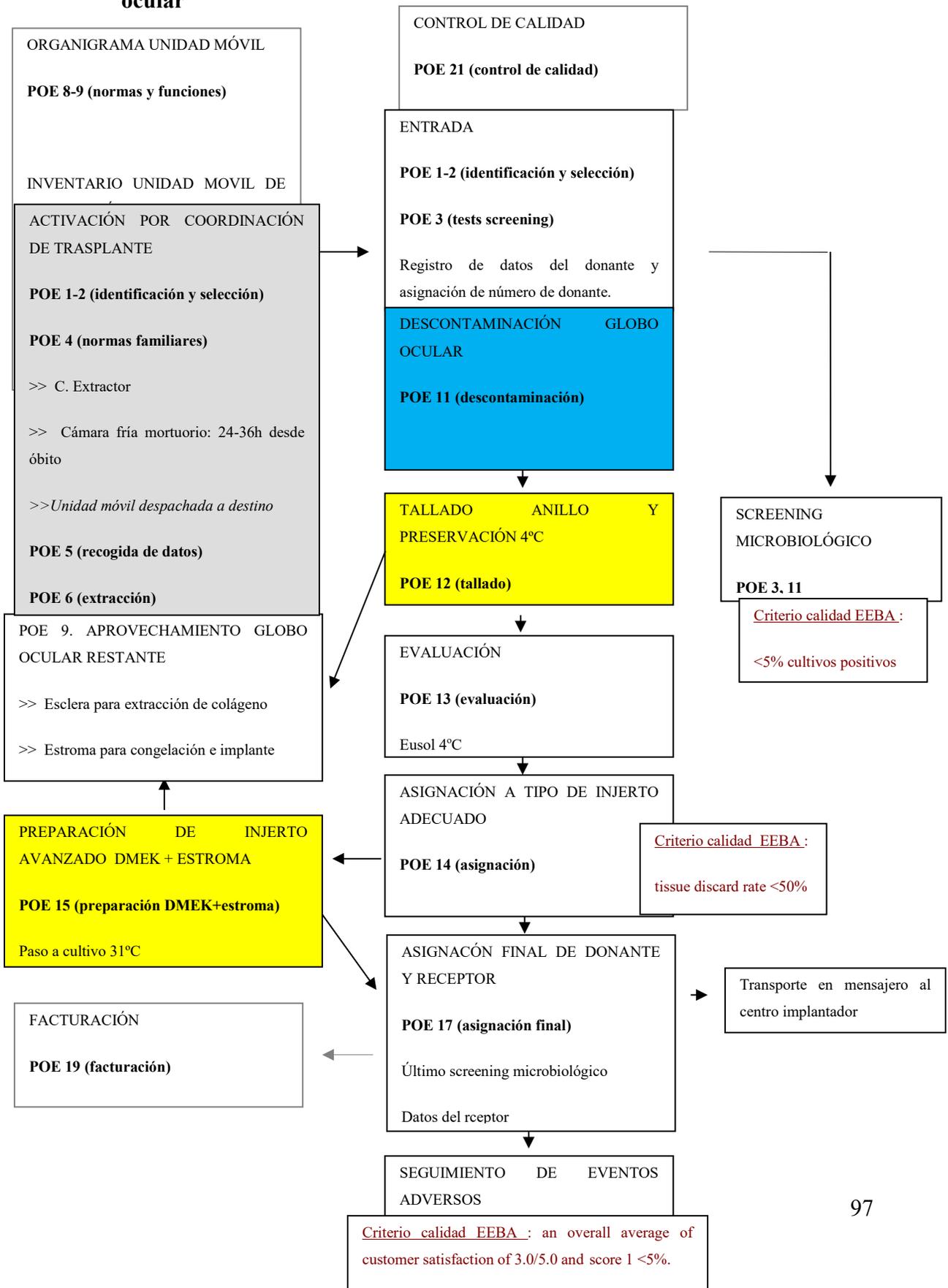
13.3 Comunicaciones en congreso relacionadas con el estudio en los que se ha participado como primer autor

1. SECOIR. Resultados morfofuncionales de DMEK asociado a lensectomía con implante de lente intraocular. 2015
2. SECOIR Criopreservación de estroma intacto tras preparación de tejido endotelial **(Premio a la mejor comunicación libre)**. 2014
3. European Society of Corneal and Refractive Surgeons. Prospective comparative study: DMEK vs. PhacoDMEK. Results and survival. 2014
4. Sociedad Española de Oftalmología: Estudio multicéntrico de DMEK. Primera serie de 18 cirujanos. 2014
5. European Society of Corneal and Refractive Surgeons. Prospective comparative study: DMEK vs. PhacoDMEK. Initial results of the triple procedure. 2013
6. Sociedad Española de Oftalmología: Estudio multicéntrico de DMEK. Primera serie de 18 cirujanos. 2013
7. Sociedad Española de Oftalmología: Causas de glaucoma tras DMEK. 2012
8. Sociedad Española de Oftalmología: Resultados visuales tras 300 DMEK. 2011
9. European Society of Corneal and Refractive Surgeons. Complications after 300 DMEKs. 2011

14. Anexos

14.1 Protocolos utilizados en banco de tejidos, cirugía y postoperatorio.

14.1.1 Procedimientos Operativos Estandarizados (POEs) en extracción de tejido ocular



14.1.1.1 POE 1: Identificación del donante potencial de tejidos

- El médico responsable del paciente fallecido será el encargado de facilitar al Coordinador hospitalario de trasplantes de su Hospital los datos personales y clínicos del fallecido y de su familiar.
- El coordinador de trasplante del Hospital activará al CCST, que asignará al donante un código anónimo con el formato CCST-número-ojo. Ejemplo: CCST13-78OD y CCST13-078OI, y el código europeo correspondiente de 40 cifras.
- CCST guardará en su base de datos segura y confidencial la correspondencia entre los datos personales del donante y el código. A partir de entonces, toda referencia al donante se realizará a partir del código anónimo.
- El supervisor de guardia de la CCST a continuación activará la Unidad Móvil de Extracción de la FIO.

14.1.1.2 POE 2: Criterios de selección y evaluación del donante de tejidos

- Será un donante potencial de tejido ocular todo fallecido de menos de 24 horas que no quede excluido por los siguientes criterios
 - Causa de muerte desconocida
 - Infecciones:
 - Sepsis en el momento de la muerte.
 - Infección sistémica en el momento de la muerte.
 - Factores de riesgo o evidencia clínica de virus o infección de transmisión sexual.
 - Cáncer
 - Cáncer hematológico o linfático
 - Cáncer del sistema nervioso central (SNC)
 - Quimioterapia en los 3 meses previos
 - Enfermedad degenerativa del SNC de causa desconocida
 - Receptor de órgano o tejido humano, o de válvula cardíaca biológica

- Se extraerá el globo ocular salvo que haya sufrido traumatismo ocular severo. Las cirugías oculares previas no contraindican la extracción. Serán evaluadas por el oftalmólogo durante el proceso de preparación.
- El cadáver debe haber fallecido en un hospital con acreditación para explante de tejidos de cadáver y disponer de historia y exploración clínica previa.
- Es imprescindible disponer de muestras, aptas para análisis serológico, de sangre periférica del donante. Si las muestras no estuviesen disponibles o estuviesen hemolizadas, no se procederá a la enucleación.
- Es imprescindible disponer del certificado de fallecimiento, y de un consentimiento para donación firmado por la familia del fallecido.
- Si el cadáver fue refrigerado hasta las 3 primeras horas tras la muerte, el tiempo disponible para la enucleación del globo ocular y paso a conservación a 4°C en cámara húmeda es de 36 horas.
- Si el cadáver no fue refrigerado en las 3 primeras horas tras la muerte, el tiempo disponible es de tan solo 6 horas.

14.1.1.3 POE 3: Realización de los tests de laboratorio requeridos para la evaluación y selección

Requerimientos para las muestras de sangre

- Obtener muestras de sangre periférica del donante por punción de la vena inguinal o subclavia. Si no fuese posible, se intentará por punción intracardiaca. En último recurso se investigará si el hospital dispone de muestras archivadas aún viables.
- Llenar 1 tubo PTT (azul claro) e invertir 3-4 veces. Rellenar 1 tubo de coagulación (rojo), no invertir.
- Centrifugar in situ los 2 tubos de PTT (azul claro) y coagulación (rojo). Descartar si la muestra está hemolizada (el suero o el plasma de color marrón o negro), o si tras la centrifugación la fracción de suero por encima del gel es menor del 10% o mayor del 90% del tubo.
- Si no se obtiene muestra de sangre adecuada, cancelar la extracción de tejido.

Requerimientos para las muestras de sangre

- Conservar los tubos de muestra refrigerados a 4°C.
- Llevarlos al CCST (Centro Comunitario de Sangre y Tejidos de Asturias) junto con los globos oculares.
- El laboratorio asociado a la CCST realizará los siguientes análisis serológicos:
 - Anti-HIV-1 y anti-HIV-2
 - Hepatitis B surface antigen (HBsAg), Hepatitis B Core antigen (HBcAg y NAT)
 - Hepatitis C virus (anti-HCV)
 - Sífilis (VDRL, RPR)
- Ante un título positivo se repetirá la prueba en las mismas condiciones. Si se confirma, se descartará todo el tejido

14.1.1.4 POE 4: Normas de actuación en la petición de tejidos a la familia del donante.

- La donación es un acto altruista y voluntario.
- Si existe prueba de la voluntad del fallecido (testamento vital, alta en registro de donantes), ésta debe ser respetada.
- De otro modo, el familiar más cercano es quién toma la decisión.
- Se debe plantear la decisión al familiar que toma la decisión en un entorno privado y darle un tiempo razonable para pensar.
- Se explicará a la familia que durante el proceso de la donación se esmera el aspecto cosmético para que el cuerpo tenga el aspecto más natural posible. Parecerá, dentro de lo posible, que está dormido.
- En ningún caso se puede desvelar la identidad del donante ni del posible receptor.

14.1.1.5 POE 5: Recogida de datos del donante.

El equipo de extracción debe recoger los siguientes datos del donante y rellenar el formulario de donación. Solicitar información siguiente:

- **Información del donante**

Hora de activación por Coordinación de trasplante:

Nombre del coordinador:

Hora de donación:

Nombre del donante:

Sexo:

Fecha de nacimiento:

Fecha de la muerte:

Hora de la muerte:

Hora de inicio de refrigeración:

- **Información adicional**

¿Está organizado el consentimiento? Si / No

¿Es un formulario timbrado de donación? Sí / No:

Permiso para extracción de tejidos:

Todos / Córnea / Piel / Válvulas del corazón / Hueso

- **Causa de la muerte**

Historial médico:

Uso de medicación pertinente (anticoagulante):

Necesitó sangre pre-transfusión? Sí / No

En caso afirmativo, dónde recoger:

¿Es sin duda la sangre pre-transfusión? ¿Son las fechas de recogida de sangre previas a la fecha de la transfusión?

- **Ubicación de los donantes**

¿Qué hospital y donde?

Nombre de la persona a cargo:

Número de teléfono:

Persona de contacto:

¿Qué departamento?

¿Dónde tienen que estar los enucleadores?

Tiempo de disponibilidad de donación:

¿Está la sangre ya está disponible o es alguien capaz de recoger la sangre mientras tanto?

- **Equipo de guardia**

Enucleadores (E) + Supervisor (S) de guardia:

E:

S:

14.1.1.6 POE 6: Técnicas quirúrgicas de extracción de globo ocular.

Materiales

- Paño estéril desechable
- Mascarilla y bata estéril
- Gorro estéril
- Gafas de protección quirúrgica
- Múltiples guantes no estériles
- 1 par de guantes estériles
- 2 viales estériles de tipo test orina + 2 gasas estériles
- Vial de 20 ml de NaCl al 0,9%
- set enucleación desechable
 - 6 gasas
 - Blefarostato
 - Gancho de estrabismo
 - Pinzas conjuntiva
 - Tijeras curvas + cuchara enucleación
 - Tijeras pequeñas conjuntiva (Wescott)
 - Mosquito

- Paño fenestrado estéril desechable
- prótesis globo ocular
- Set de hemostasia: vendajes de presión, lana de algodón grasienta
- Papel de filtro
- Pegamento instantáneo
- Fijador de párpados

Técnica quirúrgica

- Comprobar datos del donante: Nombre (¿escrito correctamente?) y fecha de nacimiento, si es necesario, vuelva a comprobar el registro de donantes.
- Comprobar que se obtuvo la autorización de donación de tejidos, si es necesario, volver a comprobar con Coordinación de trasplante.
- Después de extraer la sangre, lavarse las manos y desinfectar las manos con etanol al 70%
- Instalar el instrumental de enucleación y la reconstrucción de un espacio de trabajo desinfectado (etanol al 70%)
- Sacar los viales de globo fuera de su envoltorio estéril sin tocar el interior de los viales, también sacar los tapones. Marcar viales como se describe en el protocolo de identificación de donante. Colocar los frascos y las tapas en un espacio limpio
- Enjuagar las gasas a fondo con NaCl 0,9% a partir de un vial nuevo.
- Ponerse los guantes no estériles y enjuagar los sacos conjuntivales de los donantes, poniendo una gasa seca en el ángulo del ojo temporal para evitar fugas
- Quitarse los guantes no estériles.
- Abrir el envase exterior del kit de enucleación. Abierto sobre el donante, sólo tocar los bordes externos, para mantener el resto estéril.
- Comprobar la curvatura del ojo, para obtener una mejor reconstrucción después. Enuclea ambos ojos y realizar la reconstrucción después. En caso de solo poder enuclea un ojo, póngase en contacto con Coordinación de trasplante.
- Tirar los guantes estériles

- Sacar las pinzas y el mosquito
- Sacar la gasa húmeda, doblarla en cuatro y poner en en el vial del globo. Empuje hacia abajo en el centro con las pinzas cerradas, no tocar el interior del vial. Asegurarse de la gasa toca las paredes internas del vial.
- Desplegar el paño fenestrado por encima de uno de los ojos
- Poner el separador de párpados.
- Coger la conjuntiva con las pinzas y cortar la conjuntiva al ras del limbo las tijeras de conjuntiva. Asegurarse de no cortar las pestañas o párpados ni de dañar la córnea.
- Coger el gancho estrabismo y las grandes tijeras curvas, aislr los músculos recto inferior, lateral y superior en este orden y cortar entre el gancho y el bulbo, la curva de la tijera hacia el bulbo.
- Enganche el músculo recto medial, poner la mosquito en el músculo recto medial y cortar más lejos de la bulbus que los otros tres, para mantener este músculo un poco más largo.
- Colocar la cuchara detrás del globo sin traccionar; meter las las tijeras cerradas por detrás de la cuchara y buscar el nervio óptico.
- Atrapar el nervio entre las tijeras, las tijeras mover más hacia atrás y cortar el nervio a 5-10 mm del bulbo.
- Tirar hacia arriba del bulbo cuidadosamente y cortar el tejido adjunto. Sosteniendo el bulbo sobre el cuadro de instrumentos, cambie las tijeras por un fórceps y mantenga esta mano debajo del globo.
- Sosteniendo el bulbo por encima del vial, coger la conjuntiva por un lado y con el mosquito por el músculo y meter el globo en el vial, la córnea mirando hacia arriba, posicionando estable en la gasa y bajo el borde del vial
- Repetir la operación para el otro ojo
- Añadir 5ml de gentamicina y 5ml de cloranfenicol colirio a cada vial.
- Si el globo pierde líquido tras la enucleación, llenar todo el vial con NaCl 0,9%
- No cerrar el vial antes de completar los dos ojos y, cuando cierre los viales mantener los guantes estériles.

14.1.1.7 Preparación, conservación, envasado, etiquetado y transporte de tejidos

Preparación.

- Preparar dos frascos estériles de orina con una gasa doblada en cuatro en su interior. Humedecer la gasa con suero fisiológico.
- Con ayuda de las pinzas dentadas, coger con cuidado el globo ocular por la inserción del músculo recto interno y transportarlo hasta el interior del frasco. La córnea debe quedar hacia arriba y el nervio óptico apoyado en la gasa.
- Añadir 5ml de gentamicina y y 5ml cloranfenicol (colirios oftálmicos). Si hubo pérdida de líquido desde el interior del globo al extraerlo, rellenar el bote con suero fisiológico hasta que cubra el ojo.

Conservación

- Mantener a 4°C.

Envasado.

- Durante el transporte, meter los botes de orina en una caja de poluretano expandido con un pack de hielo envasado o con hielo en polvo. Cerrar la caja con cinta adhesiva.
- A la llegada al banco de ojos, sacar los botes de la caja de poliuretano expandido y pasarlos a nevera de ojos a 4°C

Etiquetado.

- Con un rotulador indeleble, marcar los botes con el número del donante y el ojo. Añadir debajo la fecha de extracción.
- Ejemplo: 13-178OD
- 1/1/13

Transporte.

- Transportar desde el mortuario hasta la nevera del banco de ojos.
- Para un cadáver conservado en cámara frigorífica en las primeras tres horas desde la muerte, el tiempo máximo hasta la llegada a la nevera del banco de ojos es de 36 horas.
- Para un cadáver NO conservado en cámara frigorífica en las primeras tres horas desde la muerte, el tiempo máximo hasta la llegada a la nevera del banco de ojos es de 6 horas.

14.1.1.8 POE 8: Normas de actuación con su banco de tejidos.

- Es imprescindible respetar los tiempos de entrega según el estado de conservación del cadáver.
- La enucleación sólo se puede realizar cuando se disponga de:
- Formulario de donación, firmado por el responsable del centro
 - Consentimiento en papel timbrado de donación, firmado por un familiar.
 - Formulario completo de exploración física
 - Muestras adecuadas de sangre del donante
- Si surgiesen dificultades, el equipo de enucleación contactará con su supervisor en la CCST. Éste será un facultativo que dará la solución más conservadora, teniendo en cuenta los principios de viabilidad, bioseguridad y trazabilidad.

14.1.1.9 POE 9: Funciones del Coordinador y de los distintos agentes que intervienen en el proceso de extracción de tejidos.

Funciones del Coordinador de trasplante del hospital extractor:

- Monitorizar los fallecimientos de su hospital en busca de posibles donantes.
- Obtener e investigar la historia clínica del fallecido en busca de antecedentes de riesgo

- Investigar si el laboratorio de su centro dispone de muestras archivadas de sangre del donante.
- Hablar con los familiares del fallecido y plantear de forma respetuosa y paciente la donación de tejido ocular.
- Activar al banco de ojos CCST

Funciones del banco de ojos CCST:

- Hablar telefónicamente con el coordinador de trasplante y obtener los datos relevantes del donante y su localización exacta.
- Activar al equipo enucleador de guardia de la Unidad Móvil de Extracción.
- Recibir y procesar adecuadamente el tejido donante.
- Realizar las serologías del donante.
- Asegurar la esterilidad, viabilidad del tejido donante. Garantizar la trazabilidad y confidencialidad de los datos obtenidos.
- Evaluar, asignar y transportar el tejido hasta el centro implantador.

Funciones del Supervisor de la Unidad Móvil de extracción:

- Asegurar que se cumplan los plazos de viabilidad del tejido.
- Monitorizar el progreso de la Unidad Móvil
- Responder a las cuestiones médicas que se puedan plantear durante la donación.
- Orientar a la Unidad móvil en caso de sucesos adversos.

Funciones del Eucleador:

- Recibir la llamada del coordinador de trasplantes del Centro Médico de Asturias
- Acudir al hospital extractor a tiempo con el material adecuado
- Obtener la copia de consentimiento de donación.
- Completar el formulario de donación,

- Realizar la exploración física del donante
- Seguir los protocolos operativos estandarizados para la enucleación, envase y etiquetado.
- Transportar el tejido, debidamente envasado, hasta la nevera del banco de ojos.

14.1.1.10 Inventario unidad móvil

Vehículo, uniformes e identificación para dos extractores.

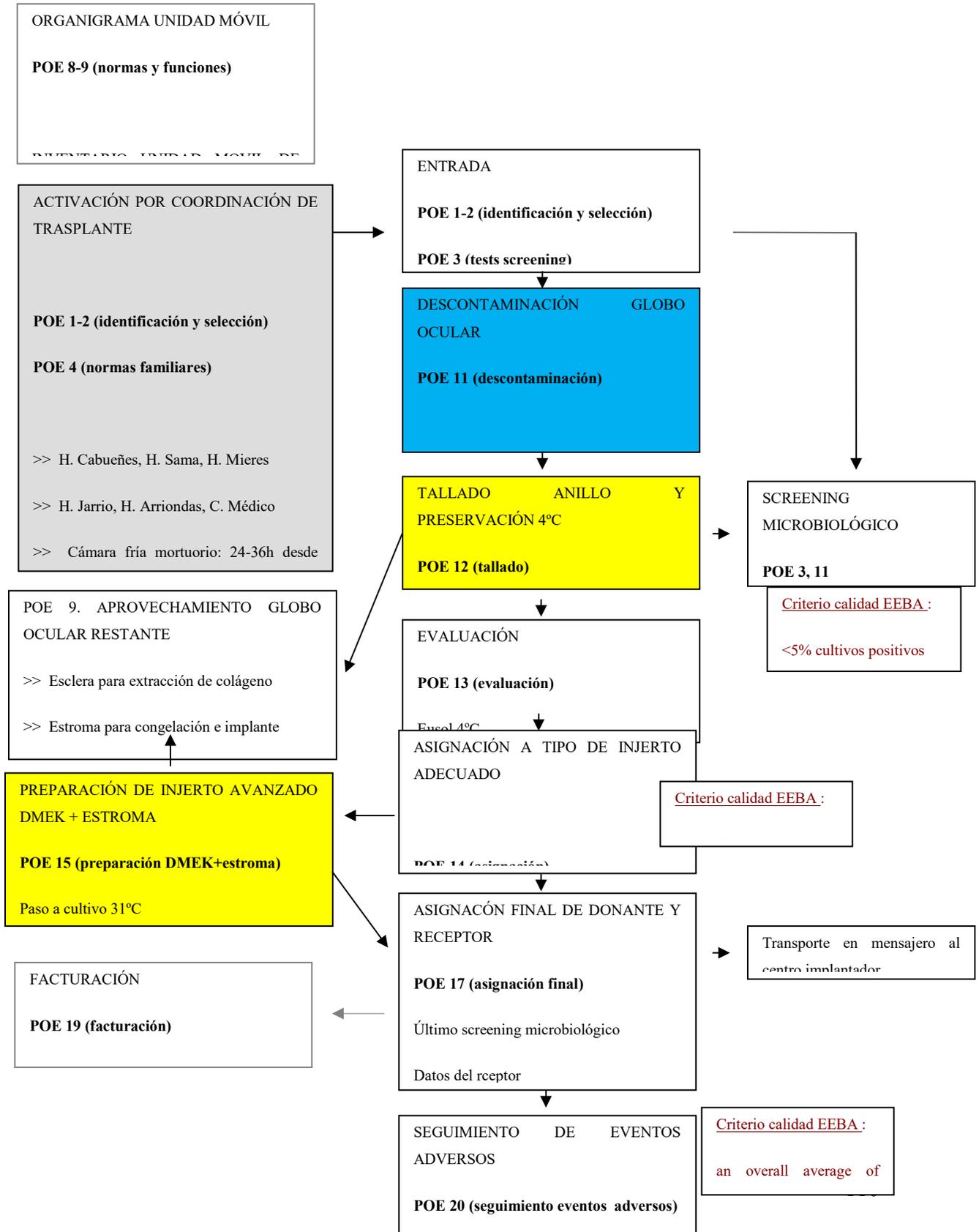
Caja de extracción:

- Formularios de donación timbrados, de referencia de donante, consentimiento informado, y de exploración del fallecido
- Guantes estériles, batas estériles, mascarillas con escudo protector
- 2 botes estériles para introducir los globos oculares
- Gasas estériles
- 2 paños fenestrados y 2 de campo quirúrgico
- Instrumental oftálmico. Pinzas colibrí de conjuntiva, pinzas de córnea, tijeras Wescott, ganchos de estrabismo, cuchara y tijera de enucleación, porta agujas, sutura blanca tipo biosorb 7/0, adhesivo instantáneo de contacto. Prótesis de globo ocular
- Colirios de cloranfenicol y gentamicina
- NaCL en momodosis de 10ml

Obtención y preparación de las muestras de sangre

- Formulario de obtención de sangre
- Tubos de venopunción al vacío de PPT, de Coagulación y EDTA
- Surtido de agujas/cánulas estériles para punción ilíaca, subclavia e intracardíaca
- Jeringas estériles de 10 y 20ml
- Centrífuga portátil

14.1.2 Procedimientos Operativos Estandarizados (POEs) en procesamiento de tejido ocular



14.1.2.1 POE 11: Descontaminación del globo ocular

- Una vez realizada la extracción, el globo debe llegar en vial de tipo cámara húmeda, sobre una gasa humedecida, e inmersa en gentamicina y cloranfenicol a 4°C
- Preparar los viales de Povidona Iodada, Thiosulfato y Suero fisiológico y calentar en estufa a 25°C.
- Abrir caja de material esterilizado para descontaminación.
- A PARTIR DE AQUÍ TODA MANIPULACIÓN DEL GLOBO EN CAMPANA DE FLUJO LAMINAR, RESERVADA SOLO PARA TEJIDO HUMANO POTENCIALMENTE CONTAMINADO
- Coger globo por la conjuntiva con pinzas.
- Apoyarlo en campo estéril
- Fotografíar y medir diámetro de córnea clara. Identificar pliegues, defectos epiteliales y leucomas. Identificar posibles cirugías previas
- Recortar conjuntiva hasta limbo.
- Introducir en vial de Povidona Iodada.
- Agitar en vortex 3 minutos
- Cambiar a vial de tiosulfato
- Agitar en vortex 3 minutos
- CONSIDERAR GLOBO YA ESTÉRIL
- Tomar muestra de frotis de limbo para aerobios, anaerobios y hongos
- Introducir en vial de suero fisiológico.
- Marcar vial con número de identificación de donante y especificar OD u OI

POE 11: Control microbiológico durante la preparación

- Cada vez que se manipule un tejido hay que esperar 24 horas, tomar una muestra y sembrar en Bactalert, Agar sangre y Sabouraud.
- Sembrar muestras tras la descontaminación, tras 48 horas en Optisol, tras la preparación de rollo de Descemet, y tras el paso a Carry-C

- En el caso de preparación de rollo de Descemet, esperar 10 días a que todos los cultivos, incluido hongos, sean negativos para poder emitir la córnea.
- En el caso de paso a Carry-C esperar 3 días desde la siembra.
 - Si el primer cultivo tras descontaminación es positivo para un patógeno de baja virulencia (S. Epidermidis), poner el tejido en cuarentena y esperar a un segundo cultivo de confirmación. Si es positivo, desechar el tejido.
 - Si el último cultivo (tras preparación del rollo de Descemet, o tras paso a Carry-C, o tras 48h en Optisol es positivo, desechar el tejido.

14.1.2.2 POE 12: Tallado globo ocular

- REALIZAR EN SALA BLANCA, NUNCA EN LA MISMA CAMPANA DE FLUJO DE ENTRADA DE MATERIAL HUMANO POTENCIALMENTE CONTAMINADO
- Preparar campo estéril
- Abrir caja instrumental. Con pinzas coger globo y ponerlo sobre Petri plástico desechable
- Con el ojo mirando hacia arriba, marcar con trépano de al menos 16mm los 3.5mm alrededor del lido.
- Iniciar corte escleral con hoja de bisturí
- Mantener ojo mirando arriba sujeto en una mano con banda de gasa estéril , sin apretar
- Continuar corte circular sin entrar en coroides con tijera curva fuerte.
- Cuando corte esté acabado, dejar ojo apoyado en Petri y girarlo hasta que la córnea quede mirando adelante hacia el operador.
- Con pinzas a la 12h, introducir punta de bisturí en vertical en cámara anterior sin tocar endotelio
- Traccionar hacia córnea y despegar del iris sin dejar que se colapse la córnea y se doble
- Una vez obtenido el anillo córneo escleral, enganchar un flotador

- Cortar un fragmento de esclera de 1x1mm y sembrar en Tioglicolato para cultivo 25°C
- Introducir cogiendo por el flotador en vial nuevo de eusol a 4°C
- A las 24 horas, sembrar 3 muestras de 1ml del Tioglicolato para Bactalert, medio de aerobios, medio de anaerobios y de hongos (cultivo pre-asignación final)

14.1.2.3 POE 13: Evaluación de anillo córneo – escleral

- Sacar el vial de Eusol de nevera 4°C y dejar que alcance temperatura ambiente
- Encender Konan EB-100 y rellenar todos los campos solicitados
- Meter vial sobre receptáculo con agua
- Buscar plano de endotelio y realizar 3 capturas
- Hacer contaje manual de al menos 30 células por campo.
- Imprimir informe y enviar por correo electrónico al evaluador final
- Devolver vial a nevera 4°C

14.1.2.4 POE 14: Asignación a tipo de injerto.

- Una vez fotografiado el anillo córneo-escleral y evaluado el endotelio en el Konan EB-100, recopilar los siguientes parámetros:
 - Estado del estroma (cirugías corneales previas)
 - Diámetro de córnea clara disponible (arco senil, leucomas)
 - Densidad celular/ mm²
 - Coeficiente de variación
 - Hexagonalidad
 - Edad donante-receptor
- Los criterios para elegir qué tipo de injerto se puede conseguir a partir de un donante concreto son:

- DMEK: edad >40, sin pliegues groseros, DCE>2500 céls/mm² , estroma sin limitaciones. (LASIK previo no contraindica. QR con perforación, descartar)
- PK o PPK: Edad sin límites, DCE >2000 céls/mm², estroma con al menos 8.75 mm de córnea clara, sin leucoma central. NO cirugía refractiva previa.
- DALK. Edad sin límites, DCE 1500-2250 céls/mm², estroma con al menos 8.75 mm de córnea clara, sin leucoma central. NO cirugía refractiva previa.
- PK/PPK urgente. Edad sin límites, DCE mínimo 2000 cels/mm², estroma con al menos 8.75 mm de córnea clara, sin leucoma central. NO cirugía refractiva previa.
- PERFORACIÓN: Edad sin límites, DCE sin límites, estroma íntegro.
 - (El estroma desnudo sobrante de una preparación DMEK se almacena en medio de glicerol 10% albúmina 10% a -70° para estos casos)
- Una vez asignado el tejido a tipo de injerto, se espera hasta tener el cultivo pre asignación negativo. Sólo entonces se puede contactar con el equipo implantador para ofrecer el tejido específico.
- Según el medio de conservación calcular la fecha de caducidad como:
 - Viabilidad máxima desde donación refrigerada: 28 días
 - Cultivo en Tissue-C: 28 días
 - Cultivo en Eusol: 7-10 días con buena transparencia. Después ocurre edema. Máximo 13 días.
 - Cultivo en Carry-C: 5 días máximo.

14.1.2.5 Preparación de DMEK + estroma

- TRABAJAR EN SALA BLANCA O CAMPANA DE FLUJO LAMINAR HORIZONTAL CON MICROSCOPIO QUIRÚRGICO O LÁMPARA DE DISECCIÓN INCORPORADA.
- Este paso requiere un microscopio invertido de 100 aumentos (10x10)
- Este paso requiere una lámpara de disección o microscopio quirúrgico oftalmológico. La iluminación ideal es no coaxial por fuente externa regulable.

EVALUACIÓN DEL ENDOTELIO

- Sacar la córnea del eusol con pinzas. Extraer el flotador.
- Lavar con BSS, teñir durante 30 segundos con azul tripan.
- Colocar en Petri pequeño, córnea hacia arriba en sucrosa hipotónica. Evitar burbujas.
- Evaluar en microscopio invertido a 10x en ocular y 10x en campo. Descartar pliegues, defectos groseros, roturas centrales de Descemet o muerte celular masiva. Fotografiar endotelio central en 3 imágenes (Ej. nombres de archivo 13-045OD pre 1.jpg, 13-045OD pre 2.jpg, 13-045OD pre 3.jpg)

PREPARACIÓN DE ROLLO DE DESCOMET

- Trasladar a zona de disección. Reteñir con azul tripán.
- Disecar membrana de Descemet con pinzas y escarificador tipo “palo de golf”. Trabajar siempre bajo BSS
- Trepanar a 8.75mm sobre lente de contacto con técnica de disección desde raíz del iris. Si no es posible, trepanar sobre estroma con técnica SCUBA-Taco.
- Teñir con azul tripán y pasar con pipeta de boca ancha a Petri.
- Evaluar en microscopio invertido. Descartar roturas radiales, estrías de tracción o pérdida celular masiva.
- Fotografiar endotelio central en 3 imágenes (Ej. nombres de archivo 13-045OD roll 1.jpg, 13-045OD roll 2.jpg, 13-045OD roll 3.jpg)
- Pasar con pipeta de boca ancha a Tissue-C y cultivar a 31°C. A las 24 horas, tomar una muestra del líquido y sembrar en Bactalert, Agar Sangre, Sabouraud

14.1.2.6 Paso a medio de cultivo a medio de transporte.

- Una córnea con estroma cultivada en Tissue-C a 31°C tiene que pasar a Carry-C (medio de transporte y desedematización) 4-5 días antes del implante.

- Calcular la fecha límite de implante como día de fallecimiento + 28 días.
- Calcular que una córnea en Carry-C sólo sobrevive 5 días.
- Tomar muestras para microbiología (Bactalert, Agar sagre y Sabouraud) 24h tras el cambio de Tissue-C a Carry-C
- No emitir la córnea hasta el cuarto día en Carry-C para tener confirmación de que no ha habido crecimiento de la siembra microbiológica.
- Una vez emitida en el día 4 por la mañana en Carry-C, el centro implantador sólo dispone de 24 horas para realizar el implante.
- **Nota:** El injerto de rollo de Descemet no se pasa a Carry-C. Se emite e Tissue-C

Paso a Carry-C.

TRABAJAR EN SALA BLANCA O EN CAMPANA DE FLUJO LAMINAR HORIZONTAL; CON MICROSCOPIO INVERTIDO.

- Sacar la córnea del Tissue-C cogiendo el flotador con pinzas.
- Depositar en Petri.
- Lavar con BSS. Teñir con azul tripán 30 segundos
- Pasar a Petri con sucrosa hipotónica, córnea hacia arriba sin burbujas.
- Observar en microscopio invertido a 10x. Descartar muerte celular masiva.
- Fotografiar endotelio central en 3 imágenes (Ej. nombres de archivo 13-045OD carry 1.jpg, 13-045OD carry 2.jpg, 13-045OD carry 3.jpg)
- Pasar con pipeta de boca ancha a Carry-C y cultivar a 31°C

14.1.2.7 POE 17: Asignación final a centro implantador

- Una córnea preservada en frío (Eusol) o cultivada (Carry-C) a 31°C puede emitirse SOLO si la última siembra microbiológica ha sido negativa.
- La viabilidad máxima en Eusol es de 13 días, recomendable no pasar de 7-10 por el edema corneal

- La viabilidad máxima en Carry-C es de 5 días desde el cambio desde Tissue-C, y de 28 desde la donación.
- Se asignará el tejido al centro implantador en función del tipo de injerto que se haya solicitado a través de formulario normalizado vigente.
- Los tipos de injerto solicitado son:
 - Córnea completa para PK o PPK
 - Córnea completa para PK o PPK urgente (endotelio moderadamente funcional)
 - Córnea completa para DALK (endotelio mínimamente funcional)
 - Rollo de Descemet para DMEK
 - Estroma desnudo congelado para perforación.
- Una vez recibido el formulario normalizado vigente de solicitud de injerto ocular, el banco de tejidos asignará el tejido adecuado para la solicitud. El centro implantador tendrá entonces la obligación de recibir, implantar y abonar el tejido. Deberá también informar eventos adversos que pudiesen ocurrir.
- Los criterios de asignación respetarán los principios de adecuación al injerto solicitado, fecha de la solicitud y urgencia de la solicitud.

14.1.2.8 Empaquetado del injerto.

- Revisar la transparencia y el color del medio. Debe ser claro y estar entre rojo y rosa. Turbidez y un color azul o amarillo indica cambio de pH y riesgo de contaminación. Vial debe estar íntegro y bien cerrado. La córnea debe estar relativamente transparente, nunca lechosa u opaca.
- Introducir en caja de poliuretano expandido:
 - Tejido a implantar:
 - Córnea en Eusol: Vial en bote de orina (no estéril) rodeado con gasas. para que no se vuelque). Rodeado de hielo seco o pack estanco de frío y acomodado para evitar que pueda volcar.

- Córnea en Carry-C: Vial empaquetado en bolsa plástica de cierre térmico, acomodado con bolsas plásticas de aire estancas o papel plástico de embalar. Evitar que pueda volcar.
 - Rollo de Descemet en Tissue-C: Vial acomodado con bolsas plásticas estancas de aire o papel plástico de embalar. Evitar que pueda volcar.
 - Estroma o membrana amniótica congelada: Vial empaquetado en bolsa plástica de cierre térmico, rodeado de hielo seco o pack estanco de frío y acomodado para evitar que pueda volcar.
- Adjuntar sobre de documentación:
 - Descripción del tejido, incluyendo caducidad
 - Instrucciones de uso
 - Albarán de entrega
 - Factura
- Sellar la caja con cinta adhesiva
- Adherir pegatina de aviso de temperatura de conservación:
 - Eusol. “Mantener refrigerado a 4°C”
 - Carry-C o Tissue-C. “Mantener a temperatura ambiente” (15-25°C)

14.1.2.9 Facturación a centro implantador.

La factura normalizada debe especificar:

- Fecha y lugar
- Número de referencia de la factura
- Número de referencia del tejido enviado
- NIF y Nombre del banco de ojos
- NIF y Detalles del centro implantador. Oftalmólogo responsable en el centro implantador
- Consultar la lista de precios vigente para cubrir los costes de producción.
- El IVA está excluido en este tipo de transacciones.

14.1.2.10 POE 20: Seguimiento de eventos adversos

Durante la extracción y preparación del tejido:

- Pinchazo accidental con riesgo de contaminación de material biológico del donante.
 - Limpieza de la piel afectada con alcohol 70% y betadine jabonoso durante 3 minutos. Heridas limpias, sin aguja hueca, que han atravesado un guante son de bajo riesgo. Herida sucia, anfractuosa, profunda, sin guante y con aguja hueca contaminada son de riesgo
 - Ante herida de riesgo obtener muestras de sangre del donante para serología si el estado de VIH, VHB o VHC es desconocido.
 - Rellenar el formulario de pinchazo accidental de la CCST, firmado por el supervisor.
 - Contactar con el Servicio de Prevención de Riesgos Laborales de la Mutua de accidentes laborales de la FIO.
- Contaminación del tejido con microorganismo de alta virulencia
 - Ante serología positiva en el suero del donante para VIH, VHB, VHC, Sífilis, se realizará un segundo test de confirmación. En caso de confirmarse, desechar el tejido como material de riesgo biológico.
 - Ante la detección de un microorganismo de alta virulencia durante la preservación (P.Aeruginosa, S.Aureus multirresistente), desechar el tejido como material de riesgo biológico.
 - Detección sistemática de un mismo microorganismo en el proceso de preservación y preparación: Tomar muestras con frotis de todos los instrumentos y equipos en uso. Etiquetar todas las muestras y detener todos los procesos de producción hasta identificar la fuente. Descontaminar todos los equipos e instrumentos con alcohol 70% y Biozidall tras la toma de muestras. Realizar un procesado completo simulado para asegurar que se ha resuelto la contaminación.

Tras la emisión y envío del tejido:

- Infección en el postoperatorio inmediato.
 - Comprobar los resultados de test microbiológicos del tejido sospecha y de todos los tejidos en proceso o almacenados.
- Fallo primario del injerto.
 - Comprobar fotografías de evaluación y preparación del injerto fallido.
- Vial abierto a la llegada al centro implantador
 - Recomendar a centro implantador el desechar el tejido inmediateamente.

Informes de no conformidad:

- Registrar las discrepancias con proveedores o clientes mediante un informe de no conformidad que describa los hechos, la fecha, el nombre de las personas implicadas y las acciones que se tomaron para resolver el problema.

14.1.2.11 Control de Calidad

En todos los procesos operativos estandarizados se utilizará un sistema de doble chequeo:

El operario debe cumplimentar un formulario (electrónico o en papel) en el que vaya registrando los pasos realizados mediante checklist y números de referencia. Debe firmar al acabar el procedimiento

- Su supervisor comprobará que se han realizado los procesos y firmará que todos los registros son correctos y que se ha seguido el protocolo.
- Se establecerá un repaso semanal de todos los procesos realizados y control de estado de cada tejido. Ese día además se realizará un inventariado de material y reposición de fungibles. En él estará presente el director, supervisores y técnicos de extracción y procesamiento.
- Los eventos adversos se comunicarán inmediatamente al supervisor de guardia, y en el siguiente día hábil al director.
- La comisión de trasplantes de la CCST realizará una auditoría interna semestral de todos los procedimientos.

14.1.3 Protocolo cirugía DMEK

PROCEDIMIENTO	MATERIAL
<p>Preparación:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Confirmar numero de paciente y donante. 2. Anestesia topica en gotas + Peribulbar + Balón Honnan 10 minutos 3. Paciente en anti-Trendelenburg (pies más bajos que la cabeza) <p>Cirugía</p> <ol style="list-style-type: none"> 4. Preparar campo 5. Poner blefarostato 6. Lavar fornix con 20 ml NaCl 0.9% 7. Iniciar incisión córnea clara, cerca del limbo, a 12h con cuchillete 3.2 mm 8. Hacer 3 paracentesis con cuchillete 30°, meter burbuja en toda CA. 9. Marcar la DMrexis con Sinsky invertido 10. Despegar la DM con scraper (Descemetorrhexis) 11. Iridectomía 12. Agrandar la incisión ppal ancho 3.2 mm en túnel cuadrado de 3mm de largo. (CA con aire) – revisar que la pipeta entre bien 13. Preparacion del donante <ol style="list-style-type: none"> a. Pasar Rollo de vial a capsula de un solo golpe b. COMPROBAR QUE ESTA EN CAPSULA c. Lavar con 5ml BSS d. Teñir con Vision blue 0.15% e. Aspirar Rollo con pipeta curva conectada al balon por la boca pequeña. Conectar a luer y jeringa 5ml. 14. Implantar rollo en CA con pipeta curva o inyector icl, encapsulándolo entre 2 tapones de provise 15. Deplegar rollo con endotelio sobre cara ant. iris. Elevar hasta estroma desnudo 16. Aire en CA 30-45 minutes 17. Aire-BSS, intercambio. (Dejar burbuja del 50% en faquicos!) 18. Lidocaina / gentamicina / Celestone inyección subconjuntival (2ml de gentamicina 40mg y urbason 10mg) <ol style="list-style-type: none"> a. Diluir el urbason de 20mg en los 2ml de agua inyectable b. En una jeringuilla de 2ml con aguja de cargar verde: c. Cargar 1 ml de gentamicina (ya viene diluída) 	<p>Córnea en medio TissueC / Córnea MAX – a temperatura ambiente!!</p> <p>Medicación</p> <p>NaCl 0.9%</p> <p>Urbason inyectable 20mg. 2ml</p> <p>Gentamicina 80mg en 2ml</p> <p>Lidocaina 2% inyectable. 5ml</p> <p>Pilocarpina gotas</p> <p>Instrumentos</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 1x Gancho de Sinsky invertido (<i>DORC 50.2201 DMEK SINSKEY HOOK UP, o con aire 50.2210 DISPOSABLE REVERSED SINSKEY HOOK WITH IRRIGATION, lo lleva BLOSS en España</i>) ▪ 1x DM scraper (45° + 90° scraper) ▪ 1x Pinza de córnea rectas dentadas ▪ 1x Pinza (Colibri) dentada ▪ 1x Cápsula pequeña de cristal o metal ▪ 1x Cápsula pequeña de cristal o metal ▪ 3x pipetas de cristal (2 largas, 1 corta) ▪ Pinza vitrectomia recta / curva para iridectomía ▪ Pinza y tijera Vannas iridectomía <p>Caja Miguel Naveiras</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 2x pipetas curvas de cristal (pipetas pasteur de cristal. <i>VWR international o</i>

<p>d. Cargar 1 ml de urbason a la dilucion anterior</p> <p>e. Cambiar aguja y poner aguja 30G.</p> <p>19. Vigamox, dexafree, voltaren, betagan en el botiquín</p> <p>20. Tapar y poner escudo de plástico sobre ojo.</p>	<p><i>DORC 50.2220 STRAIGHT GLASS PIPETTE INCL. BALLOON)</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 1x balón amarillo de goma <p><i>Desechables</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 4x BSS ▪ Vision Blue 0.15% (2x) ▪ Cellugel (1x) ▪ SISTEMA DE INYECCION: <ul style="list-style-type: none"> A: Con inyector y cartucho de ICL B: <i>Con pipeta especial (50.2200 DMEK SURGICAL DISPOSABLE SET)</i> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Gasas ▪ 1x Crescent 3mm ▪ 1x cuchillete 3.0 y 3.2mm ▪ 1x cuchillete de 15º (si hay) ▪ 1x cuchillete paracentesis ▪ 1x hemostetas ▪ 1x jeringuilla 1 ml (aire) ▪ 1x jeringuilla 5 ml (BSS) ▪ 1x jeringuilla 20 ml (NaCl) ▪ 3x canula cámara anterior 30G ▪ 2x canula cámara anterior 27G <p><i>Para medicacion inyectable al final cirugía</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 1x jeringuilla 2 ml (lido/GC) ▪ 1x 30G aguja ▪ 2 x agujas de cargar (lido y genta)
--	--

14.1.4 Protocolo lavado rollo DMEK

PROCEDIMIENTO	MATERIAL
<p>Instrucciones para lavado de rollo de Descemet</p> <p>21. -Mantener el rollo encima de la nevera a temperatura ambiente</p> <p>22. -Un enfermero corta el plástico de la bolsa donde viene el rollo</p> <p>23. -Colocar una gasa blanca bajo el cuenco de cristal para después ver mejor la sombra del rollo.</p> <p>24. -Con guantes estériles el cirujano abre el tapon de silicona del bote, lo agita como una copa de vino para remover el fondo y vuelca el contenido en un solo movimiento en el cuenco de cristal</p> <p>25. -Verificar que el rollito esté flotando en el cuenco antes de cerrar el bote de nuevo (cuidado con cerrar el bote si el rollito se quedó pegado en la boca del bote!)</p> <p>26. -Sin dejar de mirar el rollo, extraer el medio de cultivo rojo con una pipeta con balon amarillo y dejar solo la mínima cantidad que cubra el rollo.</p> <p>27. -Lavar rollo forzandolo a que se abra con chorros suaves de BSS. Gastar hasta 3 viales en el lavado.</p> <p>28. -Volver al extraer todo el liquido hasta que quede la mínima cantidad para que cubra el rollo.</p> <p>29. -Vaciar un vial entero de azul tripan encima del rollo.</p> <p>30. -Esperar 3 minutos.</p> <p>31. -Lavar el rollo con BSS y forzarlo a que se abra con chorros de BSS.</p> <p>32. -Justo antes de cargarlo en el inyector de ICL, volver a teñirlo 1 minuto.</p> <p>33. -A partir de este momento, la tinción del rollo durará unos 40 minutos.</p>	<p>Instrumentos</p> <ul style="list-style-type: none">▪ Pipeta de cristal con balon de goma▪ Cuenco de cristal pirex grande <p>Desechables en mesa de Mayo</p> <ul style="list-style-type: none">▪ 5x BSS▪ 2x Vision Blue 0.15%▪ Inyector icl▪ Cartucho icl▪ 2 émbolos de espuma icl mojados▪ Provisc▪ Una jeringa de BSS con cánula de 27G▪ Espátula fina

14.1.5 Protocolo rebubbling DMEK

PROCEDIMIENTO	MATERIAL
<p>Preparación:</p> <p>34. Confirmar paciente y ojo.</p> <p>35. Anestesia topica en gotas. Lidocaína 5%. Pilocarpina</p> <p>36. Paciente en anti-Trendelenburg (pies más bajos que la cabeza)</p> <p>Cirugía</p> <p>37. Preparar campo</p> <p>38. Poner blefarostato</p> <p>39. Lavar fornix con 20 ml NaCl 0.9%</p> <p>40. Aprovechar paracentesis previa temporal superior</p> <p>41. Con cánula de 30G vaciar acuoso y dejar algo hipotónico</p> <p>42. Inyectar burbuja central hasta margen del pliegue.</p> <p>43. Maniobra externa de bubble-bumping</p> <p>44. Extender burbuja al 100%</p> <p>45. 60 minutos espera</p> <p>46. Dejar 50% en los pseudofaquicos. Asegurarse que borde inferior de la pupila queda libre o iridectomia permeable.</p> <p>47. Tobradex tópico.</p> <p>48. Tapar y poner escudo de plastico sobre ojo.</p> <p>49. Decubito supino 24h.</p>	<p>MATERIALES</p> <p>Medicación</p> <p>Pilocarpina colirio</p> <p>Tobradex colirio</p> <p>Acetilcolina intracamerular (a mano)</p> <p>Lidocaína 1% intracamerular (a mano)</p> <p>Instrumentos</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 1x Gancho de Sinsky invertido ▪ (caja de tpte endotelial) ▪ 1x Pinza de córnea rectas dentadas .12 ▪ 1x Porta y sutura nylon 10/0 (a mano) <p>Desechables</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 2x BSS ▪ Vision Blue 0.15% (1x) (a mano) ▪ Ocucoat o Cellugel (1x) ▪ Gasas ▪ 1x cuchillete paracentesis 15° ▪ 1x hemostetas ▪ 1x jeringuilla 1 ml (aire) ▪ 1x jeringuilla 5 ml (BSS) ▪ 2x canula cámara anterior 30G

14.1.6 DMEK Postoperado

Fecha de cirugía: 21/03/17	Medicación	Frecuencia
1ª semana tras la cirugía <i>Día: Tumbado mirando al techo</i> <i>Mover cabeza 20m de cada hora</i> <i>Noche: Dormir boca arriba</i> <i>Clexane por las mañanas</i>	Cetraflux Dexafree Yellox PRGF	4 veces al día, 1 gota 4 veces al día, 1 gota 2 veces al día, 1 gota 4 veces al día, 1 gota
2ª semana tras la cirugía	Dexafree Yellox PRGF	4 veces al día, 1 gota 2 veces al día, 1 gota 4 veces al día, 1 gota
3ª y 4ª semanas tras la cirugía	Dexafree Yellox PRGF	4 veces al día, 1 gota 2 veces al día, 1 gota 4 veces al día, 1 gota
2º y 3º meses tras la cirugía	FML	4 veces al día, 1 gota
4º a 6º mes tras la cirugía	FML	3 veces al día, 1 gota
7º a 9º mes tras la cirugía	FML	2 veces al día, 1 gota
10º a 12º mes tras la cirugía	FML	1 vez al día, 1 gota

Conservación

Información

Cetraflux	1 día, una vez abierto	Agitar antes de usar
Dexafree	1 día, una vez abierto	Desechar tras un día
Yellox	1 Mes	Agitar antes de usar
FML	1 Mes	Agitar antes de usar
PRGF	2 Meses en congelador	El frasco en uso en nevera, 3 días

Atención: Espere al menos un minuto entre la aplicación de los colirios. Opcionalmente, cierre el conducto lagrimal con su mano para evitar la llegada del mismo a la garganta.

Atención: Por favor contáctenos en caso de enrojecimiento ocular, dolor progresivo con náuseas y vómitos, o disminución de la visión.

Atención: Siga las instrucciones estándar de instilación de gotas salvo variación por nuestros oftalmólogos. Por otra parte, nunca deje de usar las gotas para los ojos sin antes de consultar a uno de nuestros oftalmólogos.

Adaptado de: Melles Córnea Clinic, Róterdam.

14.1.7 Protocolo de seguimiento de DMEK

(meses)	Pre-op	1 sem	1 m	3 m	6 m	9 m	12 m	18 m	24 m	30 m	36 m	42 m	48 m	54 m	60 m
(años)					0,5		1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5
DMEK	A,P,L,E	A,O	A,P,L,E, O	A,P,E, O	A,P,L,E, O	A, P, E	A,P,L, E	A,P,E	A,P,L, E	A,P, E	A,P,L, E	A,P, E	A,P,L, E	A,P,E	A,P,S, E

A AV CORREGIDA

P PENTACAM

L LAMPARA DE HENDIDURA (CENTRAL, 30° TEMPORAL, 30° NASAL)

E ENDOTELIAL, CONTAJE

O OCT (VISANTE, CORTES A 0°, 45°, 90°, 135°, 180°, y mapa paquimetrico).

Referencia: Melles Córnea Clinic, Róterdam.

14.2 Índice de abreviaturas

ACD	Profundidad de cámara anterior
Avcc	Agudeza visual con corrección óptica
Avsc	Agudeza visual sin corrección óptica
CHED	Distrofía endotelial congénita hereditaria
D	Dioptría
DCE	Densidad de células endoteliales
DLEK	Deep lamellar endothelial keratoplasty
DMEK	Queratoplastia endotelial de membrana de Descemet
DMEM	Dublecco enriched eagle medium
DSAEK	Descemet stripping automated endothelial keratoplasty
DSEK	Descemet stripping endothelial keratoplasty
EE	Equivalente esférico
EMQ	Edema macular quístico
FACO	Facoemulsificación
FACODMEK	Ciurgia simultánea de facoemulsificación de catarata, implante de lente intraocular y queratoplastia endotelial de membrana de Descemet
LIO	Lente intraocular
LogMAR	Agudeza visual expresada en el logaritmo negativo del ángulo de mínima resolución
NOIA	Neuritis óptica anterior no arterítica
OCT	Tomografía de coherencia óptica
PIO/IOP	Presión intraocular
PK/PKP	Queratoplastia penetrante
reDMEK	Retrasplante tipo queratoplastia endotelial de membrana de Descemet
reFACODMEK	Retrasplante de queratoplastia endotelial de membrana de Descemet, originalmente operada de triple procedimiento simultáneo