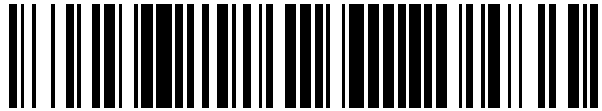


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 443 577**

51 Int. Cl.:

**A61F 2/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.11.2010 E 10792988 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.10.2013 EP 2501335**

54 Título: **Implante destinado a la reconstrucción anatómica o al aumento de volumen**

30 Prioridad:

**20.11.2009 FR 0958210**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**19.02.2014**

73 Titular/es:

**BRINON, Thierry (100.0%)  
101 rue Cros de Boyer Bâtiment A1  
83140 Six-Fours-les-Plages, FR**

72 Inventor/es:

**BRINON, THIERRY**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

**ES 2 443 577 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Implante destinado a la reconstrucción anatómica o al aumento de volumen

La presente invención se refiere a un implante destinado a la reconstrucción anatómica o al aumento de volumen de una parte blanda de un cuerpo vivo.

5 La aplicación principal de la invención es el campo de los implantes o prótesis mamarias adaptados para implantarse quirúrgicamente bajo la piel de una persona, en sustitución o como complemento de la glándula mamaria para respectivamente una reconstrucción anatómica y reparadora tras una mastectomía o extirpación de esta glándula, o un aumento de volumen por razones estéticas.

10 También son posibles otras aplicaciones con los implantes de acuerdo con la invención para otras zonas corporales, pero en la siguiente descripción se citará y se pondrá el ejemplo más habitual de los implantes mamarios.

Se conocen unas prótesis de este tipo que comprenden una envoltura de elastómero, de preferencia de silicona, y gel de silicona o suero fisiológico que rellena dicha envoltura: sus formas son o bien redondas, o bien anatómicas simétricas, o bien anatómicas asimétricas según el efecto deseado.

15 Se han presentado numerosas solicitudes de patente para cubrir diferentes técnicas de fabricación, como la solicitud de patente FR 2 735 354 presentada el 13 de junio de 1995 por el LABORATOIRE PEROUSE IMPLANT que describe una prótesis mamaria que comprende una multitud de bolsas llenas de suero fisiológico y que rellenan la envoltura externa para reducir la movilidad de este fluido y obtener unas propiedades mecánicas cercanas a las de una glándula mamaria natural.

20 Sea cual sea la forma o la técnica de fabricación de este tipo de implantes o prótesis, se ha comprobado una primera complicación, actualmente muy conocida, postoperatoria tras la colocación del implante: la contractura capsular. En efecto, la reacción fisiológica, normal y constante del organismo humano en presencia de un cuerpo extraño, es aislar los tejidos circundantes formando una membrana hermética que va a rodear el implante y que se llama «cápsula periprotésica». En circunstancias normales, esta membrana es fina, flexible e imperceptible, pero a veces la reacción se amplifica y la cápsula se engrosa, se vuelve fibrosa y se retrae comprimiendo el implante, tomando entonces el nombre de «cáscara». Según la intensidad del fenómeno, puede derivar en: un simple endurecimiento del seno, una compresión a veces molesta, e incluso una deformación visible con globulización de la prótesis conduciendo en el último extremo a una esfera dura, dolorosa, más o menos excéntrica.

25

Esta fibrosis retráctil, llamada también contractura capsular, es a veces secundaria a un hematoma o una infección, pero la mayoría de las veces su aparición resulta imprevisible, derivándose de reacciones orgánicas aleatorias.

30 En estos últimos años se han realizado grandes progresos en esta materia, por una parte, de técnicas quirúrgicas y, por otra parte y sobre todo, de diseño y de constitución de los implantes, conduciendo a una reducción muy evidente de las tasas de cáscaras (o contracturas capsulares) y de su intensidad, y esto gracias a los implantes con superficie externa texturizada.

35 La superficie externa rugosa del implante se obtiene, por lo general, utilizando dos tipos de procedimiento de fabricación.

40 El primero consiste en proyectar sobre la primera capa impregnada en la dispersión de silicona unos cristales solubles en agua, por lo general azúcar o sal. Tras la catálisis de la envoltura (cocción), las envolturas se sumergen en agua para disolver los cristales. Tras la disolución, la huella dejada en la envoltura constituye la superficie rugosa de esta. La granulometría, la forma y la fuerza de proyección de los cristales definen el estado de la superficie final de la envoltura (rugosidad, profundidad y densidad de los poros). Se podría citar para ilustrar este primer tipo de procedimiento la patente FR 2 637 537 del 11 de octubre de 1989 de la empresa US CUI CORPORATION, así como la solicitud de patente WO 2009/061672 del 31 de octubre de 2008 de la empresa ALLERGAN o también la patente US 5 674 285 registrada el 12 de diciembre de 1995 por la empresa MEDICAL PRODUCTS DEVELOPMENT.

45 El otro procedimiento conocido de fabricación consiste en realizar la superficie rugosa en el molde de la envoltura. El estado de la superficie del molde se puede obtener, bien mediante el granallado con un abrasivo calibrado, bien mediante el mecanizado, bien mediante moldeo, o bien mediante cualquier otra técnica que permita modificar el estado de la superficie del molde. En este caso, es la superficie de la envoltura en contacto con el molde la que se vuelve rugosa y, tras el desmolde, se da la vuelta a la envoltura para obtener la superficie rugosa externa del implante. Se puede citar para ilustrar este segundo tipo de procedimiento la patente EP 1 847 369 del 19 de abril de 50 2007 de la empresa CEREPAS.

De este modo, los implantes mamarios conocidos en la actualidad pueden estar formados por una envoltura cuya superficie externa es lisa o está texturizada.

5 Una segunda complicación postoperatoria es la de la difusión de aceite a través de la envoltura y que puede generar la formación de un siliconoma: en efecto, el gel de silicona, que es el producto habitualmente utilizado para el relleno de la envoltura con el fin de darle su volumen y aportar al implante las propiedades mecánicas deseadas, se obtiene mediante una mezcla mayoritariamente compuesta por aceite de silicona y por un catalizador. La consistencia del gel se obtiene tras su reticulación (cocción). Una vez reticulado, al envejecer en el interior de la envoltura, el gel libera en la superficie unas cadenas moleculares denominadas cortas que se traducen en un ascenso del aceite a la superficie del gel y a continuación a través de la envoltura del implante. Este fenómeno, llamado transudación, lo conoce bien el experto en la materia.

10 Los fabricantes de silicona y de implantes mamarios han desarrollado soluciones para hacer menos permeables las envolturas de implantes y, de este modo, limitar la migración de las cadenas cortas hacia el exterior del implante: se puede citar en este contexto la solicitud de patente FR 2 498 446 de la empresa INSERM del 26 de enero de 1981 que describe un implante con una superficie externa hidrófila y que, además, en un principio se desarrolló para resolver la primera complicación citada anteriormente de contracturas capsulares.

15 Otra consecuencia del ascenso del aceite a la superficie del gel, pero que se ha descrito menos aunque es conocida, es la separación del gel de la envoltura. Esto puede conllevar la deformación del implante y la aparición de pliegues de la envoltura. Esto se puede traducir en una degradación del resultado estético del implante, pero también en una degradación prematura de la envoltura por cizallamiento. Esta degradación puede llegar incluso a la rotura de la envoltura que es por tanto una tercera complicación postoperatoria.

20 La rotura de las envolturas de implantes mamarios es, de hecho, el riesgo más habitual en la actualidad que encontramos con este tipo de implante, pudiendo considerar controladas en la actualidad las dos complicaciones descritas anteriormente.

25 En efecto, aunque se puede estimar el tiempo de vida útil de un implante mamario en diez e incluso doce años tras su colocación, numerosos casos han mostrado roturas prematuras de envoltura mucho antes de estos plazos.

Las causas de estas roturas son múltiples.

Se pueden diferenciar dos categorías de roturas de implante:

- las roturas independientes de la calidad del implante;
- las roturas directamente ligadas a la calidad del implante.

30 Entre las causas rotura de envoltura de implante mamario independientes de la calidad del implante, se pueden citar el traumatismo ligado a un golpe violento, la alteración de la envoltura durante su colocación (instrumentos quirúrgicos, aguja de sutura) o incluso el incorrecto posicionamiento del implante causando pliegues en la envoltura.

35 La calidad de diseño y de fabricación del implante también puede ser una causa de rotura prematura. En efecto, la elección de los materiales, la regularidad del espesor de la envoltura, el control del procedimiento de fabricación son otros tantos parámetros que pueden influir en la resistencia mecánica de la envoltura.

Los elastómeros de silicona con los cuales se realizan por lo general las envolturas de las prótesis son conocidos por su excelente tolerancia por el cuerpo humano (biocompatibilidad) y sus propiedades mecánicas especialmente adaptadas a los implantes mamarios: flexibilidad, elasticidad y memoria de forma (remanencia). Sin embargo, la resistencia al desgarro de estos polímeros sigue siendo su principal debilidad para este tipo de aplicación.

40 Ahora bien, en cuanto aparece un inicio de rotura de envoltura de implante mamario, esta evoluciona y se propaga de forma consecutiva a las sollicitaciones del implante (movimientos, presiones, etc.). Tras unas semanas o meses, una rotura de algunos milímetros puede alcanzar varios centímetros.

45 Y, al contrario que los implantes mamarios pre-llenados con suero fisiológico, cuya rotura de la envoltura se puede diagnosticar de forma inmediata (el implante se vacía), una rotura de implante pre-llenado con gel de silicona se puede calificar de «silenciosa». En efecto, mientras el tamaño de la abertura no permite la salida del gel, la rotura es casi indetectable, ni mediante palpación ni mediante los medios de tratamiento de imágenes como la radiografía, ecografía, IRM.

Es cuando el gel ha migrado fuera de la envoltura cuando generalmente se diagnostica la rotura.

Evidentemente, desde hace varios años, los fabricantes han desarrollado geles de silicona denominados de alta cohesividad con el fin de limitar los riesgos de fragmentación del gel en caso de rotura de la envoltura. Pero esta cohesividad es relativa, y en cualquier caso, la cohesividad del gel no excluye la extracción parcial o total de gel fuera de la envoltura en caso de un desgarro importante de la envoltura.

- 5 La migración del gel consecutiva a una rotura de implante es, en todos los casos, un factor de complicaciones (dolores, ganglios axilares) y exige una intervención quirúrgica (extracción).

10 En esta intervención, tras la extracción del implante roto, es imprescindible proceder a un raspado de la cavidad y de los tejidos vecinos con el fin de extraer cualquier rastro de gel antes de la colocación de un nuevo implante. Sin embargo, al ser especialmente delicada y aleatoria la extracción total de los fragmentos de gel, es frecuente ver reaparecer siliconomas algunos meses después de la sustitución del implante. El documento US 5 961 552 da a conocer el preámbulo de la reivindicación 1.

15 Así pues, el objetivo de la presente invención es evitar esta tercera complicación postoperatoria proponiendo un implante en particular mamario, pre-llenado con gel de silicona, que no presenta ningún riesgo de deformación del implante a causa de la separación del gel de la envoltura y que, en caso de rotura, y sea cual sea el tamaño de la rotura, garantice el mantenimiento del gel dentro de la envoltura.

20 Este objetivo se consigue mediante un implante destinado a la reconstrucción anatómica o al aumento de volumen de una parte blanda de un cuerpo vivo, tal como se presenta en las reivindicaciones, este implante está compuesto por una envoltura de un material flexible y biocompatible y llena con un gel, y la superficie interna de la envoltura en contacto con el gel está, de acuerdo con la invención, texturizada de acuerdo con el sentido y la definición que se dan a continuación, esto es que comprende unas pequeñas zonas huecas, denominadas alveolos, que están abiertas, regulares o no, y separadas por unas zonas llamadas asperezas denominadas entonces en relieve; el diámetro y la profundidad de los alveolos, como la anchura y la altura de las asperezas, son de unos micrones ( $\mu\text{m}$ ): las dimensiones microscópicas de los alveolos y asperezas dan a la superficie interna de la envoltura un estado de rugosidad fina.

25 En un modo preferente de la invención la envoltura es de elastómero y el gel es un gel de silicona.

En la aplicación principal de la invención el implante es un implante mamario de forma redonda, anatómica simétrica o asimétrica.

El resultado es un nuevo implante cuyo estado rugoso de la superficie del interior de la envoltura permite una adherencia sorprendentemente eficaz del gel a la envoltura, que se puede calificar de unión cohesiva.

30 En efecto, en los diferentes ensayos entre los cuales está el del desprendimiento de la envoltura con implantes conocidos que tienen superficies internas lisas, se ha comprobado para ilustrar la tercer complicación postoperatoria descrita con anterioridad que al mantener el implante suspendido por la parte superior de su cúpula enganchado por una pinza (tipo pinza de tender la ropa) el peso del implante aplica una tracción que tiende a desprender la envoltura del gel: de este modo, controlando a intervalos regulares el desprendimiento o la separación, que se puede calificar de rotura adhesiva, del gel contenido dentro del implante con la envoltura con superficie interna lisa se ha comprobado desde el 10º día, y prosigue más allá del 30º día.

35 Por el contrario, si tomamos un implante con una envoltura con superficie interna texturizada que ha seguido el mismo ciclo completo de fabricación, esterilización incluida, que el anterior implante con superficie lisa, y con unas muestras con la misma forma, con el mismo volumen y fabricadas con el mismo lote de gel de relleno y siguiendo las mismas condiciones de fabricación, no se ha comprobado ningún desprendimiento con este implante cuya envoltura tiene una superficie interna texturizada, y ello de una manera sorprendente, incluso tras 100 días de suspensión, Obviamente, se puede considerar que dicha superficie dispone de una humectabilidad incrementada con respecto a una superficie lisa o a unos alveolos no microscópicos, y aumenta la adherencia mecánica entre el gel y la envoltura, pero la ausencia de desprendimiento que se obtiene no es por ello menos sorprendente.

45 El nuevo implante de acuerdo con la invención responde al objetivo definido con anterioridad y los resultados de los ensayos descritos más arriba y los que se describen a continuación prueban su interés: la descripción y las figuras adjuntas dan unos ejemplos de realización de este, sabiendo no obstante que otros modos de realización son posibles en el marco del alcance de la presente invención.

La figura 1 es un ejemplo de implante mamario redondo en una vista en perspectiva.

50 La figura 2A muestra un implante de acuerdo con la invención cuya envoltura se ha recortado y sigue siendo solidaria con el gel a pesar de la presión ejercida sobre el implante, no habiendo salido el gel de la envoltura.

La figura 2B muestra un implante conocido cuya envoltura tiene una superficie interna lisa y se ha cortado como en el caso del implante de la figura 2A: la presión ejercida sobre el implante desprende la envoltura del gel que sale de la prótesis.

5 La figura 3A muestra un ensayo de tracción de una muestra recortada en la parte superior de un implante de acuerdo con la invención; no se produce desprendimiento del gel y este último se rompe manteniéndose adherido a la muestra.

La figura 3B muestra el ensayo de tracción de una muestra como en la figura 3A, cortada en la parte superior de un implante conocido cuya envoltura es lisa en el interior: la muestra se desprende del gel y no hay ningún resto visible de este en la muestra.

10 Cualquier implante 1 destinado a la reconstrucción anatómica o al aumento de volumen de una parte banda de un cuerpo vivo, como los implantes o prótesis mamarios, está compuesto por una envoltura 3 de un material flexible y biocompatible, de preferencia de elastómero, y llenado con un gel 2, de preferencia de silicona.

15 La superficie de externa  $4_1$  de la envoltura 3 es o bien lisa, o bien está texturizada o es rugosa y, de acuerdo con la invención, la superficie interna  $4_2$  de la envoltura 3 en contacto con el gel 2 está texturizada, esto es que comprende unas pequeñas zonas huecas, denominadas alveolos, que están abiertas, regulares o no, y separadas por unas zonas denominadas asperezas llamadas por tanto en relieve; se puede considerar que dicha superficie interna llamada texturizada también es rugosa.

20 Para obtener el efecto texturizado o rugoso deseado, la profundidad y el diámetro de los alveolos de la superficie interna texturizada de la envoltura 3 son microscópicos, comprendidos de preferencia entre 5 y 40  $\mu\text{m}$ , y la densidad de estos alveolos está, de preferencia, comprendida entre 300 alveolos/ $\text{cm}^2$  y 1.800 alveolos/ $\text{cm}^2$ ; del mismo modo las asperezas, que son de la misma altura microscópica que la profundidad de los alveolos, también tienen de preferencia una anchura microscópica comprendida entre 5 y 40  $\mu\text{m}$ ; estos alveolos se realizan mediante cualquier procedimiento conocido durante la fabricación de dicha envoltura 3.

25 En el modo de realización de la figura 1, el implante mamario 1 representado es redondo con una parte  $1_2$  en forma de cúpula destinada a reproducir la forma anatómica del seno que se quiere reconstruir o del que se quiere aumentar el volumen, con una base plana  $1_1$ .

El implante 1 mamario también puede tener forma anatómica simétrica o asimétrica.

30 Las figuras 2 y 3 muestran dos ensayos complementarios al que se ha descrito con anterioridad y que confirman, por una parte, que los implantes de acuerdo con la presente invención dan respuesta en efecto al problema planteado y que, por otra parte, los implantes conocidos en la actualidad pueden provocar la tercera complicación postoperatoria descrita anteriormente en caso de rotura de la envoltura del implante.

35 Las figuras 2 representan unos ensayos comparativos llamados ensayos de migración, que consisten en practicar una abertura 5 del implante 1 recortada, por ejemplo, con un escalpelo y en una longitud correspondiente a la mitad de la circunferencia del implante representado en la figura 1; siendo el ecuador el radio de unión entre la base  $1_1$  y la cúpula  $1_2$  del implante. Se recuerda, como en la descripción del primer ensayo descrito con anterioridad, que los implantes 1a representados en las figuras 2A y 3A de acuerdo con la invención y los 1b representados en las figuras 2B y 3B corresponden a los implantes conocidos en la actualidad, son unas muestras con la misma forma, con el mismo volumen y fabricados con el mismo lote de gel de relleno y siguiendo las mismas condiciones de fabricación con un ciclo completo idéntico, esterilización incluida.

40 En este segundo ensayo las muestras se mantienen a continuación suspendidas por una pinza enganchada en la parte opuesta 6a de la abertura 5a, respectivamente 6b y 5b, y cada veinte cuatro horas, cada implante experimenta cinco presiones sucesivas colocando, de acuerdo con las figuras 2, estos implantes sobre una superficie plana 8 y presionando sobre la cúpula  $1_2$  con el fin reproducir las sollicitaciones que puede experimentar una prótesis implantada en un cuerpo humano y cuya envoltura se ha roto.

45 Se verifica, a intervalos regulares, el desprendimiento y la fluencia del gel 2 fuera de la envoltura 3.

De este modo, estos ensayos han mostrado que el gel 2, contenido dentro de la envoltura 3 con una superficie interna lisa de los implantes conocidos en la actualidad, se separa de forma progresiva de esta envoltura 3 y se extrae de forma progresiva 2' de esta envoltura tras 40 días de suspensión. Tras 130 días de suspensión el gel 2 se ha extraído por completo 2' de la envoltura 3.

50 Por el contrario, el implante 1a de acuerdo con la figura 2A, cuya envoltura 3 tiene una superficie interna texturizada de acuerdo con la invención, no ha mostrado ningún desprendimiento ni extrusión del gel 2 fuera de la envoltura, ni

siquiera tras 280 días de suspensión.

5 La serie de terceros ensayos representada en las figuras 3 consiste en medir con un dinamómetro la fuerza de tracción necesaria para el desprendimiento de la envoltura 2 y en analizar la superficie interna de esta en los términos del ensayo. Para ello se ha recortado y dejado colocada una muestra rectangular de 100 mm/15 mm de lado, centrada y repartida de forma simétrica en la parte superior de la cúpula 1<sub>2</sub> de cada implante 1<sub>A</sub> y 1<sub>B</sub>.

Uno de los dos extremos de la muestra 7 está sujeto dentro de la mordaza móvil de un dinamómetro y la base del implante se mantiene sobre la placa fija 8 del dinamómetro. Las muestras 7<sub>A</sub> y 7<sub>B</sub> se estiran a una velocidad de 20 mm por minuto hasta un desprendimiento total de la muestra considerada, en contacto con el gel 2.

10 El ensayo de la figura 3B, en el cual el implante 1<sub>B</sub> tiene una superficie interna lisa, ha mostrado que la muestra 7<sub>B</sub> se desprendía con una fuerza inferior a 0,5 Newton y que en los términos del ensayo la superficie interna lisa de la muestra 7<sub>B</sub> no presentaba ningún resto de gel.

A la inversa, en la figura 3A con un implante de acuerdo con la invención con una superficie interna texturizada, la muestra 7<sub>A</sub> se soltó del gel 2 con una fuerza de 0,7 Newton y estaba completamente recubierta de gel 2' en los términos del ensayo. En este caso, el gel se rompió.

15 Como se ha descrito con anterioridad, la texturización de la envoltura 3 se puede obtener:

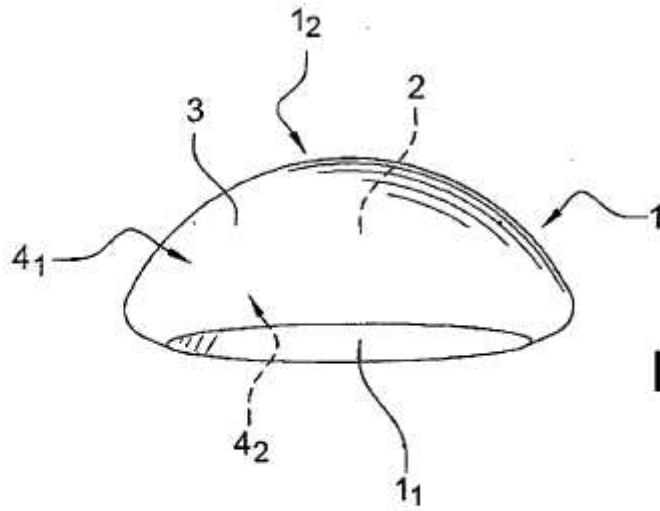
- bien mediante la proyección de cristales solubles en la superficie del elastómero no reticulado, y a continuación mediante la disolución de los cristales tras la reticulación del elastómero;
- o bien mediante la modificación del estado de la superficie del molde en el cual se realiza la envoltura de elastómero.

20 En el caso de la realización del implante mamario objeto de la invención cuya superficie externa 4<sub>1</sub> de la envoltura 3 es lisa, la textura interna 4<sub>2</sub> de la envoltura se puede obtener por medio de uno u otro de los dos procedimientos descritos más arriba.

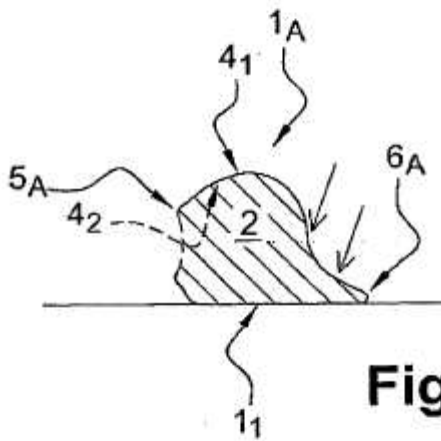
25 En el caso de la realización del implante mamario objeto de la invención cuya superficie externa 4<sub>1</sub> está texturizada, son entonces necesarios los dos procedimientos: la textura de la cara interna en el molde y la textura de la superficie externa mediante la proyección de cristales solubles o a la inversa.

**REIVINDICACIONES**

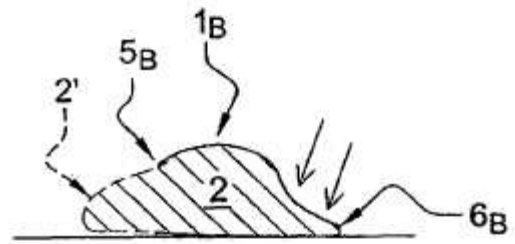
- 5 1. Implante (1) destinado a la reconstrucción anatómica o al aumento de volumen de una parte blanda de un cuerpo vivo, el cual está compuesto por una envoltura (3) de un material flexible y biocompatible y llena con un gel (2), estando texturizada la superficie interna (4<sub>2</sub>) de la envoltura (3) en contacto con el gel (2), **caracterizado por que** dicha superficie comprende unos alveolos abiertos de dimensiones microscópicas.
2. Implante de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** la envoltura (3) es de elastómero.
3. Implante de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, **caracterizado por que** el gel (2) es un gel de silicona.
- 10 4. Implante de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por que** la superficie externa (4<sub>1</sub>) de la envoltura (3) es lisa.
5. Implante de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por que** la superficie externa (4<sub>1</sub>) de la envoltura (3) está texturizada.
6. Implante de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado por que** el implante (1) es un implante mamario de forma redonda.
- 15 7. Implante de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado por que** el implante (1) es un implante mamario de forma anatómica simétrica o asimétrica.
8. Implante de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizado por que** la profundidad de los alveolos de la superficie interna (4<sub>2</sub>) texturizada de la envoltura (3) está comprendida entre 5 y 40  $\mu\text{m}$  (micrones).
- 20 9. Implante de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, **caracterizado por que** la densidad de los alveolos de la superficie interna (4<sub>2</sub>) texturizada de la envoltura (3) está comprendida entre 300 alveolos/cm<sup>2</sup> y 1.800 alveolos/cm<sup>2</sup>.



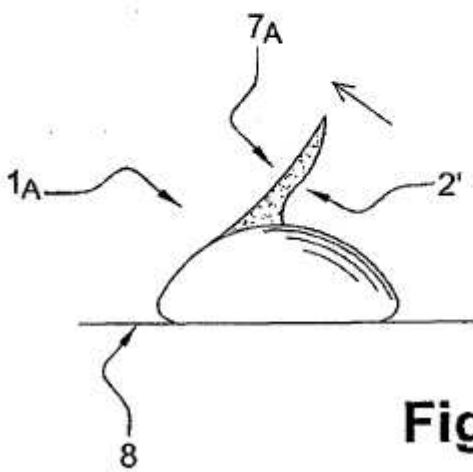
**Fig. 1**



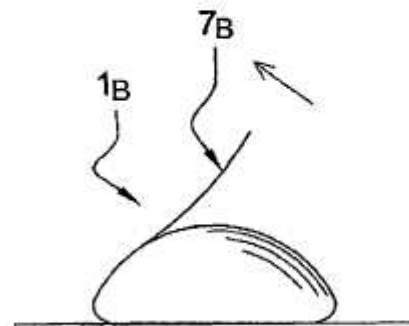
**Fig. 2A**



**Fig. 2B**



**Fig. 3A**



**Fig. 3B**