

Hallazgos histopatológicos de la neovascularización corneal en correlacion con la fluorangiografía corneal

Dra. Miriam Beteche Hanono*, Dr. Oscar Baca Lozada*, Dra. Regina Velasco*, Dr. Arthur Levine*,
Dr. Abelardo Rodríguez Reyes**, F.B. Ma de la Luz Rosales Montaña***

RESUMEN

Objetivo: Correlacionar los hallazgos histopatológicos con la fluorangiografía (FAG) corneal de botones con neovascularización en postoperados de queratoplastia penetrante (QPP).

Métodos: Cuarta parte de FAG Corneal por Baca y cols. (1996). Estudio prospectivo, transversal, descriptivo y observacional, de marzo a noviembre del 2001 en el departamento de Córnea de la FHNSL. Estudiamos con FAG corneal cinco pacientes con neovascularización corneal, identificando las fases descritas por Vieyra y Baca (ARVO 1999) y QPP posterior. El botón fue estudiado por microscopía de luz y electrónica correlacionándolo con la FAG corneal.

Resultados: Se obtuvieron cinco botones corneales: Caso 1: ausencia de patrón de fuga; Casos 2, 3 y 4: presencia de patrón de fuga o 'bulbos'. Microscopía de luz: Caso 1: Panus corneal; Casos 2, 3, 4 y 5: Queratitis intersticial. Resultados preliminares de microscopía electrónica: alteraciones en la pared nuclear de la célula endotelial, presencia de poros nucleares, alteraciones en las uniones intercelulares tipo zonulae ocludens en vasos de pequeño calibre.

Conclusiones: Los hallazgos histopatológicos explican las alteraciones corneales fluorangiográficas y la fuga de otras sustancias en la queratitis intersticial. Sin embargo, el número de casos está siendo ampliado para obtener estudios representativos y resultados estadísticamente significativos.

Palabras clave: Neovascularización corneal, fluorangiografía corneal, microscopía electrónica.

SUMMARY

Purpose: To correlate the histopathological findings and the fluorangiographic images of the vascularized corneas obtained by penetrating keratoplasty and try to explain why some vessels of neoformation leak and some others does not leak.

Methods: This is the fourth stage of a corneal fluorangiographic trial. A prospective, transversal, descriptive and observational study was carried out in the period comprehended between March and November 2001 in the Cornea Department of the FHNSL. We studied five patients with corneal neovascularization by corneal fluorangiography, which needed of visual rehabilitation by penetrating keratoplasty. The corneal graft was studied by light and electron microscopy and was correlated with the corneal fluorangiography.

Results: Five buttons were obtained, all of them matching with the inclusion criteria, except one in which only electron microscopy was done. In the corneal fluorangiography case 1 did not leak, and cases 2, 3, 4 did showed leakage forming 'bulb' images. Light microscopy diagnosis of case 1 was Corneal Pannus and in cases 2, 3, 4 and 5 Interstitial Keratitis. Electron microscopy of all cases before mentioned showed basal lamina discontinuity of the vessels and wide fenestrations. In the endothelial junctions from small vessels we could see alterations of the zonulae ocludentes: discontinuity of the membrane, less filamentary structures, responsible of the cell mobility, less pinocytic vesicles, responsible of substance transportation and a higher number of vacuoles. In the nuclear structures of the endothelial cells we observed prominent nucleolus, more nuclear indentations and data compatible with embryonic vessels like nuclear pores.

Conclusions: In the preliminary results all the study items showed similar alterations in the vascular basal lamina and endothelial cell structures, characteristics not found in a normal vessels, which have a direct relation in the substance transportation thru the vascular wall. Histopathological findings could explain the corneal fluorangiographic alterations and how they intervene in the leakage of many substances, which may interfere with the evolution of the Interstitial Keratitis.

Key words: Corneal neovascularization, corneal fluorangiography, electronic microscopy.

*Fundación Hospital de Nuestra Señora de la Luz I.A.P. Departamento de Córnea.

**Departamento de Patología Ocular, Hospital Dr. Luis Sánchez Bulnes. Asociación para Evitar la Ceguera en México.

*** Departamento de Patología, Laboratorio De Microscopía Electrónica, Facultad de Veterinaria y Zootecnia UNAM.

Correspondencia: Dra. Miriam Beteche Hanono. Fundación Hospital de Nuestra Señora de la Luz I.A.P. Ezequiel Montes 135 col. Tabacalera Del. Cuauhtémoc C.P. 06030, México D.F. Tel. 51281140. E.Mail: miriamb72@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

La vascularización del estroma corneal es una respuesta patológica no específica en donde la localización y el número de vasos refleja la ubicación y la severidad de la respuesta inflamatoria (figura 1). Estos vasos estromales pueden reducir la visión en tres formas:

1. Alterando la arquitectura estromal normal.
2. Permitiendo la fuga de lípidos hacia el estroma.
3. Incrementando la capacidad de rechazo del aloinjerto en queratoplastia penetrante (1-3).

La fluorangiografía corneal es un método clínico indispensable para el estudio en la distribución de la neovascularización corneal. La fluorangiografía de segmento anterior se inicia en 1970 (4) y es descrita por primera vez por Dixon y Bron, misma técnica que fue utilizada en el estudio de la vascularización corneal en usuarios de lentes de contacto (5).

Baca y Velasco analizan, en 1996, la neovascularización corneal por medio de la angiografía y su comportamiento (6). En la continuación de este estudio, realizado por Poblano y Baca en 1998, se demostró que este método es útil para identificar la presencia de fases de llenado y vaciamiento en la vascularización corneal y conjuntival. Ellos describen que en la vascularización generalizada, injerto tectónico y queratoplastia penetrante fallida, la definición del patrón vascular se lleva a cabo de manera temprana a niveles profundos. Asimismo, demostraron la inexistencia de flujo laminar en planos superficiales y profundos y la filtración como cuadros activos progresivos controlados (7).

También encontraron que, a nivel conjuntival, la aparición de fluoresceína ocurre de forma temprana, al igual que el vaciamiento de las ramas vasculares, del tronco vascular y del vaciamiento total. En este estudio no se presentó filtración de bulbos vasculares en relación con el nivel corneal, sin embargo también se presentó flujo laminar.

Posteriormente Vieyra y Baca, en la tercera fase de este protocolo, realizaron un estudio para identificar y definir con mayor precisión las fases de la fluorangiografía corneal; con el Sistema de Imagen Digital pudieron identificar las fases arteriales y venosas así como las 'asas' vasculares que, cuando

presentan fuga, se denominan *imagen en bulbo vascular* (figura 2). Confirmaron la ausencia de fuga en el tronco vascular. Pudieron redefinir las fases establecidas de la fluorangiografía corneal, dependiendo del tiempo de aparición y de los hallazgos encontrados en las imágenes, siendo las fases actuales las siguientes (8):

1. Aparición de fluoresceína
2. Definición del patrón arterial
3. Definición del patrón arteriovenoso y asas vasculares
4. Vaciamiento del tronco arterial
5. Filtración de asas vasculares (imagen en bulbos)
6. Flujo laminar venoso
7. Vaciamiento de las ramas vasculares
8. Vaciamiento del tronco venoso
9. Vaciamiento total vascular

En la literatura, Burger y cols., en el año de 1985, son los únicos que realizan un reporte correlacionando la neovascularización corneal experimental en conejos con las observaciones biomicroscópicas, angiográficas y morfológicas, donde encontraron que las asas vasculares estaban formadas por vasos musculares (arteriolas) y vasos no musculares (vénulas) (9).

Se han establecido hipotéticamente las diversas formas de angiogénesis y los factores que intervienen en ella. Philipp y cols. realizaron un estudio en córneas humanas vascularizadas e inflamadas encontrando que el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), una proteína estimuladora de la angiogénesis, se expresa tanto en células epiteliales y endoteliales como en las células endoteliales vasculares del limbo, y en concentraciones más bajas en córneas normales en comparación con las córneas inflamadas (10). Existen hallazgos que nos hacen pensar que hay un equilibrio entre los factores angiogénicos y antiangiogénicos que permiten un balance que evita la vascularización corneal (1, 3, 10,11).

Asimismo, se han estudiado las diversas patologías que cursan con neovasos corneales resultado de infecciones, alergias, toxicidad, anoxia y causas inmunológicas, cuya presentación puede ser causa de ceguera corneal, indicador de un proceso curativo o sufrimiento corneal (12). La presencia de neovasos corneales puede evitar la perforación corneal facilitando el transporte de nutrientes, factores immuno-

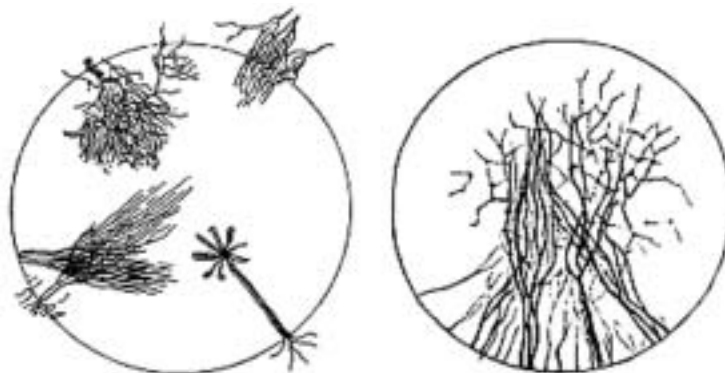


Fig.1. Izq.: Patrones de neovascularización activa incluyendo los tipos arborescente superficial y radial (limbo superior). Der.: Vasos fantasma en estroma profundo posterior a una queratitis intersticial.

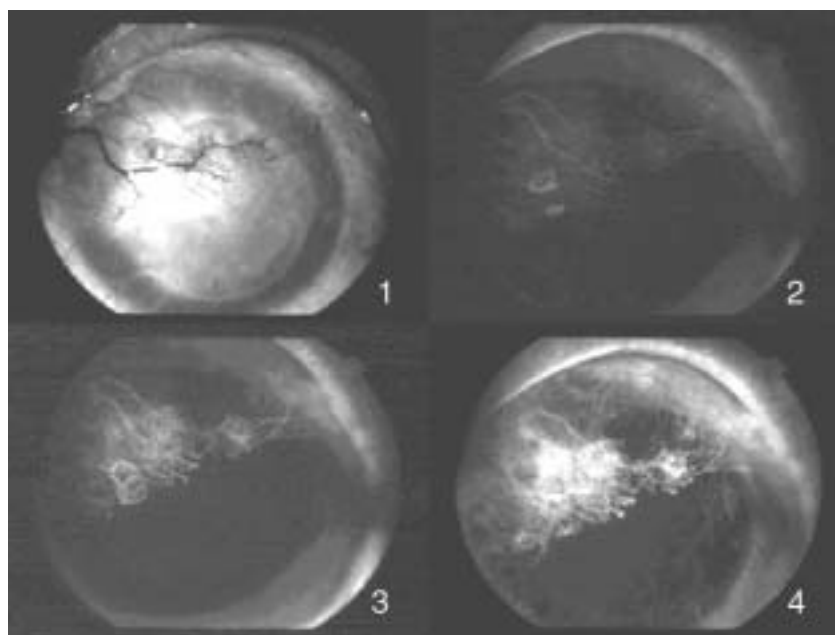


Fig 2. Fases de FAG corneal Caso 3. 1. Aneritra, 2. Aparición de fluoresceína, 3. Asas vasculares, 4. Filtración de asas (imagen en bulbo).

protectores, factores antimicrobianos y antiproteasas al estroma corneal (1). Los neovasos corneales pueden desarrollarse en tres niveles distintos:

1. Vasos subepiteliales y estromales superficiales en respuesta a enfermedades corneales superficiales (blefaritis crónica, flictenulosis, uso de lentes de contacto, defectos epiteliales recurrentes, etc.).
2. Vasos en el estroma medio en respuesta a una inflamación crónica (queratitis necrotizante herpética, abscesos corneales bacterianos o micóticos, quemaduras químicas).
3. Vasos en el estroma profundo, anteriores a la membrana de Descemet, en ojos con queratouveítis (queratitis intersticial sifilítica).

Los vasos sanguíneos que invaden el estroma provienen de los vasos conjuntivales superficiales, vasos esclerales profundos o vasos de iris, cuando existe un contacto del mismo con la córnea o con una herida corneal encarcerada. Los nuevos vasos surgen como dilataciones vasculares, la mayoría provenientes de vénulas más que de arteriolas. Estos vasos se extienden progresivamente hacia el estroma, donde maduran en forma de arteriolas con paredes vasculares de músculo liso, vénulas y capilares (1). Siguen un trayecto del limbo hacia el centro de la córnea formando anastomosis vasculares y conformando una red vascular, generalmente confinada a una capa o a una región corneal.

Actualmente existen diversos tratamientos para la neovascularización corneal, muchos de ellos utilizados para ocluir directa o indirectamente los vasos corneales, incluyendo esteroides, radiaciones, cisteína, crioterapia, ácido sulfúrico, láser de argón y láser amarillo de 577 nm (4, 12). Pillai y cols. proponen un tratamiento a base de diatermia para ocluir los vasos corneales de neoformación, obteniendo resultados

favorables para la prevención del injerto fallido posterior a la queratoplastia penetrante, que permite una adecuada rehabilitación visual (13).

OBJETIVO

La formación de neovasos corneales presenta cambios estructurales en comparación con los vasos que los originan, lo que podría dar los patrones de fuga bien conocidos en el estudio fluorangiográfico y nos habla de una queratitis Intersticial activa. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es correlacionar los patrones de la fluorangiografía corneal con las características histopatológicas encontradas en botones corneales receptores de pacientes postoperados de queratoplastia penetrante con *neovascularización corneal* previa, tratados en el Departamento de Córnea de la FHNSL.

Establecer las características histopatológicas precisas y correlacionarlas con los hallazgos previos de la fluorangiografía corneal nos permitirá entender, de una forma más clara, cuál es la conducta que siguen los neovasos corneales en su desarrollo, cómo intervienen en la fuga de sustancias a nivel corneal durante la evolución de la queratitis intersticial, y permitirá ofrecer un tratamiento preventivo adecuado para evitar la progresión de estos vasos y evitar la ceguera secundaria.

LINEAMIENTOS ÉTICOS

Se respetó la identidad de cada paciente sin ser ésta parcial o totalmente publicada, manteniendo una máxima discreción. Asimismo los sujetos sometidos a estudio fueron informados adecuadamente de su enfermedad, qué tipo de estudio

se realizará, las posibles complicaciones del mismo y los beneficios que ofrece así como el valor económico de cada procedimiento, en caso de que existiere.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se hizo un estudio prospectivo, transversal, descriptivo y observacional, el cual se llevó a cabo en el Departamento de Córnea de la FHNSL, en conjunto con los Departamentos de Retina de la FHNSL para la realización de la fluorangiografía corneal, de Patología en la Asociación para Evitar la Ceguera y de Microscopía Electrónica en la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, para la realización del estudio histopatológico con microscopía de luz y microscopía electrónica, respectivamente, durante el periodo de marzo a noviembre del 2001.

Estudiamos los botones corneales obtenidos de pacientes con neovascularización corneal y fluorangiografía previa, que requieren de rehabilitación visual y son sometidos a tratamiento con queratoplastia penetrante (QPP). Incluimos todos aquellos pacientes de cualquier género, mayores de 8 años, para facilitar su colaboración durante la fluorangiografía corneal, con la presencia en la biomicroscopía de neovascularización corneal total o parcial, superficial o profunda. Se excluyeron aquellos pacientes que presentaban alergia a la fluoresceína, descompensación corneal, adelgazamiento corneal importante, datos de actividad inflamatoria corneal severa, así como alteraciones en el botón corneal sufridas durante la cirugía o posterior a ella. Realizamos el estudio fluorangiográfico a los pacientes previamente seleccionados que cumplieron con los criterios de inclusión, estableciendo los patrones fluorangiográficos ya descritos anteriormente. Posteriormente se tomaron los botones corneales de estos pacientes por medio de QPP, incluyéndolos en formol al 10% y se enviaron en dos mitades al departamento de Patología de la Asociación Para Evitar la Ceguera (APEC) y al departamento de Patología y Microscopía Electrónica de la Facultad de Zootecnia y Veterinaria de la UNAM, donde fueron sometidos a un estudio histopatológico encaminado a la neovascularización corneal.

Previo a la realización de la fluorangiografía, solicitamos el consentimiento Informado a los pacientes estudiados, pos-

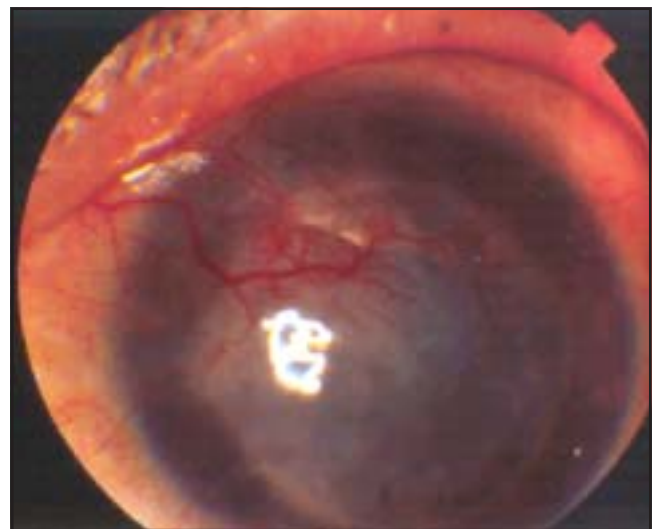


Fig. 3. Caso 3: Fotografía clínica.

teriormente utilizamos el sistema digital ImageNet 2000 (TOPCON) con cámara fluorangiográfica y fluoresceína al 20%. Se colocó la cateterización en la vena cubital anterior, preferentemente del mismo lado del ojo por estudiar. Posteriormente se tomaron imágenes aneritras, y se inyectaron 3cc de fluoresceína en 2 segundos. Durante los 4 minutos siguientes se tomaron fotografías seriadas. En un segundo tiempo se analizaron las imágenes. Una vez establecidos los patrones de las fluorangiografías estudiadas, de acuerdo a las fases ya descritas por Vieyra y Baca (4), se estableció una correlación descriptiva con los hallazgos histopatológicos, y se uniformaron los criterios en la medida de lo posible.

RESULTADOS

Incluimos cinco pacientes con neovascularización corneal (figura 3). Para facilitar el análisis de cada caso se describen los hallazgos generales y comunes en el cuadro 1. Solamente se obtuvieron cuatro estudios de fluorangiografía corneal, ya que hubo fallas técnicas en un caso (caso 5). De los cuatro estudios fluorangiográficos sólo uno no muestra imágenes en bulbo o asas vasculares con fuga (caso 1). Este caso

Cuadro 1: Diagnósticos clínico e histopatológico en relación con la fluorangiografía corneal

	Diagnóstico clínico	Fluorangiografía corneal	Diagnóstico por microscopía de luz
Caso 1	Queratitis intersticial pterigion gigante	No imagen de asas vasculares	Panus corneal
Caso 2	QPP* fallido	Asas vasculares presentes con fuga	Queratitis intersticial aguda y crónica
Caso 3	Queratitis herpética PO injerto tectónico	Asas vasculares presentes con fuga	Queratitis intersticial aguda y crónica
Caso 4	Queratitis herpética PO injerto tectónico	Asas vasculares presentes con fuga	Queratitis intersticial aguda y crónica
Caso 5	Queratitis intersticial PO injerto tectónico	No valorable	Queratitis intersticial aguda y crónica

* QPP = Queratoplastia penetrante; ** Datos de fluorangiografía aportados por el Dr. Arthur Levine, FHNSL; *** Datos de microscopía de luz cortesía del Dr. Abelardo Rodríguez, APEC.

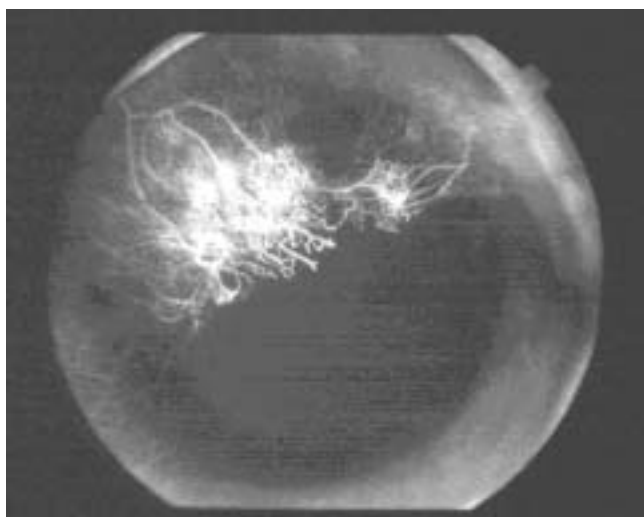


Fig. 4. Caso 3: Fluorangiografía corneal fase 3, asas vasculares.

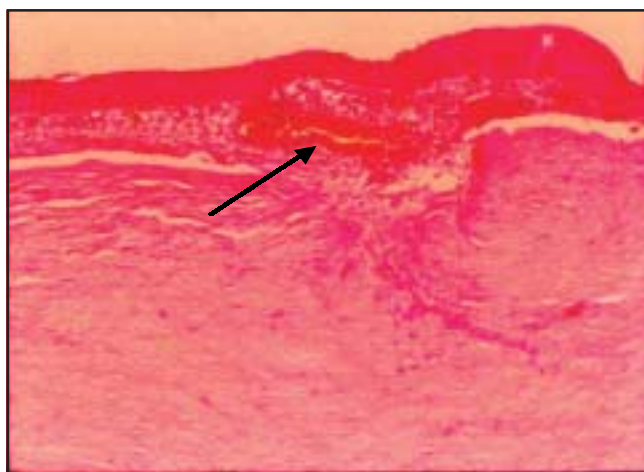


Fig. 5. Caso 3: Fotomicrografía de botón corneal, tinción H-E. Se observa neovaso superficial (flecha).

tiene como diagnóstico histopatológico de microscopía de luz panus corneal.

En cambio, los casos 2, 3, 4 y 5 tuvieron como diagnóstico histopatológico de microscopía de luz el de queratitis intersticial, que coincide con las imágenes de la fluorangiografía corneal en los casos 2 a 4 (figuras 4, 5). Los vasos descritos histopatológicamente son de neoformación, de tamaño variable, formados por una capa de células endoteliales en distintas localizaciones (cuadro 2).

En los resultados de la microscopía electrónica de todos los casos observamos alteraciones a nivel de las células endoteliales y de sus uniones entre sí. Uno de los hallazgos que más llama la atención es la presencia de poros nucleares en la pared del núcleo de estas células, los cuales están dilatados (figura 6). Además, se pudo observar en todos los casos la membrana nuclear muy irregular y discontinua, lo cual se considera anormal. El núcleo de la célula endotelial presenta una forma fusiforme, con heterocromatina y eucromatina y nucléolos prominentes. A nivel del citoplasma se observan filamentos intermedios, mitocondrias y retículo en-

Cuadro 2. Microscopía de luz

Casos	Hallazgos histopatológicos de microscopía de luz
Caso 1.	Vasos sanguíneos capilares entre el epitelio de revestimiento y la porción superficial del estroma en una membrana de tejido fibroconectivo
Caso 2.	Pérdida de continuidad de capa de Bowman con sustitución por vasos sanguíneos de neoformación de tipo capilar y membrana de tejido fibroconectivo. Variación en el espesor del estroma con numerosos vasos sanguíneos de neoformación de tamaño variable, formados por una capa de células endoteliales.
Caso 3.	Formación de membrana de tejido fibroconectivo entre el epitelio y la capa de Bowman, alterna con numerosos vasos sanguíneos de neoformación, cúmulos de infiltrado inflamatorio.
Caso 4.	Vasos sanguíneos de pequeño calibre, de aspecto congestivo, por debajo del epitelio de revestimiento. En el estroma se observan vasos sanguíneos de neoformación.
Caso 5.	Vasos sanguíneos de pequeño calibre, dilatados y de aspecto congestivo, revestidos por una capa de células endoteliales, en el tercio superficial del estroma.

*Cortesía del Dr. Abelardo Rodríguez, APEC.

doplásmico rugoso, así como microvellosidades que se proyectan al citoplasma, las cuales están engrosadas y difusas de forma anormal, en todos los casos estudiados. En algunos cortes de todos los casos se pudo observar uniones intercelulares tipo *zonulae occludens* con membranas discontinuas o interrumpidas en vasos de pequeño calibre (figuras 7, 8), mientras que en los vasos de mayor calibre éstas se observaron sin alteraciones, menor número de filamentos intermedios, los cuales son responsables de la motilidad celular, menor número de vesículas pinocíticas, responsables del transporte de sustancias a nivel intercelular o a través de la pared, así como mayor número de vacuolas (figuras 9, 10).

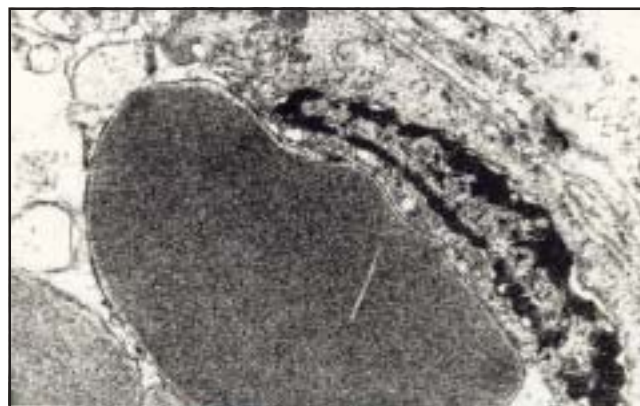


Fig. 6. Caso 3: Fotomicrografía con microscopía electrónica. Se aprecian *poros nucleares* en la pared del núcleo de la célula endotelial, la cual está irregular.

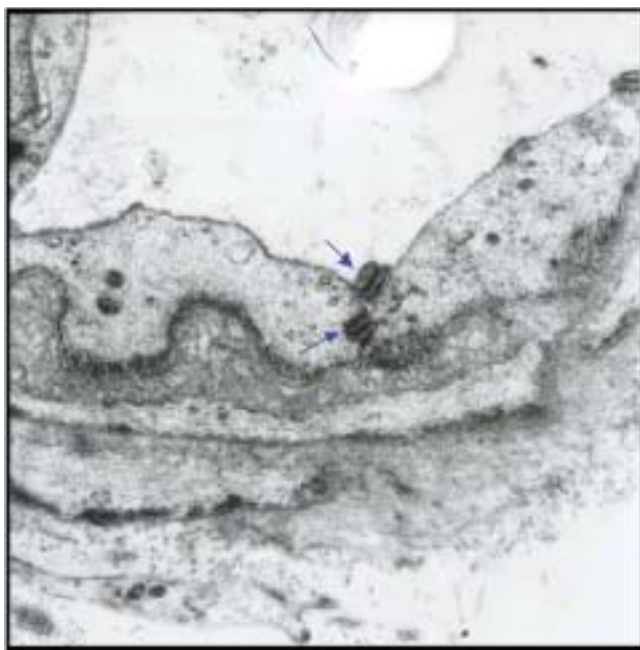


Fig. 7. Fotomicrografía de las uniones intercelulares tipo *zonulae ocludens* interrumpidas (flechas).

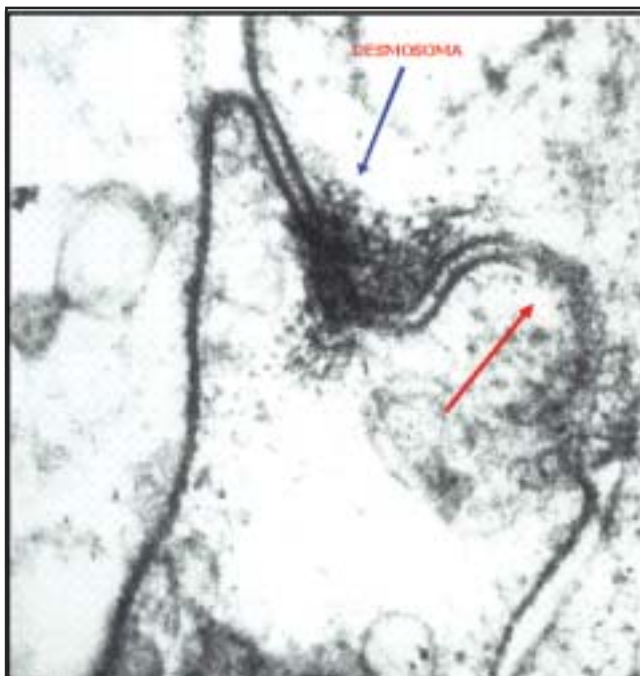


Fig. 8. Fotomicrografía de la *zonulae ocludens* magnificada, con alteraciones en su continuidad (flecha roja) y desmosoma visible (flecha azul); vaso de pequeño calibre.

DISCUSIÓN

Estudios realizados en nuestra institución mostraron que la incidencia de enfermedades relacionadas con neovascularización corneal es alta, siendo la primera causa la queratitis por herpes simple (14). Muchos han sido los estudios que se han realizado para entender mejor el origen, fisiopatogenia, inmunohistoquímica, manifestaciones clínicas y tratamientos para la neovascularización corneal, la mayoría de ellos



Fig. 9. Fotomicrografía de *zonulae ocludens* íntegra en las uniones intercelulares de la pared vascular, con desmosoma visible (flecha); vaso de mediano calibre.



Fig. 10. Vesícula pinocítica en la pared celular endotelial.

realizados de forma experimental en animales. Sin embargo, son pocos los estudios realizados en córneas humanas donde se describan en detalle la histopatología y la microscopía electrónica de estos vasos, debido a la dificultad para obtener estos tejidos. Por otra parte, realizar un estudio invasivo en pacientes que serán sometidos a un tratamiento específico, en este caso quertoplastia penetrante, resulta difícil debido al poco número de pacientes que aceptan someterse a ellos y que, al mismo tiempo, cumplan con las características necesarias para su estudio. Por lo anterior el número de pacientes obtenido en este estudio es reducido.

Sin embargo, los hallazgos histopatológicos y de microscopía electrónica nos muestran datos no descritos anteriormente. Observamos que las córneas con y sin fuga de fluoresceína muestran las mismas características en el trayecto de los neovasos: alteración en las zonas de unión o *zonulae ocludens* en vasos de menor calibre, irregularidad de la pared vascular, formada por una sola capa de células endoteliales, anomalía en los núcleos y nucléolos de las células endoteliales vasculares que muestran características similares a las de un vaso embrionario. Todo esto nos permite conocer mejor la morfología de los vasos de neoformación corneal,

que son similares a los neovasos retinianos secundarios a oclusión venosa, donde se observaron fallas en las uniones intercelulares y fenestraciones en las células endoteliales (15).

Aún queda por estudiar las consecuencias que conllevan todas las alteraciones en las células endoteliales, en las uniones intercelulares y en la pared vascular encontradas en este estudio. Los resultados arrojados muestran que existe una clara evidencia de fuga de fluoresceína que coincide con los hallazgos histopatológicos de los vasos más centrales en comparación con los vasos que les dan origen. Estas alteraciones pueden ser responsables de la fuga de sustancias que intervienen en la reparación tisular y en la inflamación corneal, por ello la importancia de conocer de forma detallada las características de los neovasos corneales.

Gracias a los estudios realizados previamente con fluorangiografía corneal y el sistema de imagen digital (16-24), hoy día podemos identificar con mayor facilidad la presencia o ausencia de vasos corneales de neoformación, ya sea superficiales o profundos, y con ello establecer su patrón de fuga. Esta fuga se lleva a cabo en las asas vasculares ya descritas, donde da la impresión de un retorno vascular que pudiera ser el cambio de arteria a vena, y éste nuevamente regresa con dirección al limbo. Estas no se encuentran en los troncos vasculares, los cuales no muestran patrón de fuga (8).

CONCLUSIONES

La presencia de asas vasculares y los sitios de filtración o imágenes en bulbo pueden estar relacionadas con las alteraciones histopatológicas encontradas en microscopía electrónica del neovaso de pequeño calibre.

La presencia de poros nucleares se relaciona con los vasos de tipo embrionario, mismos que se observan en los neovasos corneales de mayor calibre.

La causa probable de filtración en la fluorangiografía corneal es la alteración en la pared vascular y el mal control osmótico de la misma, lo que pudiera explicar la fuga de sustancias a la luz vascular.

Estos resultados son preliminares por lo que se sigue ampliando el número de casos para obtener resultados confiables y estadísticamente significativos.

REFERENCIAS

1. Baer J, Foster S. Corneal Laser Photocoagulation or Treatment of Neovascularization. Efficacy of 577 nm Yellow Dye Laser. *Ophthalmology* 1992; 99(2):173-179.
2. Baca O, Velasco R, López L y cols. Fluorescein Angiography in Corneal Disorders. B350. ARVO, IOVS 1996; 37(3):547.
3. Poblano M, Baca O, Velasco R y cols. Fluorangiografía Corneal. B701 ARVO, IOVS 1999; 40(4):1093.
4. Vieyra M, Baca O, Velasco R y cols. Fluorangiografía Corneal: Fase III, ARVO, IOVS 2000.
5. Burger P, Chandler D y cols. Experimental Corneal Neovas-

- cularization: Biomicroscopic, Angiographic, and Morphologic Correlations. *Cornea* 1985-86; 4(1):35-41.
6. Leibowitz HM, Waring GO. Corneal Disorders, Clinical Diagnosis and Management. 2nd Edition. WB Saunders Company, 1998, Cap. 6, 154-178.
7. Gan L, Fagerholm P. Leukocytes in the early events of the corneal neovascularization. *Cornea* 2001; 20(1):96-9.
8. Sennlaub F, Courtois Y, Goureau O. Nitric Oxide Synthase-II Is Expressed in Sever Corneal Alkali Burns and Inhibits Neovascularization. *IOVS* 1999, 40(12):2773-2779.
9. Dixon W, Bron A. Fluorescein Angiographic Demonstration of Corneal Vascularization in Contact Lens Wearers. *Am J Ophthalmol* 1973; 75(6):1010-1015.
10. Philipp W, Speicher L, Humpel C. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor and its Receptors in Inflamed and Vascularized Human Corneas. *IOVS* 2000; 41(9):2154-2522.
11. Crusieffen C, Rummelt C, Kuchle M. Immunohistochemical Localization of Vascular Endothelial Growth Factor, Transforming Growth Factor Alpha, and Transforming Growth Factor Beta in Human Corneas with Neovascularization. *Cornea* 2000; 19(4):526-533.
12. Huang AJ, Watson BD, Hernandez E, Tseng SC. Induction of conjunctival transdifferentiation on vascularized corneas by phototrombotic occlusion of corneal neovascularization. *Ophthalmol* 1988; 95(2):228-235.
13. Pillai CT, Dua HS, Hossain P. Fine Needle Diathermy Occlusion of Corneal Vessels. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41(8):2148-2153.
14. Poblano ML, Baca O, Velasco R y cols. Queratitis intersticial, variantes de presentación. *Boletín del Hospital Oftalmológico de Nta. Sra. De la Luz* 1998, 180:53-57.
15. Hori S. Pathophysiology of Intraocular Neovascularization. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 1990; 94(12):1103-21.
16. Ormerod LD, Fariza E, Hughes GW, Doane MG, Webb RH. Anterior segment fluorescein videoangiography with a scanning angiographic microscope. *Ophthalmol* 1990; 97:745-751.
17. Watson PG. Anterior segment fluorescein angiography in the surgery of immunologically induced corneal and scleral destructive disorders. *Ophthalmol* 1987; 94(11):1452-1464.
18. Watson P, Booth-Mason S. Fluorescein angiography in the differential diagnosis of sclerokeratitis. *Br J Ophthalmol* 1987; 71(2):145-151.
19. Easty DL, Bron AJ. Fluorescein angiography of the anterior segment. Its value in corneal disease. *Br J Ophthalmol* 1971; 55(10):671-682.
20. Motolese E y cols. Fluorangiography of Various Pathological Pictures in Unusual Observations of the Anterior Segment. *Boll Soc Ital Biol Sper* 1984; 60(6):1253-1259.
21. Gillies WE, Brooks AM. Disorders of Perfusion of the Anterior Segment of the Eyes. *Aust N Z J Ophthalmol* 1996; 24(3):169-187.
22. Kuckelkorn R y cols. Video Fluorescein Angiography of the Anterior Segment in Severe Eye Burns. *Acta Ophthalmol Scand* 1997; 75(6):675-680.
23. Saari KM. Anterior Segment Fluorescein Angiography in Inflammatory Disease of the Cornea. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1979; 57(5):781-793.
24. Fetkenhour CL, Choromokos E. Anterior Segment Fluorescein Angiography With Retinal Fundus Camera. *Arch Ophthalmol* 1978, 96:711-713.