



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 329 335**

51 Int. Cl.:
A61L 27/20 (2006.01)
A61L 31/04 (2006.01)
A61L 33/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01921442 .8**
96 Fecha de presentación : **30.03.2001**
97 Número de publicación de la solicitud: **1272234**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **08.01.2003**

54 Título: **Prótesis vascular impregnada con dextrano reticulado.**

30 Prioridad: **10.04.2000 FR 00 04554**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
25.11.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
25.11.2009

73 Titular/es: **THERAPEUTIQUES SUBSTITUTIVES**
Université Paris-Nord, avenue J.B.Clément
F-93430 Villetaneuse, FR

72 Inventor/es: **Machy, Delphine;**
Jozefonvicz, Jacqueline y
Letourneur, Didier

74 Agente: **Martín Santos, Victoria Sofía**

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

Prótesis vascular impregnada con dextrano reticulado.

5 La presente invención se refiere a una prótesis vascular impregnada con dextrano reticulado y/o con derivado funcionalizado de dextrano reticulado, así como a un procedimiento de preparación de dicha prótesis.

En cirugía vascular reparadora, la utilización de sustitutos de origen sintético, tales como prótesis de poliéster, nailon, polipropileno, poliacrilonitrilo, poliuretano, polieteruretano, politereftalato de etileno o politetrafluoroetileno
10 expandido es una alternativa al injerto biológico.

Para volver a estos sustitutos sintéticos biocompatibles y, en el caso en que los sustitutos no sean impermeables ellos mismos, para conferirles propiedades de impermeabilidad, puede recubrirse su superficie con sustancias de origen biológico, tales como proteínas plasmáticas (albúmina o fibrina) o proteínas de matriz extracelular (colágeno, gelatina
15 o fibronectina).

Estas proteínas presentan no obstante el inconveniente de proceder de fuentes animales o humanas, de ahí un riesgo potencial de contaminación por agentes patógenos y toxinas.

20 Se ha propuesto ya recubrir la superficie de estos sustitutos sintéticos con alginato, carboximetilado o no (patente US 5.415.619). Sin embargo, se observa una coagulación rápida de la sangre en la superficie de la proteasa y una respuesta inflamatoria importante después de la implantación de este tipo de prótesis.

Se ha propuesto ya igualmente, especialmente en la patente US 4.743.258, un dispositivo compatible con el medio sanguíneo que comprende un material de base polimérico y un polímero hidrosoluble sustancialmente no iónico fijado directamente a la superficie de dicho material de base, pudiendo elegirse este polímero hidrosoluble entre los polímeros de tipo acrilamida o metilacrilamida, polivinilpirrolidona, poli(alcoholes vinílicos) parcial o completamente saponificados, polietilenglicol y dextrano no reticulado. Sin embargo, la utilización de dichos polímeros a modo de recubrimiento de prótesis vasculares no es satisfactorio en la medida en que se encuentran liberados rápidamente en
30 la circulación sanguínea, por el hecho de su solubilidad en medio acuoso que conlleva también la eliminación del recubrimiento de la prótesis.

Por otro lado, pueden efectuarse pretratamientos con la sangre del paciente, antes de la implantación de la prótesis. Estos procedimientos son sin embargo limitados puesto que necesitan transfusiones del paciente, que llevan tiempo y
35 no pueden emprenderse en caso de emergencia. Además, no pueden utilizarse en el caso en que los pacientes están bajo tratamiento anticoagulante, lo que es a menudo el caso.

La solicitante se ha puesto por tanto como objetivo paliar los inconvenientes de la técnica anterior y proporcionar una prótesis vascular recubierta con una sustancia que no sea de origen animal, siendo la prótesis resultante a la vez impermeable y manejable. Además, la prótesis dotada de su recubrimiento debe ser no tóxica y no trombogénica y no desencadenar una reacción inflamatoria cuando se implanta *in vivo*, conservando su integridad después de la implantación.

La presente invención tiene por tanto como objeto una prótesis vascular manejable caracterizada porque comprende
45 un soporte sintético impregnado con al menos un dextrano reticulado de forma covalente y/o con al menos un derivado funcionalizado de dextrano reticulado de forma covalente.

En el sentido de la presente invención, se entiende por “manejable” una prótesis que es fácilmente manipulable por el cirujano en la implantación y que es suficientemente flexible para experimentar fácilmente pliegues y torsiones sin
50 que la forma tubular de la prótesis se deshaga y sin que las paredes se junten una con otra.

El dextrano puede definirse como un polisacárido constituido por un encadenamiento de unidades de α -D-glucopiranosido conectadas entre ellas por enlaces α (1-6).

55 El soporte sintético utilizado en la prótesis según la presente invención consiste por ejemplo en poliéster, nailon, polipropileno, poliacrilonitrilo, poliuretano, polieteruretano, politereftalato de etileno (tejido o tricotado) o politetrafluoroetileno expandido.

La prótesis vascular manejable según la invención presenta la ventaja de ser impermeable con respecto a la presencia de dextrano reticulado y biocompatible (es decir, que no desencadena una respuesta biológica desfavorable en el sujeto receptor) por el hecho de la presencia del derivado funcionalizado de dextrano reticulado. Es apta para esterilización mediante rayos gamma o mediante óxido de etileno, tratamientos que no alteran ni su impermeabilidad ni su manejabilidad. Presenta igualmente la ventaja de conservar las características químicas y fisicoquímicas constantes después de un contacto permanente, durante 24 horas, de la prótesis en un flujo de agua en circuito cerrado, de forma
65 que se reproduzcan las condiciones de implantación en la circulación sanguínea. En estas condiciones, la cantidad de dextrano liberado alcanza una meseta que representa solamente menos de un 1% en peso del dextrano utilizado para efectuar el recubrimiento de la prótesis.

ES 2 329 335 T3

La utilización de dextrano y/o de derivados funcionalizados de dextrano para revestir el soporte protésico descarta cualquier riesgo de contaminación por agentes patógenos de fuente animal. Además, la prótesis según la presente invención presenta la ventaja de ser no trombogénica (no activa el sistema de coagulación) y de no desencadenar ninguna reacción inflamatoria en el sujeto receptor.

Son derivados funcionalizados de dextrano utilizables para impregnar la prótesis vascular según la presente invención, por ejemplo, los descritos en la solicitud internacional PCT publicada con el número WO 99/29734 o en el artículo de D. LOGEART-AVRAMOGLOU y J. JOZEFONVICZ aparecido en *J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater.)* 48, 578-590, 1999.

Dichos derivados, cuya preparación se describe en la solicitud internacional PCT WO 99/29734, responden, por ejemplo, a la fórmula general $DMC_aB_bSu_cS_d$ en la que:

D representa una cadena polisacárida, constituida por encadenamientos de unidades de α -D-glucopiranosido conectadas entre ellas por enlaces $\alpha(1-6)$,

MC representa grupos metilcarboxilato,

B representa grupos carboximetilbencilmamida,

Su representa grupos sulfato,

S representa grupos sulfonato y

a, b, c y d representan el grado de sustitución (gs) expresado con respecto al número de funciones hidroxilo libres en una unidad glucosídica del dextrano, respectivamente en los agrupamientos MC, B, Su y S, siendo a igual a 0 o $\geq 0,2$, siendo b igual a 0 o $\geq 0,1$, siendo c igual a 0 o ≥ 0 o $\geq 0,1$ y siendo d igual a 0 o $\leq 0,15$, a condición de que cuando $d = 0$, a y/o b sean $\neq 0$.

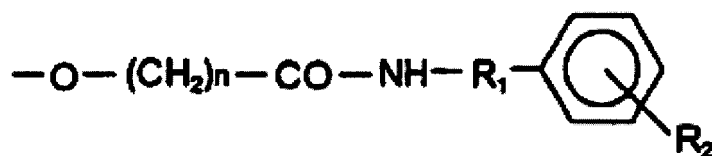
Entre estos derivados funcionalizados de dextrano, se pueden utilizar más particularmente aquellos que se seleccionan del grupo constituido por:

- los dextranos funcionalizados en los que $a \geq 0,5$, c es igual a 0 o $\leq 0,5$ y $d \leq 0,15$ o igual a 0 y cuya masa molecular media en peso está comprendida entre 3.000 y 5.000.000 g/mol,
- los dextranos funcionalizados en los que $a \geq 0,3$, c es igual a 0 o $\leq 0,4$ y $d \leq 0,15$ o igual a 0 y cuya masa molecular media en peso está comprendida entre 3.000 y 5.000.000 g/mol,
- los dextranos funcionalizados en los que $a \geq 0,5$, c es igual a 0 o $\leq 0,4$ y $d \leq 0,15$ o igual a 0 y cuya masa molecular media en peso está comprendida entre 3.000 y 5.000.000 g/mol, y
- los dextranos funcionalizados en los que $a \geq 0,2$, $c \geq 0,3$ y $d \leq 0,15$ o igual a 0 y cuya masa molecular media está comprendida entre 3.000 y 5.000.000 g/mol.

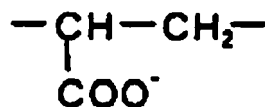
A modo de ejemplos suplementarios de derivados funcionalizados de dextrano utilizables para impregnar la prótesis vascular según la presente invención, se pueden citar igualmente:

1) Los derivados de dextrano descritos en la patente europea 0.146.455, que comprenden de manera estadística:

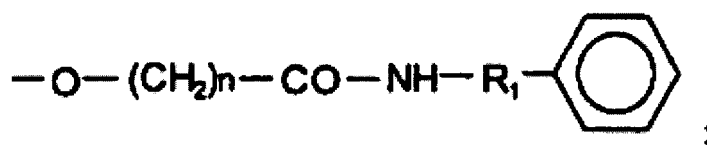
- al menos un 35% aproximadamente de motivos B constituidos por motivos osídicos A sustituidos con radicales que poseen una función carboxilo que responde a la estructura $-O-(CH_2)_n-R-COO-$ en la que R representa un enlace sencillo o un grupo $-CO-NH-(CH_2)_{n'}$, siendo n un número comprendido entre 1 y 10 y estando comprendido n' entre 1 y 7,
- al menos un 3% aproximadamente de motivos D, es decir, de motivos osídicos A sustituidos con una cadena que comprende un grupo de estructura:



en la que n es tal como se define anteriormente, R₂ representa un anión de una sal mineral u orgánica fisiológicamente tolerable y R₁ representa un enlace sencillo, un grupo -CH₂- o un grupo:



- eventualmente motivos osídicos A no sustituidos y/o motivos C constituidos por motivos A sustituidos con radicales de la estructura siguiente, en la que R₁ y n son tal como se definen anteriormente:



2) Los derivados de dextrano descritos en la patente europea 0.428.182, que comprenden motivos A y C y al menos un 35% de motivos B, siendo estos motivos tal como se definen anteriormente con relación a la patente europea 0.146.455.

Según un modo de realización ventajoso de prótesis vasculares según la presente invención, la relación en peso entre el derivado funcionalizado de dextrano y el dextrano está comprendida entre 1/99 y 30/70, preferiblemente comprendida entre 3/97 y 7/93, de manera más preferida es igual a 5/95 aproximadamente.

Según otro modo de realización ventajoso de prótesis vasculares según la presente invención, dicho soporte sintético está impregnado, además, con al menos un polisacárido natural o sintético funcionalizado al menos con funciones carboxilato y/o sulfato, reticulado de forma covalente. Es uno de dichos polisacáridos funcionalizados, por ejemplo, la heparina.

La relación en peso entre el polisacárido funcionalizado y el dextrano está comprendida ventajosamente entre 1/99 y 30/70, preferiblemente entre 1/99 y 20/80.

Cuando la prótesis vascular según la presente invención comprende a la vez un derivado funcionalizado de dextrano y un polisacárido funcionalizado, la relación en peso entre el derivado funcionalizado de dextrano y el polisacárido funcionalizado está comprendida ventajosamente entre 1/99 y 99/1.

Cuando los derivados funcionalizados de dextrano y/o los polisacáridos naturales o sintéticos funcionalizados con al menos funciones carboxilato o sulfato, tales como los definidos anteriormente, están presentes en la prótesis según la invención, confieren a esta última actividades biológicas específicas.

Particularmente, la presencia de derivados funcionalizados de dextrano confiere a la prótesis según la presente invención la posibilidad de desarrollar interacciones específicas con el medio biológico en el que se implanta; se observa especialmente una proliferación de células endoteliales humanas en el interior de la prótesis, proceso que favorece la integración del injerto en el medio biológico.

Además, en función de sus grados de sustitución en diferentes agrupamientos funcionalizados, los derivados funcionalizados de dextrano y los polisacáridos funcionalizados descritos anteriormente pueden presentar propiedades cicatrizantes, actividades anticomplementarias y de sustituto del plasma sanguíneo, una actividad moduladora de la proliferación celular o incluso propiedades anticoagulantes.

La presente invención tiene igualmente como objeto un procedimiento de preparación de una prótesis vascular tal como se describe anteriormente, caracterizado porque comprende las etapas siguientes:

- a) preparación de una solución de al menos un dextrano y/o al menos un derivado funcionalizado de dextrano,
- b) impregnación del soporte sintético con la ayuda de esta solución,
- c) reticulación de dicho dextrano y/o de dicho derivado funcionalizado de dextrano.

La solución preparada en la etapa a) puede consistir en una solución acuosa, clásicamente basada en agua osmotizada. Comprende, por ejemplo, entre 1 y 70% (m/v) de dextrano, o entre 1 y 70% (m/v) de derivado funcionalizado de

ES 2 329 335 T3

dextrano, o entre 1 y 70% (m/v) de dextrano y de derivado funcionalizado de dextrano, en función del tipo de dextrano utilizado y de su masa molecular media en peso.

El dextrano utilizado en el procedimiento según la invención presenta preferiblemente una masa molecular media en peso comprendida entre 10.000 y 50.000.000 g/mol.

Se pueden citar, a modo de ejemplo, los dextranos T40, T70 y T500, de masas moleculares medias en peso respectivamente iguales a 40.000, 70.000 y 460.000 g/mol, comercializadas por la compañía Pharmacia Biotech, y el dextrano 5M de masa molecular media en peso igual o superior a 5×10^6 g/mol, comercializada por la compañía Sigma. En función del tipo de dextrano utilizado, la solución preparada en la etapa a) del procedimiento según la invención comprende, por ejemplo, de 20 a 70% (m/v) de dextrano T40, de 10 a 70% (m/v) de dextrano T70, de 10 a 50% (m/v) de dextrano T500, o de 1 a 15% (m/v) de dextrano 5M.

Según un modo de realización ventajoso del procedimiento según la presente invención, este último comprende, entre las etapas a) y b), la adición a la solución preparada en la etapa a) de un agente de reticulación, por ejemplo STMP (trimetafosfato de sodio), oxícloruro de fósforo (POCl_3), epíclorhidrina, formaldehídos, carbodiimidas, glutaraldehídos o cualquier otro compuesto conveniente para reticular un polisacárido.

En este modo de realización, las etapas b) y c) se efectúan ventajosamente de forma simultánea a un pH comprendido entre 3 y 10, a una temperatura comprendida entre 10 y 40°C y durante un tiempo inferior o igual a 150 minutos.

Según otro modo de realización ventajosa del procedimiento según la presente invención, este último comprende, entre las etapas b) y c), una etapa de secado del soporte, seguida de una etapa de impregnación del soporte con la ayuda de una solución, en al menos un disolvente orgánico (tal como éter), de un agente de reticulación.

Es un agente de reticulación conveniente, por ejemplo, una carbodiimida o BDGE (butanodiol-1,4-diglicidiléter), pudiendo utilizarse este último a una cantidad de 10 a 30% en moles por 100 moles de motivos glucosídicos del polisacárido (dextrano funcionalizado o no), o cualquier otro agente de reticulación soluble en un disolvente orgánico.

En este modo de realización, las etapas b) y c) se efectúan ventajosamente cada una a un pH comprendido entre 3 y 10 y a una temperatura comprendida entre 10 y 40°C, efectuándose ventajosamente la etapa b) durante un tiempo inferior o igual a 150 minutos y la etapa c) durante un tiempo comprendido entre 15 minutos y 18 horas.

Según una disposición ventajosa de este modo de realización, dichas etapas sucesivas de preparación de una solución de al menos un dextrano y/o de al menos un derivado funcionalizado de dextrano, de impregnación del soporte con la ayuda de esta solución, del secado del soporte, de impregnación del soporte con la ayuda de una solución, en al menos un disolvente orgánico, de un agente de reticulación, y de reticulación de dicho dextrano y/o de dicho derivado funcionalizado de dextrano, después del secado del soporte, se repiten al menos una vez, preferiblemente dos a tres veces.

Según otro modo de realización ventajoso del procedimiento según la presente invención, la etapa c) de reticulación del dextrano y/o del derivado funcionalizado de dextrano es seguida por una etapa de lavado de la prótesis, por ejemplo mediante una mezcla de agua osmotizada y de agentes suavizantes y/o plastificantes tales como se describirán a continuación.

Según otro modo de realización ventajoso del procedimiento según la presente invención, dicha solución de al menos un dextrano y/o al menos un derivado funcionalizado de dextrano preparado en la etapa a) comprende, además, al menos un polisacárido natural o sintético funcionalizado al menos con funciones carboxilato y/o sulfato.

Dichos polisacáridos son tal como se describen anteriormente con relación a la prótesis vascular manejable según la presente invención.

Según otro modo de realización ventajoso más del procedimiento según la presente invención, dicha solución de al menos un dextrano y/o al menos un derivado funcionalizado de dextrano preparada en la etapa a) comprende, además, al menos un aditivo elegido entre agentes plastificantes y agentes suavizantes y/o uno o varios principios activos seleccionados del grupo constituido por agentes anticoagulantes (tales como antivitamina K o aspirina), agentes antibacterianos y agentes antiinfecciosos. Dichos principios activos pueden estar presentes, por ejemplo, en dicha solución acuosa a una cantidad de 1 a 10% en peso con relación a los polisacáridos utilizados.

A modo de ejemplos de agentes plastificantes utilizables, se pueden citar glicerol o manitol, presentes por ejemplo a una cantidad de 1 a 10% en volumen.

A modo de ejemplos de agentes suavizantes utilizables, se pueden citar ácido láctico, ácido ascórbico, etilenglicol, propilenglicol o sorbitol, presentes por ejemplo a una cantidad de 0,1 a 5% en volumen.

Son ejemplos de agentes antibacterianos y de agentes antiinfecciosos utilizables, de forma no limitante, rifampicina, minociclina, clorhexidina, iones de plata y composiciones basadas en plata.

ES 2 329 335 T3

La presente invención tiene además como objeto una prótesis vascular manejable tal como se define anteriormente, caracterizada porque es susceptible de obtenerse mediante el procedimiento según la invención tal como se define anteriormente.

Además de las disposiciones precedentes, la invención comprende también otras disposiciones que surgirán de la descripción siguiente, que se remite a ejemplos de preparación de prótesis vasculares según la presente invención y de evaluación de su biocompatibilidad celular, así como a los dibujos adjuntos, en los que:

- la figura 1 representa esquemáticamente la estructura de un derivado funcionalizado de dextrano sustituido con los diferentes agrupamientos químicos MC, B, Su y S fijados sobre las unidades glucosídicas D; a modo de ejemplo, la posición del sustituyente sobre los diferentes carbonos de las unidades glucosídicas se presenta sobre el carbono 2; y

- la figura 2 representa las curvas de crecimiento de células endoteliales humanas permanentes EA.hy 926 sobre muestras de prótesis vasculares según la invención que comprenden o bien un derivado no funcionalizado de dextrano (curvas -■-), o bien un derivado no funcionalizado de dextrano y un derivado funcionalizado de dextrano (curva -π-), figurando el tiempo (en días) en las abscisas y el número de células por cm^2 ($\times 10$) en ordenadas.

Debe entenderse, sin embargo, que estos ejemplos se dan únicamente a modo de ilustración del objeto de la invención, del que no constituyen en manera alguna una limitación.

Ejemplo 1

Preparación de prótesis vasculares según la presente invención, que comprenden un soporte sintético impregnado con un dextrano reticulado con la ayuda de BDGE

1) Soporte sintético, dextrano y agente de reticulación utilizados

El soporte sintético utilizado consiste en politereftalato de etileno (PET) tricotado, suministrado por la compañía Cardial & Bard con la denominación comercial "Dialina I". Su permeabilidad en agua es de 1010 ml/min/cm^2 según la norma ISO/DIS 7198: 1996. Se presenta en forma de un textil con cordoncillo de 40 a 60 cm de longitud (en forma estirada) y de 8 a 10 mm de diámetro. Se utilizan muestras de 20 cm de longitud (estirada) en el marco del presente ejemplo.

El dextrano utilizado es dextrano 5M de masa molecular media en peso igual a $5 \times 10^6 \text{ g/mol}$, comercializado por la compañía Sigma.

En cuanto al agente de reticulación del dextrano, se trata de BDGE (butanodiol-1,4-diglicidiléter, ALDRICH).

2) Protocolo

El protocolo de preparación de prótesis vasculares consiste en series de ciclos sucesivos de impregnación del soporte sintético de PET con una solución de dextrano y de reticulación en un disolvente orgánico, separados por etapas de secado.

Las soluciones de dextrano preparadas con vistas a las etapas de impregnación son soluciones al 9, 9,5 y 10% (m/v) de dextrano 5M en agua osmotizada. Se añaden a estas soluciones ácido láctico (al 0,7% en volumen) y glicerol (al 2% en volumen). Se ajusta el pH a 7 con la ayuda de una solución de sosa 2 M.

La impregnación del soporte sintético de PET se realiza con la ayuda de una bomba peristáltica que aspira la solución de dextrano y la arrastra al interior de la muestra tubular por sus dos extremos. El tiempo de impregnación es de aproximadamente 10 segundos a 5 minutos.

La impregnación es seguida del secado de las muestras en una estufa a 40°C durante 24 horas.

Se efectúa a continuación una etapa de reticulación de dextrano: se disponen las muestras en una solución de éter, a la que se añade BDGE (22,3 moles por 100 moles de motivos glucosídicos de dextrano). Se efectúa la reticulación durante 18 horas.

Se secan a continuación las muestras durante una hora bajo una campana extractora.

Se efectúan tres ciclos sucesivos de impregnación y de reticulación, y después se lavan las muestras tres veces durante 3 horas con la ayuda de una solución de agua osmotizada que comprende 0,7% (v/v) de ácido láctico y 2% de glicerol (v/v) a pH 7.

ES 2 329 335 T3

3) Resultados

Para cada muestra, se mide el índice de recubrimiento de la muestra R (%), que corresponde al aumento de la masa de la muestra después de su tratamiento con la solución de polisacárido ($R = (P_2 - P_1)/P_1 \times 100$, representando P_1 la masa inicial de muestra y P_2 su masa final después del tratamiento).

Se mide además la permeabilidad estática de las muestras según la norma ISO/DIS 7198: 1996, que consiste en medir el caudal de agua que pasa a través de una superficie dada de una prótesis muestreada, mediante gravimetría y bajo presión hidrostática. La muestra puede sumergirse en agua pura a temperatura ambiente con el fin de impregnar de agua antes de proceder al ensayo ("permeabilidad hid.": permeabilidad en estado hidratado) o someterse directamente al ensayo ("permeabilidad no hid.": permeabilidad en estado no hidratado). La permeabilidad es el cociente del caudal de agua (en ml/min) por unidad de área (en cm^2): se expresa en ml/min/cm^2 . En los ejemplos siguientes, a menos que se indique lo contrario, las permeabilidades medidas son permeabilidades estáticas obtenidas según la norma ISO/DIS 7198: 1996.

Los resultados obtenidos para las prótesis 1 a 3 se reúnen en la Tabla I.

TABLA I

Nº de prótesis	Concentración de solución de impregnación de dextrano (m/v)	R (%)	Permeabilidad no hid.	Permeabilidad hid.
1	9%	24 ± 2	54	1,5
2	9,5%	22 ± 3	50	1
3	10%	27 ± 1	14	1

Las prótesis 1 a 3 presentan el carácter de manejabilidad requerido y los índices de recubrimiento que permiten obtener una buena estanqueidad conservando la manejabilidad de la muestra.

Ejemplo 2

Otro ejemplo de preparación de prótesis vasculares según la presente invención, que comprenden un soporte sintético impregnado con un dextrano reticulado con la ayuda de BDGE

El soporte sintético, el dextrano y el agente de reticulación utilizados son tal como se describen en el ejemplo 1. A diferencia del ejemplo 1, el protocolo seguido sólo comprende dos ciclos sucesivos de impregnación y reticulación, con tres lavados de 3 horas al final del protocolo. Las soluciones de impregnación están constituidas por dextrano 5M a una concentración del 10% (m/v), sin glicerol ni ácido láctico en el primer ciclo y con un 2% en volumen de glicerol para el segundo ciclo. La concentración de BDGE, idéntica para los dos ciclos, es de 15, 18 ó 20% (en número de moles con relación a 100 moles de motivos glucosídicos de dextrano) según las muestras.

Los resultados obtenidos para las prótesis 4 a 6, que presentan el carácter de manejabilidad requerido, se reúnen en la tabla II.

TABLA II

Nº de prótesis	Cantidad de BDGE de (%) molar)	R (%)	Permeabilidad no hid.	Permeabilidad hid.
4	20%	27 ± 1	2	1
5	18%	$26 \pm 0,5$	14	5
6	15%	$25,5 \pm 1$	20	6

Ejemplo 3

Preparación de prótesis vasculares según la presente invención, que comprenden un soporte sintético impregnado con un dextrano reticulado con la ayuda de STMP, así como eventualmente un polisacárido funcionalizado.

1) Soporte sintético, dextranos y agente de reticulación utilizados

El soporte sintético (PET tricotado) y el dextrano (dextrano 5M) utilizados son idénticos a los descritos en el ejemplo 1. El agente de reticulación consiste en STMP (trimetafosfato de sodio, comercializado por SIGMA).

El derivado funcionalizado de dextrano utilizado, de masa molecular media en peso de aproximadamente 106.900 g/mol, es el DMC_3B_2 ; responde a la fórmula general $\text{DMC}_a\text{B}_b\text{Su}_c\text{S}_d$ tal como se describe anteriormente, en la que el grado de sustitución en agrupamientos metilcarboxilato (índice a) es igual a 0,87 y el grado de sustitución en agrupamientos de carboximetilbencilamida (índice b) es igual a 0,26, siendo los índices c y d iguales a 0. Su protocolo de preparación es tal como se describe en la patente europea número 0.146.455.

2) Protocolo

Se prepara una solución de dextrano 5M al 10% (m/v) en sosa 0,2 M en presencia de 0,7% (en volumen) de ácido láctico y 2% (en volumen) de glicerol. Esta solución puede comprender igualmente, si es necesario, el derivado funcionalizado de dextrano DMC_3B_2 , en cuyo caso el dextrano 5M se mezcla, en fase sólida, con el dextrano DMC_3B_2 antes de ponerse en solución, siendo la proporción de DMC_3B_2 igual al 3% en peso con relación al peso de dextrano 5M, o bien una relación en peso de 3/97 entre el derivado funcionalizado de dextrano y el dextrano 5M.

En una variante, la solución de dextrano puede comprender igualmente heparina (agente anticoagulante) a una cantidad de 1%, 3%, 5% o 10% en peso con relación al peso de dextrano 5M, o bien las relaciones en peso entre heparina y dextrano son respectivamente iguales a 1/99, 3/97, 5/95 y 10/90.

Se calienta la solución de impregnación así preparada a 40°C durante 20 minutos, después se añade a la solución de impregnación STMP (8 moles por 100 moles de motivos glucosídicos de dextrano 5M y de dextrano DMC_3B_2 , si este último está presente), previamente diluido en 0,5 ml de sosa 0,2 M.

Se impregna el soporte sintético con esta solución del mismo modo que se describe en el ejemplo 1, a temperatura ambiente y durante 10 segundos a 5 minutos. Si el dextrano DMC_3B_2 está presente, este último estará "correticulado" con el dextrano 5M.

Se seca la prótesis durante 2 horas a 40°C, después se lava tres veces durante 3 horas con la ayuda de una solución de agua osmotizada que comprende 0,7% (v/v) de ácido láctico y 2% de glicerol (v/v) a pH 7.

3) Resultados

Los resultados obtenidos para las prótesis 7 a 12 se reúnen en la Tabla III: estando medidos los parámetros de cantidad de recubrimiento R y de permeabilidad como se indica en el ejemplo 1.

TABLA III

Nº de prótesis	Composición del recubrimiento	Permeabilidad no hid.	Permeabilidad hid.
7	Dextrano 5M	0	0
8	Dextrano 5 M + DMC_3B_2	0	0
9	Dextrano 5 M + heparina (1%)	3,3	0
10	Dextrano 5 M + heparina (3%)	10	0
11	Dextrano 5 M + heparina (5%)	30	0
12	Dextrano 5 M + heparina (10%)	40	0

Las prótesis 7 a 12 son manejables. La presencia del derivado funcionalizado de dextrano DMC_3B_2 o de heparina no perturba la reacción de reticulación, siendo las permeabilidades en estado hidratado idénticas en las muestras 7 a 12.

ES 2 329 335 T3

Ejemplo 4

Otro ejemplo de preparación de prótesis vasculares según la presente invención, que comprenden un soporte sintético impregnado con un dextrano reticulado con la ayuda de STMP

El soporte sintético (PET tricotado) y el agente de reticulación (STMP) son idénticos a los utilizados en el ejemplo 3. El dextrano utilizado es T500, de masa molecular media en peso igual a 460.000 g/mol, comercializado por la compañía Pharmacia Biotech.

Se procede de la misma forma que en el ejemplo 3, comprendiendo la solución de impregnación 22% (m/v) de dextrano T500, 0,7% (en volumen) de ácido láctico y 2% (en volumen) de glicerol. El STMP está presente a una cantidad del 8% (en moles por 100 moles de motivos glucosídicos de dextrano).

Se obtiene la muestra de prótesis 13, que presenta las propiedades de manejabilidad e impermeabilidad requeridas y cuyas características se reúnen en la Tabla IV:

TABLA IV

Nº de prótesis	Composición del recubrimiento	R (%)	Permeabilidad no hid.	Permeabilidad hid.
13	Dextrano T500	27 ± 1	1,5	0,5

Ejemplo 5

Otros ejemplos de preparación de prótesis vasculares según la presente invención, que comprenden un soporte sintético impregnado con un dextrano reticulado con la ayuda de STMP

El soporte sintético (PET tricotado), el agente de reticulación (STMP) y los dextranos (T500 o 5M) utilizados son idénticos a los descritos en los ejemplos 3 y 4.

Se procede de la misma forma que en el ejemplo 3, comprendiendo la solución de impregnación o bien 20% (m/v) de dextrano T500, o bien 10% (m/v) de dextrano 5M, así como 0,7% (en volumen) de ácido láctico y 2% (en volumen) de glicerol. El STMP está presente a una cantidad del 8% (en moles por 100 moles de motivos glucosídicos de dextrano).

Se hacen variar los tiempos de contacto, a saber, el intervalo de tiempo que separa la adición de STMP a la solución de dextrano y la impregnación de la muestra con la ayuda de esta solución.

Se obtienen las muestras de las prótesis 14 a 19, que presentan las propiedades de manejabilidad e impermeabilidad requeridas, y cuyas características se reúnen en la Tabla V:

TABLA V

Nº de prótesis	Composición del recubrimiento	Tiempo de contacto (minutos)	R (%)	Permeabilidad no hid.	Permeabilidad hid.
14	Dextrano T500	2	31 ± 1,0	1	0
15	Dextrano T500	15	33 ± 1,5	0	0
16	Dextrano T500	30	43 ± 1,0	0	0
17	Dextrano 5M	15	24 ± 1,5	0,2	0
18	Dextrano 5M	30	25 ± 0,5	0	0
19	Dextrano 5M	45	25 ± 0,2	0	0

Pueden obtenerse por tanto prótesis vasculares manejables e impermeables según la presente invención variando los tiempos de contacto del agente de reticulación con la solución de dextrano, antes de la impregnación del soporte sintético.

ES 2 329 335 T3

La reacción de reticulación de dextrano se inicia desde que el agente de reticulación se pone en contacto con la solución de dextrano, provocando un aumento de la viscosidad de la solución de impregnación. La impregnación del soporte protésico debe realizarse en un estadio en el que la solución de impregnación no sea ni demasiado líquida (lo que daría un recubrimiento demasiado fino) ni demasiado viscosa (siendo entonces difícil la impregnación del soporte protésico). Los tiempos de contacto ejemplificados en la tabla V anterior son convenientes para la obtención de prótesis de las características deseadas.

Ejemplo 6

Esterilización de una prótesis según la presente invención mediante rayos gamma

Se han esterilizado muestras de la prótesis 7 preparada en el ejemplo 3 mediante rayos gamma, a una dosis de 25 kGray. Se han medido las permeabilidades de las prótesis esterilizadas, así como las de prótesis idénticas no esterilizadas. Los resultados se presentan en la Tabla VI.

TABLA VI

Tipo de recubrimiento	R (%)	Permeabilidad no hid.	Permeabilidad hid.
Prótesis no estéril	25	0	0
Prótesis estéril	25	0	0

Las prótesis quedan estancas y manejables después de la esterilización mediante rayos gamma. Los rayos gamma no parecen degradar el aspecto de los recubrimientos de las prótesis. Por el contrario, tienen probablemente un efecto análogo al de un agente reticulante: crean radicales libres capaces de interaccionar entre ellos y que pueden formar enlaces covalentes.

Ejemplo 7

Medida de la permeabilidad integral al agua de prótesis vasculares según la presente invención

1) Naturaleza de las muestras de prótesis

Se utiliza la prótesis 7 preparada en el ejemplo 3, que comprende 10% (m/v) de dextrano 5M, así como una prótesis 20 preparada según el ejemplo 3 utilizando un 10% (m/v) de dextrano 5M y un 7% (expresado en peso con relación a la cantidad de dextrano 5M) de DMC_3B_2 , o bien una relación en peso entre el derivado funcionalizado de dextrano y el dextrano 5M igual a 7/93. El agente de reticulación es STMP, presente en la solución de impregnación en una cantidad del 8% en moles por 100 moles de motivos glucosídicos de dextrano.

2) Parámetros medidos

Para las prótesis 7 a 20, se mide:

- la permeabilidad estática en estado hidratado o no hidratado (medida según la norma ISO/DIS 7198: 1996 tal como se presenta en el ejemplo 1),
- la permeabilidad integral en agua, evaluada según el procedimiento normalizado ISO 7198. En la tabla VII a continuación, figuran la longitud de la muestra (l, en cm), el volumen de agua recuperado (V, en ml/min) y la permeabilidad integral (P, en ml/min/cm²),
- el índice de recubrimiento R, medido como se indica en el ejemplo 1,
- el porcentaje de humedad relativa HR, teniendo este parámetro influencia sobre la manejabilidad de la muestra. Se efectúa una pesada de la muestra en estado seco (después de pasada por una estufa a 40°C) en estado humidificado (muestra dispuesta en una campana a 80% de humedad), permitiendo la diferencia entre estas pesadas, respecto al peso de muestra seca, obtener el porcentaje de humedad relativa HR.

3) Resultados

Se reúnen las características de las muestras 7 y 20, que presentan especialmente las propiedades de manejabilidad y permeabilidad requeridas, en la tabla VII.

TABLA VII

N° de prótesis	Permeabilidad no hid.	Permeabilidad hid.	Permeabilidad integral			R (%)	HR (%)
			I	V	P		
7	0	0	8,4	2,1	0,08	36	52
20	0,67	0	7,3	12	0,52	31	45

Ejemplo 8

Biocompatibilidad celular in vitro de agentes de recubrimiento de prótesis endovasculares según la presente invención

Este ejemplo tiene como objetivo estudiar al citocompatibilidad de los geles de dextrano utilizados como agente de recubrimiento de prótesis vasculares según la invención.

I) Preparación de geles de dextrano

Se preparan los geles de dextrano de la forma siguiente:

- gel de dextrano no funcionalizado (gel A): se prepara una solución al 10% de dextrano 5M de masa molecular media en peso igual a 5×10^6 g/mol, comercializada por la compañía Sigma en disolución acuosa estéril de NaOH 0,2 M que contiene 0,7% de ácido láctico y 2% de glicerol (solución A);
- geles de dextrano no funcionalizado y de dextrano funcionalizado (geles B a D): se preparan soluciones al 10% de dextrano 5M tal como se describen anteriormente y que contienen un 3% (p/v) de dextrano funcionalizado de fórmula $\text{DMC}_2\text{B}_b\text{Su}_c\text{S}_d$ con relación al peso de dextrano no funcionalizado, en una solución acuosa estéril de NaOH 0,2 M que contiene 0,7% de ácido láctico y 2% de glicerol (soluciones B a D). Los índices de sustitución a, b, c y d de los dextranos de fórmula $\text{DMC}_3\text{B}_b\text{Su}_c\text{S}_d$ utilizados figuran en la tabla VIII a continuación:

TABLA VIII

Soluciones	Dextrano funcionalizado utilizado				Masa molecular en g/mol
	a	b	c	d	
B	0,81	0,20	0,13	0	67.000
C	0,61	0,39	0	0	63.000
D	0,61	0,39	0,04	0	63.000

Se calientan las soluciones de dextrano A a D así preparadas a 40°C durante 20 minutos, después se añade a estas soluciones de dextrano el agente de reticulación (8 moles de STMP por 100 moles de motivos glucosídicos, tal como se describe anteriormente en el ejemplo 3), diluido previamente en 0,5 ml de sosa 0,2 M.

Se vierten a continuación las mezclas en placas de cultivo de 12 pocillos a una cantidad de 150 μl por pocillo. Cuando termina la reacción de reticulación, se lavan los geles así obtenidos tres veces con PBS estéril.

II) Estudio de la adherencia de células endoteliales EA.hy 926 en los conjuntos A a D

Se siembran células endoteliales humanas EA.hy 926 a una cantidad de 2×10^6 células en 3 ml de medio de cultivo DMEM que contiene un 10% de suero fetal bovino (SFB) y 2 $\mu\text{Ci/ml}$ de prolina tritiada (Amersham). Después de 24 horas de cultivo a 37°C, se despegan las células con la ayuda de una solución de tripsina, se centrifugan a 1.200 rpm y después se resuspenden en un medio de cultivo DMEM que contiene un 10% de SFB. Se cuentan a continuación las células en una célula de Malassez, se diluyen y se siembran sobre placas que contienen los geles de dextrano A a D, en una cantidad de 50.000 células por pocillo. Se ponen a incubar a continuación las placas de cultivo a 37°C durante 3 horas.

Al final del periodo de incubación, se aclaran dos veces los pocillos sembrados con PBS con el fin de eliminar las células que no se hayan adherido sobre los geles de dextrano.

Se despegan a continuación las células adherentes con la ayuda de una solución de tripsina y después se ponen las células de cada pocillo en un matraz de recuento que contiene 5 ml de líquido de centelleo (Optiphase® "Hisafe", Wallack).

ES 2 329 335 T3

Se efectúa la medida de la radiactividad presente en cada matraz con la ayuda de un contador de centelleo (LKB) a una cantidad de 4 recuentos por minutos por matraz.

Se determina el porcentaje de adherencia de las células sobre los geles B a D con relación a la radiactividad emitida en los pocillos testigo, a saber, los pocillos que contienen el gel A de dextrano no funcionalizado.

Los resultados obtenidos figuran en la tabla IX a continuación:

TABLA IX

Geles	% de adherencia de las células con respecto a la adherencia observada sobre el gel A
A	100
B	$165 \pm 19,7$
C	$184 \pm 15,7$
D	$195,7 \pm 6,3$

Estos resultados muestran que la presencia de un derivado funcionalizado de dextrano permite favorecer la adherencia de células endoteliales.

Se han obtenido resultados similares realizando la misma experiencia sobre células musculares lisas de rata (CMI).

III) Estudio de la proliferación de células endoteliales EA.hy 926 sobre los geles A y C

Se siembran células endoteliales humanas EA.hy 926 en una cantidad de 10.000 células por cm^2 en medio de cultivo DMEM que contiene un 10% de SFB sobre los geles de dextrano A y C.

Después de 5 días de cultivo, se aclaran las células tres veces con PBS y después se despegan con $500 \mu\text{l}$ de una solución de tripsina y se ponen en suspensión en una solución electrolítica de Isotron. Se cuentan a continuación las células con la ayuda de un aparato de recuento Coulter Counter®.

Los resultados de la proliferación celular observada sobre el gel C se expresan en porcentaje de la proliferación celular observada sobre el gel A y figuran en la tabla X a continuación:

TABLA X

Gel	% de proliferación de células con respecto a la proliferación observada sobre el gel A
A	100
C	$116,5 \pm 0,43$

Estos resultados muestran que la presencia de un derivado funcionalizado de dextrano permite favorecer la proliferación de células endoteliales.

Se han obtenido resultados similares realizando la misma experiencia sobre células musculares lisas de rata (CMI).

El conjunto de estos resultados muestra que la presencia de un derivado funcionalizado de dextrano según la presente invención favorece la adherencia y la proliferación de células endoteliales, propiedad importante para favorecer la integración en el medio biológico de la prótesis vascular que recubre.

Ejemplo 9

*Biocompatibilidad celular in vitro de prótesis vasculares según la presente invención*1) *Protocolo*

Para analizar la citocompatibilidad de las prótesis 7 y 8 en el ejemplo 3 con células endoteliales humanas EA.hy 926, se han cortado muestras de 1 cm² de las prótesis, se han esterilizado mediante rayos gamma y se han introducido en placas de cultivo de 24 pocillos. Se han dispuesto insertos de vidrio estériles sobre las muestras con el fin de impedir que se enrollen sobre sí mismas una vez sumergidas en el medio de cultivo.

Se mantienen las muestras de prótesis durante 24 horas en el medio de cultivo, a saber, un medio DMEM sin piruvato de sodio que comprende 4500 mg/ml de glucosa (GIBCO), suplementado con L-glutamina (2 mM), HAT (2% v/v) y suero fetal bovino al 10% (GIBCO), y después se aspira el medio y se siembran las muestras con células endoteliales humanas EA.hy 926 a la densidad de 5 x 10⁴ células/cm², realizándose cada muestra por triplicado. Se disponen las muestras sembradas en un incubador a 37°C en atmósfera húmeda que contiene un 5% de CO₂, en condiciones estáticas. Se renueva el medio cada dos días.

Se observa la proliferación celular cada día durante 8 días mediante un microscopio óptico inverso. Con este fin, se lavan las muestras tres veces con PBS (no estéril), se fijan en formaldehído al 4%, se lavan de nuevo tres veces con PBS y después se colorean con azul de Coomassie (al 5%) y finalmente se decoloran con etanol al 70% de forma que sólo las membranas de las células queden coloreadas. Al microscopio, las células aparecen en azul sobre fondo no coloreado.

2) *Resultados*

La figura 2 representa las curvas de crecimiento de las células endoteliales humanas permanentes EA.hy 926 sobre las muestras de prótesis vasculares 7 (curva -■-) y 8 (curva -π-), figurando el tiempo (en días) en abscisas y el número de células por cm² (x 10) en ordenadas.

Se comprueba una diferencia significativa entre el crecimiento de células sobre las muestras 7 y 8: cuando está presente DMC₃B₂ en el recubrimiento de la prótesis, el número de células es mayor a medida que transcurren los días, indicando que la presencia del derivado funcionalizado de dextrano en la prótesis mejora la proliferación de células endoteliales humanas EA.hy 926.

Se han obtenido resultados similares con otros cultivos de células endoteliales, a saber, células endoteliales de vena de cordones umbilicales humanos y células endoteliales de aorta bovina. Parece por tanto que, de manera general, la presencia de un derivado funcionalizado de dextrano en la prótesis vascular según la presente invención favorece la proliferación de células endoteliales, propiedad importante para favorecer la integración del injerto en el medio biológico.

Ejemplo 11

*Estudio de la estabilidad de una prótesis vascular según la invención comparada con la de una prótesis vascular recubierta con dextrano no reticulado*1) *Preparación de prótesis vasculares*

Se ha preparado una prótesis vascular según la invención siguiendo el protocolo descrito en el ejemplo 3 y utilizando el soporte y el dextrano descritos anteriormente en el ejemplo 1 y el agente de reticulación descrito en el ejemplo 3 anterior.

A modo comparativo, se ha preparado una prótesis vascular que no forma parte de la invención en las mismas condiciones, salvo que no se ha añadido agente de reticulación a la solución de dextrano.

2) *Estudio de la estabilidad del recubrimiento*

El montaje utilizado para este estudio está constituido por un baño de agua termostatzado a 37°C y una bomba que permite hacer circular un flujo continuo de una solución en el interior de una prótesis vascular. Se ha regulado el caudal de la bomba a 7 x 10⁻⁵ m³ por segundo de forma que se reproduzcan las condiciones de caudal fisiológico de la circulación arterial.

Se han efectuado muestras de la solución de circulación a intervalos de tiempo regulares para cuantificar la cantidad de dextrano liberado. Se efectúa la valoración del dextrano liberado de manera indirecta mediante valoración colorimétrica de glúcidos en medio ácido sulfúrico concentrado/fenol según el procedimiento de Dubois *et al.* (*Analytical Chemistry*, 1956. 3 (28), 350-356), eventualmente después de liofilización y dilución de la solución de circulación cuando las cantidades de dextrano liberadas son extremadamente bajas.

ES 2 329 335 T3

Los resultados obtenidos por la prótesis según la invención (impregnada con dextrano reticulada) figuran en la tabla XI a continuación:

TABLA XI

Tiempo en horas	Cantidad de dextrano liberado en μg (prótesis según la invención)
1	25
2	35
12	65
24	70

No ha sido posible medir la cantidad de dextrano liberado a lo largo del tiempo por la prótesis no según la invención (impregnada con un dextrano no reticulado) en la medida en que el dextrano se ha liberado en su totalidad en el transcurso del primer lavado de la prótesis, es decir, antes de la puesta en contacto de dicha prótesis con el flujo de agua en circuito cerrado. Esta liberación de dextrano tiene como consecuencia el desplome de las propiedades de estanqueidad de la prótesis.

En contraposición, al cabo de 24 horas de circulación, la cantidad de dextrano liberado por la prótesis vascular según la invención, es decir, impregnada con un dextrano reticulado de forma covalente, alcanza una meseta de 70 μg que representa aproximadamente un 0,014% de la cantidad total de dextrano que impregna la prótesis. Esta cantidad despreciable es significativa de la muy alta estabilidad química de las prótesis vasculares según la invención a lo largo del tiempo.

REIVINDICACIONES

1. Prótesis vascular manejable, **caracterizada** porque comprende un soporte sintético impregnado con al menos un derivado funcionalizado de dextrano reticulado de forma covalente, y eventualmente con al menos un dextrano reticulado de forma covalente.

2. Prótesis según la reivindicación 1, **caracterizada** porque la relación en peso entre el derivado funcionalizado de dextrano y el dextrano está comprendida entre 1/99 y 30/70, preferiblemente comprendida entre 3/97 y 7/93, de manera aún más preferida igual a aproximadamente 5/95.

3. Prótesis según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, **caracterizada** porque dicho soporte sintético está impregnado, además, con al menos un polisacárido natural o sintético funcionalizado al menos con funciones carboxilato y/o sulfato, reticulado de forma covalente.

4. Prótesis según la reivindicación 3, **caracterizada** porque la relación en peso entre el polisacárido funcionalizado y el dextrano está ventajosamente comprendida entre 1/99 y 30/70, preferiblemente entre 1/99 y 20/80.

5. Prótesis según la reivindicación 3 o la reivindicación 4, **caracterizada** porque la relación en peso entre el derivado funcionalizado de dextrano y el polisacárido funcionalizado está ventajosamente comprendida entre 1/99 y 99/1.

6. Procedimiento de preparación de una prótesis vascular según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado** porque comprende las etapas siguientes:

a) preparación de una solución de al menos un derivado funcionalizado de dextrano y eventualmente de al menos un dextrano,

b) impregnación del soporte sintético con la ayuda de esta solución,

c) reticulación de dicho derivado funcionalizado de dextrano y eventualmente de dicho dextrano.

7. Procedimiento según la reivindicación 6, **caracterizado** porque comprende, entre las etapas a) y b), la adición de un agente de reticulación a la solución preparada en la etapa a).

8. Procedimiento según la reivindicación 7, **caracterizado** porque las etapas b) y c) se efectúan simultáneamente a un pH comprendido entre 3 y 10, a una temperatura comprendida entre 10 y 40°C y durante un tiempo inferior o igual a 150 minutos.

9. Procedimiento según la reivindicación 6, **caracterizado** porque comprende, entre las etapas b) y c), una etapa de secado del soporte, seguida de una etapa de impregnación del soporte con la ayuda de una solución, en al menos un disolvente orgánico, de un agente de reticulación.

10. Procedimiento según la reivindicación 9, **caracterizado** porque las etapas b) y c) se efectúan cada una a un pH comprendido entre 3 y 10 y a una temperatura comprendida entre 10 y 40°C, y porque la etapa b) se efectúa durante un tiempo inferior o igual a 150 minutos y porque la etapa c) se efectúa durante un tiempo comprendido entre 15 minutos y 18 horas.

11. Procedimiento según la reivindicación 9 o la reivindicación 10, **caracterizado** porque las etapas sucesivas de preparación de una solución de al menos un derivado funcionalizado de dextrano y eventualmente de al menos un dextrano, de impregnación del soporte con la ayuda de esta solución, de secado del soporte, de impregnación del soporte con la ayuda de una solución, en al menos un disolvente orgánico, de un agente de reticulación y de reticulación de dicho derivado funcionalizado y eventualmente de dicho dextrano, después de secado del soporte, se repiten al menos una vez, preferiblemente al menos dos a tres veces.

12. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 11, **caracterizado** porque la etapa c) de reticulación de dicho derivado funcionalizado de dextrano es seguida por una etapa de lavado de la prótesis.

13. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 12, **caracterizado** porque dicha solución preparada en la etapa a) comprende, además, al menos un polisacárido natural o sintético funcionalizado al menos con funciones carboxilato y/o sulfato.

14. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 13, **caracterizado** porque dicha solución preparada en la etapa a) comprende, además, al menos un aditivo elegido entre agentes plastificantes y agentes suavizantes y/o uno o varios principios activos seleccionados del grupo constituido por agentes anticoagulantes, agentes antibacterianos y agentes antiinfecciosos.

15. Prótesis vascular según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizada** porque es susceptible de obtenerse mediante el procedimiento tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 14.

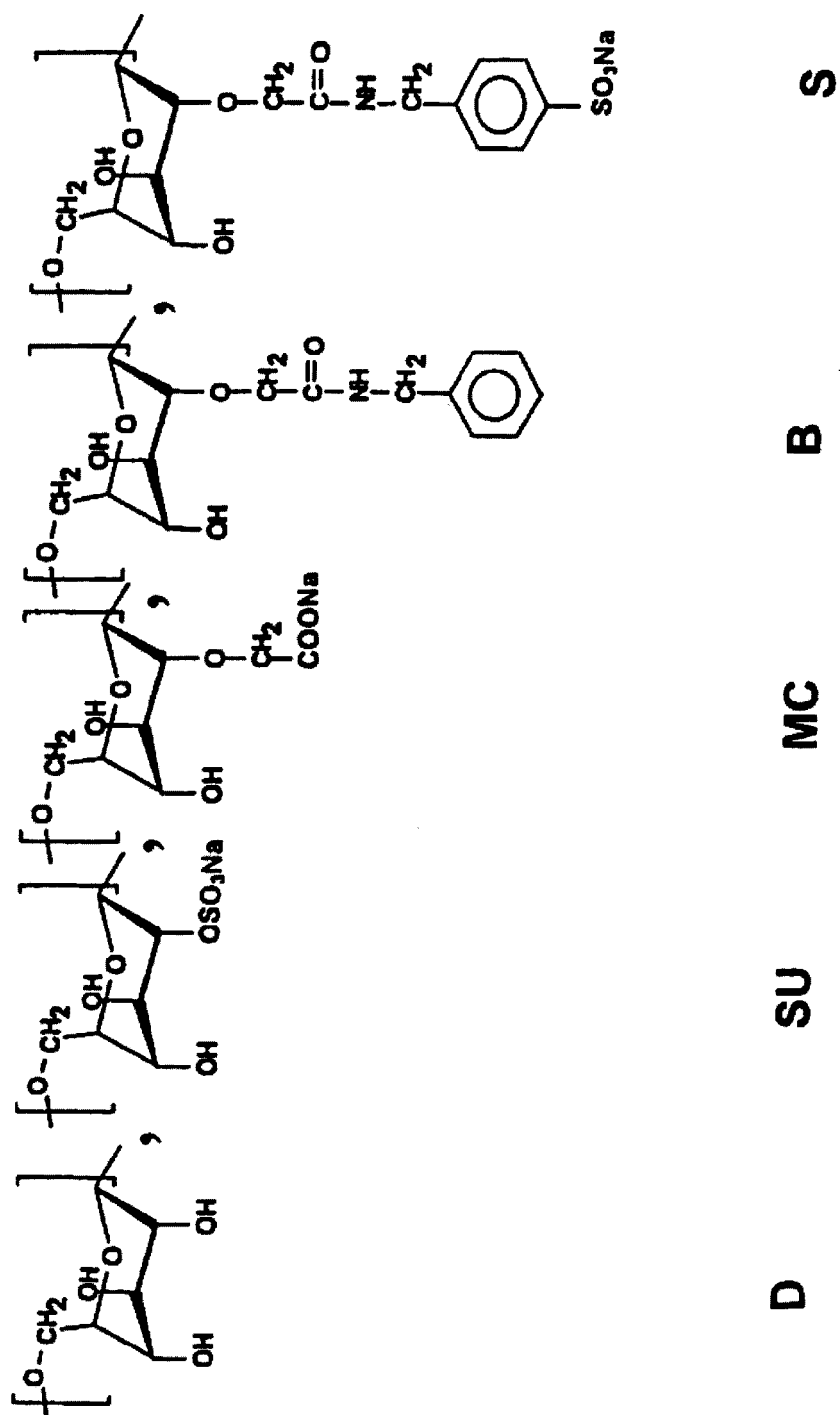


Figura 1

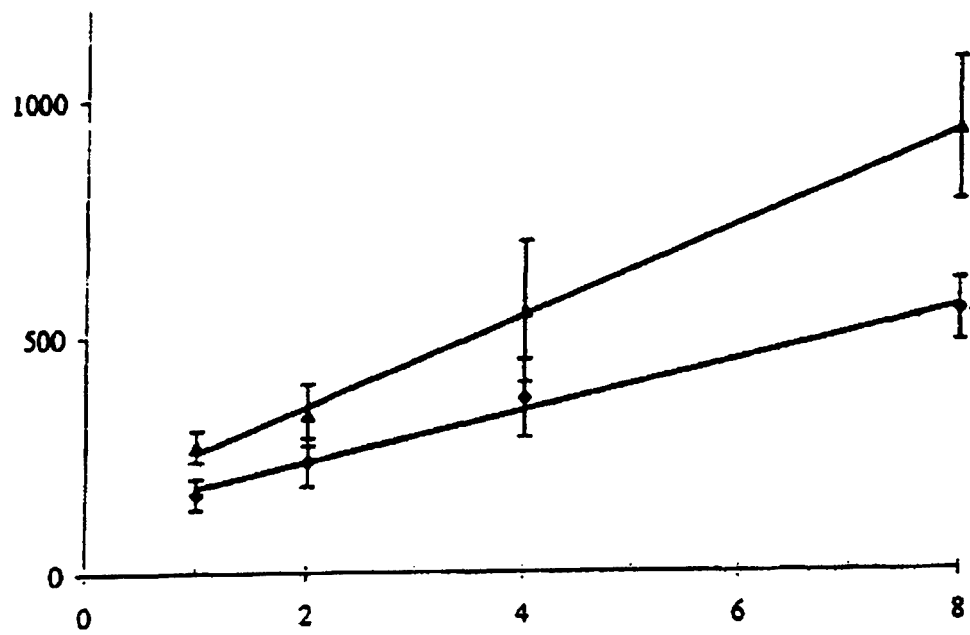


Figura 2