

11234

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MÉXICO

47



FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO  
INSTITUTO DE OFTALMOLOGIA  
“FUNDACIÓN CONDE DE VALENCIANA”

CAMBIOS EN LA DENSIDAD CELULAR ENDOTELIAL  
EN QUERATOPLASTIA PENETRANTE  
( CUATRO AÑOS DE SEGUIMIENTO )

**TESIS DE POSTGRADO**

QUE PRESENTA :

**DR. FERNANDO PENICHE CANO**

PARA OBTENER EL TITULO DE :

**MEDICO CIRUJANO OFTALMÓLOGO**

295792

ASESOR DE TESIS: DR. RAUL SUAREZ SÁNCHEZ  
JEFE DE ENSEÑANZA: DR. RENE ALFREDO CANO HIDALGO  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO: DR. ENRIQUE GRAUE WIECHERS

MÉXICO D.F.

200





Universidad Nacional  
Autónoma de México



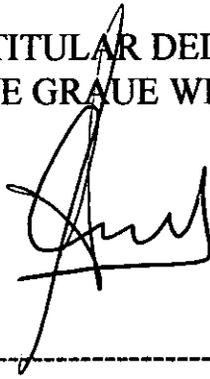
**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**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.

PROFESOR TITULAR DEL CURSO  
DR. ENRIQUE GRAUE WIECHERS



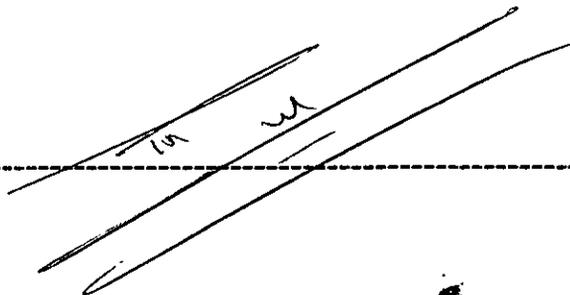
---

JEFE DE ENSEÑANZA  
DR. RENE CANO HIDALGO



---

ASESOR DE TESIS  
DR. RAUL SUAREZ SANCHEZ



---

INSTITUTO DE  
DEFENDILOGIA  
FUNDACION FONDO DE VALNCIANA  
FUNDACION FONDO DE VALNCIANA  
Chihuahua 14 México 8, D. F.  
Cob. Obros



SUBDIVISION DE ESPECIALIZACION  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA  
U. N. A. M.

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A Dios:**

Por darme el Don de la vida así como la orientación y fuerza en el momento preciso

### **A mis Padres Concepción y Víctor:**

Por su esfuerzo y apoyo incondicional en todo momento, queriendo hacer de mí alguien de provecho

### **A mi hermana Marcia:**

Por creer siempre en mí e impulsarme como una segunda madre

### **A mi esposa Lorena:**

Por su paciencia, amor y compañía, que hicieron de este largo camino, un hermoso pasaje en mi vida

### **A mis profesores y amigos:**

Por el voto de confianza, esfuerzo y tolerancia en mi formación

### **A los pacientes de mi querido México:**

Que al enfrentar sus sufrimientos infundieron en mí del conocimiento y deseo de servir al ser humano con pasión y honorabilidad

# INDICE

- I. RESUMEN
- II. INTRODUCCIÓN
- III. JUSTIFICACIÓN
- IV. OBJETIVO
- V. DISEÑO
- VI. MATERIAL Y METODOS
- VII. RESULTADOS
- VIII. CONCLUSIONES
- IX. BIBLIOGRAFÍA

TITULO:

**CAMBIOS EN LA DENSIDAD CELULAR  
ENDOTELIAL EN QUERATOPLASTIA  
PENETRANTE ( CUATRO AÑOS DE  
SEGUIMIENTO)**

## I. RESUMEN

**Propósito:** Evaluar los cambios en la densidad celular endotelial posterior a queratoplastía penetrante. **Métodos:** Se estudiaron un total de 73 córneas, el promedio de edad del donador fue de 66.65 años (rango 23-86), la edad promedio del receptor fue de 61.36 años (rango 29-78); el tiempo promedio entre el desceso del donador y la obtención del tejido fue de 6.01 hrs (rango 3-8), el tiempo promedio de excisión de la córnea fue de 12.73 minutos (rango 10-15), todos los tejidos se introdujeron en medios de preservación optisol (condroitín sulfato), se utilizó el equipo de microscopía especular Cooper Vision para la toma de microfotografía y recuento celular de región central endotelial; el tiempo promedio entre la preservación del tejido y la queratoplastía penetrante fue de 28.71 hrs (rango 11-47). 3 meses posterior a la cirugía se realizó nuevamente microfotografía y recuento celular de región central endotelial a 61 pacientes, este procedimiento se repitió al año en 42 pacientes, a los 2 años en 27, a los 3 años en 26 y a los 4 años en 23 pacientes. **Resultados:** Se distribuyó el total de córneas en 3 grupos: **Grupo 1**, menores de 50 años (9 córneas), **Grupo 2**, entre 50 y 70 años (28 córneas), **Grupo 3** mayores de 70 años (36 córneas), así mismo cada uno de los 3 grupos se dividió en 2 subgrupos: el **A** para aquellas córneas que fueron obtenidas del donador antes de 6 hrs y el **B** para las que lo fueron con 6 hrs o más. Se encontró que **3 meses** posterior al procedimiento, existe en los 3 grupos, un promedio de pérdida en la celularidad endotelial de **19.5 %**, al **año** de **29.5 %**, a los **dos años** de **36.0 %**, a los **tres años** de **39.7%** y a los **cuatro años** de **42.1%**. Al comparar estas pérdidas de cada uno de los grupos de los diferentes periodos postoperatorios (3m, 1,2,3 y 4 años) entre sí mismos, no se encontró diferencias estadísticamente significativas,  $P>0.05$ , pero sí al compararla con la densidad celular endotelial preoperatoria,  $P<0.05$ . Así mismo, no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los subgrupos cuyo injerto se tomó antes de las 6 hrs o posterior a estas,  $P>0.05$  **Conclusiones:** Nuestros datos sugieren que la cirugía de queratoplastía penetrante, produce una pérdida inmediata en la densidad celular endotelial del **19.56 %** en promedio, que

existen aún pérdidas al cuarto año del procedimiento de **42.1%**, y que la obtención del tejido donante antes o después de 6 hrs (rango 0-8), no es un factor significativo en los cambios futuros en la densidad celular endotelial.

## **II. INTRODUCCION**

El endotelio se origina de la cresta neural, aproximadamente a las seis semanas de gestación **(1,2)**; la principal función de éste es la de regular la hidratación de la córnea y su nutrición, esto por medio de una delgada barrera formada por la conjunción de un espacio apical y de la mácula ocludens que mantiene el agua lejos del estroma pero permite el paso de nutrientes **(3,4)**. La evaluación clínica del endotelio se basa en tres importantes entidades : la microscopía especular que estudia la morfología endotelial; la paquimetría que mide el grosor corneal y la fluorofotometría que mide la función de barrera. David Maurice fue el primero en utilizar el microscopio especular de laboratorio para describir los procesos involucrados en la bomba metabólica endotelial **(5,6)**. Herbert Kaufman sugirió que las células del endotelio no pueden regenerarse por mitosis, pero que pueden enlongarse para mantener intacta la monocapa endotelial **(7)**. Ronald Laing adaptó el microscopio especular para su uso clínico con el fin de estudiar el impacto que las técnicas quirúrgicas tenían sobre el endotelio **(8)**. Existen dos tipos de microscopios especulares clínicos: el de contacto; en el cual un lente con objetivo de inmersión aunado a un cono se ponen en contacto directo con la superficie corneal y eliminan el reflejo lumínico epitelial **(9,10)** y el de no contacto, en el cual se encuentra la zona de la reflexión especular tal como en una lámpara de hendidura **(11,12)**. No todas las personas nacen con el mismo número de células endoteliales, en los individuos menores de 4 años de edad la densidad celular puede variar de 2000 a 4000 células / mm<sup>2</sup> **(13)**. Con el paso del tiempo algunas de estas células mueren o desaparecen, y ya que no tienen un proceso mitótico para su reemplazo, deben elongarse para mantener intacta la monocapa y así la función de barrera **(14)**. Entre los 5 y los 50 años no existe un promedio de distribución

celular uniforme, sin embargo, al rededor de los 50 años de edad, el rango de densidad celular se encuentra entre los 1000 y 3500 células / mm<sup>2</sup>, así mismo cercano a los 80 años existen entre 900 y 2000 células / mm<sup>2</sup> (13,14). Esto ha despertado la idea de que para un transplante es mejor una córnea joven, sin embargo no existen estudios que correlacionen la edad del donador con la transparencia de un injerto (15) y esto lo corroboramos cuando observamos la gran variación de la densidad celular en el tejido implantado a cualquier edad. La relación entre densidad celular y función no está bien delineada, sin embargo existen dos puntos que nos hacen pensar que existe menor función endotelial a medida que las células se elongan (16) y estos son que células endoteliales enlongadas por arriba de 3300 micrómetros<sup>2</sup> (300 células/mm<sup>2</sup>), no se han encontrado en córneas claras y segundo, que las córneas con células endoteliales centrales enlongadas, tienen mayor permeabilidad a la flouresceína y por lo tanto menor función de barrera (17,18). La parte más importante de la queratoplastía penetrante es el transplante del endotelio (19,20,21), las células deben soportar el trauma quirúrgico, el daño del corte, el envejecimiento del transplante y el ataque inmunológico del receptor. Una ventaja muy importante es el conocer las características del endotelio de la córnea que se va a transplantar (22,23), así pues , la microscopía especular es el mejor método para seleccionar córneas con endotelio sano (24,25,26).

### **III. JUSTIFICACION**

El conocer la densidad celular endotelial de un tejido corneal, así como sus características antes y después de la queratoplastía penetrante, podría ayudarnos a escoger botones donadores de mejor calidad y por lo tanto elevar el nivel de eficacia de un transplante con la subconsecuente mejoría visual del paciente; así mismo podríamos conocer la evolución y pronóstico del mismo.

## **IV. OBJETIVO**

Evaluar los cambios en la densidad celular endotelial en queratoplastia penetrante.

## **V. DISEÑO**

Se diseñó un estudio longitudinal, observacional, comparativo, prospectivo, abierto; se utilizó la estadística descriptiva, medidas de concentración y estadística analítica ( $\chi^2$  con valor de  $P= 0.05$ ).

## **VI. MATERIAL Y METODOS**

Se incluyeron en el estudio un total de 73 córneas (tejido donador), obtenidas del banco de ojos de la Cruz Roja Mexicana entre los meses de Febrero de 1995 y Enero de 1996. 25 se obtuvieron de pacientes del sexo femenino y 48 del sexo masculino, el promedio de edad del donador fue de 66.65 años (Rango 23-86); la edad promedio del receptor fue de 61.36 años (Rango 29-78). El tiempo promedio entre el desceso del donador y la obtención del tejido fue de 6.01 hrs ( Rango 3-8 ); el tiempo promedio de excisión de la córnea fue de 12.73 minutos ( Rango 10-15 ), todos los tejidos se introdujeron en medios de preservación optisol (Condroitin sulfato) (**Fig 1**) (**27,28,29,30**) y se mantuvieron a + 4 grados centígrados; instalados ya en su recipiente, se utilizó

el equipo de microscopía especular “Cooper Vision” (Fig 2) para el recuento de densidad celular endotelial de región central (Fig 3), el tiempo promedio entre la preservación del tejido y la queratoplastia penetrante fue de 28.71 hrs (Rango 11- 47 ). Se utilizó una técnica estándar de queratoplastia penetrante en pacientes sin datos de inflamación o infección: Sutura interrumpida de 8 puntos con nylon 10-0 + surjete continuo hasta conseguir coaptación; viscoelástico sobre diafragma iridocristaliniano; todas las cirugías fueron realizadas por médicos adscritos del servicio de córnea. Tres meses posterior a la cirugía se realizó nuevamente microfotografía y recuento celular de región central, con equipo de microscopía especular software “Bambi” (Fig 4) a 61 pacientes; este mismo procedimiento se repitió al año en 42 pacientes, a los dos años en 27, a los tres y cuatro años en 26 y 23 pacientes respectivamente. Todos los pacientes a los que se les realizó seguimiento cursaron con postoperatorios sin complicaciones. El estudio realizado es de tipo longitudinal, observacional, comparativo, prospectivo y abierto; se utilizó la estadística descriptiva, medidas de concentración. Para la significancia estadística en los promedios de cambios en la densidad celular posterior a la queratoplastia penetrante se utilizó la estadística analítica: Chi 2 con valor de  $P= 0.05$ .

## VII. RESULTADOS

Se distribuyó el total de córneas donantes en 3 grupos; **grupo 1**: menores de 50 años( 9 córneas), **grupo 2** : entre 50 y 70 años(28 córneas), **grupo 3** : mayores de 70 años(36 córneas). En el **grupo 1** se observó una disminución en la densidad celular endotelial a los **3 meses** de 18.2%, **al año** de 29.9%, a los **dos años** de 33.4%, a los **tres años** de 37.7%, y a los **cuatro años** de 41% . En el **grupo 2**, a los **3 meses** se observó disminución de 20.7%, **al año** de 30.8%, a los **dos años** de 36%, a los **tres años** de 39.2% y a los **cuatro años** de 40%. En el **grupo 3**, a los **3 meses** la pérdida fue de 19.7%, **al año** de 28%, a los **dos años** de 38.4%, a los **tres años** de 42% y a los **cuatro años** de 45.1%.(Fig 5).

Así mismo, cada uno de los 3 grupos, se dividió en 2 subgrupos; el A para aquellas córneas que fueron obtenidas del donador antes de 6 hrs y el B para las que lo fueron con 6 hrs o más. En el grupo 1A, la pérdida de densidad celular endotelial a los 3 meses fue de 17.2%, al año de 26.4%, a los dos años de 34.5%, a los tres años de 36.9% y a los cuatro años de 42.5%. En el grupo 1B, la pérdida a los 3 meses fue de 18.9%, al año de 31.2%, a los dos años de 32%, a los tres años de 38.1% y a los cuatro años de 40.1%. (Fig 6). Para el grupo 2A, la pérdida a los 3 meses fue de 18%, al año de 32%, a los dos años de 37%, a los tres años de 40.7% y a los cuatro años de 39.9%. En el grupo 2B, la pérdida a los 3 meses fue de 16.9%, al año de 30.1%, a los dos años de 35.9%, a los tres años de 38.7%, y a los cuatro años de 39.9%. (Fig 7). Para el grupo 3A la pérdida a los 3 meses fue de 18.2%, al año de 27.4%, a los dos años de 38%, a los tres años de 42% y a los cuatro años de 46.3%; en el caso del grupo 3B, la pérdida de densidad celular endotelial a los 3 meses fue de 15.7%, al año de 27.5%, a los dos años de 39.1%, a los tres años de 43.7% y a los cuatro años de 44.9%. (Fig 8). No se encontró significancia estadística al comparar los períodos postoperatorios entre sí mismos, en los diferentes grupos, así como tampoco en los de la obtención antes o después de 6 hrs  $P > 0.05$ , sin embargo, al comparar los períodos postoperatorios con respecto al valor de la densidad celular endotelial preoperatoria, en todos los casos existió diferencia estadísticamente significativa,  $P < 0.05$ .

## VIII. CONCLUSIONES

Nuestros datos sugieren, que 3 meses posteriores a la cirugía de queratoplastía penetrante, existe en promedio una pérdida del 19.56 % en la densidad celular endotelial y que esto puede deberse al procedimiento mismo. Que al año existe una pérdida en promedio de 29.59 %, a los dos años de 36%, a los tres años de 39.7% y a los cuatro años de 42.1% y que esto es independiente del grupo específico de edad (31); podemos comparar estos resultados con los de diferentes países como Japón, donde Obata y colaboradores, reportan pérdida

de la celularidad endotelial a los **3 meses** de 33%, a los **6 meses** de 39.4% y al año de **48.2%.(32)**, Checoslovaquia, donde **Pesko y col.**, reportan 34.4% al **primer año** y 41.2% al **segundo año (33)**. USA, donde **Bourne y col.** en la Clínica Mayo, reportan 60% de pérdida al **quinto año** de seguimiento (**34**). **Nelson y col.** reportan 42% a los **cinco años** así como 67% a los **diez años (35)** y Alemania, donde Kus y col., reportan 60% a los **diez años (36) (Fig 9)**; estas variaciones apoyan la teoría de que continúan existiendo cambios en las células endoteliales como la migración y redistribución (**37**). Así mismo se sugiere que la obtención del tejido donante antes o después de 6 hrs, no es un factor preponderante en los cambios futuros en la densidad celular endotelial siempre y cuando se encuentre en un rango de 0-8 hrs según nuestros datos. Es importante mencionar que al no existir diferencias estadísticas en grupos de edades, podríamos pensar que la transparencia o nó de un injerto, no va en función de una córnea “joven o añosa”, entre otras cosas, sino del estado mismo del endotelio al momento del procedimiento.

#### **PALABRAS CLAVE :**

Endotelio, microscopía especular, paquimetría, queratoplastia penetrante.

### **IX. BIBLIOGRAFIA**

1. Wulle KG. Electron microscopy of the fetal development of the corneal endothelium and Descemet's membrane of the human eye. Invest Ophthalmol 1972; 11: 897-904.
2. Rodríguez MM, Waring CO, Laibson PR, et al. Endothelial alterations in congenital corneal dystrophies. Am J Ophthalmol 1975; 80:678-89.
3. Mishima S. Corneal thickness. Survey Ophthalmol 1968;13:57-96.

4. Iwamoto T, Smelser GK. Electron microscopy of the human corneal endothelium with reference to transport mechanisms. *Invest Ophthalmol* **1965**; 4:270-84.
5. Maurice DM, Giardini AA: Swelling of the cornea in vivo after the destruction of its limiting layer. *Br. J Ophthalmol* **1951**;35:791-7.
6. Maurice DM. The location of the fluid pump in the cornea. *J Physiol* **1972**;221:43-54.
7. Kaufman HE, Capella JA, Robbins JE. The human corneal endothelium. *Am J Ophthalmol* **1966**; 61:835-41.
8. Laing RA, Sandstrom MM, Leibowitz HM. In vivo photomicrography of the corneal endothelium. *Arch Ophthalmol* **1975**;93:143-5.
9. Bourne WM, Kaufman HE. Specular microscopy of human corneal endothelium. *Acta Ophthalmol* **1979**;57:986-98.
10. Koester CJ, Robert CW, Donn A, et al. Wide field specular microscopy: clinical and research applications. *Ophthalmology* **1980**;87:849-60.
11. Olsen T. Non-contact specular microscopy of human corneal endothelium. *Acta Ophthalmol* **1979**;57:986-98.
12. Sherrad ES, Buckley RJ. Contact clinical specular microscopy of the corneal endothelium: optical modifications to the applanating objective cone. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **1981**;20:816-20.
13. Hiles DA, Biglan AW, Feherol EC. Central corneal endothelial cell count in children. *Am Intraocular Implant Soc J* **1979**;5:292-300.
14. Hoffer KJ, Kraff MC. Normal endothelial cell count range. *Ophthalmology* **1980**,87:861-6.
15. Brooks AM, Assessment of the corneal endothelium following keratoplasty. *Aust N Z J Ophthalmol* **1989** Nov.; 17(4):379-85.
16. Kasparov AA, Endothelium of the donor's transplant after penetrating keratoplasty. *Vestn Oftalmol* **1990** Sep-Oct; 106(5):12-7.
17. Szymanski A, The function of corneal endothelium after penetrating keratoplasty as measured with fluorophotometry,. *Klin Oczna* **1999**;101(1):37-40.
18. Hoffer KJ. Corneal decomposition after corneal endothelium cell count. *Am Journal Ophthalmol* **1979**;87:252-3.
19. Burns RR, Bourne WM, Brubaker RF. Endothelial function in patients with cornea guttata. *Invest Ophthalmol Visc Sci* **1981**;20:77-85.
20. Langing RA, Sandstrom, M Berrospi AR, et al. Morphological changes in corneal endothelial cells after penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* **1976**; 82:459-64.

21. Bourne WM, Kaufman HE. The endothelium of clear corneal transplants. *Arch Ophthalmol* 1976;94:1730-2.
22. Harper CL, Endothelial viability of organ-cultured corneas following penetrating keratoplasty. *Eye* 1998;12 (Pt5):834-8.
23. Bourne WM, Ofallon WM. Endothelial cell loss during penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 1978;85:760-6.
24. Bourne WM. Examination and photography of donor corneal endothelium. *Arch Ophthalmol* 1976; 94:1799-1800.
25. Mc Carey BE. Noncontact specular microscopy. A macrophotography technique and some endothelial cell findings. *Ophthalmology* 1979;1848-60.
26. Roberts CW, Rosskothan HD, Koester CJ. Wide field specular microscopy of excised donor corneas. *Arch Ophthalmol* 1981;99:881-3.
27. Thomas J. Naduvilath et al. Risk factors for corneal graft failure in a series of 1725 cases. *Castroviejo cornea society. Cornea*, vol 16; 1997, No 2:251
28. Kaufman HE, Varnel DE, Kaufman S, Beuerman RW, Baron BA. K Sol corneal preservation. *Am J Ophthalmol*; 1985,100:299-304..
29. Kaufman HE, euerman RW, Steinemann TLB. Optisol corneal storage medium. *Arch Ophthalmol*; 1991,109,864-8.
30. Chung-Ho Cheng, Valentina N, Effect of chondroitin sulfate on the endothelium in corneal storage, *Cornea Vol 15, No 1,35-40, January 1996.*
31. Zacks CM, Long-term changes in corneal endothelium after keratoplasty. A follow up study. *Cornea* 1990 Apr;9(2):92-7.
32. Obata H, Corneal endothelial cell damage in penetrating keratoplasty, *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 1992 Mar;96(3):346-51.
33. Pesko K, Changes in the corneal endothelium after penetrating keratoplasty, *Cesk Slov Oftalmol* 1996 Nov;52(6):395-8.
34. Bourne WM, Corneal endothelium five years after transplantation. *Am J Ophthalmol* 1994 Aug 15;118(2):185-96.
35. Nelson LR, Ten year postoperative results of penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1998 Oct;105(10):1855-65.
36. Kus MM, Endothelium and pachymetry of clear corneal grafts 15 to 33 years after penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 1999 May;127(5):600-2.
37. Bell KD, Patholgy of late endothelial failure: late endothelial of penetrating keratoplasty: study with light and electron microscopy. *Cornea* 2000 Jan;19(1):40-6.

# **A N E X O S**

**Fig 1:** Medio preservador (condroitín sulfato)

**Fig 2:** Equipo de microscopía especular “ Cooper Vision”

**Fig 3:** Microfotografía región central endotelial.

**Fig 4:** Equipo de microscopía especular software “Bambi”

**Fig 5:** Modificación en la densidad celular endotelial posterior a queratoplastía penetrante,(3m,1,2,3 y 4 años)

**Fig 6:** Modificación en la densidad celular endotelial posterior a queratoplastía penetrante, grupo menor de 50 años, obtención antes y después de 6 hrs.

**Fig 7:** Modificación en la densidad celular endotelial posterior a queratoplastía penetrante, grupo entre 50 y 70 años, obtención antes y después de 6 hrs.

**Fig 8:** Modificación en la densidad celular endotelial posterior a queratoplastía penetrante, grupo mayor de 70 años, obtención antes y después de 6 hrs.

**Fig 9:** Modificación en la densidad celular endotelial posterior a queratoplastía penetrante, en series de diferentes países.

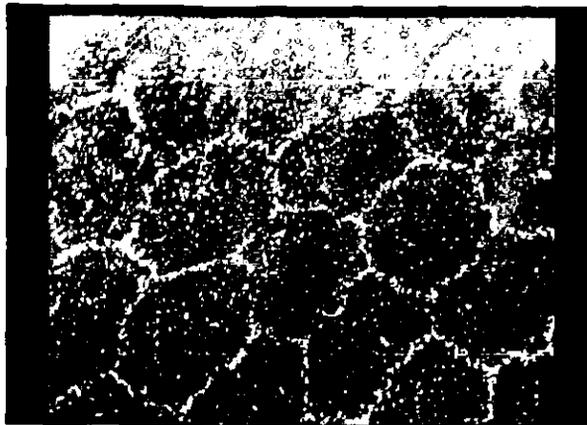


FIG. 3

---

---

---

---

---

---

---

---



FIG. 1

---

---

---

---

---

---

---

---

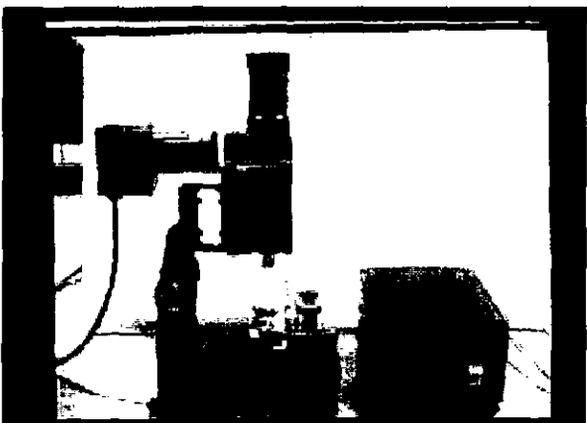


FIG. 2

---

---

---

---

---

---

---

---

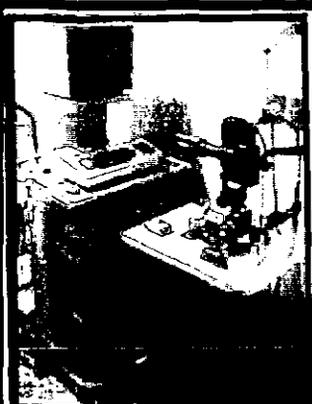


FIG. 4

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

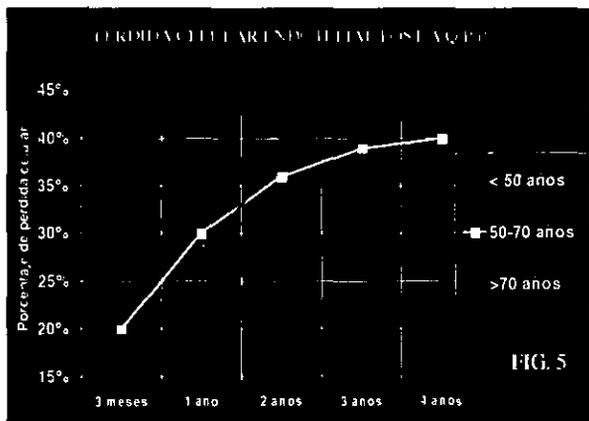


FIG. 5

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

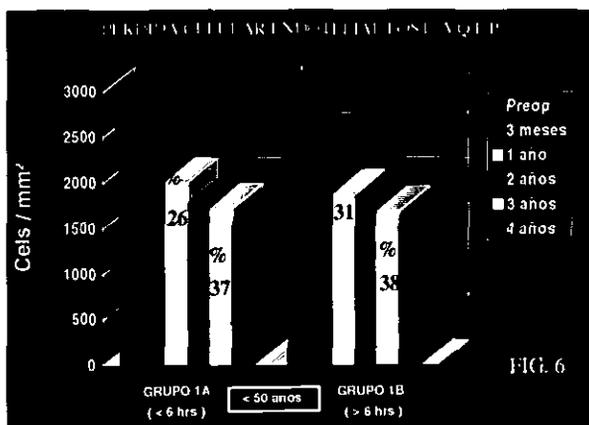


FIG. 6

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

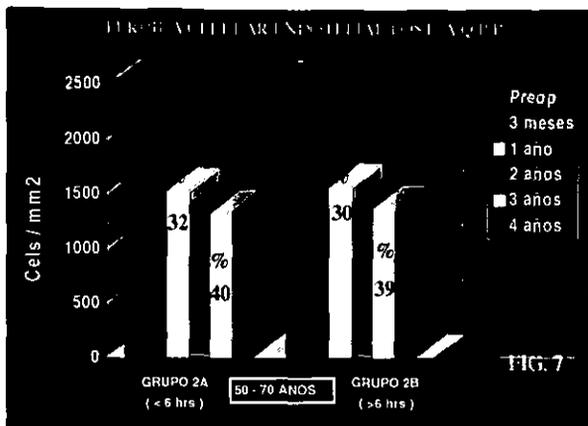


FIG. 7

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

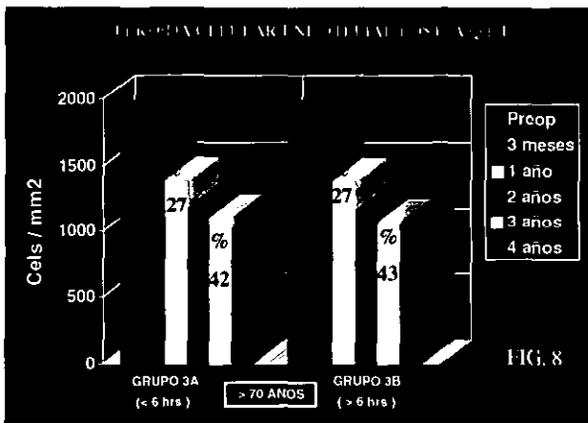


FIG. 8

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

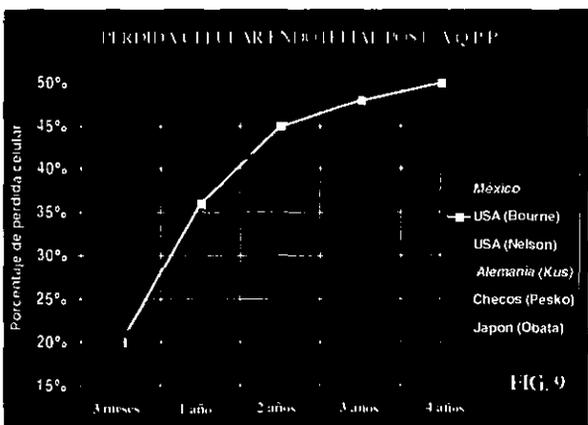


FIG. 9

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---