

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 955 864**

51 Int. Cl.:

**A61F 2/24** (2006.01)

**B29C 57/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.04.2018 PCT/US2018/026502**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.10.2018 WO18187714**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.04.2018 E 18780763 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.06.2023 EP 3606467**

54 Título: **Válvulas protésicas y procedimientos de fabricación**

30 Prioridad:

**06.04.2017 US 201762482500 P**

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

**07.12.2023**

73 Titular/es:

**REGENTS OF THE UNIVERSITY OF MINNESOTA  
(100.0%)  
600 McNamara Alumni Center, 200 Oak Street SE  
Minneapolis, Minnesota 55455-2020, US**

72 Inventor/es:

**TRANQUILLO, ROBERT y  
SYEDAIN, ZEESHAN**

74 Agente/Representante:

**GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo**

ES 2 955 864 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

Válvulas protésicas y procedimientos de fabricación

**Campo técnico**

La presente divulgación se refiere en general a válvulas protésicas y procedimientos de fabricación.

**5 Antecedentes**

A diferencia de una amplia variedad de válvulas cardíacas mecánicas y bioprotésicas implantadas y administradas a través de catéter en pacientes adultos, aún no se ha demostrado una válvula cardíaca que pueda crecer y mantener su función en pacientes pediátricos. Las únicas opciones aceptadas para estos niños son válvulas fabricadas a partir de tejidos fijados químicamente que a menudo se vuelven disfuncionales debido a la calcificación y casi siempre tendrán que ser reemplazadas al menos una vez, ya que no tienen capacidad de crecimiento debido a la fijación química. Estos niños tendrán que someterse al menos a una, normalmente varias, y a veces a cinco cirugías de corazón abierto hasta la edad adulta, cuando se les implanta típicamente una válvula mecánica, que requiere un tratamiento anticoagulante de por vida. Evidentemente, si se pudiera implantar la primera vez una válvula capaz de crecer con el receptor (por ejemplo, crecimiento somático; véase, por ejemplo, el documento Syedain et al., 2016, Nat. Commun., 7:12951. PMID: El documento 5052644), así como el desarrollo de un endotelio funcional (véase, por ejemplo, el documento Syedain et al., 2016, Nat. Commun., 7:12951. PMID: El documento 5052644), aliviaría el inmenso sufrimiento de estos niños y sus familias, y reduciría un inmenso coste de atención médica.

Además, una debilidad importante de las válvulas cardíacas protésicas actuales es la tendencia de las comisuras a fallar, ya que la valva que colapsa está constantemente tirando contra la conexión con el tubo de soporte exterior. La presente divulgación describe una válvula de múltiples valvas que se fabrica suturando miembros tubulares entre sí a lo largo de su eje longitudinal, así como horizontalmente para definir las valvas, resultando en comisuras que no pueden fallar de la manera en que fallan las válvulas protésicas actuales y que son tan resistentes como el material nativo ya que están formadas por miembros tubulares fijados longitudinalmente, no uno dentro del otro. El documento WO 2015/169869 A1 divulga una válvula protésica con dos tubos concéntricos que forman las valvas,

**25 Sumario**

La presente divulgación proporciona un novedoso diseño de válvula protésica, así como procedimientos para fabricar tales válvulas protésicas novedosas. El tejido de ingeniería, a veces denominado tejido regenerativo, como se utiliza en la presente memoria, se refiere al tejido formado a partir de células que producen una matriz extracelular. Típicamente, antes del procesamiento posterior, el tejido se descelulariza. Por ejemplo, algunas realizaciones incluyen la combinación de células productoras de matriz, fibrinógeno, y trombina para producir una composición sembrada de células. A continuación, la composición sembrada de células se cultiva en un medio de cultivo de célula adecuado y, luego, se descelulariza la matriz extracelular formada a partir de la misma.

De acuerdo con la invención, se proporciona una válvula protésica de acuerdo con la reivindicación 1. Una tal válvula protésica incluye típicamente un cuerpo que comprende un primer extremo, un segundo extremo, una superficie exterior, y una región anular, y que define un eje longitudinal, incluyendo el cuerpo al menos dos miembros tubulares alineados con el eje longitudinal; en el que cada miembro tubular está unido de manera fija a un miembro tubular adyacente a lo largo de una superficie exterior adyacente en una dirección a lo largo del eje longitudinal de tal manera que porciones de la superficie exterior de los miembros tubulares adyacentes forman circunferencialmente una pared del cuerpo; en la que cada miembro tubular se cierra en el segundo extremo, definiendo la superficie luminal de cada miembro tubular la superficie superior de una valva, en la que las porciones de la superficie exterior en el primer extremo de los miembros tubulares adyacentes que no forman la pared del cuerpo definen comisuras.

En algunas realizaciones, cada valva incluye una región comisura y una región anular. En algunas realizaciones, cada valva es integral con la región anular del cuerpo. En algunas realizaciones, la región de comisura y la región anular de cada valva son contiguas (o integrales entre sí). En algunas realizaciones, cada valva y la correspondiente región anular del cuerpo están formadas por cada miembro tubular.

En otro aspecto, se proporciona una válvula protésica. Una tal válvula protésica incluye típicamente un cuerpo que comprende al menos dos miembros tubulares adyacentes cerrados en un extremo, en la que cada miembro tubular cerrado forma una valva. Como se utiliza en la presente memoria, una válvula puede incluir una o más valvas (por ejemplo, dos valvas, tres valvas, cuatro valvas).

En aún otro aspecto, se proporciona una válvula protésica. Una tal válvula protésica incluye típicamente un cuerpo que define un eje longitudinal; comprendiendo el cuerpo al menos dos valvas, siendo cada valva definida por un miembro tubular alineado con el eje longitudinal, incluyendo el miembro tubular un primer extremo, un segundo

extremo, una superficie exterior, y una superficie luminal; estando el primer extremo del miembro tubular abierto y estando el segundo extremo del miembro tubular cerrado de tal manera que la superficie luminal del miembro tubular forma una superficie superior de una valva.

5 La válvula protésica descrita en la presente memoria incluye dos miembros tubulares. La válvula protésica descrita en la presente memoria, que incluye tres miembros tubulares. En algunas realizaciones, la válvula es una válvula bivalva. En algunas realizaciones, la válvula es una válvula trivalva. Las válvulas representativas incluyen, sin limitación, válvulas mitrales, válvulas aórticas, válvulas tricúspides, válvulas cardíacas pulmonares, y válvulas venosas. En algunos aspectos, el uso de la válvula protésica descrita en la presente memoria se proporciona para el tratamiento de la insuficiencia o fallo de la válvula.

10 De acuerdo con la invención, se proporciona un procedimiento de fabricación de una válvula protésica de acuerdo con la reivindicación 4. Un tal procedimiento incluye típicamente proporcionar al menos dos miembros tubulares, incluyendo cada uno de los miembros tubulares un primer extremo, un segundo extremo, una superficie exterior, y una superficie luminal y definiendo un eje longitudinal; alineando los al menos dos miembros tubulares a lo largo del eje longitudinal; fijando miembros tubulares adyacentes a lo largo de una superficie exterior adyacente en una dirección a lo largo del eje longitudinal para formar un cuerpo, incluyendo el cuerpo un primer extremo, un segundo extremo, una superficie exterior, y una región anular, y definiendo un eje longitudinal, en el que las porciones de la superficie exterior de los miembros tubulares adyacentes forman circunferencialmente una pared del cuerpo; y cerrando cada miembro tubular en el segundo extremo de tal manera que la superficie luminal de cada miembro tubular defina la superficie superior de una valva, en el que las porciones de la superficie exterior en el primer extremo de los miembros tubulares adyacentes que no forman la pared del cuerpo definen comisuras.

15 En algunas realizaciones, cada uno de los miembros tubulares son miembros tubulares de ingeniería biológica, miembros tubulares sintéticos, tejido nativo, o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el cuerpo comprende miembros tubulares de ingeniería biológica, miembros tubulares sintéticos, o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, la fijación se realiza con puntos de sutura, grapas, adhesivos (por ejemplo, cianoacrilato), o fusión / soldadura térmica. En algunas realizaciones, el cierre es con puntos de sutura, grapas, adhesivos (por ejemplo, cianoacrilato) o fusión / soldadura térmica.

20 Un procedimiento como el descrito en la presente memoria puede realizarse con dos miembros tubulares. Un procedimiento como el descrito en la presente memoria puede realizarse con tres miembros tubulares. En algunas realizaciones, la válvula es una válvula bivalva. En algunas realizaciones, la válvula es una válvula trivalva.

30 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria tienen el mismo significado que comúnmente entiende una persona experta en la técnica a la cual pertenecen los procedimientos y composiciones de la materia. Aunque se pueden utilizar procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria en la práctica o prueba de los procedimientos y composiciones de la materia, a continuación, se describen procedimientos y materiales adecuados.

### 35 Descripción de los dibujos

Las Figuras 1A - 1H son esquemas que muestran un procedimiento de fabricación de una válvula protésica como se describe en la presente memoria.

Las Figuras 2A y 2B son fotografías que muestran cada una costura longitudinal (flechas) en la superficie exterior de una válvula protésica como se describe en la presente memoria.

40 La Figura 3 es una fotografía que muestra una costura que cierra el segundo extremo de un miembro tubular (flechas) en la superficie exterior de una válvula protésica como se describe en la presente memoria.

La Figura 4A es un esquema que muestra una vista de extremo (es decir, desde el primer extremo) de una válvula protésica como se describe en la presente memoria, mostrando la disposición de tres miembros tubulares y cómo forman comisuras.

45 La Figura 4B es una fotografía que muestra una vista de extremo (es decir, desde el primer extremo) de una válvula protésica como se describe en la presente memoria, mostrando la superficie superior de las valvas y las comisuras.

50 La Figura 5 es una fotografía que muestra una vista de extremo (es decir, desde el segundo extremo) de una válvula protésica como se describe en la presente memoria, mostrando específicamente una costura que cierra el segundo extremo de un miembro tubular (flechas) dentro del anillo de una válvula protésica como se describe en la presente memoria.

La Figura 6 muestra una novedosa válvula de tres tubos como se describe en la presente memoria. (A) Esquema que muestra la construcción de una válvula trivalva a partir de tres tubos de ingeniería biológica y sutura degradable. (B) Vista exterior de la válvula cosida. Comparación de la nueva válvula (C) de tres tubos y la válvula (D) de tubo en tubo existente, con los tubos codificados por colores para mayor claridad y las comisuras en círculo para facilitar la comparación de cómo la fuerza diastólica sobre las comisuras nace enteramente por las suturas de conexión para la válvula (C) de tubo en tubo y predominantemente por el material del tubo para la válvula (D) de tres tubos.

La Figura 7 muestra una comparación de las propiedades mecánicas de tracción. Matriz de tubo de ingeniería biológica comparada con la valva de la válvula pulmonar de oveja nativa y la valva de la válvula Contegra™ (A) Espesor, (B) Resistencia máxima a la tracción (UTS), y (C) Módulo (n=9). (D) muestra una imagen tricrómica del tubo de ingeniería descelularizado. Barra de escala = 200 um. Los símbolos pareados indican una diferencia significativa en  $p < 0,05$ .

La Figura 8 son fotografías que muestran la prueba de desgaste acelerado de la válvula con (A) imagen de la válvula montada en el probador de desgaste. Las imágenes muestran daños tras 12M ciclos en las comisuras de la válvula (B) tubo-en-tubo, pero no en la válvula (C) de tres tubos. Los restos del manguito de costura de Dacron™ utilizado para facilitar el montaje de la válvula de tres tubos en el probador son evidentes en (C) estaba situado 1,2 mm por encima de la comisura, por lo tanto, proporcionando un soporte estructural insignificante a la comisura.

La Figura 9 muestra un sistema duplicador de pulso para medir el rendimiento de la válvula. Vista frontal de la válvula montada en posición (A) cerrada y (B) abierta. (C) Trazas de presión y caudal para 3 ciclos de la válvula bajo condiciones de flujo de válvula pulmonar. Durante la fase diastólica, el procedimiento de movimiento del fluido desde el depósito a través de una válvula mecánica hasta la bomba provoca un impulso de presión que provoca la eculización de la presión a través de la válvula y provoca un flujo positivo, como se puede apreciar en el perfil de flujo.

La Figura 10 son fotografías que muestran la implantación de una válvula de tres tubos de 19 mm en una oveja joven. Campo quirúrgico (A), e imágenes ecocardiográficas epicárdicas durante la diástole en vistas de eje largo (B) y corto (C). Las flechas indican “valvas” Doppler de color durante la válvula en (D) sístole, que muestra un gran orificio de válvula, y (E) diástole, sin mostrar regurgitación.

### Descripción detallada

En la presente memoria se describen composiciones y procedimientos que permiten la producción de una válvula protésica. Existe una urgente necesidad de una válvula cardíaca que pueda crecer con los niños, ya que la práctica actual en implantar y reemplazar quirúrgicamente válvulas inertes varias veces a medida que el niño las va superando. Utilizando una matriz de colágeno de ingeniería biológica en forma de un tubo que ha demostrado crecer como reemplazo de la arteria pulmonar en corderos (véase, por ejemplo, el documento, Syedain et al., 2016, Nat. Commun., 7:12951. PMID: El documento 5052644), y un novedoso diseño para una válvula cardíaca fabricada a partir de coser tres de estos tubos junto con sutura degradable que confiere comisuras duraderas, así como el potencial de crecimiento de la válvula, este diseño de tres tubos se probó in vitro y su función se evaluó en un modelo preclínico. El diseño novedoso de tres tubos demostró tener una durabilidad superior en la comisura en comparación con un diseño anterior de tubo en tubo en pruebas de fatiga acelerada, y mostró que exhibe un rendimiento hidrodinámico aceptable en un duplicador de pulso. La ecografía epicárdica realizada en el momento de la implantación en una oveja joven mostró una válvula no regurgitante con una caída de presión  $< 10$  mm Hg. Los resultados descritos en la presente memoria demuestran el potencial para comisuras duraderas necesarias para el crecimiento de la válvula a largo plazo de esta válvula cardíaca de tres tubos “disponible para la venta” fabricada a partir de tubos de matriz de colágeno y sutura degradable de ingeniería biológica.

Las válvulas representativas que pueden fabricarse utilizando las composiciones y procedimientos descritos en la presente memoria incluyen, sin limitación, válvulas mitrales, válvulas aórticas, válvulas tricúspides, válvulas cardíacas pulmonares, y válvulas venosas. Las composiciones y procedimientos descritos en la presente memoria proporcionan válvulas protésicas que tienen un diseño de múltiples tubos único, el cual es diferente de una válvula cardíaca tubular protésica convencional en base a un único tubo que colapsa que forma todas las valvas pero que sufre de comisuras débiles debido a la “extracción” del tubo. Las válvulas protésicas descritas en la presente memoria pueden utilizarse para el tratamiento de la insuficiencia o fallo valvular. Como se describe en la presente memoria, una válvula protésica puede incluir al menos dos miembros tubulares adyacentes que están cerrados (o fijamente cerrados, o sellados) en un extremo de tal manera que cada miembro cerrado forma una valva.

Como se describe con más detalle más adelante, se pueden cultivar tubos completamente biológicos in vitro a partir de fibroblastos dérmicos humanos atrapados en tubos de gel de fibrina “de sacrificio”. Durante un periodo aproximado

de 8 semanas, los fibroblastos convierten el tubo de gel de fibrina en un tubo de matriz de colágeno densa alineada circunferencialmente, el cual luego se descelulariza con detergente para crear un aloinjerto que puede almacenarse durante al menos 6 meses sin pérdida de propiedades mecánicas.

5 Sin pretender limitarse a un procedimiento particular para producir tejido de ingeniería, un procedimiento ejemplar incluye combinar fibrinógeno o similar, trombina o similar, y células productoras de matriz extracelular (ECM); y permitir que las células crezcan lo suficiente para producir ECM. Un experto en la técnica reconocerá que hasta nueve pasos (por ejemplo, entre cinco y nueve pasos, entre siete y nueve pasos) optimiza típicamente la producción de ECM. En algunas realizaciones, el fibrinógeno o similar, la trombina o similar, y las células productoras de matriz extracelular (ECM) se combinan en una suspensión o gel y se moldean con la forma tubular deseada.

10 El tejido de ingeniería resultante puede ser caracterizado por su falta de reticulación y su falta de generación de una respuesta inmune. En algunas realizaciones, el tejido de ingeniería incluye colágeno o estructuras fibrosas que están alineadas. El tejido de ingeniería de la presente invención es distinto de otros determinados tipos de tejido de ingeniería que no implican una matriz extracelular en su producción y/o incluyen células en su producto final.

15 Esta matriz exhibe una curva de tensión-deformación no lineal típica del tejido nativo y posee una conformidad fisiológica y una presión de rotura que cumple o supera la de las arterias nativas. Las propiedades mecánicas de tracción resultantes se compararon bien con las de las valvas de válvula pulmonar ovina en términos de módulo y resistencia máxima a la tracción (UTS) medidas en pruebas de deformación al fallo. Lo mismo es cierto para el contenido de colágeno. Se ha demostrado en estudios preclínicos en ovejas de hasta 12 meses de duración que estos injertos, cultivados a partir de fibroblastos dérmicos ovinos, se pueblan de células huésped apropiadas (incluida la formación de endotelio) sin una respuesta inflamatoria sostenida, una respuesta inmune evidente, o calcificación como injertos arteriales y válvulas cardíacas tubulares, e incluso crecen como un remplazo de arterias pulmonares en corderos jóvenes hasta la edad adulta. Se ha demostrado una remodelación positiva similar sin resultados adversos en injertos vasculares cultivados a partir de fibroblastos dérmicos humanos e implantados en babuinos como injertos arteriovenosos durante un máximo de 6 meses.

25 En un estudio anterior (Reimer et al., 2017, Ann. Biomed. Ing., 45(2):439-51), se desarrolló y probó un diseño de válvula en base a estos tubos y en una sutura degradable, la cual, al carecer de cualquier material inerte, tiene potencial de crecimiento somático. Se colocó un tubo dentro de un segundo tubo, los cuales se suturaron juntos en la base con tres líneas de sutura verticales equiespaciadas, creando una válvula cardíaca tubular, dado que el tubo interior estaba limitado para que colapsara hacia el interior en esos tres puntos de "comisura" (Figura 1A de Reimer et al., 2017, Ann. Biomed. Ing., 45(2):439-51). Esta válvula ha mostrado una función a corto plazo en un modelo de cordero en crecimiento, pero el diseño de tubo en tubo manifestó un modo de fallo de inestabilidad de la comisura después de 3-4 meses de implantación. Esto era evidente en una válvula explantada que fue cortada y colocada plana (Figura 4D de Reimer et al., 2017, Ann. Biomed. Ing., 45(2):439-51); aunque los tubos se habían fusionado entre sí a lo largo de gran parte de la línea de sutura degradable, formando esencialmente valvas in situ, las ubicaciones iniciales de las comisuras se encontraban varios milímetros por encima de los puntos de mayor aproximación de las valvas. Esto ocurrió en la ausencia de cualquier engrosamiento de valvas, lo que sugiere que la línea de sutura que define las comisuras en el momento de la implantación no fue estable a la exposición a largo plazo a la fuerza diastólica cíclica (descendente) en el tubo interno. Se especuló que esto causó un "hundimiento" del tubo interno a través de la línea de sutura vertical con el tiempo y condujo a una disminución efectiva de la altura de la valva con la regurgitación valvular central concomitante antes de la posibilidad de crecimiento de la válvula (las células estaban presentes en la mayoría de las superficies de la "valva" ya a las 12 semanas postoperatorias, pero no habían recelularizado extensamente el interior a las 22 semanas como sería necesario para que se produjera un aumento en el área de coaptación, en contraste con la "raíz" la cual fue ampliamente recelularizada por 12 semanas (Reimer et al., 2017, Ann. Biomed. Ing., 45(2):439-51)). Con el fin de eliminar este modo de fallo de las comisuras inestables en el diseño original de tubo en tubo, se ha diseñado un novedoso diseño de válvula de tres tubos y se describe en la presente memoria.

Con referencia a la Figura 1, se muestra una estructura que parte con tres miembros tubulares, lo cual finalmente resulta en una válvula protésica trivalva. Sin embargo, se debe apreciar que las técnicas descritas en la presente memoria (y representadas esquemáticamente en las Figuras 1A - 1F) también puede aplicarse para crear una válvula protésica bivalva (es decir, partiendo con dos miembros tubulares; véanse, por ejemplo, las Figuras 1G y 1H) o una válvula protésica de cuatro valvas (es decir, partiendo con cuatro miembros tubulares). Por lo tanto, la válvula trivalva que se muestra en las Figuras 1A - 1F, así como en las Figuras 2-6, 8A y 9A deben considerarse ejemplares.

55 Específicamente con respecto a la Figura 1A, se muestran tres miembros tubulares que corresponden al material de partida. Como se muestra en la Figura 1A, cada miembro tubular incluye un primer extremo y un segundo extremo, y tiene una superficie exterior y una superficie luminal (es decir, la superficie interior de cada miembro tubular), los cuales

definen un eje longitudinal. Como se muestra en la Figura 1A, los miembros tubulares se posicionan paralelos entre sí (es decir, alineados a lo largo de sus ejes longitudinales).

Los miembros tubulares que forman la base de la válvula protésica descrita en la presente memoria pueden estar hechos a partir de cualquier material que sea adecuado para su uso en una válvula protésica. Los materiales adecuados incluyen, por ejemplo, material de tejido nativo (por ejemplo, vasos nativos), material de ingeniería biológica (por ejemplo, Syedain et al., 2011, Biomateriales, 32(3):714-22; o Dahl et al., 2011, Sci. Traducir. Med, 3(68):68ra9), material sintético (por ejemplo, Wu et al., 2012, Nat. Med., 18(7): El documento 1148-53), o una combinación de los mismos.

Algunas realizaciones de los miembros tubulares pueden incluir un andamio degradable que puede ser sembrado por células productoras de matriz extracelular. El andamio puede estar formado a partir de fibrina, PLA, PGA, u otro polímero sintético o biológico, y mezclas de los mismos. Las células productoras de ECM pueden cultivarse con el andamio, permitiendo que las células produzcan ECM, la cual a su vez puede remplazar al andamio degradable. Opcionalmente, el andamio puede ser manipulado o procesado para crear la alineación de las fibras en la ECM (por ejemplo, una matriz anisotrópica). El producto final puede ser descelularizado utilizando detergentes, deshidratado (por ejemplo, liofilización) o fijado/reticulado (por ejemplo, fijación con glutaraldehído) para crear tejido de ingeniería con o sin células.

Algunas realizaciones de la presente divulgación pueden utilizar los procedimientos y tejidos de ingeniería como se divulga en la continuación: Los documentos US 2007/061800; WO 2007/092902; US 2016/0203262; WO 2004/018008; WO 2004/101012; la Patente de los Estados Unidos número 8,192,981; la Patente de los Estados Unidos número 8,399,243; la Patente de los Estados Unidos número 8,617,237; la Patente de los Estados Unidos número 8,636,793; la Patente de los Estados Unidos número 9,034,333; la Patente de los Estados Unidos número 9,126,199; número de serie de los Estados Unidos 10/523,618; número de serie de los Estados Unidos. 10/556,959; número de serie de los Estados Unidos 13/771,676; los documentos US 2015/0012083; US 2009/0319003; US 2011/0020271; US 2012/0230950; US 2013/0013083; US 2014/0330377; US 2015/0088247; US 2015/0305860; US 2014/035805; US 2017/0135805; US 2017/0296323; US 2017/0306292; la Patente de los Estados Unidos número 8,198,245; la Patente de los Estados Unidos número 9,127,242; la Patente de los Estados Unidos número 9,556,414; la Patente de los Estados Unidos número 9,657,265 y la Patente de los Estados Unidos número 9,650,603.

Dado que no se requiere ningún elemento estructural (por ejemplo, una trama de metal o plástico), ni en los miembros tubulares ni para configurar la valva, las válvulas protésicas descritas en la presente memoria no están estructuralmente restringidas y pueden permitir el crecimiento, si se utiliza un material apropiado y suturas degradables. Esta característica es particularmente significativa para la aplicación pediátrica de las válvulas protésicas descritas en la presente memoria. Además, se pueden utilizar miembros tubulares de diversos diámetros para producir un diámetro objetivo determinado para la válvula, lo cual también provocará que las valvas tengan áreas diferentes. Esta característica es especialmente relevante en lo que se refiere al rendimiento de la válvula bajo condiciones especificadas de presión-flujo.

En algunas realizaciones, los miembros tubulares individuales dentro de una válvula protésica como se describe en la presente memoria pueden estar hechos a partir de diferentes materiales. Por ejemplo, en una válvula bivalva, uno de los miembros tubulares utilizados en los materiales de partida puede ser un miembro tubular de ingeniería biológica, mientras que el otro miembro tubular utilizado en los materiales de partida puede ser un miembro tubular sintético. En otro ejemplo, en una válvula trivalva, uno de los miembros tubulares de partida puede ser un miembro tubular de tejido nativo y los otros dos miembros tubulares de partida pueden ser miembros tubulares de ingeniería biológica. Se considera prácticamente cualquier combinación de miembros tubulares.

Con respecto a la Figura 1B, los miembros tubulares alineados se ponen en contacto entre sí y la Figura 1C muestra que cada uno de los miembros tubulares está fijado al miembro(s) tubular(es) adyacente(s) a lo largo de una costura longitudinal. La costura longitudinal está situada entre las superficies exteriores adyacentes de cada miembro tubular. Como se muestra en la Figura 1C, las porciones de la superficie exterior de los miembros tubulares adyacentes forman una pared circunferencial de un cuerpo de válvula protésica. De manera similar para cada miembro tubular, el cuerpo de válvula protésica tiene un primer extremo y un segundo extremo a través de los cuales pasa un eje longitudinal, así como una superficie exterior y un anillo.

Las Figuras 2A y 2B son fotografías que muestran el exterior de un cuerpo de válvula protésica en el cual se puede apreciar la costura longitudinal (flechas). En la Figura 2A, la costura longitudinal se muestra verticalmente, mientras que en la Figura 2B, el cuerpo de válvula protésica se muestra horizontalmente, de modo que la costura longitudinal sea débilmente detectable en la dirección horizontal.

Volviendo ahora a la Figura 1, la Figura 1D muestra que cada miembro tubular se cierra luego en su segundo extremo. El cierre en el segundo extremo de cada miembro tubular crea una valva (o una cúspide), con la superficie superior

de cada valva (es decir, la superficie en el primer extremo del cuerpo de válvula) formada a partir de la superficie luminal (o interior) de cada miembro tubular (Figura 1E). La superficie inferior de cada valva (es decir, la superficie que se proyecta hacia el segundo extremo del cuerpo de válvula) está formada a partir de una porción de la superficie exterior de cada miembro tubular adyacente que no forma parte de la pared circunferencial (Figura 1E).

5 La Figura 3 es una fotografía que muestra el exterior del cuerpo de válvula protésica en la cual se puede apreciar la costura longitudinal (línea azul en el extremo derecho del cuerpo; flechas), así como el cierre en el segundo extremo del miembro tubular (flechas). En la Figura 3, el cierre en el segundo extremo del miembro tubular se muestra como un cierre curvado hacia arriba (por ejemplo, cóncavo, en relación con el primer extremo del cuerpo de válvula protésica), pero el cierre podría ser un cierre horizontal recto o un cierre curvado hacia abajo o cualquier combinación de los mismos. La posición y la direccionalidad del cierre determinarán, al menos en parte, la forma y la configuración estructural que se desea para cada valva.

15 Cada valva tiene tanto una región de comisura como una región anular. Como se muestra en la Figura 1E, las porciones de la superficie exterior de los miembros tubulares adyacentes que no forman parte de la pared circunferencial del cuerpo, en el primer extremo, definen las comisuras de la válvula, mientras que la superficie luminal de cada miembro tubular que está opuesta a la superficie exterior de cada miembro tubular que forma la pared circunferencial del cuerpo, en el primer extremo, define la región anular de cada valva. Debido a la estructura tubular mediante la cual se genera cada valva, la región de comisura y la región anular de cada valva son adyacentes (o integrales entre sí), y cada valva, incluidas la comisura y la región anular, están formadas por un único miembro tubular.

20 La Figura 4A es un esquema que muestra una vista de extremo (es decir, una vista del primer extremo) de una válvula protésica como se describe en la presente memoria y que demuestra esquemáticamente cómo se forman las comisuras a partir de los miembros tubulares y la posición de las fijaciones longitudinales. La Figura 4B es una fotografía que muestra una vista de extremo (es decir, una vista del primer extremo) de una válvula protésica como se describe en la presente memoria y que demuestra la formación de las valvas y las comisuras a partir de los miembros tubulares.

25 La Figura 5 es una fotografía que muestra una vista de extremo (es decir, una vista del segundo extremo) de una válvula protésica como se describe en la presente memoria y que muestra el lado inferior de cada valva (es decir, los segundos extremos cerrados de cada miembro tubular). Las flechas muestran la costura en el segundo extremo de uno de los miembros tubulares, la cual, cuando se cierra, produce la estructura de valva.

30 Las Figuras 6A - 6B muestra otra realización de un diseño de tres tubos en el cual se suturan juntos tres tubos en un anillo cerrado y luego la parte inferior de cada tubo se sutura cerrada para formar su propia valva (únicamente dos de las líneas de sutura axiales que conectan los tres tubos juntos se aprecian claramente, junto con el cierre completo de uno de los tubos creando una de las "valvas").

35 El diseño de la válvula protésica descrita en la presente memoria pretende eliminar el lugar más común de fallo de una válvula que se fabrica suturando un tubo dentro de otro, donde la carga sobre las valvas se transfiere directamente a las suturas utilizadas para fijar el tubo interior al tubo exterior en las comisuras. En el diseño descrito en la presente memoria, la comisura es creada por miembros tubulares adyacentes, de modo que la carga sobre las valvas sea llevada por el propio miembro tubular y no por las suturas. Por lo tanto, la "extracción de la sutura", lo cual es otro problema común con muchas de las válvulas protésicas utilizadas actualmente, no debería ocurrir con las válvulas protésicas descritas en la presente memoria.

40 Una de las diferencias cruciales en las comisuras con este nuevo diseño de válvula trivalva es evidente al comparar la conexión de los tres tubos en el nuevo diseño de tres tubos (véase la Figura 1 y las Figuras 6A, 6B y 6D) con la conexión de los dos tubos en el diseño original tubo-en-tubo (véase la Figura 6C), donde cada color representa un tubo que fue cosido para formar las válvulas, y los círculos indican las ubicaciones de las comisuras. Se puede deducir que la fuerza descendente sobre las valvas va a ser llevada predominantemente por la mayor parte de la matriz en el nuevo diseño de tres tubos (Figura 6D) a diferencia de la sutura en el diseño original de tubo en tubo (Figura 6C).

45 Se presenta la prueba de fatiga del novedoso diseño de válvula descrito en la presente memoria que demuestra la estabilidad superior de la comisura del diseño de tres tubos; se presenta la prueba de duplicador de pulso que muestra una función aceptable de válvula bajo condiciones de flujo de válvula pulmonar en una oveja joven; y se muestra la función de válvula tras la implantación en la arteria pulmonar de una oveja joven utilizando la ultrasonografía (siguiendo el compromiso de la válvula pulmonar nativa).

La conexión o unión de tejidos y los diversos conectores para hacerlo son conocidos en la técnica e incluyen, sin limitación, suturas o puntos de sutura, grapas, adhesivos (por ejemplo, cianoacrilato), o fusión térmica / soldadura. Tales conectores pueden utilizarse para fijar miembros tubulares a miembros tubulares adyacentes a lo largo de una

costura longitudinal o para cerrar cada miembro tubular en el segundo extremo, como se describe en la presente memoria.

También se entenderá que, en algunas realizaciones, puede ser deseable incluir o fijar una válvula protésica como la descrita en la presente memoria a un soporte o estructura sólidos. Véase, por ejemplo, la Figura 1F. La forma en la cual una válvula protésica, como se describe en la presente memoria, puede fijarse a un soporte sólido o a una estructura sólida dependerá del material o material(es) de que esté hecha cada una. En algunos casos, el mismo tipo de conectores para conectar o unir tejidos que se describen en la presente memoria (por ejemplo, sutura/puntos de sutura, grapas, adhesivos (por ejemplo, cianoacrilato) o fusión térmica / soldadura) puede utilizarse para fijar una válvula protésica a un soporte sólido o a una estructura sólida. En algunos casos, puede generarse una válvula protésica de ingeniería biológica, como se describe en la presente memoria, sobre el soporte o la estructura sólidos, de tal manera que la válvula protésica se integre con el soporte o la estructura sólidos.

Las Figuras 1G y 1H demuestran que la posición de las valvas dentro del cuerpo de válvula puede controlarse recortando o eliminando material de los miembros tubulares. Simplemente a modo de ejemplo, la Figura 1G muestra que se puede retirar una pequeña cantidad de material de la porción de los miembros tubulares que se encuentra en el interior del cuerpo de válvula (es decir, que no forma la pared del cuerpo de válvula), lo cual finalmente da como resultado que las valvas estén ligeramente rebajadas en el cuerpo de válvula en relación con el primer extremo. Por otra parte, la Figura 1H muestra que se puede retirar una mayor cantidad de material de la porción de los miembros tubulares que se encuentra en el interior del cuerpo de válvula (es decir, que no forma la pared del cuerpo de válvula), lo cual finalmente da como resultado que las valvas se posicionen más profundamente en el cuerpo de válvula (por ejemplo, a medio camino entre el primer y el segundo extremo, o más cerca del segundo extremo que del primer extremo del cuerpo de válvula). La posición de las valvas dentro del cuerpo de válvula como se describe en la presente memoria (es decir, en relación con los extremos primero y segundo del cuerpo de válvula) dependerá del tipo de válvula y/o de los procedimientos de utilización de la válvula protésica descritos en la presente memoria (por ejemplo, estrategias para reparar, reemplazar y/o reconstruir la válvula nativa). Cabe señalar que, si bien las Figuras 1G y 1H muestran dos miembros tubulares (es decir, un primer y un segundo miembro tubular), el mismo concepto de recortar o eliminar material para controlar la posición de las válvulas dentro del cuerpo de válvula protésica puede aplicarse a una válvula protésica que incluya tres miembros tubulares o cuatro miembros tubulares.

Además, se pueden utilizar uno o más miembros tubulares no isodiamétricos de tal manera que exista un seno detrás de las valvas. Un tal seno puede ser parte de la anatomía normal de la válvula cuando el diámetro del tubo aumenta en esta región, y se considera importante para la hemodinámica normal de la válvula.

De acuerdo con los presentes ejemplos, pueden emplearse técnicas convencionales de biología molecular, microbiología, bioquímica, y ADN recombinante dentro de la habilidad de la técnica. Tales técnicas se explican completamente en la bibliografía. La invención se describirá aún más en los siguientes ejemplos, los cuales no limitan el ámbito de los procedimientos y composiciones de materia descritos en las reivindicaciones.

## 35 Ejemplos

### Ejemplo 1- Producción de tubo de tejido

Se fabricaron geles de fibrina tubulares sembrados de células, mezclando soluciones acuosas de fibroblastos dérmicos ovinos (ODFs, Coriell), fibrinógeno bovino (Sigma), trombina (Sigma), y cloruro de calcio. Las concentraciones finales de los componentes fueron las siguientes: 1 millón de ODFs/ml, 4 mg/ml de fibrinógeno, 0,38 U/ml de trombina, y 5,0 mM de Ca<sup>++</sup>. La solución mezclada se inyectó en moldes tubulares de vidrio, los cuales tenían un mandril de 16 mm de diámetro interior, un anillo de 4 mm, y una longitud total de 15 cm.

Después de la gelificación, los geles tubulares de fibrina sobre mandriles de vidrio se cultivaron en DMEM + 10 % de suero fetal bovino (FBS, Hyclone), 100 U/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomina, 0,25 µg/ml de anfotericina B, 2 µg/ml de insulina, y 50 µg/ml de ácido ascórbico. El medio de cultivo se cambió tres veces por semana durante 2 semanas a la vez que se permitía el acortamiento longitudinal de los geles. A continuación, los tubos de tejido se maduraron en un biorreactor de estiramiento de flujo pulsado como describe (Syedain et al., 2011, Biomateriales, 32(3):714-22).

Después de la maduración, los tubos de ingeniería biológica se descelularizaron por inmersión en 1 % de dodecil sulfato sódico (SDS, Sigma) y 1 % de Triton X-100 (Sigma) durante 6 horas y 30 minutos, respectivamente, a temperatura ambiente con agitación continua. Luego, los tubos se enjuagaron exhaustivamente en solución salina tamponada con fosfato 1X antes y después de la incubación durante una noche en medio de cultivo más 2 U/ml de desoxirribonucleasa (Worthington Biochemical).

### Ejemplo 2- Fabricación de válvula

Se fabricaron válvulas de 19 mm de diámetro utilizando tres de los tubos de ingeniería biológica de 16 mm de diámetro. Cada tubo se cortó a una longitud de 3 cm y se recortó aún más para definir una valva a la vez que se proporciona para un tracto de salida (Figura 6A). Los tubos fueron suturados primero juntos en un anillo cerrado utilizando suturas degradables (Covidien Maxon CV) con tres líneas de sutura a lo largo de su punto de contacto (líneas blancas discontinuas, Figura 6A). Luego, se suturó la parte inferior de cada tubo para crear una valva (líneas discontinuas amarillas, Figura 6A), dando lugar a una válvula trivalva (Figura 6B). La vista superior de una válvula tubo-en-tubo y una válvula de tres tubos con los tubos codificados por colores (Figuras 6C, 6D) facilita la comparación de la construcción de comisuras.

5

#### Ejemplo 3- Pruebas de desgaste del acelerador

Las válvulas se montaron en un accesorio de silicona personalizado y se colocaron en el sistema Bose Durapulse™. Las válvulas se probaron a una frecuencia de 20 Hz con una presión diastólica final de 20 mm Hg para imitar los gradientes de presión diastólica pulmonar. Una válvula tubo-en-tubo y una válvula de tres tubos fabricadas a partir del mismo lote de tubos de ingeniería biológica fueron ejecutadas durante unos 12 millones (M) de ciclos antes de la inspección visual.

10

#### Ejemplo 4- Operación de duplicador de pulso

Un sistema duplicador de pulso personalizado como se ha descrito previamente (Reimer et al., 2015, Biomateriales, 62:88-94). Consiste en un generador de ondas y una bomba comerciales (Sistemas ViVitro), un depósito, una cámara de montaje de válvula, una cámara de conformidad variable, y una válvula mecánica bivalva para garantizar el movimiento unidireccional del fluido. El sistema tenía transductores de presión (Sistemas ViVitro) inmediatamente por encima y por debajo de la válvula para permitir mediciones precisas de la presión. Además, había un caudalímetro electromagnético (Carolina Medical, caudalímetro serie 500) antes de la válvula para medir el caudal en ambas direcciones. Se utilizó un programa Labview® personalizado para registrar los caudales y las presiones. Para las pruebas, la válvula se cosió en dos manguitos de silicona personalizados que luego se montaron en una cámara personalizada que permite aplicar un gradiente de presión transmural (Reimer et al., 2015, Biomateriales, 62:88-94). El bucle de duplicador de pulso se ejecutó con solución salina tamponada de fosfato como fluido de prueba. Cada válvula fue probada con condiciones de presión para imitar las condiciones de presión pulmonar a un caudal prescrito (establecido por el volumen y la frecuencia de carrera de la bomba). Se utilizó un caudal promedio de 3,5 LPM para imitar el gasto cardíaco pediátrico (Cattermole et al., 2017, Physiol. Rep., 5(6):PMCID: El documento 5371563). La presión se controló cambiando la resistencia al flujo descendente, el volumen de carrera, y la altura de presión hidráulica ascendente. Durante la prueba de la válvula, se obtuvieron imágenes de la cámara frontal (Canon EOS T3i) a 60 fps para la captura de vídeo. Las imágenes extraídas a partir del vídeo se importaron en el programa ImageJ® para medir el área abierta de la válvula durante la sístole e informar del área geométrica del orificio como porcentaje del área circular total para un diámetro determinado.

20

25

30

#### Ejemplo 5- Deformación de tracción hasta el fallo

Se cortaron tiras con dimensiones de ~2 mm x ~10 mm del tubo de ingeniería biológica en las direcciones circunferencial y axial y se probaron en deformación de tracción hasta el fallo como se ha descrito previamente (Syedain et al., 2015, Biomateriales, 73:175-84; Reimer et al., 2015, Biomateriales, 62:88-94). Brevemente, las dimensiones de las muestras se midieron antes de la prueba utilizando un calibre digital. Las tiras se montaron en agarres personalizados fijados a los brazos de actuadores de un sistema de prueba de tracción Instron (Sistema Instron) y se enderezaron con una carga de tracción de 0,02 N. La Deformación se calculó tomando el logaritmo natural de la longitud deformada de la muestra sobre su longitud inicial. La tensión se definió como la fuerza dividida por el área en sección transversal no deformada de la tira. El módulo y la resistencia última a la tracción (UTS) se tomaron como la pendiente de la región lineal de la curva tensión-deformación y la tensión máxima registrada, respectivamente.

35

40

#### Ejemplo 6- Fuerza de extracción de la sutura

Como se ha descrito anteriormente (Syedain et al., 2017, Sci. Traducir. Med., 9(414): pii: eaan4209), la fuerza de extracción de la sutura se midió colocando un bucle de sutura 7-0 a 2 mm del borde de una tira que está cortada de 1 cm x 1 cm. Un extremo del bucle se sujeta a un brazo fijo y el otro extremo se conecta al brazo de actuador de un sistema de pruebas de tracción Instron (Sistema Instron). Se tiró del bucle hasta el fallo a una tasa de 5 mm/segundo.

45

#### Ejemplo 7- Contenido de colágeno

Como se ha descrito anteriormente (Syedain et al., 2014, Ing. de Tejido Parte A, 20(11-12):1726-34), se recogieron muestras de valvas de aproximadamente 5 mm x 5 mm para medir bioquímicamente el contenido de colágeno. El contenido de colágeno se cuantifica utilizando el ensayo de la hidroxiprolina y un factor de conversión de 7,46 mg de colágeno por mg de 4-hidroxiprolina. En resumen, una muestra de injerto se hidrolizó con ácido y el colágeno disuelto

50

se unió al dimetilaminobenzaldehído (p-DMBA) como detector colorimétrico. En un formato de 96 pocillos, las muestras de injerto hidrolizadas y los estándares de hidroxiprolina fueron leídos a una longitud de onda de 550 nm en un sistema de detección de placas BioRad. Los volúmenes iniciales de las muestras se calcularon utilizando la longitud, el ancho, y el grosor medidos de cada muestra. Los contenidos de colágeno se reportaron como masa de colágeno por unidad de volumen en cada muestra.

#### Ejemplo 8- Implantación de válvula

Las implantaciones se realizaron en los Servicios Quirúrgicos Experimentales (ESS) de la Universidad de Minnesota. Las válvulas fabricadas se implantaron como reemplazos de válvulas pulmonares en n = 8 corderos Dorset (edad media = 16 ± 4 semanas, peso medio = 28 ± 2 kg). Todos los protocolos fueron aprobados por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales (IACUC). Todos los animales fueron anestesiados utilizando 10 mg/kg de ketamina y 2-6 mg/kg de Propofol y se mantuvieron con 2-4 % de isoflurano durante todo el procedimiento. El corazón se expuso mediante una toracotomía lateral izquierda con disección a través del espacio intercostal. Se retiraron las valvas nativas, se resecoó un segmento de la arteria pulmonar y se reemplazó con el conducto con válvula de ingeniería y se suturó en su lugar utilizando sutura continua degradable de 5-0 (Maxon™). El extremo distal se suturó primero utilizando una sutura continua, seguida por el extremo proximal. Antes de cerrar la anastomosis, se permitió que el conducto con válvula se llenara de sangre para desplazar el aire. Una vez fuera del bypass, se realizó una ecocardiografía epicárdica con imágenes adquiridas. Después de la cirugía, los animales recibieron inyecciones subcutáneas de 1500 UI de heparina al día durante todo el estudio. La función de la válvula se midió con una ecocardiografía transtorácica bajo restricción manual 1 semana después de la implantación.

#### Ejemplo 9- Estadísticas

Se utilizó un ANOVA unidireccional con la prueba post hoc de Tukey para evaluar las diferencias en las propiedades mecánicas de tracción a p < 0,05. Las diferencias estadísticas en los gráficos de figuras se indican con símbolos pareados.

#### Ejemplo 10- Propiedades del tubo de tejido

Como se muestra en la Figura 7, los tubos de tejido descelularizado poseían una resistencia a la tracción comparable a la de las valvas de la válvula pulmonar ovina y al estándar de atención para el reemplazo de la válvula pulmonar pediátrica, el conducto con válvula Contegra™, que es una válvula de vena yugular bovina reticulada. La rigidez a la tracción de los tubos fue comparable a la de la valva nativa y menor que la de una valva de Contegra. El grosor del tubo fue de 0,66 ± 0,15 mm en comparación con 0,32 ± 0,09 mm para las valvas ovinas (n = 3). La fuerza de extracción de la sutura del tubo fue de 92 ± 13 gramos-fuerza (n = 9) en comparación con 244 ± 31 gramos-fuerza (n = 3) para la arteria pulmonar nativa de una oveja. La concentración de colágeno fue de 50 ± 9 mg/ml (n = 6) en el tejido de ingeniería en comparación con 44 ± 14 mg/ml (n = 3) para la arteria pulmonar nativa. La histología del tejido descelularizado muestra bandas de colágeno (teñidas de verde) alineadas en dirección circunferencial con restos de fibrina (teñida de rojo) en la superficie luminal (Figura 7D).

#### Ejemplo 11- Resistencia al desgaste de la válvula

La resistencia al desgaste se evaluó en pruebas de fatiga acelerada utilizando un sistema Bose Durapulse™ después de 12 ciclos M (equivalentes a 20 semanas in vivo) con una caída de presión diastólica final de 20 mm Hg (Figura 8A). El daño de la comisura era claramente evidente en el diseño tubo-en-tubo en los puntos de sutura que conectaban los tubos interior y exterior en las comisuras (Figura 8A), pero no en el novedoso diseño de tres tubos (Figura 8B) donde las comisuras están formadas por tubos adyacentes (Figura 6A-6C).

#### Ejemplo 12- Hidrodinámica de válvula

Como se esperaría en base a la estrecha concordancia de las propiedades de tracción entre los tubos de ingeniería biológica y las valvas de la válvula (Figura 7), el rendimiento hemodinámico de una válvula construida a partir de estos tubos de matriz de colágeno producida por células (Figura 9) es aceptable, con < 2 mm Hg de gradiente de presión sistólica y < 15 % de volumen de cierre / regurgitación, como se muestra en la comparación de los datos de prueba del duplicador de pulso de la válvula Contegra™ en la Tabla 1.

Tabla 1. Sumario de las Pruebas del Duplicador de Pulso de la válvula de tres tubos comparada con la válvula Contegra™

Parámetro	Contegra™ 16 mm (n = 1)	Válvula de tres tubos 19 mm (n = 2)
ΔP sistólica media (mm Hg)	3,3	1,3 - 2,1
Caudal medio (LPM)	3,4	3,9

(continuación)		
Parámetro	Contegra™ 16 mm (n = 1)	Válvula de tres tubos 19 mm (n = 2)
Fracción de volumen de cierre	7,3 %	1,8 - 12,6 %
Área geométrica del orificio	52 %	59 - 65 %

#### Ejemplo 13- Función de la válvula en el momento de la implantación

Se implantó interposicionalmente una válvula de tres tubos en la arteria pulmonar a cuatro ovejas jóvenes (promedio de 4 meses de edad, 28 kg) después de retirar las valvas de la válvula pulmonar nativa, y se realizó una ecocardiografía epicárdica en 3D en el momento de la implantación. En la Figura 10 se muestran imágenes representativas del campo quirúrgico y del ultrasonido para la válvula de tres tubos inmediatamente después de la implantación. La longitud de coaptación medida de las valvas tomada desde la vista de eje largo fue de 3-5 mm (Figura 10B). Las métricas de rendimiento de la válvula del análisis de ultrasonido realizado 1 semana después de la operación se informan en la Tabla 2. Todas las valvas de válvula tuvieron un movimiento normal con coaptación completa durante la diástole y regurgitación nula. La caída de presión sistólica a través de las válvulas fue < 5 mm Hg excepto en un animal en el que una anastomosis distal estrecha, tal como se suturó, creó una caída de presión sistólica de 15 mm Hg.

Tabla 2. Evaluación por Ultrasonido de la Válvula de Tres Tubos Implantada una Semana después de la Implantación

Identificación de animales	Gasto cardíaco (LPM)	$\Delta P$ sistólica media (mm Hg)	Área efectiva del orificio (cm <sup>2</sup> )	Índice de insuficiencia pulmonar
PACV 1	4,1	15 <sup>a</sup>	0,88	Trivial
PACV 2	7,2	5	1,37	Trivial
PACV 3	4,2	2	0,92	Trivial
PACV 4	4,9	3	0,94	Trivial

a La presión sistólica era alta debido al pinzamiento en la línea de sutura de la anastomosis distal

Debe entenderse que, si bien los procedimientos y composiciones de la materia se han descrito en la presente memoria en relación con un número de diferentes aspectos, la descripción anterior de los diversos aspectos pretende ilustrar y no limitar el ámbito de los procedimientos y composiciones de la materia. Otros aspectos, ventajas, y modificaciones están dentro del ámbito de las reivindicaciones siguientes.

Se divulgan procedimientos y composiciones que se pueden utilizar para, se pueden utilizar junto con, se pueden utilizar en preparación para, o son productos de los procedimientos y composiciones divulgados. Estos y otros materiales se divulgan en la presente memoria, y se entiende que se divulgan combinaciones, subconjuntos, interacciones, grupos, etc. de estos procedimientos y composiciones. Es decir, aunque es posible que no se divulgue explícitamente una referencia específica a cada una de las diversas combinaciones y permutaciones individuales y colectivas de estas composiciones y procedimientos, cada una de ellas se contempla y describe específicamente en la presente memoria. Por ejemplo, si se divulga y discute una composición particular de materia o un procedimiento particular y se discuten un número de composiciones o procedimientos, todas y cada una de las combinaciones y permutaciones de las composiciones y los procedimientos se contemplan específicamente a menos que se indique específicamente lo contrario. Asimismo, se contempla y divulga específicamente cualquier subconjunto o combinación de los mismos.

**REIVINDICACIONES**

1. Una válvula protésica, que comprende un cuerpo que comprende al menos dos miembros tubulares adyacentes sellados en un extremo, en el que cada miembro tubular sellado forma una valva;
- 5           en el que el cuerpo comprende un primer extremo, un segundo extremo, una superficie exterior, y una región anular, y define un eje longitudinal;
- en el que los al menos dos miembros tubulares están alineados con el eje longitudinal;
- en el que cada miembro tubular está fijado fijamente a un miembro tubular adyacente a lo largo de una superficie exterior adyacente en una dirección a lo largo del eje longitudinal de tal manera que las porciones
- 10          de la superficie exterior de los miembros tubulares adyacentes formen circunferencialmente una pared del cuerpo;
- en el que cada miembro tubular está cerrado fijamente en el segundo extremo, definiendo la superficie luminal de cada miembro tubular una superficie superior de una valva, en el que las porciones de la superficie exterior
- en el primer extremo de los miembros tubulares adyacentes que no forman la pared del cuerpo definen
- 15          comisuras.
2. La válvula protésica de la reivindicación 1, que comprende dos o tres miembros tubulares.
3. La válvula protésica de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en la que la válvula es una válvula bivalva o una
- 20          válvula trivalva.
4. Un procedimiento de fabricación de una válvula protésica, que comprende:
- proporcionar al menos dos miembros tubulares, comprendiendo cada uno de los miembros tubulares un
- 25          primer extremo, un segundo extremo, una superficie exterior, y una superficie luminal y definiendo un eje longitudinal;
- alineal los al menos dos miembros tubulares a lo largo del eje longitudinal;
- fijar los miembros tubulares adyacentes a lo largo de una superficie exterior adyacente en una dirección a lo largo del eje longitudinal para formar un cuerpo, comprendiendo el cuerpo un primer extremo, un segundo
- 30          extremo, una superficie exterior, y una región anular, y definiendo un eje longitudinal, en el que las porciones de la superficie exterior de los miembros tubulares adyacentes forman circunferencialmente una pared del cuerpo; y
- cerrar cada miembro tubular en el segundo extremo de tal manera que la superficie luminal de cada miembro tubular defina una superficie superior de una valva, en el que las porciones de la superficie exterior en el
- 35          primer extremo de los miembros tubulares adyacentes que no forman la pared del cuerpo definan comisuras.
5. El procedimiento de la reivindicación 4, en el que al menos uno de los miembros tubulares es un miembro tubular de tejido nativo, un miembro tubular de ingeniería biológica, o un miembro tubular sintético.
- 40          6. El procedimiento de la reivindicación 4, en el que el cuerpo comprende al menos un miembro tubular de tejido nativo, al menos un miembro tubular de ingeniería biológica, o al menos un miembro tubular sintético
7. El procedimiento de la reivindicación 4, en el que la fijación o el cierre se realiza con puntadas, grapas, adhesivos, o fusión térmica / soldadura.
- 45          8. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 4-7, que comprende dos o tres miembros tubulares.
9. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 4-7, en el que la válvula es una válvula bivalva o una válvula
- 50          trivalva.

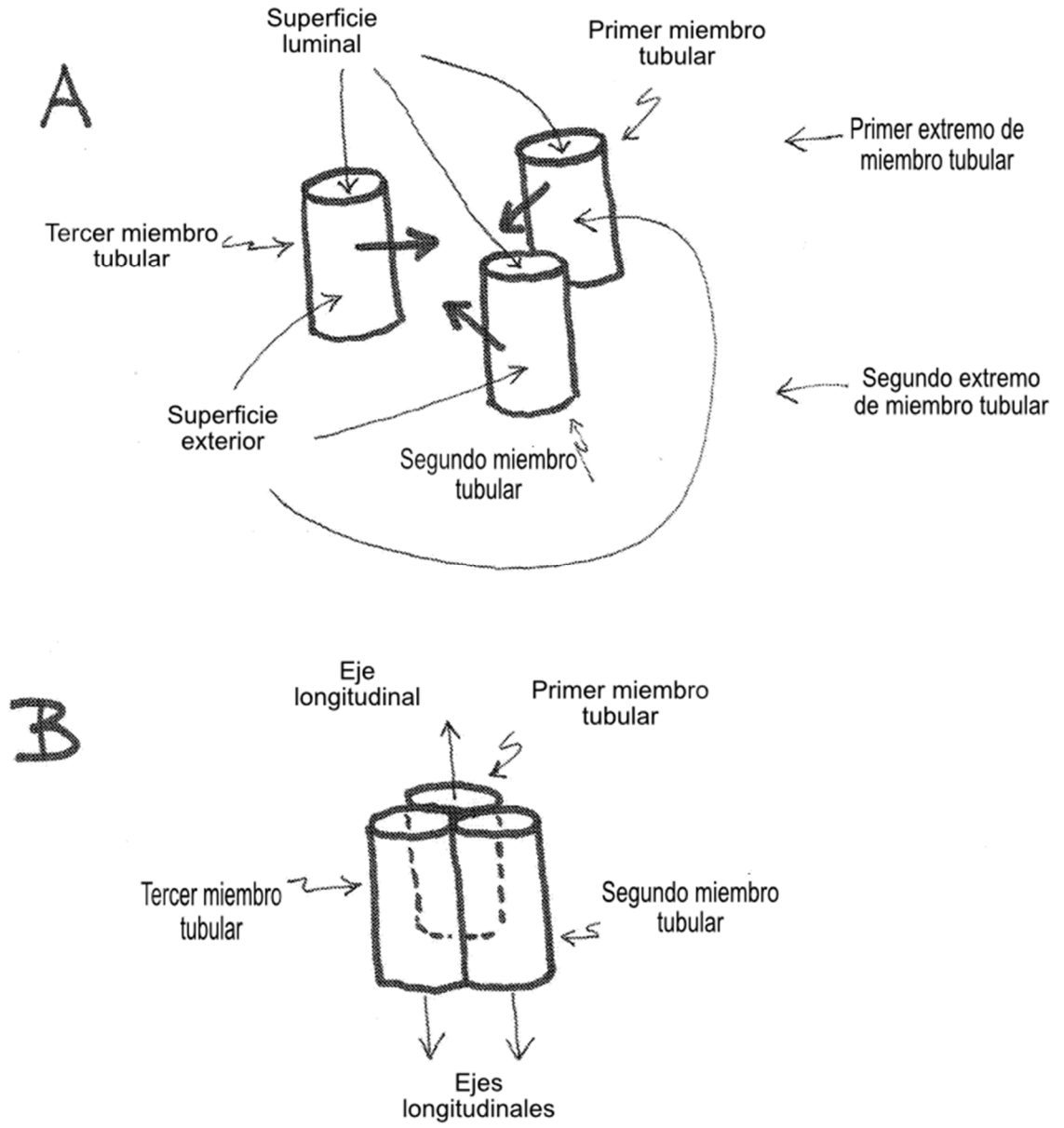


Figura 1

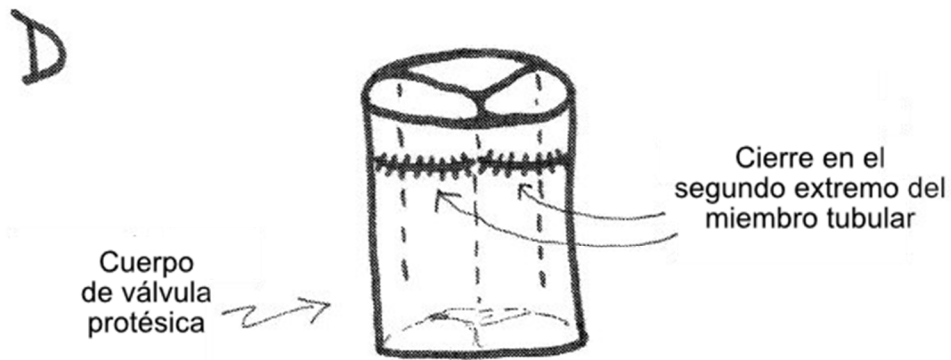
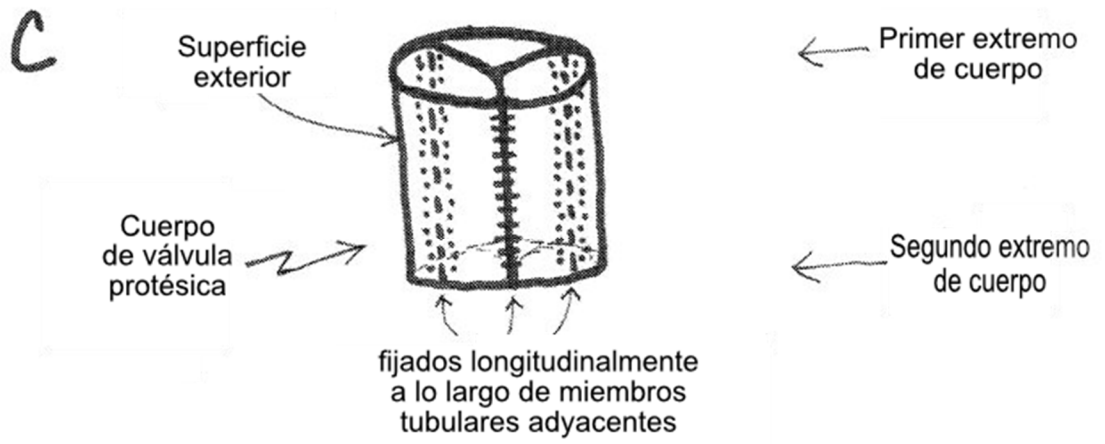


Figura 1

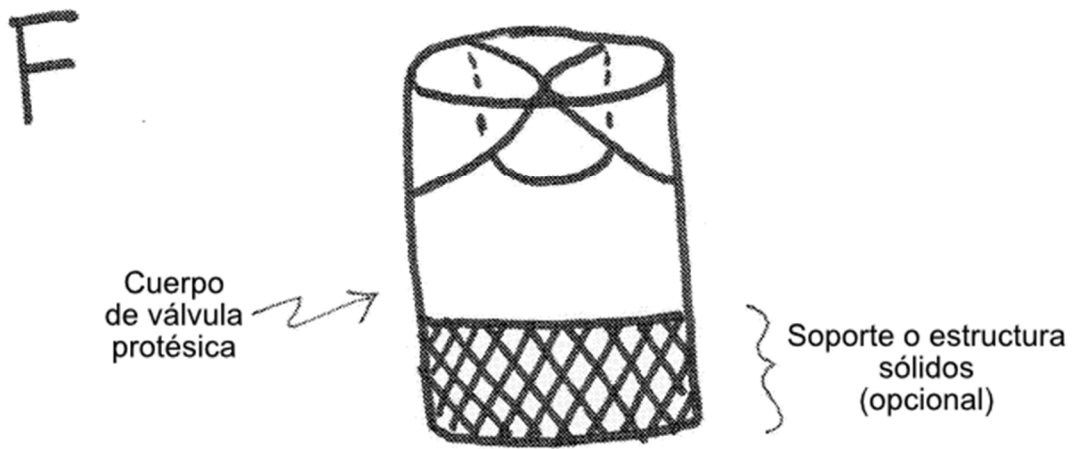
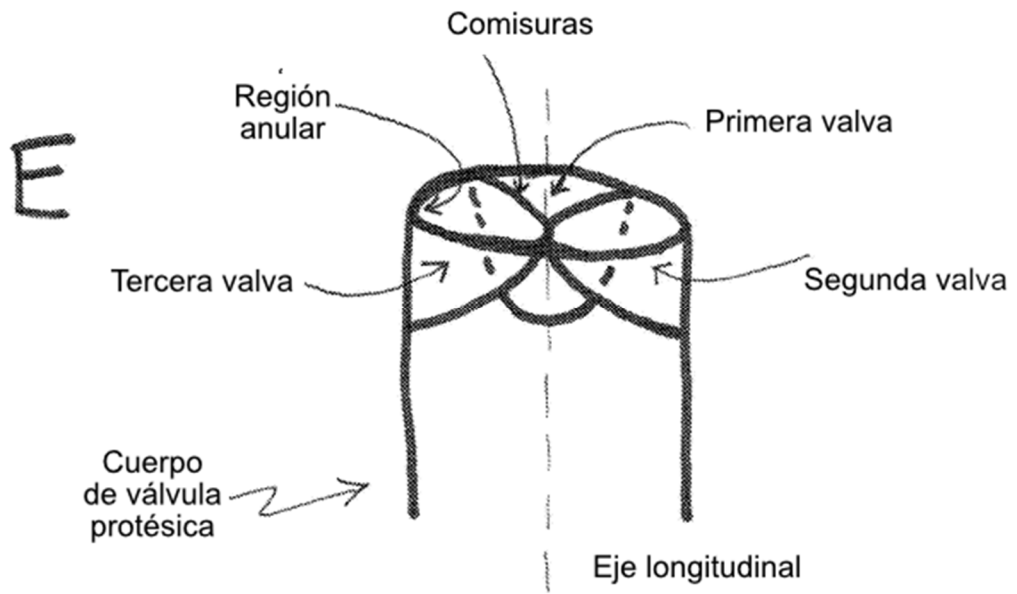
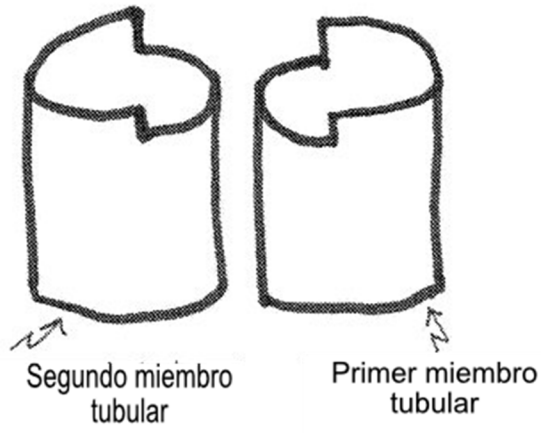


Figura 1

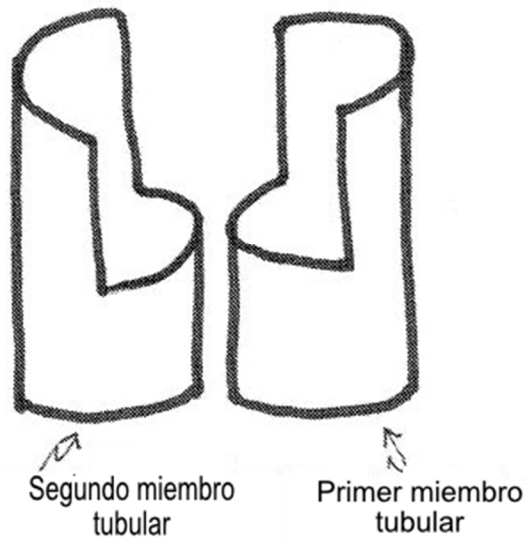
G



← Primer extremo de miembro tubular

← Segundo extremo de miembro tubular

H



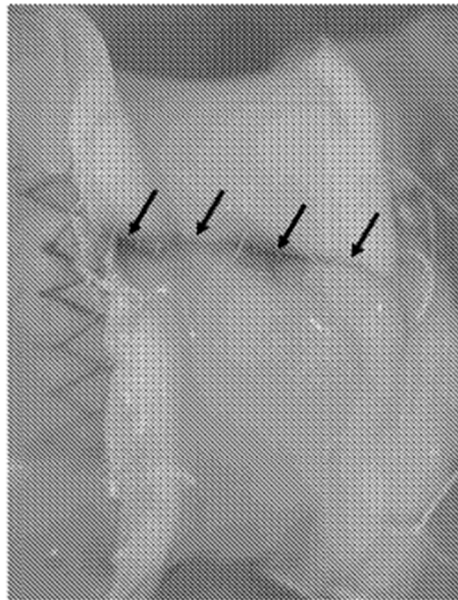
← Primer extremo de miembro tubular

← Segundo extremo de miembro tubular

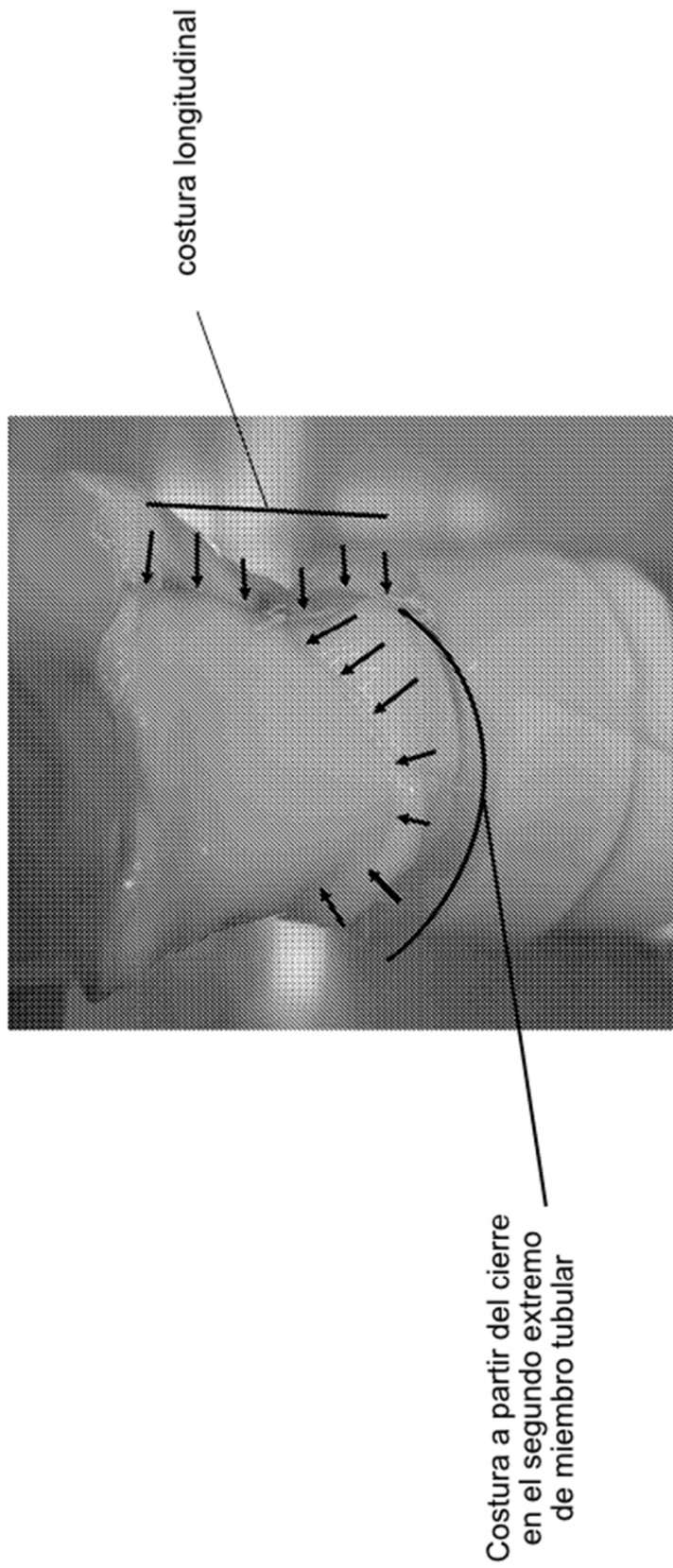
Figura 1



**FIG. 2B**



**FIG. 2A**



**FIG. 3**

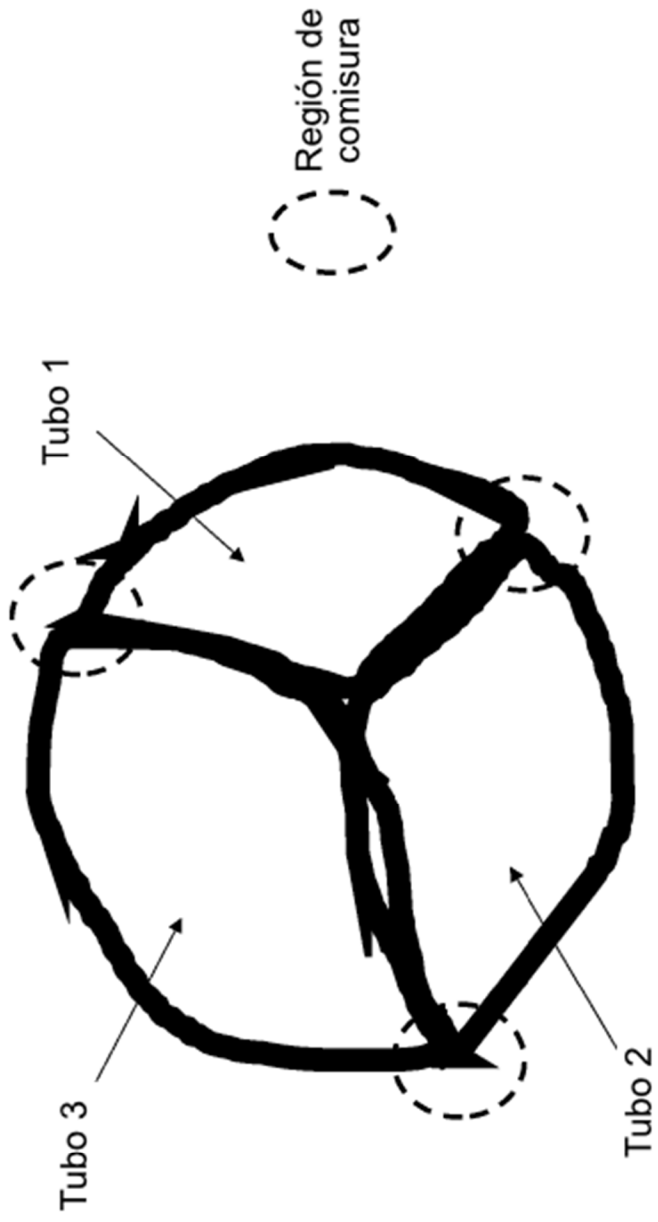
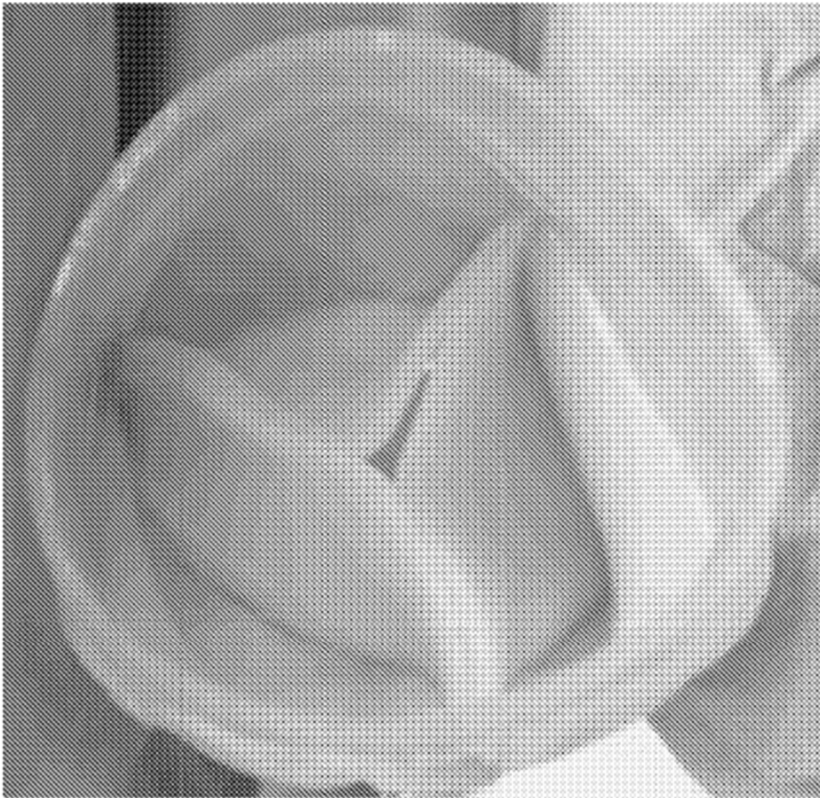
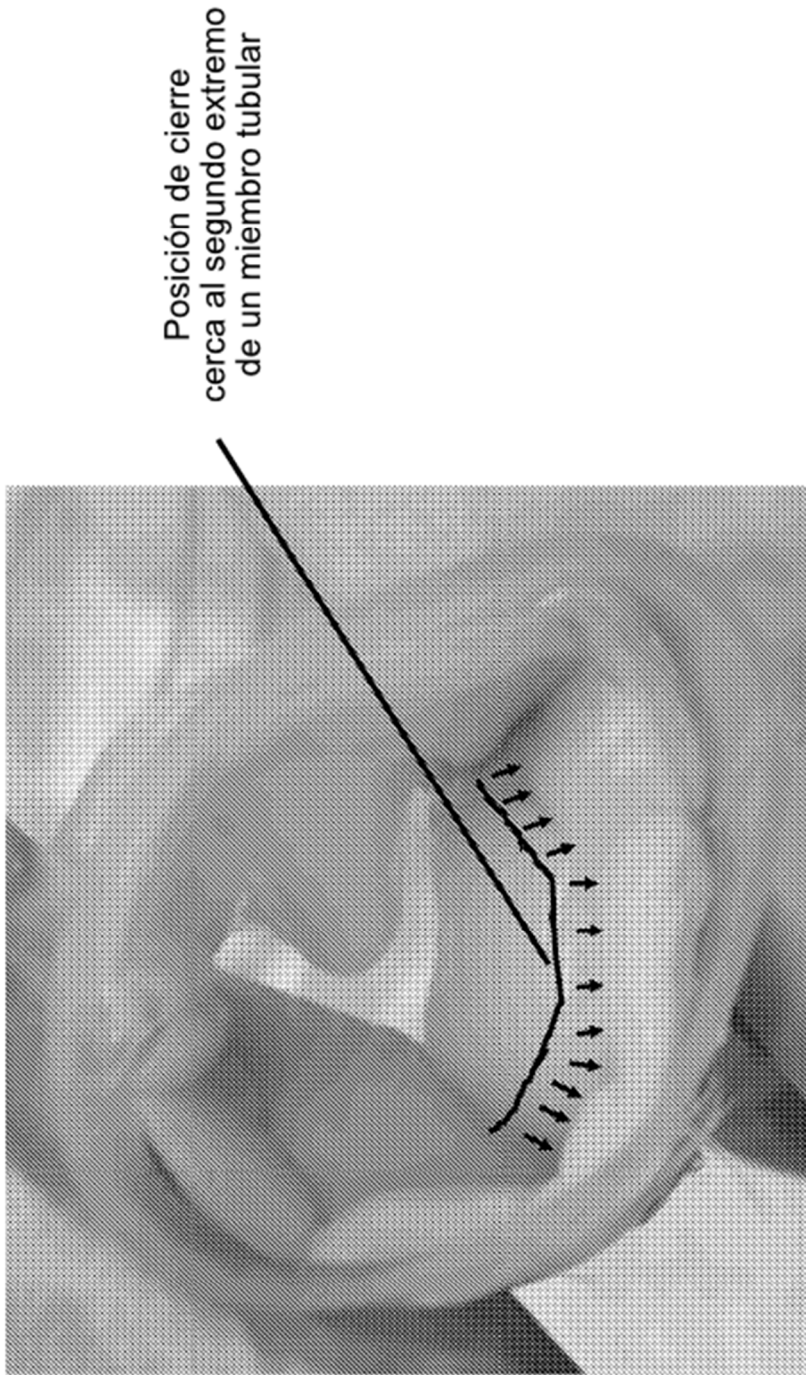


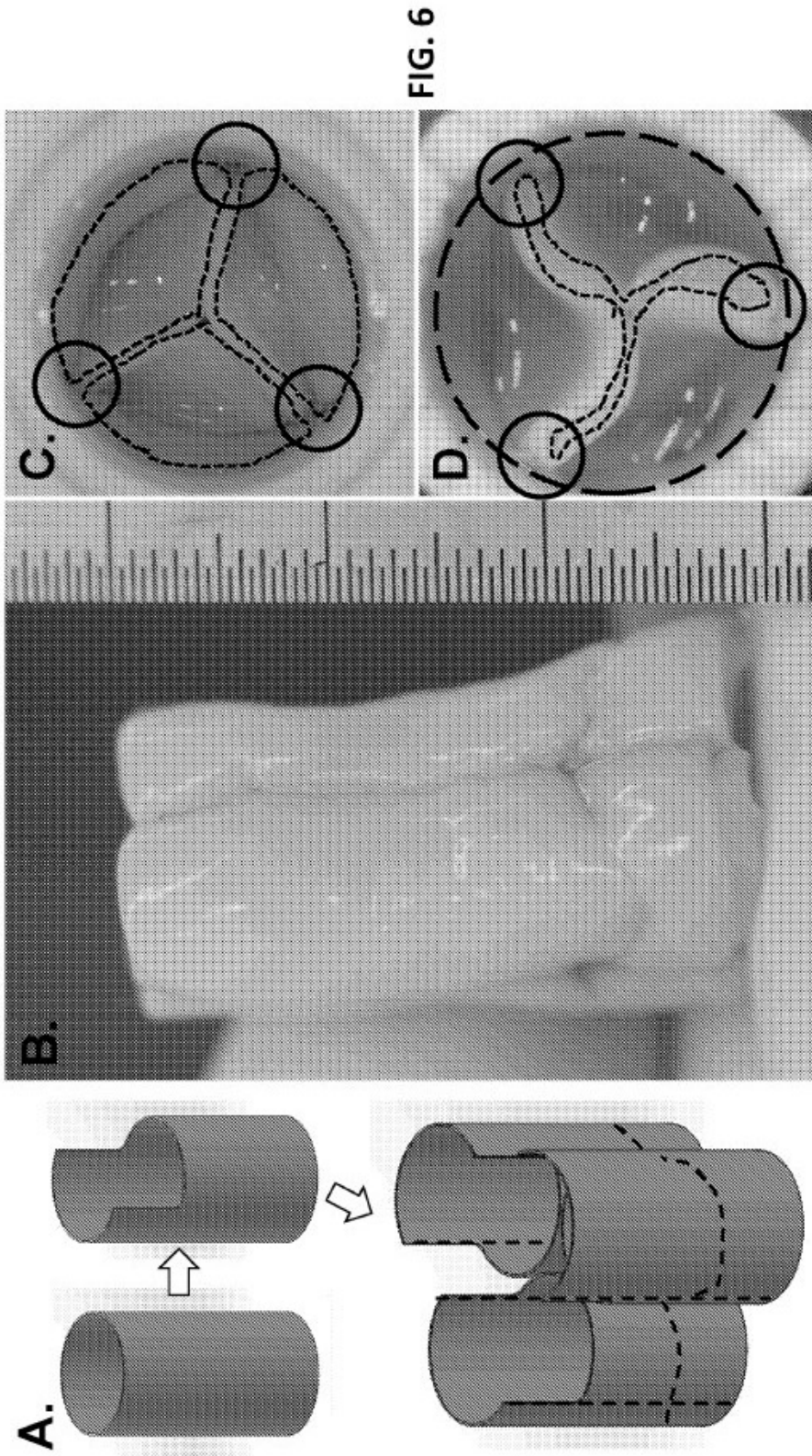
FIG. 4A



**FIG. 4B**



**FIG. 5**



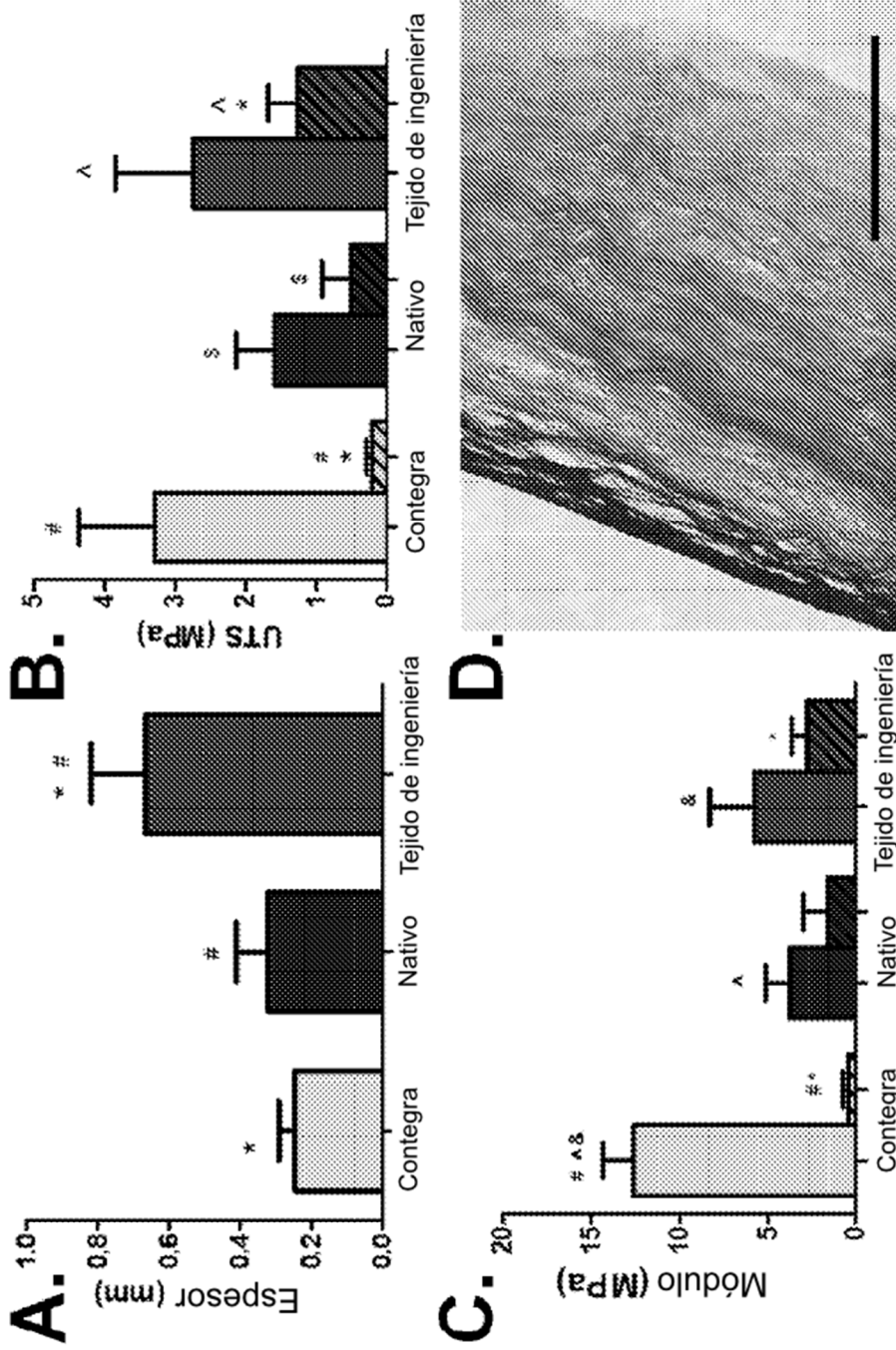
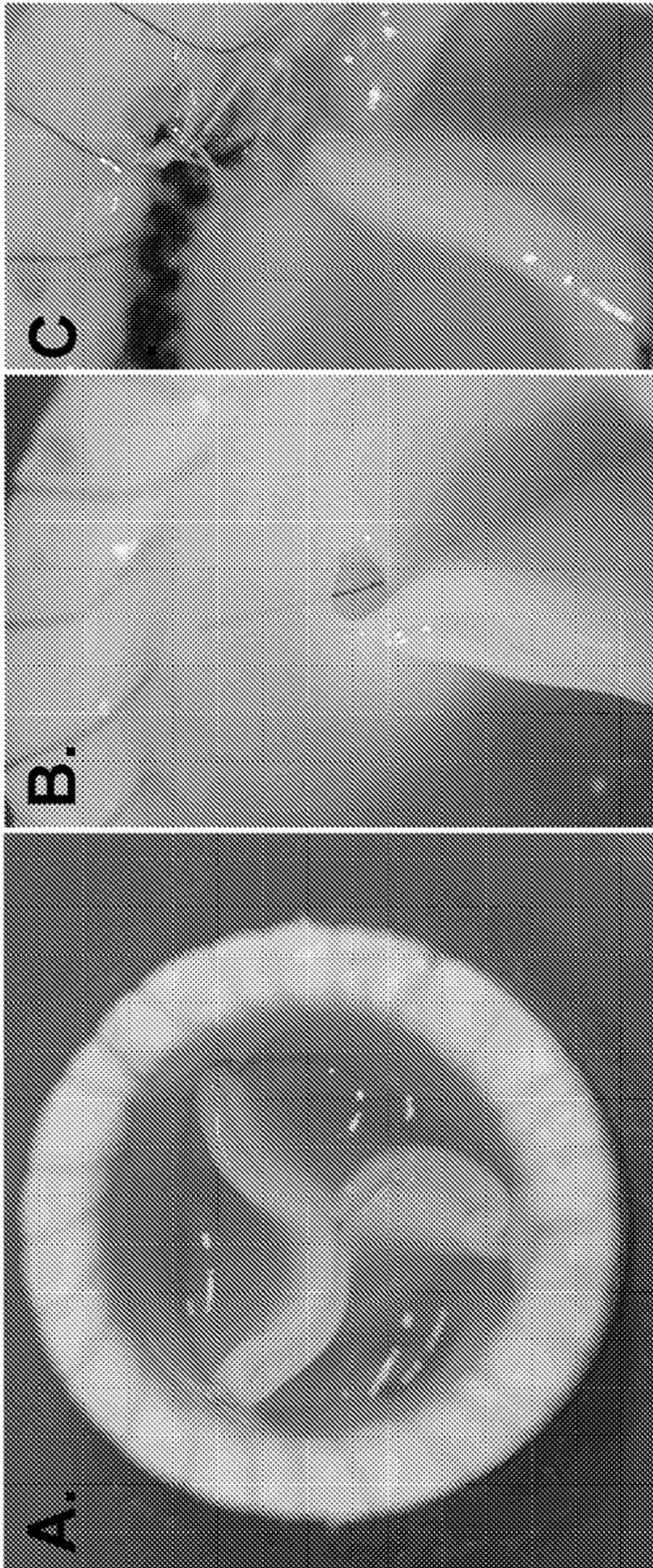


FIG. 7



**FIG. 8**

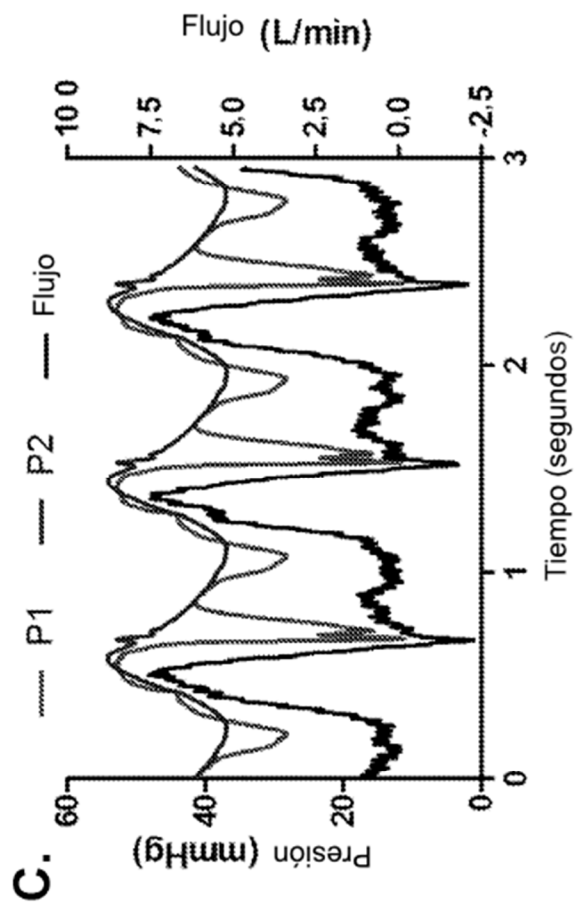
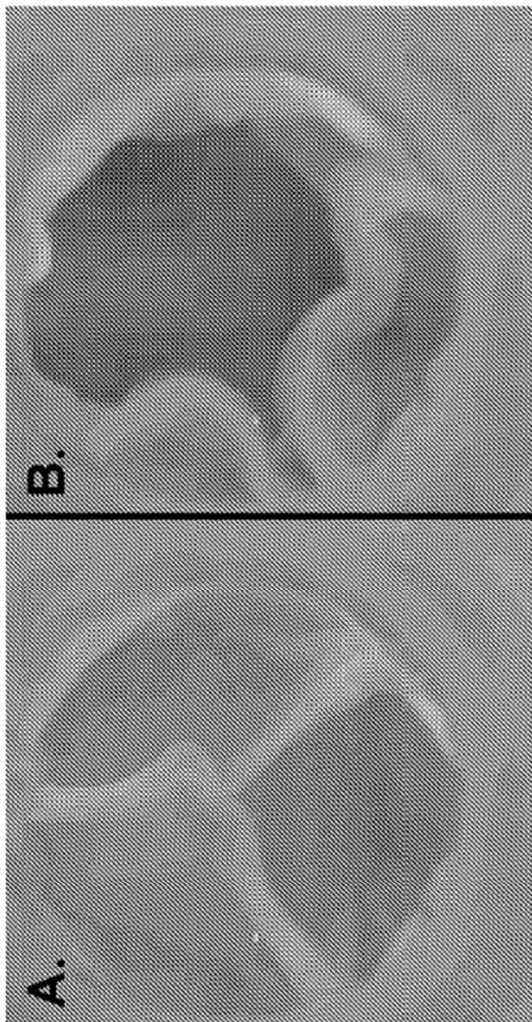


FIG. 9

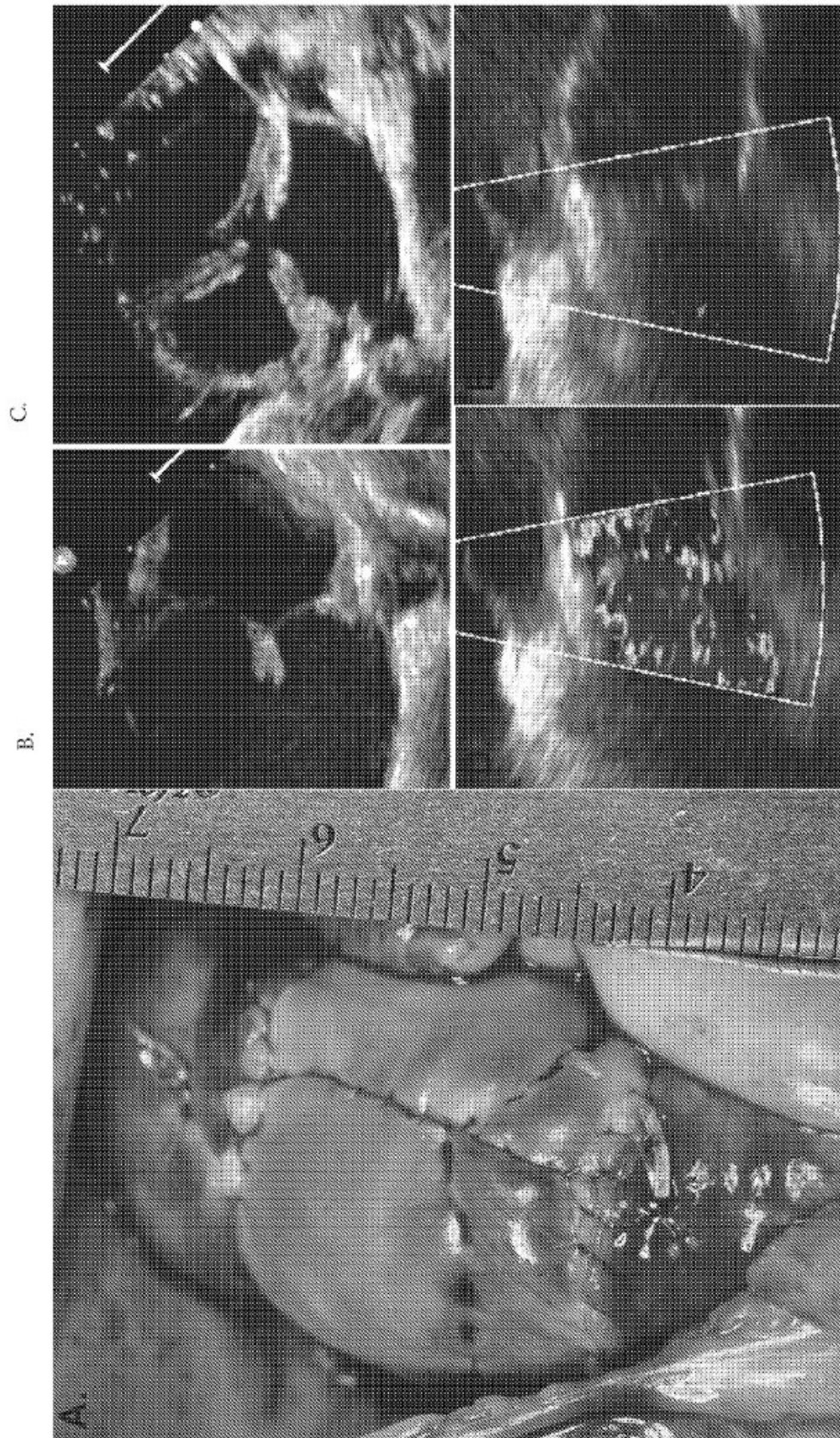


FIG. 10