

11234



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FUNDACION HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ, I.A.P.
DEPARTAMENTO DE CORNEA

74
29.

FLUORANGIOGRAFIA CORNEAL

TESIS DE POSTGRADO
PARA OBTENER EL TITULO DE:
CIRUJANO OFTALMOLOGO
P R E S E N T A :
DRA. MARTHA LUCIA POBLANO HERRERA

ASESORES: DR. OSCAR BACA LOZADA
DRA. REGINA VELASCO RAMOS



MEXICO, D. F.

DICIEMBRE 1998.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

276775
54972



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

FUNDACION HOSPITAL NUESTRA

SEÑORA DE LA LUZ, I.A.P.

DEPARTAMENTO DE CORNEA

TESIS DE POSTGRADO

FLUORANGIOGRAFIA CORNEAL

AUTORA:

DRA. MARTHA LUCIA POBLANO HERRERA*

ASESORES:

DR. OSCAR BACA LOZADA**

DRA. REGINA VELASCO RAMOS***

* Médico Residente de Tercer Año de Oftalmología de la Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz, I.A.P. México, D.F.

** Jefe del Departamento de Córnea de la Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz, I.A.P. México, D.F.

*** Médico Adscrito del Departamento de Córnea de la Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz, I.A.P. México, D.F.

**HOSPITAL OFTALMOLOGICO
DE NTRA. SRA. DE LA LUZ**

★ DIC 17 1998 ★

**JEFATURA DE ENSEÑANZA
EZEQUIEL MONTES 135
MEXICO, D.F.**

INDICE

ANTECEDENTES	1
ASPECTOS INMUNOLOGICOS	2
ASPECTOS GENETICOS	3
FACTORES ANGIOGENICOS	4
ETIOLOGIA	6
FISIOPATOLOGIA	7
METODO DE DIAGNOSTICO	8
TRATAMIENTO	9
OBJETIVO	11
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	11
JUSTIFICACION	11
HIPOTESIS	12
LINEAMIENTOS ETICOS	12
MATERIAL Y METODOS	13
RESULTADOS	14
DISCUSION	20
CONCLUSIONES	22
HOJA DE INFORMACION	23
CARTA DE CONSENTIMIENTO	24
FORMATO DE RECOPIACION	25
BIBLIOGRAFIA	26

ANTECEDENTES

El término angiogénesis fué primeramente utilizado en 1935 por Hertig para describir la formación de nuevos vasos sanguíneos en la placenta, y posteriormente en 1971 por Folkman para describir la neovascularización que acompaña el crecimiento de tumores sólidos. Se han identificado numerosos factores angiogénicos y la terapia anti-angiogénica se ha vuelto una realidad en pacientes con enfermedad ocular y con cáncer. En 1949 Cogan propuso que la falta de crecimiento vascular en la córnea sana se atribuía al medio intersticial local, a un estroma compacto, que prevenía la invasión vascular a través de causas físicas.

Actualmente se reconoce que el estado vascular normal refleja un balance complejo de mediadores de angiogénesis endógenos tanto positivos como negativos, este concepto se refiere al modelo de angiogénesis de homeostasis. La pérdida de este balance favorece la neovascularización que se llega a presentar en diferentes patologías.¹

La formación de nuevos vasos se asocia con una gran variedad de condiciones patológicas, incluyendo neoplasias, psoriasis, artritis, reacciones inflamatorias y algunas enfermedades oculares que acontecen con eventos traumáticos, inflamatorios, infecciosos, tóxicos y nutricionales. Las córneas vascularizadas secundarias a ulceración, queratitis herpética, quemaduras térmicas y químicas, trasplantes rechazados y otras causas son de alto riesgo para rechazo de implantes posterior a una queratoplastia penetrante.²

A pesar de que en ocasiones la neovascularización puede ser beneficiosa en el aclaramiento de las infecciones, duración de heridas y en la transmisión de complejos inmunes en la córnea, sus desventajas son numerosas y prevalentes. La neovascularización corneal frecuentemente acompaña a la mayoría de las causas comunes de ceguera infecciosa tanto en países desarrollados (queratitis herpética) y en no desarrollados (tracoma), y por sí sola puede conducir a un deterioro visual por la presencia de cicatrización tisular y queratopatía lipídica. La causa exacta por la que los injertos corneales fallan en presencia de neovascularización corneal no se conoce bien,

pero se piensa que la pérdida del privilegio inmunológico pueda ser la más acertada.³

Los vasos en las córneas transplantadas causan reconocimiento de antígenos en el injerto y destrucción por el sistema inmune del receptor sensibilizado.

ASPECTOS INMUNOLOGICOS

La desviación inmune asociada a la cámara anterior (DIACA) se define como una respuesta sistémica antígeno-específica provocada por antígenos solubles presentes en la cámara anterior y caracterizada por una deficiencia de una hipersensibilidad retrasada por células T y por anticuerpos fijadores del complemento. La respuesta por la DIACA es diferente a una respuesta inmune convencional. Se piensa que el privilegio inmune representa una adaptación evolutiva que se designa a limitar la expresión intraocular de la inflamación inmunogénica y que este privilegio depende en gran parte de la inducción de la DIACA.

La neovascularización corneal conduce a la pérdida del privilegio inmune en el segmento anterior en la primera semana tras su inducción manifestada por la inhabilidad de mantener la DIACA. Sin embargo, hay estrategias angiostáticas tópicas que conducen a la restauración del privilegio inmune cuando se establece lo suficientemente temprano en el curso de la respuesta por la neovascularización, y la efectividad del tratamiento no parece estar directamente relacionado a cualquier grado de neovascularización al momento de instaurar un tratamiento.

Por otro lado, la restauración del privilegio inmunológico está relacionado a los inmunomoduladores locales de los medicamentos y no a su absorción sistémica. Se piensa que ésta última es responsable de la hipersensibilidad retrasada que se observa como resultado de inoculaciones intracorneales de antígenos en los ojos tratados con neovascularización corneal. La neovascularización es un mecanismo patogénico importante para incitar y mantener un medio anormal para el privilegio inmunológico normal y estado quiescente.³

Se han descrito tres diferentes modos de angiogénesis: en brote o retoño (sprouting), crecimiento microvascular intususceptivo y en reclutamiento de células madre y diferenciación (primordial stem cell recruitment).

La Queratitis Inmune Estromal (QIE) es una de las causas más comunes de inflamación corneal crónica. Algunos autores utilizan el término de Queratitis Intersticial para referirse a la neovascularización estromal con inflamación. Otros lo reservan para neovascularización posterior solamente. El término de Queratitis Intersticial se utiliza para referir a cualquier condición inflamatoria del estroma que tenga una etiología inmunológica y no debe ser únicamente para la presencia o ausencia de neovascularización, la profundidad de la inflamación estromal o la etiología de la inflamación.⁴

La intensidad de la inflamación es el factor que incita la neovascularización y también produce cambios metabólicos en el endotelio con una alteración resultante del mismo y de la membrana de Descemet sin importar el agente causal. La Queratitis Intersticial tiene varias formas de presentación de acuerdo a la etapa clínica en la que se encuentre. Es necesario identificar las características clínicas que se presentan en los estadios (progresiva, florida o de regresión) para proporcionar un tratamiento adecuado.⁵

ASPECTOS GENETICOS

El mecanismo de infección en una queratitis herpética es controversial, ya que se encuentran implicados diferentes reacciones inmunes contra antígenos virales inactivos o replicación viral persistente, daño nervioso, efectos citopáticos directos del virus e isquemia debido a una vasculitis oclusiva. Se ha utilizado la hibridación in situ del Acido deoxiribonucleico (ADN) para la detección del ADN viral debido a su alta sensibilidad, localización exacta en estructuras histopatológicas y disponibilidad de tejido.

La presencia de ADN viral puede estar causada por virus activo replicante, latencia viral sin la presencia de viriones completos, remanentes de ADN viral que persisten tras una infección viral activa. La detección y localización de antígenos corneales del virus y el ADN viral en etapas tempranas de la infección pueden sugerir tanto una invasión viral a través del epitelio corneal o una distribución viral en los nervios locales o arterias del área límbica. La invasión viral a las paredes vasculares con efectos citopáticos

directos del virus puede activar el sistema inmune, conduciendo a una vasculitis granulomatosa o no granulomatosa. La isquemia secundaria puede inducir necrosis en el área afectada con vascularización.

Cualquiera de estos hallazgos también representan persistencia vascular extraganglionar, o reactivación vía vasos sanguíneos o vía nervios sensoriales de los vasos involucrados y puede ser el resultado de estudios biológicos moleculares futuros.⁶

FACTORES ANGIOGENICOS

Al menos quince factores de crecimiento angiogénico se conocen. A pesar de que el factor de crecimiento básico de fibroblastos fue el primero en describirse, se ha documentado la presencia de moléculas angiogénicas estimuladoras de varios tejidos oculares. Más recientemente se ha dirigido la atención hacia el papel del factor de crecimiento vascular endotelial en la angiogénesis ocular. Los macrófagos son capaces de liberar una variedad de factores angiogénicos.

El factor de crecimiento angiogénico (bFGF) es una cadena sencilla de péptidos, multifuncional, compuesta por 146 aminoácidos que tienen efectos importantes en la morfología celular, transformación, proliferación y diferenciación *in vitro*. Estimula la quimiotaxis en las células endoteliales y es un potente mitógeno para las células derivadas del mesodermo. Induce a las células endoteliales de los capilares a invadir una matriz de colágeno, organizar túbulos que semejen capilares sanguíneos y producir activador de plasminógeno y proteasas *in vitro*. Este factor es capaz de invadir directamente una serie de pasos ordenados requeridos para la angiogénesis. Para estabilizar la formación bioactiva de este factor y disminuir su liberación se combina con sucralfato.⁷

El factor Beta transformador de crecimiento (TGF-B), una citoquina multifuncional quimo-atractora para macrófagos se encuentra en tejidos oculares y dos isoformas de este factor se encuentran en el segmento anterior del ojo humano, especialmente en el epitelio limbal y estroma conjuntival.

Otros factores incluyen el factor de crecimiento derivado de las plaquetas, interleucina 8 y factor alfa de necrosis tumoral. Para que las células endoteliales migren a un estímulo angiogénico, las porciones de la matriz

extracelular (MEC) deben de ser selectivamente degradadas. Las metaloproteinasas de la MEC son enzimas que controlan esta actividad. La migración celular vascular endotelial a través de la MEC está también mediada por moléculas de adhesión celular de superficie, llamadas integrinas.¹

Las múltiples señales estimuladoras para la angiogénesis se contraponen en tejidos sanos por la presencia de inhibidores endógenos de neovascularización. La regulación de la angiogénesis es un evento biológico completo. En adición al papel central de las células vasculares endoteliales, otras células como los pericitos, fibroblastos, macrófagos y otras células inflamatorias se han descrito como elementos críticos en el control de angiogénesis ocular. Además, un gran número de moduladores incluyendo oxígeno, citoquinas angiogénicas, componentes de la MEC, factores anti-angiogénicos endógenos y sintéticos, mediadores inflamatorios e incluso complejos dietéticos.

El ácido hialurónico es un polímero disacárido compuesto de ácido glucurónico y N-acetilglucosamina. Se encuentra en tejido conectivo y hay altas concentraciones presentes en humor vítreo, jugando un importante papel en la hidratación corneal y transparencia. Anteriormente se pensaba que el ácido hialurónico no se encontraba en la córnea adulta, aunque varios estudios demuestran su presencia en el epitelio, estroma y endotelio. La importancia de hallar este elemento en la córnea se relaciona al papel clave de la MEC en la fisiología corneal. El estroma corneal es un compartimento extracelular con queratocitos y procesos nerviosos que abarcan el 5% del volumen. Los principales componentes de este compartimento son el colágeno tipo I y los proteoglicanos que incluyen a los glicosaminglicanos, queratán sulfato y condroitín sulfato. Los proteoglicanos recubren fibrillas de colágeno y retienen varias cantidades de agua y su completa acción se debe en gran parte a la tendencia de la córnea a hincharse. Se ha demostrado que pocas cantidades de ácido hialurónico pueden disminuir la claridad corneal al afectar los espacios normales que existen entre las fibrillas de colágeno, causando cambios focales en el índice de refracción al alterar el flujo normal de los solutos a través de la córnea. Es claro que no sólo el ácido hialurónico es el único factor involucrado en la claridad corneal, ya que no puede encontrarse en córneas opacificadas, facilita además el movimiento celular y previene el desarrollo embriológico precoz de la córnea. su acción conduce a deshidratación estromal y claridad corneal.⁸

ETIOLOGIA

Enfermedades destructivas de la córnea al ser correctamente manejadas, son en la mayoría tratables y la pérdida de visión es menor. En estas patologías se observan cambios vaso-oclusivos que afectan circulaciones arteriales, venosas o capilares que se detectan por la fluorangiografía de segmento anterior. Muchos de estos trastornos se tratan médicamente y la circulación se restaura tanto por formación de vasos o por recanalización de los vasos existentes.⁹

La neovascularización corneal puede estar inducida por una variedad de lesiones corneales, incluyendo reacciones inmunes, infecciones microbianas, queratopatía bulosa, lesiones químicas o deficiencias vitamínicas. Su comportamiento depende de la localización de los vasos.¹⁰

La neovascularización corneal está causada por estímulos inflamatorios no específicos mediados por neutrófilos polimorfonucleares y también asociados con reacciones corneales inmunes específicas. La neovascularización mediada inmunológicamente es más sensible al tratamiento. Es importante distinguir a los vasos en crecimiento activo, cuyo crecimiento se puede inhibir y vasos maduros en los cuales las modalidades al tratamiento inducen su regresión. La destrucción endotelial por linfocitos sensibilizados elaboran linfoquinas que interactúan con las células endoteliales vasculares limbales.

La absorción de trombospondín, glicoproteína abundante en sitios de daño tisular y lesión y que es un importante componente de la matriz extracelular, a un sustrato inhibe la adhesión celular endotelial, tiene un efecto antiproliferativo en células endoteliales *in vitro* y limita la formación de cordones (angiogénesis *in vitro*) por células endoteliales en cultivo. También induce la migración celular endotelial y quimiotaxis, estimula la proliferación de células de tejido muscular liso y fibroblastos.

Utilizando varias concentraciones de trombospondín humano se ha logrado inhibición de angiogénesis inducida por el bFGF. La magnitud de edema corneal e infiltrados celulares se relacionan con la extensión de la angiogénesis. Tiene un efecto activador y quimiotáctico en los polimorfonucleares, induciéndolos a infiltrar la córnea.¹¹

FISIOPATOLOGIA

La patogénesis de la neovascularización resulta de la difusión de los mediadores solubles y la reducción de la compactación del tejido. El epitelio corneal tiene su actividad angiogénica así como factor de crecimiento epidérmico. La importancia de la inducción de angiogenesis por linfocitos estimulados o linfoquinas descansa en el hecho de que estos mediadores solubles tienen profundo efecto en las células endoteliales incluyendo alteraciones en la composición de la superficie antigénica o el fenotipo morfológico de las células endoteliales vasculares y corneales.¹²

La respuesta vascular es una bien conocida secuencia de dilatación capilar limbal y venosa seguida de una diapédesis de leucocitos hacia el estroma con extravasación de fibrina y otras proteínas serosas. Una migración vascular endotelial subsecuente y proliferación ocurren como un patrón sugestivo de crecimiento directo hacia un estímulo neovascular, posiblemente causado por una sustancia que difunde del sitio de lesión.¹³

El endotelio vascular modula el tono vascular local mediante la liberación de factores como el óxido nítrico, prostaciclina, factor hiperpolarizante derivado del endotelio, así como la formación de un potente péptido vasoconstrictor endotelina-1 (ET-1).

La microcirculación es la que regula significativamente la perfusión del ojo bajo condiciones normales y patológicas. La importancia de los mediadores endoteliales aumenta con los diámetros decrecientes de los vasos sanguíneos. Existe una gran influencia del óxido nítrico en el flujo oftalmológico cuando se libera en condiciones basales y tras la estimulación con bradiquinina. La circulación oftalmológica se encuentra en un estado de continua vasodilatación a través de la producción basal de óxido nítrico.¹⁴

Histológicamente se observan miocitos conteniendo abundantes microfilamentos con densas concentraciones y vesículas pinocíticas. Los miocitos se encuentran con disposición circunferencial a lo largo del eje del vaso envueltos por una membrana basal. Estos vasos se llenan directamente por las arteriolas pericorneales pre-existentes en las fases tempranas de los angiogramas. Se ha observado que los vasos intracorneales que se comunican con las arteriolas pericorneales tienen características similares a las arteriolas como impresiones prominentes del núcleo celular endotelial y ranuras

longitudinales. Los neovasos que conectan directamente con venas cerca del limbo esclerocorneal presentan un lumen irregular e impresiones endoteliales celulares. Hay estudios que indican que una arteriola no se forma de una rama directa de una arteriola pre-existente. Se ha sugerido que los elementos conectivos tisulares semejan fibroblastos son los precursores de los miocitos de las arteriolas recientemente formadas.¹⁵

METODO DE DIAGNOSTICO

La fluorangiografía de segmento anterior se hizo disponible en 1970 y se utilizó de manera regular hasta 1975 básicamente para el monitoreo inicial del paciente, su progresión y para decidir la extensión del plan quirúrgico.

La fluorangiografía es un método clínico indispensable para el estudio y distribución de la vasculatura retiniana, la hemodinámica de la circulación ocular y la tinción de los tejidos oculares por el colorante extravasado. El filtro excitador usualmente transmite longitudes de onda menores a 500 nm y el filtro de barrera por arriba de esta cifra. La dosis de fluoresceína sódica es de 500 mg/5 ml. Las características de transmisión de una combinación de filtros para angiografía con fluoresceína se selecciona en base a las medidas de los espectros de excitación y emisión de la fluoresceína en su transmisión.¹⁶

Otros cuatro métodos diferentes y básicos para la angiografía con fluoresceína de segmento anterior se han reportado. Cada técnica utiliza un instrumento diferente: una cámara de fondo, una lámpara de hendidura con cámara fotográfica, un microscopio binocular o una combinación de cámara de reflejo con lente sencillo y una cámara de fondo como fuente de iluminación.¹⁷

Si se observan vasos filtrantes en una fluorangiografía sugiere un cuadro activo progresivo, mientras que si se observan cierres capilares se traduce en control de la patología. Una gran desventaja de esta técnica es la que la información más valiosa se obtiene en los primeros segundos del paso del colorante.⁹

La filtración de fluoresceína en los vasos estromales se puede observar en cualquier localización, acto que no sucede con la vascularización subepitelial. La permeabilidad de los vasos estromales puede ser en parte la razón de un edema corneal crónico.¹⁰

TRATAMIENTO

El tratamiento más efectivo de la neovascularización corneal es eliminar o inhibir el estímulo incitador, ya que la obliteración de los vasos corneales es de muy poca ayuda. La radiación beta, crioterapia y medicamentos como Flurbiprofén y agentes citotóxicos se han utilizado para inhibir la neovascularización. La neovascularización puede causar una importante pérdida visual debido a la cicatrización secundaria y al depósito de lípidos. La terapia fotodinámica consta en la aplicación de una sustancia fotoactiva, como el derivado de hematoporfirina que al ser expuesto a la luz se genera oxígeno causando efectos citotóxicos en los tejidos que retienen la tinción.⁹

La Rapamicina es un efectivo agente antifúngico producido por el *Streptomyces higroscopicus* y su administración sistémica ha demostrado ser efectiva en retrasar el rechazo de injertos corneales, causando mínimos efectos tóxicos. Permite la inhibición de vascularización frente a una gran variedad de estímulos inflamatorios. Puede inhibir la producción de otra citoquina responsable de neovascularización, limita la inflamación mediada inmunológicamente en respuesta a un estímulo aloantigénico, disminuyendo el riesgo de rechazo a los injertos. Es de dos a cuatro veces más potente que el acetato de prednisolona, pero no está asociado con los efectos citotóxicos de la prednisolona. Prolonga significativamente la supervivencia de los injertos corneales y retrasa la neovascularización del mismo.¹⁸

El tratamiento con una variedad de agentes antiinflamatorios y angiostáticos puede causar una regresión significativa (no absoluta) de la neovascularización y restaurar la DIACA en ojos que han perdido el privilegio inmunológico si es iniciado tempranamente. El efecto inmunomodulatorio de los agentes terapéuticos se manifiesta localmente más que sistémicamente.³

Se han descrito drogas anti-angiogénicas tales como Talidomida, Captopril, Espironolactona, Furosemida y productos naturales. Los láseres se han utilizado para controlar la angiogénesis patológica en oftalmología, aunque el mecanismo exacto de inhibición no se ha entendido por completo. La terapia fotodinámica es una nueva técnica que destruye la vascularización proliferativa mediante el uso de colorantes sensibles a la luz causando menor daño a tejido contiguo.¹

La fotocoagulación corneal con láser de argón se ha utilizado en modelos animales y en pacientes con queratopatía lipídica o rechazo de injertos. La luz amarilla con longitud de onda de 577 nm es mejor absorbida por hemoglobina y oxihemoglobina en comparación al argón azul de 488 nm o argón verde de 514 nm. El objetivo con este láser es causar ablación de la neovascularización. El tamaño del disparo es entre 50 y 200 μ m, determinado por el tamaño del vaso, con poder entre 250 y 750 miliwatts dependiendo de la claridad corneal y flujo sanguíneo y con duración de 0.05 seg.¹⁹

Los vasos aferentes son tratados antes que los eferentes y los pedículos vasculares en el limbo se tratan a 2-3 mm. centrales, mientras que los vasos más grandes o con flujo persistente se les aplica láser más centralmente.

El flujo se juzga clínicamente utilizando una alta magnificación y se basa en el cambio de color amarillo café del vaso en el sitio de aplicación de láser e interrupciones en la columna vascular. El tratamiento con láser requiere más de una sesión (hasta 6) y depende primariamente en la absorción de energía por hemoglobina. Dentro de las complicaciones de esta técnica se encuentran la presencia de hemorragias intracorneales finas y grandes hemorragias si los vasos eferentes se trataron antes que los aferentes. Se describen también atrofia del iris y adelgazamiento estromal.

La neovascularización estromal incrementa el riesgo de rechazo de los injertos corneales y el desarrollo de queratopatía lipídica. En los pacientes tratados con láser no se han reportado cambios significativos en la agudeza visual y los que presentan una extensa neovascularización no obtienen ningún beneficio con este tratamiento.¹⁹

El campo de la vascularización es amplio, ya que es una patología corneal frecuente, en muchos casos devastadora día a día y que poco se sabe sobre el origen y comportamiento de los vasos. Es necesario tratar de entender el comportamiento corneal ante efectos hipóxicos que originen la neovascularización y las características vasculares.

Dado el entendimiento de la fisiopatología de la neovascularización se podrán valorar las características de los vasos para poder así ofrecer un tratamiento adecuado y en lo posible prevenir algunas complicaciones que la neovascularización acarrea consigo.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio fué identificar las fases de llenado de la vascularización corneal para un mejor estudio de la misma y para obtener un patrón fluorangiográfico. En el plano ético de toda investigación diagnóstica se estudia su conocimiento, previsión, discriminación y evaluación.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Pocos han sido los estudios útiles para diferenciar las fases de vascularización corneal que aún no se han podido cuantificar en razón del tiempo. El primer problema que plantea un nuevo medio tecnológico es el relativo a los efectos benéficos que de él se esperan en relación con los riesgos que implica.

JUSTIFICACION

El campo de la vascularización es amplio, ya que es una patología corneal frecuente, en muchos casos devastadora día a día y que poco se sabe sobre el origen y comportamiento de los vasos. El fin de este estudio es tratar de entender el comportamiento corneal ante efectos hipóxicos que originen la neovascularización y las características vasculares. Dado el entendimiento de la fisiopatología de la neovascularización se podrán valorar las características de los vasos para poder así ofrecer un tratamiento adecuado y en lo posible prevenir posibles complicaciones que la neovascularización acarrea consigo.

HIPOTESIS

Las características histológicas de los vasos en neoformación presentan cambios estructurales en comparación a los vasos que los originan, las cuales ocasionan una filtración que habrá de diferenciar de una Queratitis Intersticial no activa.

Los patrones fluorangiográficos contribuyen a determinar si el edema corneal depende solamente de la reacción inflamatoria o por la excesiva permeabilidad de los vasos inmaduros que fugan. En los casos de vascularización superficial se encuentra que en el angiograma no hay fuga de los vasos, mientras que sí existe en los profundos. A pesar de que la neovascularización corneal representa un mecanismo de defensa contra lesiones o enfermedad, su presencia puede conducir a una baja de visión debido a la pérdida de transparencia corneal.

LINEAMIENTOS ETICOS

En toda investigación en la que el ser humano sea sujeto de estudio, deberá prevalecer el criterio del respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar. Toda investigación al igual que toda terapia comportan riesgos, complicaciones y efectos colaterales. La opción de someter a un paciente a una determinada investigación es siempre fruto de un balance: de los riesgos por un lado, y de los beneficios por otro.

La ética de la elección es someter a un paciente a una investigación determinada o terapia técnicamente innovadora, nunca debe surgir de consideraciones relativas solo a la metodología ni solo al paciente, sino de una personalización de la técnica al paciente.

El conocimiento significa no solo la capacidad técnica para emplear ese medio tecnológico, sino dominio global del mismo según la clásica triada de saber, saber hacer y saber ser.²⁰

MATERIAL Y METODOS

Se realizó un estudio prospectivo en el Departamento de Córnea de la Fundación Hospital Nuestra Señora de la Luz, I.A.P., de Marzo de 1998 a Septiembre de 1998. Se incluyeron pacientes de ambos sexos, conscientes y cooperadores; que presentaron vascularización total o parcial y superficial o profunda. Se proporcionó información adecuada a cada paciente y se solicitó su consentimiento voluntario e informado teniendo todos los pacientes participantes el derecho a obtener toda la información disponible sobre su diagnóstico, tratamiento y pronóstico. Así, el paciente tuvo la opción de aceptar o rechazar el estudio.

No se incluyeron a los pacientes que presentaran o refirieran alergia a la fluoresceína, descompensación corneal o alguna patología corneal en fase activa. También fueron excluidos los pacientes con insuficiencia renal, hepática o cardíaca grave.

El equipo utilizado constó de una lámpara de hendidura TOPCON TRC 50v con filtro excitador de 1x, intensidad de flash de 150 ws, aumento de 20x con buen enfoque, tomando así fotografías seriadas a color. Se realizaron fluorangiografías corneales en una ocasión por paciente gracias a la ayuda de personal especializado en el estudio. A los pacientes se les aplicó en la vena antecubital fluoresceína sódica al 20% y los angiogramas se realizaron en una cámara Topcon equipada para fluorangiografías de segmento anterior.¹⁰

Se revisaron las fotos clínicas y fluorangiográficas para establecer patrones y etapas fluorangiográficas a nivel corneal.

En este estudio gracias a los hallazgos fluorangiográficos definimos a la aparición de fluoresceína como el momento de presentación del pigmento a cualquier nivel vascular, la definición del patrón vascular como la demarcación de vasos por la fluoresceína. El flujo laminar vascular como la delineación de la pared vascular y el tronco vascular como el vaso de mayor calibre del cual se originan ramas vasculares cuyo extremo terminal lo definimos como el bulbo vascular.

El vaciamiento total vascular lo consideramos como la ausencia de fluoresceína a lo largo del patrón vascular.

RESULTADOS

En este estudio se incluyeron a 36 pacientes sanos, 15 del sexo femenino y 21 del sexo masculino. El rango de edad se encuentra comprendido entre los 7 y 85 años, con una edad promedio de 46 años. Previo consentimiento, a 33 pacientes se les aplicó fluoresceína I.V. en vena antecubital y a los 3 pacientes restantes se les aplicó en la superficie dorsal de la mano.

El tiempo de aparición de fluoresceína en la fluorangiografía corneal varió desde 1.44 seg, hasta 7.11 seg. La duración de la fluorangiografía presentó un rango desde 4.54 seg. hasta 35.08 seg. Treinta y dos pacientes no refirieron efecto secundario a la fluoresceína en el transcurso de realización de la fluorangiografía, mientras que los cuatro pacientes restantes presentaron mareo y náusea, mareo y mayor salivación, ligero mareo y náusea leve, respectivamente.

Veinticuatro pacientes presentan el diagnóstico de Queratitis Intersticial: 18 por etiología herpética, 2 por traumatismo, 2 por quemadura con ácido, 1 por úlcera corneal mixta y 1 por úlcera corneal sellada. Tres pacientes presentan colgajo conjuntival, 2 por quemadura con álcali y 1 por úlcera corneal mixta. Se incluyó un paciente con queratocono bilateral, un paciente con Queratopatía Bulosa cicatrizada secundaria al contacto con aceite de silicón y un paciente con conjuntivitis primaveral con papiloma. También se incluyeron a 5 pacientes con Queratoplastia Penetrante fallida, 3 por úlcera corneal perforada, 1 con leucoma total probablemente secundario a uveítis y 1 con quemadura de cuarto grado por álcali. El último paciente incluido presenta Injerto Tectónico realizado por haber presentado una úlcera micótica perforada.

El tipo de vascularización que los pacientes presentaron se reporta como: superficial en 4 pacientes, superficial y media en 3, media en 6, superficial y profunda en 5, profunda en 8, generalizada en 9 y vasos fantasma en 1 paciente.

Revisando las fluorangiografías corneales realizadas observamos la presencia de siete fases. Se obtuvo una cifra promedio en segundos de acuerdo a la localización de la vascularización y del diagnóstico que los pacientes presentaron. La secuencia de fases fue:

I. APARICION DE FLUORESCENCIA: Rango desde 1.96 seg. hasta 4.14 seg. teniendo un tiempo promedio de 3.09 seg.

<i>DIAGNOSTICO</i>	<i>TIEMPO EN SEGUNDOS</i>
COLGAJOS CON JUNTIVALES	1.96 SEG.
VASCULARIZACION PROFUNDA	2.68 SEG.
INJERTO TECTONICO Y Q.P.P. FALLIDA	2.77 SEG.
VASCULARIZACION SUPERFICIAL Y MEDIA	3.46 SEG.
VASCULARIZACION MEDIA	3.55 SEG.
VASCULARIZACION SUPERFICIAL	4.14 SEG.
	TIEMPO PROMEDIO: 3.09 SEG.

II. DEFINICION DE PATRON VASCULAR: Rango desde 2.49 seg. hasta 6.83 seg. teniendo un tiempo promedio de 3.95 seg.

<i>DIAGNOSTICO</i>	<i>TIEMPO EN SEGUNDOS</i>
COLGAJOS CONJUNTIVALES	2.49 SEG.
INJERTO TECTONICO Y Q.P.P. FALLIDA	2.77 SEG.
VASCULARIZACION SUPERFICIAL Y MEDIA	3.46 SEG.
VASCULARIZACION MEDIA	3.71 SEG.
VASCULARIZACION PROFUNDA	3.80 SEG.
VASCULARIZACION SUPERFICIAL Y PROFUNDA	4.60 SEG.
VASCULARIZACION SUPERFICIAL	6.83 SEG.
	TIEMPO PROMEDIO: 3.95 SEG.

III. FLUJO LAMINAR VASCULAR: Rango desde 3.72 seg. hasta 5.78 seg. teniendo un tiempo promedio de 4.54 seg.

<i>DIAGNOSTICO</i>	<i>TIEMPO EN SEGUNDOS</i>
COLGAJOS CONJUNTIVALES	3.72 SEG.
INJERTO TECTONICO Y Q.P.P. FALLIDA	4.20 SEG.
VASCULARIZACION MEDIA	4.47 SEG.
VASCULARIZACION PROFUNDA	5.78 SEG.
TIEMPO PROMEDIO: 4.54 SEG.	

IV. VACIAMIENTO DE RAMAS VASCULARES: Rango desde 2.48 seg. hasta 6.84 seg. teniendo un tiempo promedio de 5.57 seg.

<i>DIAGNOSTICO</i>	<i>TIEMPO EN SEGUNDOS</i>
COLGAJOS CONJUNTIVALES	2.48 SEG.
VASCULARIZACION PROFUNDA	5.19 SEG.
VASCULARIZACION SUPERFICIAL Y PROFUNDA	6.64 SEG.
VASCULARIZACION MEDIA	6.71 SEG.
INJERTO TECTONICO Y Q.P.P. FALLIDA	6.84 SEG.
TIEMPO PROMEDIO: 5.57 SEG.	

V. FILTRACION DE BULBOS VASCULARES: Rango desde 4.27 seg. hasta 7.8 seg. teniendo un tiempo promedio de 5.90 seg.

<i>DIAGNOSTICO</i>	<i>TIEMPO EN SEGUNDOS</i>
INJERTO TECTONICO Y Q.P.P. FALLIDA	4.27 SEG.
VASCULARIZACION PROFUNDA	4.90 SEG.
VASCULARIZACION SUPERFICIAL Y PROFUNDA	6.64 SEG.
VASCULARIZACION SUPERFICIAL Y MEDIA	7.80 SEG.
	TIEMPO PROMEDIO: 5.90 SEG.

VI. VACIAMIENTO DE TRONCO VASCULAR: Rango desde 5.61 seg. hasta 9.04 seg. teniendo un tiempo promedio de 7.36 seg.

<i>DIAGNOSTICO</i>	<i>TIEMPO EN SEGUNDOS</i>
COLGAJOS CONJUNTIVALES	5.61 SEG.
INJERTO TECTONICO Y Q.P.P. FALLIDA	5.83 SEG.
VASCULARIZACION PROFUNDA	6.95 SEG.
VASCULARIZACION SUPERFICIAL Y MEDIA	7.80 SEG.
VASCULARIZACION SUPERFICIAL Y PROFUNDA	8.96 SEG.
VASCULARIZACION MEDIA	9.04 SEG.
	TIEMPO PROMEDIO: 7.36 SEG.

VII. VACIAMIENTO TOTAL VASCULAR: Rango desde 7.09 seg. hasta 17.07 seg. teniendo un tiempo promedio de 11.74 seg.

<i>DIAGNOSTICO</i>	<i>TIEMPO EN SEGUNDOS</i>
COLGAJOS CONJUNTIVALES	7.09 SEG.
VASCULARIZACION PROFUNDA	9.46 SEG.
VASCULARIZACION SUPERFICIAL Y PROFUNDA	12.49 SEG.
INJERTO TECTONICO Y Q.P.P. FALLIDA	12.59 SEG.
VASCULARIZACION MEDIA	17.07 SEG.
	TIEMPO PROMEDIO: 11.74 SEG.

De acuerdo a los resultados obtenidos se observa que la aparición de fluoresceína ocurre primero en el colgajo conjuntival y posteriormente en la córnea. Ocupan el primer lugar en las fases I, II y III. No se observó filtración de bulbos vasculares en éstos y el vaciamiento de sus ramas vasculares, tronco y el vaciamiento total también ocurre primeramente en los colgajos.

En la vascularización profunda la aparición de fluoresceína siguió a los colgajos conjuntivales y ocurre primero que en un Injerto Tectónico o en una Queratoplastía Penetrante fallida. La aparición de fluoresceína corneal ocurre primero en planos profundos, seguido de vascularización media y superficial.

La definición del patrón vascular corneal ocurre primero en vascularización generalizada como en el Injerto Tectónico y Queratoplastía Penetrante fallida, seguido en vascularización media y profunda, siendo en vascularización superficial el último sitio en el que se presenta.

Se observó flujo laminar en vascularización conjuntival primero, seguida de corneal en planos vasculares medios y profundos. No se observó flujo laminar en vascularización superficial.

El vaciamiento de ramas vasculares ocurre primero en colgajos conjuntivales, continuando en planos corneales profundos, medios y generalizados. Se observaron bulbos vasculares a nivel corneal únicamente, primero en Injerto Tectónico y Queratoplastia Penetrante fallida, seguidos por planos vasculares profundos, medios y superficiales. No hay bulbos vasculares en conjuntiva.

El vaciamiento de troncos vasculares ocurre primeramente en conjuntiva que en córnea, a nivel de planos vasculares profundos a superficiales. El vaciamiento vascular total se lleva a cabo en primer lugar en colgajos conjuntivales seguido de tejido corneal de planos profundos a superficiales.

Los colgajos conjuntivales presentan primero las fases vasculares en comparación al tejido corneal. El rango de tiempo de aparición de estas fases a nivel conjuntival es desde los 1.96 seg. hasta los 7.09 seg., siendo el tiempo promedio de 4.52 seg. El rango a nivel corneal es desde los 2.68 seg. hasta los 9.46 seg., siendo el tiempo promedio de 6.07 seg. En general en tejido corneal las fases ocurren primero en niveles profundos a superficiales. A nivel conjuntival no se observan bulbos vasculares, mientras que sí existen a nivel corneal. Los vasos fantasma no filtran.

El rango de presentación de las fases ocurren desde los 3.09 seg. hasta los 11.74 seg., tanto en conjuntiva como en córnea, siendo el tiempo promedio de 7.41 seg. Tanto en vasos conjuntivales como corneales el llenado es centrípeto y el vaciamiento es centrífugo.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

DISCUSION

La incidencia de vascularización en los pacientes incluidos fue primeramente en Queratitis Intersticial principalmente por etiología herpética, seguida de Queratoplastias Penetrantes fallidas como se menciona en la literatura.^{2,3}

La proliferación vascular ocurre primero a niveles profundos que superficiales, ya que la infiltración corneal de factores angiogénicos tienen profundo efecto en las células endoteliales.^{11,12} Los vasos intracorneales que se comunican con las arteriolas pericorneales tienen características similares y siguen su llenado de periferia a centro.¹⁵

En este estudio existió filtración de vasos a cualquier nivel, traduciendo cuadros activos progresivos controlados, mientras que en cierres capilares (como en vasos fantasma) se traduce control de la patología.⁹

La fluorangiografía de segmento anterior se introdujo desde hace más de una década, y no es realizado de manera frecuente. Una de las razones es la inhabilidad de demostrar de manera convincente el valor del estudio como un instrumento diagnóstico o un método potencial de investigación básica. Las deficiencias en la instrumentación (problemas de intensidad de luz, resolución, secuencia rápida y falta de un dispositivo para sincronización) son fundamentales en este problema.²¹

La angiogénesis se inicia y se controla por numerosas células y moléculas involucradas en la respuesta inflamatoria-angiogénica. La invasión de vasos sanguíneos depende de la migración de células endoteliales hacia el tejido desde los vasos sanguíneos pericorneales, y de la habilidad de estas células para replicarse y alinearse de una manera ordenada. El "mensaje" que activa las células vasculares endoteliales para llevar a cabo una división celular, migrar y sintetizar varias proteínas que son necesarias para esta activación ocurren tras varios estímulos nocivos para la córnea.

La secuencia de eventos en la neovascularización corneal ocurre como sigue.²²

- I. Periodo latente entre la lesión corneal y el desarrollo de angiogénesis.
- II. Dilatación vascular, incremento en la permeabilidad vascular y edema corneal.
- III. Activación de células endoteliales las cuales presentan retracción y falta de unión entre ellas.
- IV. Degradación de la lámina basal celular endotelial.
- V. Migración de células endoteliales y replicación.
- VI. Creación de brotes vasculares o retoños que dan lugar a vasos sanguíneos más largos que se originan de vénulas o capilares pre existentes en el plexo vascular pericorneal, y no de pequeñas arterias o arteriolas.
- VII. Formación de lumen vascular y sus anastomosis.
- VIII. Formación de lámina basal alrededor de vasos recientemente formados.
- IX. Fase de regresión capilar y maduración vascular.

CONCLUSIONES

La fluorangiografía corneal no es utilizada de manera frecuente por la inhabilidad de demostrar su valor diagnóstico o un método potencial de investigación. En nuestro estudio demostró ser útil al poder identificar la presencia de fases de llenado y vaciamiento en la vascularización corneal y conjuntival.

En vascularización generalizada, injerto tectónico y queratoplastia penetrante fallida la definición del patrón vascular se lleva a cabo de manera temprana a niveles profundos. Este estudio demostró que no existe flujo laminar en planos superficiales y que la filtración traduce cuadros activos progresivos controlados.

Con este estudio se demostró que a nivel conjuntival la aparición de fluoresceína se lleva a cabo tempranamente, así como el vaciamiento de ramas vasculares, tronco vascular y vaciamiento total. No se presentó filtración de bulbos vasculares en comparación a nivel corneal y sí existe flujo laminar a este nivel.

La fluorangiografía corneal deberá ser más frecuentemente utilizada para comprender el comportamiento vascular tanto en patología corneal como conjuntival que sigue siendo un campo difícil de entender.

FUNDACION HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ, I.A.P.

HOJA DE INFORMACION PARA PACIENTES INCLUIDOS EN EL ESTUDIO DE FLUORANGIOGRAFIA CORNEAL

El estudio de Fluorangiografía Corneal que se realiza en esta Institución está encaminado al estudio de los vasos sanguíneos que aparecen en ciertas enfermedades corneales. El campo a estudiar en estos es muy amplio y desconocido, por lo que el objetivo de este estudio es tratar de entender las características de los vasos y el comportamiento de los mismos al observar el paso de la fluoresceína a través de ellos.

La fluoresceína es un pigmento artificial soluble que tiene la característica de demarcar estructuras de manera útil para su mejor observación. Para poder observarlos es necesario utilizar ciertos filtros especiales que al paso de la luz activan de alguna manera la fluoresceína y facilitan ver estructuras oculares.

El estudio consiste en inyectar en una vena del brazo 3 ml. de fluoresceína y al cabo de unos segundos tomar fotografías seriadas para así observar el paso de este líquido por los vasos sanguíneos de la córnea.

Los pacientes se deberán presentar en ayuno el día y la hora indicados, acompañados. Las molestias frecuentes incluyen tinción leve en piel y orina, vértigo y mareo, náuseas pasajeras y vómito ocasional.

En todo momento del estudio se encontrarán acompañados por personal profesional y calificado para resolver cualquier duda o inconveniente que se presente por parte de los participantes o de la situación del estudio.

FUNDACION HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ, I.A.P.
DEPARTAMENTO DE CORNEA

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA REALIZACION DE
FLUORANGIOGRAFIA CORNEAL

DR. _____
P R E S E N T E

Yo, _____, por mi propio
derecho, con domicilio en _____
_____ y
con fundamento en lo que especifica el artículo 5° de la Ley General de Salud, así como en
el capítulo I en sus artículos 13 y 14, en este acto vengo a otorgar a usted mi
consentimiento para realizar el procedimiento de Fluorangiografía Corneal, encaminado al
diagnóstico y tratamiento de mi (s) padecimiento (s) corneal (es) : _____

Estoy debidamente enterado, por habérmelo expresado antes de recabar mi
consentimiento, que los riesgos del procedimiento o procedimientos a que seré sometido
incluyen secuelas transitorias o permanentes en el ojo y que pueden haber complicaciones
generales que impliquen a dicho órgano o a otros.

Estoy enterado que el principal procedimiento que consiste en la aplicación
intravenosa de fluoresceína sódica se llevará a efecto el día _____ de
_____ de 1998 en el Departamento de Fluorangiografía de la Fundación
Hospital Nuestra Señora de la Luz, I.A.P. y que participarán en dicho procedimiento los
siguientes profesionales:

Se otorga la presente carta de consentimiento informado a los _____ días del mes
de _____ de 1998, por duplicado, quedando un ejemplar en mi
expediente clínico y otro en mi poder.

ATENTAMENTE

FIRMA DEL PACIENTE

HUELLA DIGITAL

TESTIGOS: NOMBRE Y FIRMA _____
DOMICILIO _____
NOMBRE Y FIRMA _____
DOMICILIO _____

FUNDACION HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ, I.A.P.

DEPARTAMENTO DE CORNEA

FORMATO DE RECOPIACION DE DATOS

NOMBRE _____

EDAD _____ AÑOS SEXO F _____ M _____
No. DE EXPEDIENTE _____

DIAGNOSTICO

LOCALIZACION Y TIPO DE VASCULARIZACION

FECHA DE REALIZACION DE FAG CORNEAL _____

TIEMPO DE APARICION DE FL EN CORNEA _____

DURACION DE FAG CORNEAL _____

EFFECTOS COLATERALES _____

HALLAZGOS FLUORANGIOGRAFICOS _____

BIBLIOGRAFIA

1. Casey R., Li W. PERSPECTIVE FACTORS CONTROLLING OCULAR ANGIOGENESIS. *Am J Ophthalmol* 1997, 124: 521-529.
2. Benelli U., Ross J.R., et-al. CORNEAL NEOVASCULARIZATION INDUCED BY XENOGRAFTS OR CHEMICAL CAUTERY. *IOVS* 1997; 38,2: 274-282.
3. Reza M., Wayne J. LOSS AND RESTORATION OF IMMUNE PRIVILEGE IN EYES WITH CORNEAL NEOVASCULARIZATION. *IOVS* 1996; 37, 2: 2485-2494.
4. Schwartz G., Harrison A., et-al. ETIOLOGY OF IMMUNE STROMAL (INTERSTITIAL) KERATITIS. *Cornea* 1998, 17, 3: 278-281.
5. Poblano M.L., Baca O., Velasco R., et-al. QUERATITIS INTERSTICIAL, VARIANTES DE PRESENTACION. *Boletín del Hospital Oftalmológico de Nuestra Señora de la Luz* 1998, 180:53-57.
6. Winkel H., Rummelt V., et-al. DETECTION OF VARICELLA ZOSTER VIRUS DNA AND VIRAL ANTIGEN IN HUMAN EYES AFTER HERPES ZOSTER OPHTHALMICUS. *Ophthalmology* 1998; 105, 7:1323-1330.
7. Kenuon B., Voest E., et-al. A MODEL OF ANGIOGENESIS IN THE MOUSE CORNEA. *IOVS* 1996; 37, 8: 1625-1632.
8. Fitzsimmons T., Molander N., et-al. ENDOGENOUS HYALURONAN IN CORNEAL DISEASE. *IOVS* 1994; 35, 6: 2774-2782.
9. Watson P. ANTERIOR SEGMENT FLUORESCEIN ANGIOGRAPHY IN THE SURGERY OF IMMUNOLOGICALLY INDUCED CORNEAL AND SCLERAL DESTRUCTIVE DISORDERS. *Ophthalmology* 1987; 94: 1452-1464.

10. Baca O., Velasco R., Lopez L., et-al. FLUORESCEIN ANGIOGRAPHY IN CORNEAL DISORDERS. B350. ARVO 1996; 37,3: S547.
11. BenEzra D., Griffin B., et-al. THROMBOSPONDIN AND IN VIVO ANGIOGENESIS INDUCED BY BASIC FIBROBLAST GROWTH FACTOR OR LIPOPOLYSACCHARIDE. IOVS 1993; 34, 13: 3601-3608.
12. Epstein R., Stulting D., et-al. CORNEAL NEOVASCULARIZATION, PATHOGENESIS AND INHIBITION. Cornea 1987; 6: 250-257.
13. Kenyon K., Chaves H. MORPHOLOGY AND PATHOLOGIC RESPONSE OF CORNEAL AND CONJUNCTIVAL DISEASE. En: The Cornea. Scientific Foundations and Clinical Practice. Smolin G., Thoft R. Capítulo 4, 3ª. Edición, 69-111.
14. Meyer P., Fammer J. ENDOTHELIUM-DEPENDENT REGULATION OF THE OPHTHALMIC MICROCIRCULATION IN THE PERFUSED PORCINE EYE: ROLE OF THE NITRIC OXIDE AND ENDOTHELINS. IOVS 1993; 34, 13: 3614-3621.
15. Burger P., Chandler D., et-al. EXPERIMENTAL CORNEAL NEOVASCULARIZATION: BIOMICROSCOPIC, ANGIOGRAPHIC, AND MORPHOLOGIC CORRELATION. Cornea 1986; 4: 35-41.
16. Delori F., Ben-Sira I., et-al. FLUORESCEIN ANGIOGRAPHY WITH AN OPTIMIZED FILTER COMBINATION. Am J Ophthalmol 1976; 82, 4: 559-566.
17. Matsui M., Parel J., et-al. SOME IMPROVED METHODS OF ANTERIOR SEGMENT FLUORESCEIN ANGIOGRAPHY. Am J Ophthalmol 1972; 74, 6: 1075-1079.
18. Olsen T., Benegas N., et-al. RAPAMYCIN INHIBITS CORNEAL ALLOGRAFT REJECTION AND NEOVASCULARIZATION. Arch Ophthalmol 1994; 112: 1471-1475.

19. Baer J., Foster S. CORNEAL LASER PHOTOCOAGULATION OR TREATMENT OF NEOVASCULARIZATION. EFFICACY OF 577 NM YELLOW DYE LASER. *Ophthalmology* 1992; 99, 2: 173-179.
20. Instituto de Humanismo en Ciencias de la Salud. Escuela de Medicina Universidad Anáhuac. MEDICINA Y ETICA. *Revista Internacional de Bioética, Deontología y Etica Médica* 1990; I, II: 181-363.
21. Fetkenhour C., Choromokos E. ANTERIOR SEGMENT FLUORESCEIN ANGIOGRAPHY WITH A RETINAL FUNDUS CAMERA. *Arch Ophthalmol* 1978; 96: 711-713.
22. Leon C.R., et-al. CORNEAL VASCULARIZATION INDUCED BY CORALLINE HYDROXYAPATITE (HA) WITH OR WITHOUT MUSCLE FLAPS. *B256*. 1998; 39,4:S745.