

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 621 116**

51 Int. Cl.:

G01N 33/80 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.10.2010 PCT/FR2010/000683**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.05.2011 WO2011051574**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.10.2010 E 10798578 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.01.2017 EP 2488877**

54 Título: **Procedimiento de obtención de bioprótesis médicas implantables que tengan propiedades de calcificación reducidas**

30 Prioridad:

15.10.2009 FR 0957229

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

03.07.2017

73 Titular/es:

**SCHUSSLER, OLIVIER (100.0%)
8 bis rue berthelot
92150 Suresnes, FR**

72 Inventor/es:

SCHUSSLER, OLIVIER

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 621 116 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

Procedimiento de obtención de bioprótesis médicas implantables que tengan propiedades de calcificación reducidas

Ámbito de la invención

La presente invención se refiere al ámbito de las bioprótesis médicas implantables.

5 Técnica anterior

Las bioprótesis implantables son conocidas desde hace muchos años. Las mismas consisten principalmente en prótesis a base de tejido animal, que están destinadas a ser implantadas en el cuerpo de un paciente a fin de paliar el funcionamiento defectuoso de un tejido, en general de un conducto arterial o vascular o también de una válvula cardíaca.

10 Entre las bioprótesis cardíacas, se conocen especialmente las válvulas mitrales, las válvulas aórticas, las válvulas pulmonares, las válvulas tricúspides o también los implantes de restauración parietal. Entre las bioprótesis vasculares, se conocen los conductos aórticos o también los conductos pulmonares. Se conocen también otras diversas bioprótesis, tales como los ligamentos «artificiales» de rodilla, de tobillo o de hombro, etc.

15 Las bioprótesis implantables son realizadas a partir de tejidos animales, principalmente de tejido de origen bovino, porcino, ovino, o también de los tejidos que provienen de canguros, de focas, de camellos o de équidos. Se utilizan habitualmente tejidos animales que han sido fijados químicamente, que engloban las propias válvulas cardíacas, vasos, la piel, la duramadre, el pericardio, ligamentos, tendones, la submucosa digestiva etc.

20 Las bioprótesis implantables son utilizadas con éxito en el hombre desde hace al menos cuarenta años. En particular, las bioprótesis presentan numerosas ventajas, en comparación con las prótesis mecánicas. En particular, con las bioprótesis, no se encuentran los riesgos de trombosis observados con las prótesis mecánicas. Así, la utilización de bioprótesis ofrece a los pacientes un gran confort de vida y no necesitan tratamiento con la ayuda de agentes anticoagulantes susceptibles de provocar hemorragias, contrariamente a las prótesis mecánicas. Además, con la duración de implantación, la eficacia de funcionamiento de las bioprótesis puede disminuir progresivamente, pero sin rotura brusca como en las prótesis mecánicas, lo que limita considerablemente las consecuencias clínicas de un funcionamiento defectuoso para el paciente. Además, se dispone actualmente de técnicas quirúrgicas no invasivas de implantación de bioprótesis, en particular para la sustitución de las válvulas cardíacas.

25 Por las razones anteriormente descritas, las bioprótesis son actualmente las prótesis a las cuales se ha recurrido frecuentemente para paliar un funcionamiento defectuoso, especialmente cardíaco o vascular.

30 Las bioprótesis están prescritas habitualmente en el caso de las personas jóvenes, de la mujer embarazada y en las personas mayores.

Sin embargo, el principal inconveniente de las bioprótesis es su longevidad demasiado pequeña en el cuerpo del paciente, la cual raramente supera 15 años. Como media, una bioprótesis valvular aórtica tiene una duración de vida de servicio que va de 12 años a 14 años.

35 La principal causa de la alteración de las bioprótesis reside en su degenerescencia, debido a una calcificación progresiva, que aumenta el espesor del tejido bioprotético y altera sus propiedades mecánicas, lo que impide su buen funcionamiento y puede provocar su rotura, especialmente por desgarro (Tyers, y otros (1995) Ann Thorac Surg 60, S464-468; discusión S468-469; Bortolotti, y otros (1991). J Card Surg 6, 638-643; Grunkemeier, y otros (1995) J Heart Valve Dis 4, 49-55; Schoen, y otros (1984) Cardiol Clin 2, 717-739).

40 Debido a esta duración de vida de servicio limitada, la bioprótesis son implantadas prioritariamente en las personas que hayan superado la edad de 50 años. Éstas son inadecuadas para una implantación en los niños. La bioprótesis es el implante preferido para las personas que superen los 70 años (Ueyama, y otros (2002), Artif Organs 26, 1059-1062). En cambio, para las personas de menos de 70 años, cuya longevidad de vida es superior a la duración de vida de servicio de la bioprótesis, el recurso a la implantación de una bioprótesis presenta riesgos elevados (Shoen, y otros (1999) Founder's Award, 25th Annual Meeting of Society for Biomaterials, perspectives. Providence, RI, Abril 28-Mayo 2, 1999. J Biomed Mater Res 47, 439-465). Esto es aún más cierto en la persona joven y en el niño, en los cuales la degradación de la bioprótesis es particularmente acelerada (Willians, y otros (1982). J Thorac Cardiovasc Surg 84, 446-450; Rocchini y otros (1981). Circulation 64, 1162-171). En el recién nacido, la bioprótesis se altera en menos de 2 años. Desgraciadamente, no existe actualmente implante ideal adaptado para el niño.

50 Los diferentes factores que están implicados en la calcificación de las bioprótesis no están todos establecidos. Los factores incriminados son (i) la edad del paciente en el momento de la implantación (Bortolotti, y otros (1991). J Card Surg 6, 638-643; Jamieson, y otros (1988) Ann Thorac Surg 46, 155-162), (ii) la existencia de problemas metabólicos (tales como hipercalcemia, afección hipertiroidea, diabetes, enfermedad de Paget, etc), la administración parenteral de calcio, la insuficiencia renal crónica (Shoen, y otros (1988) J Biomed Mater Res 22, 11-36), (iii) factores alimentarios, (iv) la presencia de una infección, (v) la deshidratación del tejido en el momento de la colocación, (vi) el

estrés mecánico especialmente con distorsiones en la implantación o de anillo aórtico pequeño, (vii) la localización del sitio de implantación (aorta o mitral) (Jamieson, y otros (1995) *Ann Thorac Surg* 60, S235-240) (sitio desfavorable para la implantación en posición mitral con mayores tensiones mecánicas y régimen de presión sistólica durante la contracción ventricular mientras que a nivel aórtico el cierre de los sigmoides se hace en diástole durante la relajación cardiaca), (viii) la infección, (ix) la inflamación crónica (siendo la calcificación la evolución clásica de cualesquier proceso inflamatorio en el organismo (véase Tuberculosis, silicosis etc...), (x) el embarazo (Jamieson, y otros (1995) *Ann Thorac Surg* 60, S282-286; discusión S287), (xi) la fase de crecimiento en el niño (Silver, y otros (1980) *Am J Cardiol* 45 (685-689), y (xii) la antocoagulación inicial no óptima.

En el adolescente y el niño, es posible que un metabolismo fosfocálcico más elevado que en la persona mayor sea el origen de la calcificación particularmente acelerada de las bioprótesis. Sin embargo, Simionescu y otros (Simionescu, y otros (2004) *Expert Opin Biol Ther* 4, 1971-1985) han hecho un análisis de los numerosos trabajos científicos relativos a las calcificaciones de las bioprótesis en el niño en función de la adolescencia y el crecimiento. Aparece que la alteración de las bioprótesis tiene lugar de manera idéntica, antes o después de la fase de crecimiento, lo que sugiere que otros mecanismos que el simple metabolismo fosfocálcico son susceptibles de estar implicados.

A fin de superar los inconvenientes relacionados con la duración de vida de servicio limitada de las bioprótesis, han sido utilizadas diferentes técnicas.

En particular se ha intentado reducir las tensiones mecánicas a las que son sometidos los tejidos fijados de la bioprótesis, y mejorar las técnicas de implantación, de manera que se evite provocar distorsiones de la bioprótesis en el momento de su implantación.

Otras técnicas han consistido en mejorar las calidades mecánicas y/o químicas de las bioprótesis, perfeccionando especialmente los diversos tratamientos de fijación del tejido animal de partida. Han sido propuestos diferentes métodos para mejorar la técnica clásica de fijación por el glutaraldehído. Se ha propuesto por ejemplo una técnica de post-fijación por una solución que contiene una mezcla de Alcohol/Tween/Formol, siendo conocida esta técnica con el nombre de procedimiento de esterilización («sterilization procedure») (Carpentier, y otros (1984) (*Circulation*). Se ha propuesto también el tratamiento del tejido fijado con el glutaraldehído por un agente tensioactivante sin agente desnaturalizante (Solicitud de Patente US 2004/0093674). Más recientemente se han puesto a punto también técnicas que combinan un tratamiento por fijación con el glutaraldehído, un tratamiento adyuvante por un tensioactivante o agente desnaturalizante y un tratamiento físico por el calor, durante las etapas de fijación (Solicitudes de Patente US 2006/0217805; US 2005/0071926; US 2004/0030405; US 2003/0226208).

Para limitar la calcificación de las bioprótesis, se han descrito también tratamientos con agentes reticulantes, otros que el glutaraldehído (Ogle, y otros (2003) *Ann Thorac Surg* 75, 1267-1273; Chen, (1994) *Circulation* 90, 323-329, Vyavahare y otros (1997) *Circulation* 95, 479-488; Clark, y otros (2005) *Ann Thorac Surg* 79, 897-904).

Se han puesto en práctica igualmente técnicas que permiten la obtención de bioprótesis que tienen una geometría mejorada a fin de reducir las tensiones mecánicas experimentadas en el cuerpo de los pacientes. Igualmente, para las bioprótesis valvulares cardíacas, se han puesto a punto bioprótesis sin «estent», con el objetivo de limitar los gradientes de tensiones mecánicas a nivel de las comisuras (Hopkins, (2006) *Circulation* 114, 261-264; Schoen, y otros (1999) *Founder's Award, 25th Annual Meeting of the Society for Biomaterials, perspectives*. Providence, RI, Abril 28-Mayo 2, 1999. *J Biomed Mater Res* 47, 439-46).

El documento Balch y otros: «Blood Group Compatibility And Aortic Valve Allo Transplantation In Man» *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, Vol. 70, no 2, 1975, páginas 256-259, XP009133707, ISSN: 0022-5223) consiste en un estudio académico antiguo pero que implica un número muy importante de pacientes n = 385 concerniente a la compatibilidad de grupo sanguíneo en el alotransplante de válvulas aórticas en el hombre, y concierne por tanto al transplante de tejidos vivos y la utilización de tejidos no fijados en el marco de un alógrafo.

La exposición que precede ilustra el hecho de que ya han sido puestas a punto numerosas técnicas a fin de aumentar la duración de vida de servicio de las bioprótesis en el cuerpo del paciente, incluidas técnicas destinadas a reducir o retardar la calcificación del tejido bioprotético.

Sin embargo, existe siempre una necesidad en el estado de la técnica de la disponibilidad de bioprótesis que tengan una longevidad de funcionamiento incrementada en el cuerpo de los pacientes, en particular de bioprótesis que tengan propiedades reducidas de calcificación, muy especialmente para las bioprótesis destinadas a ser implantadas en el cuerpo de pacientes jóvenes.

Resumen de la invención

En particular, la presente invención está destinada a poner remedio a estos inconvenientes, facilitando un procedimiento de obtención de una bioprótesis médica fijada químicamente implantable en un paciente humano, que comprenda sustancias que han sido extraídas de tejido animal no-humano, que permita una longevidad de funcionamiento incrementada en el cuerpo de los pacientes, en particular utilizando una bioprótesis que tenga propiedades reducidas de calcificación.

Estos objetivos son conseguidos por un procedimiento de obtención de una bioprótesis médica fijada químicamente implantable en un paciente humano que tenga las características de la reivindicación 1.

En las reivindicaciones dependientes se reivindican formas de realización preferidas del procedimiento de obtención de una bioprótesis médica de la invención.

5 La presente invención concierne a un procedimiento de obtención de una bioprótesis médica implantable que comprenda sustancias que provienen de tejido animal no-humano, que comprende una etapa en el transcurso de la cual se selecciona positivamente una bioprótesis fijada químicamente para su implantación en el cuerpo del citado paciente cuando (i) el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH de la citada bioprótesis es compatible con (ii) el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH del citado paciente.

10 La presente invención concierne también a un procedimiento de obtención de una bioprótesis médica implantable que comprenda sustancias que provienen de tejido animal, que comprende las etapas siguientes:

a) determinar el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH de un paciente en cuyo cuerpo debe ser implantada una bioprótesis.

15 b) determinar el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH de una bioprótesis candidata, o en una pluralidad de bioprótesis candidatas, y

c) seleccionar positivamente una bioprótesis para su implantación en el cuerpo del citado paciente cuando (i) el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH de la citada bioprótesis es compatible con (ii) el tipo fenotipo en el sistema ABO/ABH del citado paciente.

siendo el orden de ejecución de las etapas a) y b) indiferente.

20 La invención se refiere también a un procedimiento de obtención de una bioprótesis médica implantable que comprenda sustancias que provienen de tejido animal, que comprende las etapas siguientes:

a) facilitar una pluralidad de bioprótesis cuyo tipo fenotipo en el sistema ABO/ABH es conocido, y

25 b) seleccionar positivamente, en el seno de una pluralidad de las citadas bioprótesis, al menos una bioprótesis para su implantación en el cuerpo del citado paciente cuando (i) el tipo fenotipo en el sistema ABO/ABH de la citada bioprótesis es compatible con (ii) el tipo fenotipo en el sistema ABO/ABH del citado paciente.

De manera general, una bioprótesis obtenida de acuerdo con un procedimiento tal como el definido anteriormente tiene propiedades de calcificación reducidas en el cuerpo de un paciente en el cual la misma debe ser implantada.

30 En ciertos modos de realización de las citadas bioprótesis, las sustancias que provienen de tejido animal contenidas en una bioprótesis son elegidas entre sustancias que provienen de mamífero, preferentemente un mamífero elegido entre un cerdo, un bovino, un ovino, un équido, un camello, una foca y un canguro.

35 Las citadas bioprótesis pueden ser elegidas especialmente entre las bioprótesis del tipo de válvula cardiaca, válvulas con estent, cualquier tejido cardiaco incluyendo las hojas valvulares, parches pericárdicos, sistemas de contención ventricular, injertos coronarios, prótesis vasculares con o sin estent, derivaciones venosas centrales, injertos vasculares híbridos o no, anillos valvulares, tejidos flexibles como tubo digestivo, piel, la vejiga, conductos vasculares, conductos o tejidos enrollados, filtros de vena cava inferior, acceso para hemodiálisis, sistema de drenaje para glaucoma ocular, estents o tubos endotráqueos-bronquiales, implantes penianos, implantes ortopédicos, implantes dentales, dispositivos maxilofaciales de reconstrucción, prótesis de tendones, prótesis de ligamentos, tubos de regeneración nerviosa, parches, tejidos reconstituidos, dispositivos de provisión de agentes activos (como se describe en la solicitud de Patente PCT/FR2008000785), las bioprótesis arteriales, las bioprótesis vasculares, las bioprótesis pulmonares, los tejidos de sustitución o de regeneración.

40 Las citadas bioprótesis pueden consistir especialmente en válvulas cardiacas elegidas entre las válvulas mitral, aórtica, pulmonar y tricúspide.

45 En modos de realización preferidos de un procedimiento de obtención de bioprótesis médicas de acuerdo con la invención, el citado procedimiento puede estar caracterizado además por que la selección de una bioprótesis es realizada de acuerdo con las reglas de compatibilidad siguientes:

- para los pacientes cuyo fenotipo ABO/ABH es el fenotipo A, se selecciona positivamente una prótesis, cuando el tipo fenotípico ABO/ABH de la citada bioprótesis es un fenotipo elegido entre A o H,

- para los pacientes cuyo fenotipo ABO/ABH es el fenotipo O, se selecciona positivamente una bioprótesis, cuando el tipo fenotípico ABO/ABH de la citada bioprótesis es el fenotipo H,

50 - para los pacientes cuyo fenotipo ABO/ABH es el fenotipo B, se selecciona positivamente una bioprótesis, cuando el tipo fenotípico ABO/ABH de la citada bioprótesis es un fenotipo elegido entre B (humano) o H,

- para los pacientes cuyo fenotipo ABO/ABH es el fenotipo AB, se selecciona positivamente una bioprótesis, cuando el tipo fenotípico ABO/ABH de la citada bioprótesis es un fenotipo elegido entre A, B o H, y

- para la totalidad de los pacientes, se selecciona positivamente una bioprótesis, cuando el tipo fenotípico ABO/ABH de la citada bioprótesis no es detectable.

5 En ciertos modos de realización, el citado procedimiento está caracterizado además por que,

- el fenotipo en el sistema Rhésus, respectivamente (i) para la o las bioprótesis candidatas y (ii) para el paciente, está determinado o es conocido, y

- una bioprótesis es seleccionada positivamente cuando está establecida además una compatibilidad para el tipo fenotípico en el sistema Rhésus.

10 En otros modos de realización, el citado procedimiento está caracterizado por que,

- el fenotipo en el sistema Lewis o secretor, respectivamente (i) para la o las bioprótesis candidatas y (ii) para el paciente, está determinado o es conocido, y

- una bioprótesis es seleccionada positivamente cuando se establece una compatibilidad para el tipo fenotípico en el sistema Lewis.

15 En el fenotipo del sistema Lewis, se pueden atribuir las bioprótesis de fenotipo le^x/le^y según los mismos criterios de selección que para el fenotipo A;

se pueden atribuir las bioprótesis de fenotipo le^x/le^{y+} según los mismos criterios de selección que para el fenotipo H;

se pueden atribuir bioprótesis de fenotipo le^{x+}/le^y según los mismos criterios de selección que para el fenotipo I (A-/H-/I+).

20 En ciertos modos de realización, se podrá proceder a una selección negativa retirando de manera sistemáticamente las bioprótesis de ciertos fenotipos ABH, como por ejemplo las bioprótesis de fenotipo I (A-/H-/I+).

Descripción detallada de la invención

25 La presente invención facilita nuevos procedimientos de obtención de bioprótesis implantables que tienen propiedades de calcificación reducidas cuando las mismas son implantadas en el cuerpo del paciente, y que por tanto tienen propiedades de longevidad incrementadas.

De manera sorprendente, se ha mostrado de acuerdo con la invención que se podía reducir, o diferir en el tiempo, el fenómeno de calcificación de las bioprótesis implantables si, previamente al acto quirúrgico de implantación, se procediera a la selección de una prótesis compatible con el paciente receptor.

30 De modo más preciso, se ha mostrado de acuerdo con la invención que se podía reducir el fenómeno de calcificación de una bioprótesis, si la citada bioprótesis implantada en el cuerpo de un paciente fuera previamente seleccionada según el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH, a fin de que el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH de la citada bioprótesis sea compatible con el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH del citado paciente.

35 Se ha mostrado en particular en los ejemplos que, después de una duración dada de implantación en vivo, una primera bioprótesis de un tipo fenotípico ABO/ABH compatible con el tipo fenotípico ABO/ABH del mamífero en el cual era implantada presentaba una acumulación ponderal de calcio casi cinco veces menor que una segunda bioprótesis de tipo fenotípico idéntico al primero, pero que no era compatible con el tipo fenotípico ABO/ABH del mamífero en el cual era implantada esta segunda bioprótesis.

40 En los ejemplos se ha mostrado, a partir de un análisis estadístico multivariado realizado con una muestra de 920 pacientes que han recibido una bioprótesis, que la compatibilidad del fenotipo ABO/ABH de la bioprótesis con el fenotipo ABO/ABH del paciente constituía el factor predictivo principal para la longevidad de una bioprótesis implantada. En particular, el mismo estudio estadístico multivariado muestra que, de manera sorprendente, el tipo de bioprótesis implantada no constituye un factor predictivo pertinente para su longevidad en el cuerpo del paciente.

45 Igualmente, se ha mostrado en los ejemplos que, en una muestra de 920 pacientes en los cuales se había implantado una prótesis, y en pacientes que tienen la mayor probabilidad de haber recibido una bioprótesis de un tipo fenotípico ABO/ABH compatible con su propio fenotipo ABO/ABH, la longevidad de las bioprótesis implantadas era de 2,33 años superior a la longevidad de las bioprótesis implantadas en los pacientes que tienen otros tipos fenotípicos ABO/ABH.

Se ha mostrado también que, en una muestra de 920 pacientes en los cuales se había implantado una bioprótesis, los pacientes que han conservado una bioprótesis más de 16 años eran los pacientes que tienen la mayor

probabilidad de haber recibido una bioprótesis de un tipo fenotípico ABO/ABH compatible con su propio tipo fenotípico ABO/ABH.

5 Se ha mostrado también que la compatibilidad fenotípica ABO/ABH entre la bioprótesis implantada y el paciente permitía reducir, o diferir en el tiempo, la calcificación de las bioprótesis implantadas. Así, en un estudio estadístico multivariado que se presenta en los ejemplos, las prótesis calcificadas se encontraban de manera preponderante en los pacientes que tienen la mayor probabilidad de haber recibido una bioprótesis de un tipo fenotípico ABO/ABH no compatible con su propio fenotipo ABO/ABH.

10 Se ha mostrado en particular que, en una población de pacientes en los cuales ha sido implantada una bioprótesis que ha tenido una longevidad de una duración superior a dieciséis años, todos los pacientes habían recibido una bioprótesis que tiene un tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH compatible con su propio fenotipo ABO/ABH. Se ha mostrado igualmente que la totalidad de los pacientes que han recibido una bioprótesis de gran longevidad de tipo fenotípico A, presentaban a su vez el tipo fenotípico compatible A.

15 De lo que precede resulta que puede obtenerse un aumento de la longevidad de las bioprótesis en el cuerpo de los pacientes cuando, previamente a su implantación, las bioprótesis son seleccionadas para su compatibilidad fenotípica en el sistema ABO/ABH con los pacientes que están destinados a recibirlas.

20 Estos resultados son tanto más sorprendentes cuanto que, en conocimiento del solicitante, no ha sido mostrada en la literatura ninguna relación entre los aspectos fisiológicos del metabolismo cálcico y los mecanismos inmunitarios. Se hace la precisión de que los funcionamientos defectuosos de las bioprótesis que sobrevienen con el tiempo no se parecen en modo alguno a los mecanismos de rechazo de injerto de órganos vascularizados, como lo testifica especialmente la duración de implantación que precede a los funcionamientos defectuosos, incluso precoces, que tienen lugar varios años después de la implantación de las bioprótesis, y para pacientes a los cuales no se ha administrado ningún tratamiento médico de acción inmunosupresora.

25 La presente invención concierne a un procedimiento de obtención de una bioprótesis médica implantable que comprenda sustancias que provienen de tejido animal, que comprende una etapa en el transcurso de la cual se selecciona positivamente una bioprótesis para su implantación en el cuerpo del citado paciente cuando (i) el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH de la citada bioprótesis es compatible con (ii) el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH del citado paciente.

El procedimiento anterior puede ser designado también «primer procedimiento» en la presente descripción.

30 La presente invención concierne también a un procedimiento de obtención de una bioprótesis médica implantable que comprenda sustancias que provienen de tejido animal, que comprende las etapas siguientes:

- a) determinar el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH de un paciente en cuyo cuerpo debe ser implantada una bioprótesis,
- b) determinar el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH de una bioprótesis candidata, o de una pluralidad de bioprótesis candidatas, y
- 35 c) seleccionar positivamente una bioprótesis para su implantación en el cuerpo del citado paciente cuando (i) el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH de la citada bioprótesis es compatible con (ii) el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH del citado paciente,

siendo el orden de ejecución de las etapas a) y b) indiferente, y teniendo la bioprótesis así obtenida propiedades de calcificación reducidas en el cuerpo de un paciente en el cual la misma debe ser implantada.

40 El procedimiento anterior puede ser designado también «segundo procedimiento» en la presente descripción.

La presente invención se refiere igualmente a un procedimiento de obtención de una bioprótesis médica implantable que comprenda sustancias que provienen de tejido que comprende las etapas siguientes:

- a) facilitar una pluralidad de bioprótesis cuyo tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH es conocido, y
- 45 b) seleccionar positivamente, en el seno de la pluralidad de las citadas bioprótesis, al menos una bioprótesis para su implantación en el cuerpo del citado paciente cuando (i) el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH de la citada bioprótesis es compatible con (ii) el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH del citado paciente,

teniendo la bioprótesis así obtenida propiedades de calcificación reducidas en el cuerpo de un paciente en el cual la misma debe ser implantada.

El procedimiento anterior puede ser designado también «tercer procedimiento» en la presente descripción.

50 De manera general, una bioprótesis obtenida por uno cualquiera de los procedimientos anteriores tiene propiedades de calcificación reducidas en el cuerpo de un paciente en el cual la misma está destinada a ser implantada.

Los procedimientos anteriores pueden ser designados colectivamente «el procedimiento» o «los procedimientos» en la presente descripción. El especialista en la materia comprende que los primero, segundo y tercer procedimientos anteriores consisten en alternativas de un procedimiento general de obtención de bioprótesis.

5 Por «bioprótesis médica implantable», «bioprótesis implantable» o «bioprótesis», se entiende de acuerdo con la invención una prótesis destinada a ser implantada en el cuerpo humano o animal, y que está fabricada parcialmente o en la totalidad con un tejido animal, habiendo sido tratado el citado tejido animal químicamente, biológicamente o físicamente, a fin de conferirle las características físicas, químicas o mecánicas apropiadas deseadas.

10 Las bioprótesis engloban las bioprótesis cardíacas, que pueden ser elegidas especialmente entre las válvulas mitrales, las válvulas aórticas, las válvulas pulmonares, las válvulas tricúspides o también los implantes de restauración parietal.

Las bioprótesis engloban igualmente las bioprótesis vasculares, que pueden ser elegidas especialmente entre los conductos aórticos o también los conductos pulmonares.

15 Las bioprótesis engloban igualmente los ligamentos artificiales, incluidos los ligamentos artificiales de rodilla, de tobillo o de hombro, las válvulas equipadas o no con un estent, un tejido cardíaco incluyendo las hojas valvulares, los parches pericárdicos, los sistemas de contención ventricular, los injertos coronarios, las prótesis vasculares con o sin estent, las derivaciones venosas centrales, los injertos vasculares híbridos o no híbridos, los anillos valvulares, tejidos flexibles como el tubo digestivo, la piel, la vejiga, conductos vasculares, conductos o tejidos enrollados, filtros de vena cava inferior, accesos para hemodiálisis, los sistemas de drenaje para glaucoma ocular, los estents o tubos endotraqueo-bronquiales, los implantes penianos, los implantes ortopédicos, los implantes dentales, los dispositivos maxilofaciales de reconstrucción, la prótesis de tendones, las prótesis de ligamentos, los tubos de regeneración nerviosa, los parches, los tejidos reconstituidos, los dispositivos de provisión de agentes activos (como se describe por ejemplo en la solicitud de Patente PCT/FR2008000785),

20 En lo que sigue de la presente descripción se describen diversos tipos de bioprótesis que pueden ser utilizadas en el procedimiento de obtención de acuerdo con la invención, haciendo referencia en particular a los documentos del estado de la técnica que les divulgan.

25 Como sabe el especialista en la materia, las «sustancias» que provienen del tejido animal varían según el tipo de bioprótesis considerada. Las citadas «sustancias» engloban a su vez especialmente tejidos animales, incluido tejido cardíaco, tejido vascular, piel, ligamentos, tendones y tejido que proviene de la submucosa digestiva. El tejido cardíaco engloba las válvulas cardíacas y los tejidos cardíacos parietales. El tejido vascular engloba el tejido venoso y el tejido arterial, incluidos los conductos de los vasos, los conductos venosos y los conductos arteriales.

30 En ciertas bioprótesis implantables, las «sustancias» que provienen del tejido animal engloban uno o varios de los componentes de la matriz extracelular, tal como el colágeno.

35 Los animales de los que provienen las citadas sustancias pueden también variar considerablemente según el tipo de bioprótesis considerada. En general, se utilizan sustancias que provienen de tejido de mamífero. Generalmente, se utilizan sustancias que provienen de tejido de un mamífero elegido entre un cerdo, un bovino, un ovino y un équido. Las bioprótesis más corrientes, en particular las bioprótesis cardíacas, son realizadas a partir de tejido que proviene de porcinos y de bovinos, preferentemente de cerdo y de buey.

40 Así, en un procedimiento de obtención de una bioprótesis médica implantable de acuerdo con la invención, las sustancias que provienen de tejido animal contenidas en una bioprótesis son elegidas entre las sustancias que provienen de mamífero, preferentemente un mamífero elegido entre un cerdo, un bovino, un ovino y un équido.

Por «paciente», se entiende de acuerdo con la invención un humano o un mamífero no-humano, lo que engloba especialmente los perros, los gatos y los caballos.

45 Por «sistema ABO/ABH», se entiende el sistema de grupo sanguíneo designado «ABO» y «ABH» en el hombre y «ABH» en los animales, en particular en los porcinos. Los antígenos del sistema ABO/ABH están expresados en la mayoría de los tejidos vivos y no solamente en los glóbulos rojos, como se detallará esto más adelante en la presente descripción. Los antígenos del sistema ABO/ABH pueden también ser secretados y por tanto pueden ser encontrados en forma libre circulante o bien en forma adsorbida en sustancias corporales o membranas celulares. El fenotipo de los tejidos en el sistema ABO/ABH pertenece generalmente a uno de los cuatro grupos mayores entre respectivamente los grupos A, B, AB y O. Como se detallara más adelante, ciertos individuos pueden tener otro fenotipo, estadísticamente menor en una población de individuos, el tipo fenotípico Bombay.

50 Las técnicas para determinar el tipo fenotípico de un paciente, en el sistema ABO/ABH son bien conocidos por el especialista en la materia. Por ejemplo, se utilizan habitualmente pruebas serológicas en las cuales se determina la presencia o la ausencia de anticuerpos anti-A y anti-B en el paciente. Se recuerda que:

55 - en los individuos que tienen el tipo fenotípico A se determina la presencia de anticuerpos anti-B y la ausencia de anticuerpos anti-A,

- en los individuos que tienen el tipo fenotípico B, se determina la presencia de anticuerpos anti-A y la ausencia de anticuerpos anti-B,

- en los individuos AB, se determina la ausencia a la vez de anticuerpos anti-A y de anticuerpos anti-B,

5 - en los individuos de tipo fenotípico O, se determina la presencia a la vez de anticuerpos anti-A y de anticuerpos anti-B.

De manera habitual, las pruebas de determinación del tipo fenotípico de un individuo en el sistema ABO/ABH son realizadas según técnicas de inmuno-detección bien conocidas por el especialista en la materia, especialmente:

- por determinación del tipo fenotípico de los glóbulos rojos del paciente que haya que probar, con la ayuda de anticuerpos anti-A, de anticuerpos anti-B y en su caso también de anticuerpos anti-H, o

10 - por determinación de la presencia o la ausencia de anticuerpos anti-A, o de anticuerpos anti-B, con la ayuda de un soporte sobre el cual están inmovilizados antígenos de fenotipo A o antígenos de fenotipo B, por ejemplo glóbulos rojos de fenotipo conocido, o también soportes adaptados para las pruebas inmunológicas sobre las cuales han sido inmovilizados los citados antígenos de acuerdo con la técnicas conocidas.

15 Para determinar el tipo fenotípico de una bioprótesis médica implantable en el sistema ABO/ABH, se pueden poner en práctica técnicas de pruebas inmunológicas en sí conocidas, que comprenden una etapa en el transcurso de la cual se ponen en contacto anticuerpos anti-A o anticuerpos anti-B o anticuerpos anti-H (anti-H1, anti-H2) o anticuerpos anti-I, anti-Ie^x/anti-Ie^y, lectinas (entre otros lectina anti-H y/o anti-UE1, Ulex Europaeusi, lectina anti-I como PNA Arachis Hypogaea (ref. Oriol R. Transplant International 1994), con la superficie de la citada bioprótesis, o más generalmente con el material que proviene de tejido animal contenido en la citada bioprótesis.

20 Para determinar el tipo fenotípico de una bioprótesis médica implantable en el sistema ABO/ABH, se pueden poner en práctica también técnicas de determinación del genotipo correspondiente al tipo fenotípico, en reacciones de amplificación del ADN que utilizan ácidos nucleicos cebadores apropiados, siendo a continuación caracterizado el ADN eventualmente amplificado por detección con la ayuda de sondas nucleotídicas adaptadas. Estas técnicas de detección genotípica son bien conocidas por el especialista en la materia y son practicadas actualmente en los laboratorios de análisis médicos, a la vez en los hospitales y en los laboratorios de análisis de práctica privada.

25 Las reglas de «compatibilidad» respectivamente del tipo fenotípico ABO/ABH del paciente y de tipo fenotípico ABO/ABH de una bioprótesis son las que se utilizan habitualmente en las técnicas de determinación de compatibilidad ABO/ABH en serología.

30 Como se muestra en los ejemplos, las bioprótesis obtenidas de acuerdo con el procedimiento anterior tienen una longevidad en el cuerpo de los pacientes que como media es significativamente superior a la longevidad media de las prótesis que actualmente son implantadas habitualmente. Sin querer estar vinculado a ninguna teoría, el solicitante piensa que la diferencia de longevidad observada en los ejemplos entre (i) las bioprótesis compatibles con el paciente y (ii) las bioprótesis no compatibles con el paciente es verdaderamente muy inferior a la que se observará en la práctica, en el marco de estudios clínicos dirigidos. Esta propiedad de longevidad de la bioprótesis en el cuerpo del paciente aparece ya como un factor predominante actual en la elección de atribución de las bioprótesis, que va mucho más allá de todos los otros factores conocidos.

35 Gracias al procedimiento de la invención, a partir de ahora es posible realizar implantaciones de bioprótesis limitando, en la población de los pacientes tratados, la incidencia de las alteraciones precoces de las bioprótesis, que sobrevienen tras una duración de implantación inferior a siete años.

40 En el primer procedimiento de obtención de una bioprótesis médica implantable de acuerdo con la invención, la característica esencial reside en la etapa técnica de selección positiva de una bioprótesis cuando (i) el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH de la citada bioprótesis es compatible con (ii) el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH del citado paciente.

45 La puesta en práctica del citado procedimiento implica que el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH del citado paciente ha sido determinado previamente.

En ciertos modos de realización del citado primer procedimiento, el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH de la citada bioprótesis es determinado igualmente previamente, de manera que se permita la etapa técnica de selección positiva de una bioprótesis que sea compatible con el paciente.

50 En otros modos de realización del citado primer procedimiento, se utilizan bioprótesis «universales», en las cuales el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH es indetectable o también en las cuales el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH es de tipo O, en cuyo caso, la etapa técnica de selección positiva comprende esencialmente el hecho de determinar que el conjunto de bioprótesis en cuyo seno debe ser efectuada la selección está bien indicado como siendo de tipo «ABO/ABH indetectable» o bien de tipo «O».

Simétricamente, el especialista en la materia comprende que la etapa técnica de selección positiva implica necesariamente la realización de una etapa técnica de selección negativa con respecto a una bioprótesis cuyo tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH no es compatible con el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH del paciente en cuyo cuerpo debe ser implantada una bioprótesis médica.

- 5 Se hace la precisión de que las características técnicas descritas en lo que sigue para los otros procedimientos de obtención de una bioprótesis médica son directamente traspasables a la puesta en práctica del primer procedimiento anterior, siempre que estas características se refieran a una etapa de selección positiva de una bioprótesis.

10 En el segundo procedimiento de una bioprótesis médica implantable de la invención, que comprende tres etapas esenciales, el orden de ejecución de las etapas a) y b) es indiferente. Basta que, en el momento de realizar la etapa c) de selección de una bioprótesis compatible con el paciente al cual la misma está destinada, se reconozcan a la vez el tipo fenotípico del citado paciente y el tipo fenotípico de la citada bioprótesis, en el sistema ABO/ABH.

15 En ciertos modos de realización del segundo procedimiento, la etapa a) de determinación del tipo fenotípico del paciente puede haber sido realizada hasta varios años antes que la etapa b) de determinación del tipo fenotípico de la citada bioprótesis, lo que no presenta inconveniente, debido a que el tipo fenotípico de un mamífero humano o no-humano permanece inalterado a lo largo de toda su vida.

20 En ciertos modos de realización del segundo procedimiento, la etapa b) puede haber sido realizada previamente a la etapa a), por ejemplo en las situaciones en las cuales un lote de bioprótesis, para las cuales se ha determinado el tipo fenotípico ABO/ABH, ha sido fabricado en un tiempo determinado, hasta varios meses antes del acto quirúrgico de implantación, y que el tipo fenotípico del paciente receptor ha sido determinado posteriormente, por ejemplo poco tiempo antes de que haya sido tomada la decisión médica de implantación de una bioprótesis.

25 De acuerdo con el tercer procedimiento de obtención de una bioprótesis médica implantable definido anteriormente, se facilita una pluralidad de bioprótesis cuyo tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH ha sido determinado previamente y en consecuencia es conocido. De acuerdo con este procedimiento, el tipo fenotípico del paciente receptor, en el sistema ABO/ABH, ha sido determinado igualmente con anterioridad y en consecuencia es igualmente conocido. La etapa esencial del tercer procedimiento de la invención consiste, por tanto, como para el primer procedimiento anterior, en seleccionar, en el seno de la pluralidad de bioprótesis, al menos un a bioprótesis, cuyo tipo fenotípico ABO/ABH sea compatible con el tipo ABO/ABH del paciente receptor.

30 En ciertos modos de realización de un procedimiento de obtención de una bioprótesis médica implantable de acuerdo con la invención, el hecho de que el tipo fenotípico ABO/ABH de la citada bioprótesis esté determinado, puede ser materializado por el hecho de que el tipo fenotípico ABO/ABH de la citada bioprótesis, o bien el tipo fenotípico ABO/ABH del lote de fabricación de bioprótesis a cual la misma pertenece, sea consignado por el fabricante. En ciertos modos de realización, el tipo fenotípico ABO/ABH de la bioprótesis puede estar consignado en el envase de la citada bioprótesis, o bien en el envase de un lote que contiene una pluralidad de bioprótesis del mismo tipo fenotípico ABO/ABH. En otros modos de realización, el tipo fenotípico ABO/ABH de la bioprótesis puede estar consignado en un documento que acompañe al envase de la bioprótesis o bien en el envase de un lote que comprenda una pluralidad de bioprótesis. De acuerdo con otros modos de realización, el tipo fenotípico ABO/ABH de la bioprótesis está consignado en un documento localizado en el fabricante, o en un intermediario comercial que facilite las bioprótesis. De acuerdo con estos modos de realización, el médico puede entonces, con el pedido de una bioprótesis, declarar el fenotipo ABO/ABH del paciente al proveedor, que puede ser el fabricante, a fin de que el citado proveedor le dirija una bioprótesis compatible con el paciente receptor, siendo elegida la bioprótesis compatible por el citado proveedor a partir de los datos de fenotipo ABO/ABH de las bioprótesis de los que el mismo tiene conocimiento. Todavía en otros modos de realización, el médico puede tener acceso de manera distante a la información de tipo fenotípico ABO/ABH de una bioprótesis, por ejemplo por un acceso en línea a esta información del fabricante o de cualquier intermediario acreditado por el fabricante.

45 Lo que se ha descrito anteriormente a propósito de la disponibilidad de la información del tipo fenotípico ABO/ABH de una bioprótesis, es generalizable a la información del tipo fenotípico de la citada bioprótesis, en otros sistemas de compatibilidad conocidos, en los modos de realización de la invención en los cuales el tipo fenotípico en uno o varios de estos otros sistemas de compatibilidad conocidos constituye un criterio de selección de la citada bioprótesis.

50 Si se conoce un fenotipo de una colonia, de un grupo o de una raza de cerdos, no será necesario investigar el fenotipo de cada bioprótesis, sino que será suficiente la atribución de la bioprótesis en función del solo fenotipo del paciente

En ciertos modos de realización de los procedimientos de obtención de bioprótesis de acuerdo con la invención, las citadas bioprótesis son elegidas entre las bioprótesis de tipo válvula cardiaca, las bioprótesis arteriales, las bioprótesis vasculares, las bioprótesis pulmonares, los tejidos de sustitución o de regeneración.

55 Lo tejidos de sustitución o de regeneración engloban especialmente los diversos tejidos de la piel, como la epidermis y la dermis

En ciertos modos de realización de los procedimientos de obtención de bioprótesis de acuerdo con la invención, las citadas bioprótesis consisten en bioprótesis valvulares elegidas entre las válvulas mitral, aórtica, pulmonar y tricúspide.

5 En ciertos modos de realización de los procedimientos de la invención, el tipo fenotípico ABO/ABH de una bioprótesis es idéntico al tipo fenotípico del animal del cual provienen las sustancias titulares contenidas en la bioprótesis.

En otros ciertos modos de realización de los procedimientos de la invención, el tipo fenotípico ABO/ABH de una bioprótesis es distinto del tipo fenotípico del animal del cual provienen las sustancias titulares contenidas en la bioprótesis.

10 Por ejemplo, en el procedimiento de fabricación de la bioprótesis, ciertos tratamientos químicos, biológicos o físicos del tejido animal de partida son susceptibles de alterar sustancialmente los antígenos ABO/ABH, que son azúcares, de tal modo que los antígenos ABO/ABH inicialmente expresados por el tejido animal se hagan indetectables y que el tipo fenotípico ABO/ABH de la citada bioprótesis sea en consecuencia determinado como siendo de fenotipo H.

15 En otros ejemplos, ciertos tratamientos químicos, biológicos o físicos del tejido animal de partida, durante el procedimiento de fabricación de la bioprótesis, han alterado solo parcialmente los antígenos ABO/ABH, siendo en consecuencia determinado finalmente el tipo fenotípico ABO/ABH como siendo de fenotipo H o I.

20 Por las razones anteriores, es esencial que, en los procedimientos de la invención, sea determinado el tipo fenotípico ABO/ABH de la bioprótesis final, en su forma tal como la misma será implantada en el paciente, y no solamente el tipo fenotípico del animal del que provienen las sustancias titulares que la citada bioprótesis comprende.

En ciertos modos de realización de los procedimientos de obtención de una bioprótesis médica implantable tales como los definidos en la presente descripción, la selección de una bioprótesis, en la etapa única del primer procedimiento, en la etapa c) del segundo procedimiento o también en la etapa b) del tercer procedimiento, es realizada según las reglas de compatibilidad siguientes:

25 - para los pacientes cuyo fenotipo ABO/ABH es el fenotipo A, se selecciona positivamente una bioprótesis, cuando el tipo fenotípico ABO/ABH de la citada bioprótesis es un fenotipo elegido entre A o H,

- para los pacientes cuyo fenotipo ABO/ABH es el fenotipo O, se selecciona positivamente una prótesis, cuando el tipo fenotípico ABO/ABH de la citada bioprótesis es el fenotipo H,

30 - para los pacientes cuyo fenotipo ABO/ABH es el fenotipo B, se selecciona positivamente una bioprótesis, cuando el tipo fenotípico ABO/ABH de la citada bioprótesis es un fenotipo elegido entre B (humano) o H,

- para los pacientes cuyo fenotipo ABO/ABH es el fenotipo AB, se selecciona positivamente una bioprótesis, cuando el tipo fenotípico ABO/ABH de la citada bioprótesis es un grupo elegido entre A, B o H, y

- para la totalidad de los pacientes, se selecciona positivamente una prótesis, cuando el tipo fenotípico ABO/ABH de la citada bioprótesis no es detectable.

35 De acuerdo con un primer aspecto de los modos de realización anteriores, los procedimientos de la invención están caracterizados por que las bioprótesis en las cuales el tipo fenotípico ABO/ABH no es detectable son elegidas entre (i) las bioprótesis que comprenden sustancias que provienen de un animal que no expresa antígeno del sistema ABO/ABH, incluido un animal modificado genéticamente y (ii) las bioprótesis que hayan recibido uno o varios tratamientos químico, biológico, físico o enzimático que hayan provocado una alteración de los antígenos del sistema ABO/ABH.

40 Los animales que no expresan antígeno del sistema ABO/ABH son preferentemente los animales que han sido modificados genéticamente, en particular los animales cuyo ADN genómico ha sido modificado artificialmente por las técnicas de recombinación genética, a nivel de los genes codificantes de las enzimas que catalizan la síntesis de los azúcares constitutivos de los antígenos del sistema ABO/ABH. Técnicas de obtención de animales modificados genéticamente de este tipo están descritas por ejemplo en la Patente US 7.126.039, pero para una aplicación para la provisión de órganos vascularizados animales para una implantación en el hombre sin inducir rechazo vascular hiperagudo del injerto heterólogo.

45 Los animales modificados genéticamente engloban los animales denominados «knock-out» para los genes implicados en la síntesis de los antígenos ABO/ABH. Estos pueden ser animales transgénicos para el sistema ABO/ABH humano, especialmente para el gen codificante de la enzima, la enzima fucosiltransferasa, o también una glicosiltransferasa, tal como la Glicosiltransferasa A1 y la Glicosiltransferasa B. Estos animales modificados genéticamente pueden ser también knock-out para otros residuos azucarados u otros antígenos implicados en el rechazo para la enzima alfa-Galactosiltransferasa, enzima mayor del rechazo hiperagudo xenogénico.

En ciertos modos de realización de los procedimientos de obtención de una bioprótesis médica implantable de acuerdo con la invención, las reglas de compatibilidad de la bioprótesis con el paciente receptor pueden ser afinadas todavía añadiendo una exigencia de compatibilidad igualmente en el sistema serológico Rhésus bien conocido por el especialista en la materia.

5 Así, en ciertos modos de realización de los procedimientos de la invención, estos procedimientos están caracterizados además por que,

- el fenotipo en el sistema Rhésus, respectivamente (i) para la o las bioprótesis candidatas y (ii) para el paciente, está determinado o es conocido, y

10 - una bioprótesis es seleccionada positivamente cuando se establece además una compatibilidad para el tipo fenotípico en el sistema Rhésus.

Para el tipo fenotípico en el sistema Rhésus, se seleccionará positivamente una bioprótesis de tipo fenotípico Rhésus positivo, cuando el paciente receptor es de tipo fenotípico Rhésus positivo.

Para el tipo fenotípico en el sistema Rhésus, se seleccionará positivamente una bioprótesis de tipo fenotípico Rhésus negativo, cuando el paciente receptor es de tipo fenotípico Rhésus positivo o Rhésus negativo.

15 A título ilustrativo, se describen en lo que sigue ejemplos específicos de reglas de compatibilidad entre la bioprótesis y el paciente receptor

20 Para los pacientes del grupo O, se evitarán los fenotipos de bioprótesis de tipo A y también preferentemente I. Se elegirán preferentemente las bioprótesis de fenotipo A-/H+/I- seleccionando en segunda posibilidad, a falta de una alternativa mejor, A-/H+/I+. Así pues, se podrán proponer a los pacientes del grupo O bioprótesis de fenotipo H como se describió anteriormente.

Para los pacientes del grupo B, se evitarán las bioprótesis de fenotipo A o I. Se elegirán por tanto bioprótesis de fenotipo A-/H+/I- o en segunda intención A-/H+/I+. Así pues, se podrá proponer a los pacientes del grupo B bioprótesis de fenotipo H o fenotipo B humano como se describió anteriormente.

Los pacientes del grupo AB pueden recibir bioprótesis de fenotipo H, A animal o humano o B humano.

25 Para los pacientes del grupo Bombay, se evitarán las bioprótesis de fenotipos H, B y AB. Estos pacientes podrán beneficiarse de bioprótesis en las cuales se habrá disminuido de manera global la expresión de los residuos azucarados.

30 De manera general se evitarán las bioprótesis de fenotipo I asociado. Hay dos tipos de bioprótesis del grupo I: las bioprótesis A-/H-/I+ y las bioprótesis en las que el antígeno I está asociado al antígeno A o al antígeno H. Es posible distinguir estos dos grupos debido a la diferencia de sensibilidad para la detección del antígeno I entre el anticuerpo anti-I y la lectina PNA. El anticuerpo anti-I reconoce el anticuerpo anti-I en los grupos A, H o I mientras que en la mayoría de los casos, la lectina PNA no reconoce el antígeno I cuando las especificidades A o H están expresadas. Es posible por tanto eliminar los fenotipos A-/H-/I- biocompatibles cuando el fenotipo es reconocido a la vez por la lectina y el anti-I.

35 Todavía en otros modos de realización de los procedimiento de la invención, esto procedimientos están caracterizados por que,

- el fenotipo en el sistema Lewis, respectivamente (i) para la o las bioprótesis candidatas y (ii) para el paciente, está determinado o es conocido, y

40 - una bioprótesis es seleccionada positivamente cuando está establecida una compatibilidad para el tipo fenotípico en el sistema Lewis.

Los fenotipos Lewis y Secretor de los pacientes están correlacionados con la presencia de un gen FUT2 que es funcional. Este gen codifica igualmente para el núcleo H de tipo 2. Podrá ser interesante igualmente proponer en función de especificidad Lewis o Secretora de los pacientes, cerdos más bien de tipo H1 o más bien de tipo H2.

45 Existe generalmente una correlación directa entre el fenotipo A, H e I de las bioprótesis y otro antígeno del sistema ABH como por ejemplo en el sistema Lewis. Los animales de fenotipo A+ (A+/H+/I- o A+/H-/I+) son generalmente de fenotipo le^x/le^y . Los animales de fenotipo H (H+/A-/I+ o H+/A-/I-) son generalmente de fenotipo le^{y+}/le^x . Los animales de fenotipo I+ (A-/H-/I+) son generalmente le^{x+}/le^y . Por tanto, cuando se atribuye una bioprótesis de fenotipo:

- A a un paciente, esto viene a ser atribuirle una bioprótesis de tipo le^x/le^y

50 - H a un paciente, esto viene a ser atribuirle una bioprótesis de tipo le^{y+}/le^x .

- I a un paciente, esto viene a ser atribuirle una bioprótesis de tipo le^{x+}/le^{y-} .

Así, en ciertos casos es posible, en la atribución, sustituir un sistema del grupo ABO/ABH por una combinación de otro grupo del sistema ABO/ABH o cualquier variable biológica vinculada a este sistema. Hay que observar que los animales que tienen el antígeno H⁺ no tienen generalmente el antígeno I- (en aproximadamente el 80% de los casos).

En ciertos modos adicionales de realización de los procedimientos de obtención de una bioprótesis médica implantable, de acuerdo con la invención, se selecciona positivamente o negativamente una bioprótesis que, además de su compatibilidad en el sistema ABO/ABH, sea igualmente compatible con el tipo fenotípico del paciente en otros sistemas de compatibilidad, englobando estos otros sistemas de compatibilidad los sistemas MNS, P, Lutheran, Kell, Duffy, Kidd, Diégo, Cartwright, Xg, Scianna, Dombrock, Colton, Lansteiner-Wiener, Chido/Rodgers, Hh, Kx, Gerbich, Cromer, Knops, Indian, OK, RAPH, John Milton Hagen, li, Globoside y GIL. (véase Hosoi, E. (2008) Biological and clinical aspects of ABO blood group system. J Med Invest 55, 174-182).

En ciertos otros modos adicionales de realización de los procedimientos de obtención de una bioprótesis médica implantable de acuerdo con la invención, se selecciona positivamente una bioprótesis que, además de su compatibilidad en el sistema ABO/ABH, sea igualmente compatible con el tipo fenotípico del paciente en otros sistemas de compatibilidad, englobando estos otros sistemas de compatibilidad los sistemas Rhésus (CED) (genes RHD, CE) (41), tipo de núcleo H para los grupos A, B, O o AB por ejemplo (tipo H1, H2, H3, H4) (genes FUT), Sécréter (SE, se) (secretor/no secretor), Lewis (Lea, Leb, Lex) (genes (FUT), Kell (gen KEL), Kidd (gen JK), Lutheran (gen LU) MNS, Duffy, Tn, T, Cad/sd, diego (DI) (gen AE1), Cartwright (YT) (gen ACHE), Xg (XG) (gen XG), Scianna (SC) (gen SC), Dombrock (DO) (Gen DO), Colton (CO) (gen AQP1), LW (LW) (gen LW), Chido/Rodgers (CH/RG) (gen CH/RG), Kx (XK) (gen XK), Gerbich (GE) (gen GYPC), Cromer (CROM) (gen DAF), Knops (KN) (gen CR1), Indian (IN) (gen CD44), MN (glicoforina) Pk, etc... para revisión E. Hosoi (2008).

Se detallan a continuación otras características de la invención que pueden ser tomadas aisladamente o en combinación, de acuerdo con los modos de realización considerados.

Descripción detallada de los sistemas de compatibilidad

Los antígenos de los grupos sanguíneos son residuos azucarados que están expresados en la superficie de los glóbulos rojos. Todos los antígenos eritrocitarios no son forzosamente sintetizados por los eritroblastos. Los antígenos Lewis por ejemplo son adsorbidos en los hematíes a partir de glicolípidos transportados en el plasma. Los antígenos más conocidos son los antígenos ABO y Rhésus pero existen otros antígenos de grupos sanguíneos como los antígenos Lewis, Kell, Duffy, Tn, T, Cad/sd, Pk, P etc... para revisión E Holsoi (29) 2008. Hasta recientemente, el reconocimiento del grupo ABO en el hombre se hacía por la capacidad de los anticuerpos de su suero para aglutinar hematíes que tengan antígenos específicos. Así, en el hombre, en función de su grupo sanguíneo ABO, existe igualmente en su suero anticuerpos naturales dirigidos contra antígenos A en las personas del grupo O o B, contra los antígenos B en las personas del grupo A u O y finalmente la ausencia de estos anticuerpos en las personas del grupo AB. Existen de hecho varios grupos A1, A2, B, O1, O2, AB. Entre los grupos A1 y A2 el azúcar reconocido es el mismo. Se trata más de un nivel de expresión y de localización del antígeno en los tejidos que es diferente (30). Debido a la complejidad de los grupos ABO, las técnicas de biología molecular (31-34) corren el riesgo en algunos años de reemplazar las técnicas actuales por serología. De hecho el sistema ABO en el hombre es un sistema complejo que incluye otras especificidades como entre otras las especificidades Rhésus (85% son Rhésus + (DD o Dd), Lewis + (Le (a+b-) o Le (a-b+)), Duffy, Kell, Kidd, Lutheran, MNS y secretor. En función o no de la presencia del antígeno, los individuos tienen o no en su sangre anticuerpos frente al antígeno ausente. El título de estos anticuerpos puede aumentar después de transfusión o embarazo. La incidencia de los diferentes grupos depende del origen étnico. En la población caucásica la frecuencia de los grupos A y O es superior al 40%-45% cada una, la frecuencia de los grupos B es inferior al 10%, y la de los grupos AB en torno al 3%. El grupo AB en Asia representa el 20% de la población y en África el 15%-20%. El grupo AB representa en Asia el 10%-15% de la población.

El antígeno ABO no es únicamente un antígeno expresado en los glóbulos rojos. El grupo ABO puede estar presente en los pacientes en las secreciones como las secreciones salivales, o la leche en forma de mucina. Éste se encuentra en diferentes factores circulantes como en las proteínas de la coagulación (Factor de Willebrands). El mismo está expresado igualmente en numerosos tejidos, especialmente los tejidos glandulares, a nivel de las células endoteliales y epiteliales. De hecho, diferentes factores influyen en el tipo, la cantidad y la distribución histológica de los grupos sanguíneos en los tejidos, especialmente la especificidad ABO, Lewis, especificidad secretora o no, el tipo de células y el tipo de tejido (35). En los pacientes denominados «secretores» el grupo ABO está expresado igualmente en la saliva o en otras secreciones. Los mismos pueden estar expresados igualmente en las faneras como los pelos. En la galactosa del antígeno H, una galactosa está asociada en forma de un enlace alfa 1,3 para formar el grupo B antígeno (trisacárido). Si se transfiere una N-acetilgalactosamina a la galactosa del antígeno H se forma el grupo A trisacárido antígeno. La formación de los grupos A y B está bajo la dependencia de una enzima glicosiltransferasa A o B codificada por los genes A y B. Para los individuos del grupo O estas enzimas no están activas. Las mismas expresan en estos individuos una enzima específica codificante para las especificidades O1 y O2 pero esta enzima no está activa debido a una delección. Existen igualmente dos tipos de

genes A1 y A2 que codifican para una galactosil A transferasa de una actividad más o menos grande con una expresión tisular del antígeno A más o menos grande. Diferentes núcleos H han sido descritos, al menos 4 en el hombre. Los más comunes son los tipos 1 y 2. Los tipos 3 y 4 se encuentran sobre todo en el aparato gastrointestinal y a nivel del epitelio respiratorio. En el hombre como en el cerdo, el grupo H de la células epiteliales del estómago, las sustancias H, son estructuras hidrocarbonadas llevadas por proteínas «O-glicosilated linked» por puente GalNAc en Ser o Thr en una proteína de superficie (36).

Otros antígenos están relacionados con el grupo ABO como los antígenos Rhésus y Lewis, Kell, Duffy. La especificidad Lewis es formada bajo la acción de una fucosil transferasa. De hecho, las especificidades H, secretoras y Lewis son determinadas por la adición de L-fucosa a dos substratos principales cuyo motivo característico presente en la extremidad de las cadenas glicánicas de diversos glicoconjugados es un disacárido de tipo 1 (Gal β 1-3GlcNAc) o de tipo 2 (Gal β 1-4GlcNAc) respectivamente. La fucosiltransferasa H cataliza la transferencia de la L-fucosa (en forma de GDPFuc) en posición α 1-2 a la galactosa (Gal) de las cadenas de tipo 2 principalmente mientras que la fucosiltransferasa que participa en el fenotipo secretor SE del paciente transfiere la L-fucosa a la misma posición en las cadenas de tipo 1 principalmente. La fucosiltransferasa que participa en la elaboración de la especificidad Lewis transfiere la L-fucosa, por una parte, a la posición α 1-4 en la N-acetilglucosamina (Glc) de las cadenas de tipo 1 y H de tipo 1 para formar los productos Le^a y Le^b respectivamente y, por otra, a la posición α 1-3 en las cadenas de tipo 2 y H de tipo 2 para formar los productos conocidos con diferentes nomenclaturas: (CD15, X, Le^x) o (SSEA-1 e Y o Le^y).

Las fucosil transferasas son de hecho codificadas por genes FUT (para revisión «JP Baron Vers une approche moléculaire de la structure, du polymorphisme et de la fonction des groupes sanguins TCB (1996)181-210»). La especificidad Lewis es de hecho codificada por una fucosil transferasa FUT 4-6 especialmente FUT3. Otras actividades son codificadas por fucosiltransferasas como el tipo secretor o no determinado por otra fucosil transferasa, fucosil 2 codificada por los genes FUT2. La formación del grupo H tipo 1 implica sobre todo FUT2 y un poco FUT1. La formación del grupo H de tipo 2 implica sobre todo FUT1 y poco FUT2. H tipo 1: Gal β 1-3GlcNAc-R con una L-Fuc en α 1-2 de Gal / H tipo 2: Gal β 1-4GlcNAc-R con una L-Fuc en α 1-2 de Gal.

Los antígenos Lewis pueden ser «sialilados» especialmente en fenómenos titulares tumorales o inflamatorios crónicos. El antígeno Le^a es codificado por FUT3. Perfil secretor SE por FUT2. Le^x, CD15 (X, SSEA-1) por FUT4-6 pero también FUT3 (LE). Le^b por FUT3 y FUT2 o posiblemente FUT1. Esto explica por qué los Le^b son forzosamente secretores, puesto que la formación del antígeno necesita que el gen FUT2 esté activo. Sle^x Syllil-tipo 2 implica FUT6; FUT7 o FUT5. En el animal como el cerdo, los animales de fenotipo A+ son generalmente le^x/le^y. Los animales A-/H+ son generalmente le^{yt}/le^x. Los animales A-/H-/I+ son generalmente le^{xt}/le^{yt}.

La exposición anterior ilustra cómo el tipo de cadena H presente en un hombre o en un animal puede estar íntimamente ligado a su fenotipo secretor, en el sistema Lewis. En el animal ha sido demostrado que la susceptibilidad a ciertas infecciones o ciertos comportamientos estaba correlacionada igualmente con la expresión de ciertas formas de fucosiltransferasa.

Bioprótesis médicas implantables utilizables en los procedimientos de la invención.

Las bioprótesis médicas implantables engloban cualquier dispositivo destinado a ser implantado en el hombre y que contiene en parte o en la totalidad tejido animal o productos de síntesis animal, o componentes purificados a partir de un tejido animal y reticulado y/o fijado. El dispositivo puede contener otros componentes biológicos antólogos, homólogos, sintetizados o sintéticos. El dispositivo puede ser un tejido (por ejemplo Patentes US 6936070, 5067962, 6790213, 4585458, 7404819, 20070254005), una matriz (por ejemplo Patentes US 20010051824, 20040157206, 6652583, 6174333, 5855620, 5613982), colágeno (por ejemplo Patentes US 20030203008, 6548077, 6127143, 5814328, 5374539), un conducto, una bioprótesis cardiaca (por ejemplo 20090118826, 7348175, 20020173843, 5824061, 6391538, 7316712, 20090030511, 6719789, 6074417, 7011681, 6530952, 5824067, 20040024452, 5769780, 4692164, 4626255, 20080154358, 2003010729, 7331993, 7503930, 7503929, 6997950, 20030196274, 20030181974, 20030181974, 7322932, 6027530, 7166124, 7163556, 6540781, 20010002445, 7354749, 20080095662, 5545214, 20040106991, 7320705, 2004143323, 7455689, 5662704, 20030125805, 20030125793, 7125418, 7125418, 7318998, 7041132, 7033390, 6719785, 6682558, 6087552, 5755782, 5571174, 5549665, 5545215, 5489297, 5352240, 5326370, 5728152, 5156621, 5080670, 4626255, 4561129, 4388735, 4378224, 2008702554, 7579381, 7214344, 6878168, 6561970, 6547827, 6214054, 6008292, 5935168, 5931969, 5931969, 5782931, 5215541, 4885005, 4838888, 4648881, 4647283, 20060217805, 20040052830, 20030228692, 5632778, 5613982, 6350732, 20040136965, 7129035, 7014655, 6861211, 7438850, 6203755, 20060207031, 20050071926, 20040253291, 20050010284, 6322593, 6302909, 6231614, 6193749, 6177514, 6156531, 6156531, 6132986, 6093530, 5919472, 5094661, 5002566, 4976733, 5447536, 5368608, 7479164, 5733339, 6596471, 30030196274, 7156881, 20020091445, 6998418, 6545042, 7014655, 6106555, 5080670, 7078163, 6509145, 2003010746, 5935168, 6471723, 6350732, 5613982), una válvula cardiaca, un parche (por ejemplo Patentes US 20010051824, 20040157206, 6652583, 6174333, 5855620), una prótesis valvular (por ejemplo Patentes US 20090118826; 5545215, WO/2000/047136), un andamio como el definido por ejemplo en el documento PCT/FR2008000785). El mismo puede ser inyectable. Puede tratarse de un soporte en el que la polimerización de algunos componentes se produce espontáneamente o después de implantación o después de fotoactivación, irradiación por ultravioleta, irradiación gama, corriente eléctrica, interacción magnética, interacción iónica, química, enzimática, biológica,

temperatura, ultrasonidos, sales, enrollamientos hidrófobos/hidrófilos, fuerza de van der Waals, enlace aromático π metal ligand, pH, concentración, redox, fosforilación, apilamiento, fuerzas mecánicas, electromagnéticas o gravitatorias o asociación.

5 En el sentido de la invención, las bioprótesis médicas implantables engloban cualquier tejido herólogo fijado. Tejido / extracto tisular / colágeno: los términos tejido o extracto tisular o colágeno pueden ser empleados uno por otro y asociados. El mismo puede ser natural o sintético. Este tejido puede estar descelularizado o no físicamente y/o enzimáticamente (por ejemplo con la colagenasa) y/o modificado químicamente o asociado (como por ejemplo en las Patentes US 20040052830, 20030228692, 5632778, 5613982, 20010000804, 20050266390). Este tejido puede ser comprimido (como por ejemplo Patente US 7141064). El tejido puede estar asociado a componentes sintéticos (como por ejemplo Patentes US 20020172706, 6596024, 6562069, 4729139, 4481009). El tejido puede estar reticulado por ejemplo el Sulfo/NHS (20060159641, 7479164) o por la genipina (20020091445, 6998418) por la transglutaminasa. Los métodos generales de reticulación han sido descritos (Patente US 20020177223). La reticulación puede ser reversible voluntariamente (Patente US 2005024460).

15 El dispositivo puede ser un tejido como por ejemplo Patente US 7189259, una válvula cardiaca o una parte del corazón, un conducto vascular como por ejemplo 20040158320, 20010020191, 6358275, 6206917, 6110212, 6087552), una matriz como por ejemplo Patentes US 20040157206, 6652583, 6174333, 5855620), colágeno (Patentes US 20030203008, 6548077, 6127143, 5814328, 5374539).

20 El tejido puede ser fijado de manera que mejore sus propiedades, por ejemplo, física, la resistencia a la degradación, la inmunogenicidad en general, su propensión a la calcificación, su trombogenicidad, su conformidad, su resistencia, sus propiedades biológicas. El mismo puede ser modificado para modificar su antigenicidad «ABH» en sentido amplio para hacerle más compatible con el fenotipo «ABO». Por extracto de tejido se incluyen especialmente los componentes de la matriz extracelular como las proteínas de las cuales el colágeno, la elastina. Han sido propuestos diferentes modos de purificación del colágeno como por ejemplo (Patentes US 20030203008, 6548077, 6127143, 5814328, 5374539).

25 El colágeno puede estar sintetizado. Los diferentes componentes, de los cuales el colágeno, pueden ser modificados. El término colágeno incluye los diferentes tipos de colágenos como por ejemplo los colágenos (I, II, III, IV, V, VI, VII, XI y otros colágenos), o de la asociación de diferentes especies. El término «colágeno» designa igualmente los colágenos, insolubles, colágeno soluble, atelocolágeno preparado eliminando los telopéptidos en las extremidades de las moléculas de colágeno utilizando una proteasa distinta de la colagenasa. El colágeno o los tejidos pueden ser preparados a partir de tejidos como uréter, pericardio, válvulas cardiacas, tejido digestivo como por ejemplo la submucosa intestinal de cerdo «SIS» {Lindberg, 2001#184; Badylak, 1998 #185}, vaso sanguíneo, tendón, fascia, dermis descelularizada o no, aponeurosis, membrana tipo membrana amniótica, duramadre, válvula cardiaca etc...). Este podría ser copias sintéticas del colágeno tales como fibras de polímeros o péptidos que forman fibrilos. El colágeno puede ser modificado químicamente y el producto obtenido por succinilación o esterificación o formación de carboxiamidas, o desaminación de los colágenos anteriormente descritos, mezcla de colágeno con polímeros sintéticos tales como poliácido láctico (PGA) y/o poli (DL-lactida-Co-glicolida) (PLGA) y/o poli (DL-lactida-Co-caprolactona) (PCL), un derivado de colágeno tal como la gelatina, un polipéptido obtenido por la hidrólisis del colágeno, colágeno desnaturalizado por el calentamiento. Polímeros sintéticos ligados al colágeno pueden ser elegidos entre el ácido poliláctico (PLA), el ácido poliglicólico (PGA), poli(L-láctico) (PLLA), PLGA, poli (anhídridos) (PA), el policarbonato (PC), los hidroxiácidos, poliortoésteres (POE), polifumaratos (PPF), polisacáridos, la polilactona (PL), policaprolactonas, poliamidas, ácidos de poliamino, poliacetales de los polifosfacenos (PPZ), policianoacrilatos biodegradables, los poliuretanos biodegradables (unidad central), polisacáridos, polipirrol, polianilinas, politiofeno, poliestireno, poliéster (PE), poliuretanos no biodegradables, poliureas, poli (etileno-tereftalato), (PET), poli (acetato de vinilo de etileno), polipropileno, polimetacrilato, polietileno, policarbonatos, polióxido de etileno, polialcohol de vinilo (PVA), fuso-tex (politetrafluoroetileno), dracon (tereftalato de polietileno), politetrafluoroetileno (PTFE), polietilenglicol (PEG), copolímeros anteriormente descritos, con uno de los aditivos anteriores, y mezclas entre sí de uno de los polímeros, de los copolímeros, y de los aditivos y asociación de derivados sintéticos con los productos biológicos.

50 El colágeno, extracto tisular, puede estar solamente asociado a sustancias sintéticas, inorgánicas (como el vidrio, Si/SiO₂, titano/óxido de titanio o cromo, cobalto, diamante, platino e hidroxiapatita, nitinol, acero, sílice, estreptavidina-biotina, una proteína artificial como el látex, el nylon, el catguth, el algodón, la tela, el poliéster, la seda, el plástico, la cerámica, las aleaciones, el textil, la avidina, la estreptavidina, la esponja de copolímero coprolactona-Co-L-lactida reforzada con poli-L-lactida, hecha en tejido tricotado de ácido hialurónico (PCLA), el almidón y cualquier mezcla), materiales orgánicos biológicos (tales como proteoglicanos, glicoproteínas, glicosaminoglicanos, alginato, agarosa, el ácido hialurónico, la agarosa chitosan, el par fibrinógeno/fibrina, el chitosan carboximetilado y la mezcla de estos, gelatina, octasulfato de sacarosa, dextrina, celulosa, celulosa metilada, sefarsa, proteína imitada por el Sefadex (como el látex) o su asociación.

60 Los tejidos pueden ser modificados químicamente, enzimáticamente, o físicamente. Puede estar asociado a diferentes moléculas o agentes bioactivos que incluyen moléculas de adhesiones, pudiendo ser estos diferentes agentes fijados o no a componentes del tejido. Los agentes bioactivos y las moléculas de adhesiones han sido definidos en la solicitud de patente internacional (PCT/FR2008000785).

En los agentes bioactivos están incluidos estímulos físicos como por ejemplo estrés, calor, electromagnético. Puede ser sometido a procesos de esterilización (como por ejemplo las Patentes US 7438850, 6203755, 2008008906, 6946098, 6908591, 6682695, 6036918) y a tratamientos destinados a mejorar su preservación (como por ejemplo las Patentes US 20040136965, 7129035, 7014655, 6861211). Los diferentes tejidos y tratamiento pueden ser asociados.

Métodos de obtención de tejido animal de un fenotipo deseado para la fabricación de bioprótesis médicas implantables

1) Obtención de un tejido ABH porcino/ABO-ABH humano determinado:

«Sistema ABO-ABH humano»: Por sistema ABO-ABH se entienden los diferentes antígenos del sistema ABO o ABH sanguíneo o tisular humano en el sentido amplio así como los genes, los productos de transcripción de estos genes factores de regulación, azúcares o residuos azucarados o antígenos unidos a estos antígenos y sus reguladores así como cualquier variable unida al producto de expresión de estos antígenos, grupo ABO (32, 34, 37) o ABH/Lewis/secretor tisular (30, 38) del paciente receptor (35, 39, 40). Los antígenos ABO son residuos azucarados llevados por proteínas o lípidos. Se trata de residuos azucarados lipoproteínas o glicolípidos en general. No se trata solamente de los antígenos del sistema ABO sanguíneo, sino de la familia de estos antígenos expresados en la sangre, pero también en los tejidos productos de secreciones, líquidos. Puede tratarse del sistema ABO del grupo sanguíneo del paciente en el sentido amplio con los diferentes determinantes antígenos expuestos que no están forzosamente expresados en los glóbulos rojos sino que pueden estar expresados en los tejidos o en productos de secreción, salivas, fluidos humanos. Se trata de los grupos ABO en el sentido amplio que contienen más de 23 sistemas principales según la nomenclatura internacional de transfusión sanguínea (véase A (A1, A2), B, AB, O) (gen ABO) pero también de las otras especificidades Rhésus (CED) (genes RHD, CE) (41), tipo de núcleo H para los grupos A; B, O o AB por ejemplo (tipo H1, H2, H3, H4) (genes FUT), Secretor (SE, se) (secretor/no secretor), Lewis (Lea, Leb, Lex), (genes FUT), Kell (gen KEL), Kidd (gen JK), Lutheran (gen LU), MNS, Duffy, Tn, T, Cad/sd, Diego (DI) (gen AE1), Cartwright (YT) (gen ACHE), Xg (XG) (gen XG), , Scianna (SC) (gen SC), Dombrock (DO) (gen DO), Colton (CO) (gen AQP1), LW (LW) (gen LW), Chido/Rodgers (CH/RG) (gen CH/RG), Kx (XK) (gen XK), Gerbich (GE) (gen GYPC); Cromer (CROM) (gen DAF), Knops (KN) (gen CR1), Indian (IN) (gen CD44), MN (glicoforina) Pk, etc... para revisión E Hosoi (2008).

Existen muy numerosas mutaciones para estos genes. Una de estas mutaciones corresponde a la ausencia de cadena H en los pacientes Bombay/Parabombay. Puede tratarse de una mutación, de una combinación, de una expresión particular por ejemplo en un tejido particular o un nivel de expresión de estos antígenos. Puede tratarse igualmente de pseudogén asociado al sistema ABO por ejemplo «htg4 human pseudogene». El grupo ABO está representado por los diferentes antígenos pero también por los genes codificantes para las diferentes especificidades o que regulan su expresión.

Por ejemplo, el grupo A es principalmente codificado por una enzima, la A transferasa, el grupo B por una enzima B transferasa. Existen al menos dos genes codificantes para la A transferasa A1 y A2 que tienen niveles de actividad diferentes, de donde una expresión tisular diferente del antígeno. La especificidad H y la especificidad Lewis y Secretor están bajo la dependencia de genes de tipo FUT (42).

Puede tratarse igualmente de genes cuya síntesis implica enzimas del sistema ABO. Estos mismos genes están implicados igualmente en la realización de especificidades (CD15, X, Le^x) o (SSEA-1 e Y o Le^y). Puede tratarse de antígenos que no pertenecen directamente al grupo ABO pero cuya síntesis pone en juego enzimas o genes o regulador de gen del grupo ABO como los sialil Lea reconocidos por el anticuerpo CA19.9. (CD15, X, Le^x) o (SSEA-1 e Y o Le^y) o el antígeno de Forssman glicolípido sintetasa (33).

Puede tratarse igualmente de los genes codificantes para estas diferentes especificidades o factores de regulación o de modificación de la expresión de estos diferentes antígenos o antígenos correlacionados con la expresión de ciertos de estos antígenos. Mismo factor de transcripción, misma localización en el mismo gen o muy próxima al genoma.

Puede tratarse igualmente de antígenos azucarados cuya expresión está correlacionada con ciertos de estos grupos. Puede tratarse de modo más amplio de comportamiento o de propiedades particulares biológicas o no de paciente que pertenece a un subgrupo de esta familia ABO-ABH.

Fenotipo ABH del tejido animal

Por «fenotipo ABH» del tejido se sobreentiende el sistema ABH animal (43) que es corolario del sistema ABO en el hombre con una expresión de los antígenos en la sangre pero sobre todo en los tejidos o productos de secreciones o líquidos. El fenotipo ABH corresponde al de la bioprótesis en el momento de su implantación. La modificación del fenotipo ABH si es necesario puede tener lugar en cualquier momento en el transcurso de la fabricación de la bioprótesis. Estos derivados azucarados están expresados generalmente en forma de glicoesfingolípido en la superficie de las células especialmente epitelial (44) N-linked (45) o a nivel de las mucinas de secreción {véase Julenius, {2005#297}}. Asimismo, se ha expuesto el modo de fijación de los grupos H en las células epiteliales en el cerdo (36) o en las secreciones en forma de mucina (46) (47). Si una N-acetilgalactosamina es transferida a la

galactosa del antígeno H se forma el grupo A trisacárido antígeno. La formación de los grupos A está bajo la dependencia de una enzima glicosiltransferasa A codificada por los genes A transferasa idénticos al gen A humano.

5 La invención propone un método de selección para un paciente de grupo sanguíneo dado A, O, B, AB o Lewis
especialmente el cerdo (48-51) o el buey o caballo sabiendo que los antígenos ABH están expresados en la mayoría
de las especies animales. La expresión tisular de ciertos antígenos por ejemplo A, H es sin embargo variable en
función de la especie pero también de la raza para una especie. Será posible en este caso proponer para un
paciente de grupo ABO en el sentido amplio dado la preparación de implantes a partir de tal o tal raza, haciéndose la
10 atribución en relación con la incidencia de la expresión del antígeno deseado en la raza considerada. Es un hecho
que la elección de la atribución del implante tendrá en cuenta el grupo ABO en el sentido amplio del paciente. Es
concebible igualmente tener diferentes colonias o clones de un animal determinado que presente los antígenos
deseados o que no expresen estos antígenos especialmente a nivel ABH sanguíneo y tisular o que no expresen
ciertos antígenos del sistema ABH. En este caso también la atribución de la elección del implante tendrá en cuenta
el sistema ABO sanguíneo tisular o variables relacionados con el paciente.

15 El sistema ABH existe por tanto en la mayoría de los mamíferos especialmente en el cerdo y en el buey o el caballo
o el canguro o la foca. En el cerdo existen numerosos antígenos de grupo sanguíneo A a L con diferentes alelos de
gen codificante para cada uno de ellos. Este sistema ABH puede ser investigado de manera no exclusiva en la
sangre, los tejidos especialmente los tejidos secretores (tubo digestivo, aparato urogenital, glándulas salivales), los
20 productos de secreción salivas, proteínas digestivas, leche etc... recurriendo a técnicas inmunológicas, histológicas,
o genéticas o combinación. Un modo de proceder interesante por rápido es la investigación directa del grupo ABH
en las células epiteliales salivales (51). Tres tipos de genes están particularmente expresados: el antígeno A, el
antígeno H y el antígeno I. El antígeno I es específico del cerdo. El antígeno A y H son semejantes al antígeno A
humano. El antígeno B es diferente. De acuerdo con los estudios de Oriol (43, 49) y de (51) y (52) existen
globalmente 3 fenotipos principales A+, H+ e I+ de incidencia respectiva 51%, 38% y 11%. La clasificación se hace
25 de acuerdo con la expresión o no de la antigenicidad A. Si ausencia de antigenicidad A, presencia o no de
antigenicidad H. Los cerdos A y H negativos son generalmente de tipo I.

Los cerdos de fenotipo A+ son generalmente Ie^{x+}/Ie^{y-} . Los cerdos de fenotipo H+ son generalmente Ie^{y+}/Ie^{x-} . Los
cerdos de fenotipo I+ son generalmente Ie^{x+}/Ie^{y-} . Existe generalmente, especialmente en el grupo A cuando el
antígeno H está expresado, una ausencia de la expresión del antígeno I.

30 Los cerdos de fenotipo I+ (A-/H-/I+) son a la vez reconocidos por la lectina PNA y el anticuerpo anti-I. Los cerdos A+
y H+ son los cerdos generalmente no reconocidos por la lectina PNA. El reconocimiento del antígeno I en los cerdos
de fenotipo A+ y H+ se hace generalmente utilizando un anticuerpo anti-I.

Obtención de tejido animal de «fenotipo A humano»

35 Para el antígeno A animal, cuando el mismo está expresado, existe una similitud completa con el antígeno A humano,
La especificidad A está bajo la dependencia de la enzima A transferasa. El modo de proceder más fácil es la
selección de animales que expresen esta especificidad. Eventualmente se pueden realizar ganaderías con
individuos que tengan esta especificidad. Para los cerdos con fenotipo A existen de hecho al menos dos tipos de
cerdos. Los cerdos A+ y los cerdos A+ y H+ que expresan por tanto el residuo azucarado en un núcleo H como en el
hombre. Los dos tipos de cerdos son interesantes aunque el segundo tipo es más compatible.

40 La incidencia de los fenotipos A depende de la raza porcina. Por ejemplo la incidencia del grupo A es del 23% en los
cerdos Danish Landrace, 35% en la raza Hampshire y 49% en la raza Duroc. El grupo H 46% en los Durocs, 29% en
los Danish Landrace y 13 en los Hampshire. La expresión del grupo I es del orden de 40%-48% (véase Andresen E.
1961 PNAS Pig Blood group antigènes).

45 Para el grupo A, la mayoría 52% no expresan ni H ni I y por tanto son A+/H-/I-. Sin embargo, un cierto número de
cerdos de este grupo A expresan igualmente el antígeno H humano y por tanto son muy compatibles para el grupo A
(A+/H+/I-) (16%), mientras que otros expresan el antígeno I y por tanto son menos compatibles A+/H-/I+ (31%).

Otro modo de proceder consiste en obtener cerdos genéticamente modificados que expresen la especificidad A
transferasa humana y utilizar tejidos a partir de estos cerdos para fabricar bioprótesis. Por otra parte, esta
modificación puede ir acompañada de otras modificaciones genéticas de estos cerdos destinadas especialmente a
50 inhibir la expresión de otros residuos azucarados como los antígenos alfaGal: alfaGal(Gal α 1,3Gal β 1,4GlcNAc β 1-R)
(« α Gal») antígeno mayor del rechazo vascular xenogénico (KZ. Konakci y otros (53)).

Obtención de tejido animal de «fenotipo H»:

55 Para el antígeno H se trata en ciertos casos del antígeno H humano más bien de tipo 1 o 2 según los tejidos o el
lugar en que se investigue el antígeno y los cerdos probados. Se utilizan anticuerpos anti H, anti-H1 o anti-H2 u otros
isotipos o lectinas como Ulex Europaeus 1, por ejemplo, o por genética. Los genes codificantes de las
especificidades H1 y H2 son los genes FUT1 y FUT2 que son fucosil transferasa. El fenotipo H+ representa el 38%
de los cerdos. Para el grupo H el 78% son de verdad H (A-/H+/I-) pero el 22% expresan también la antigenicidad I.

Por otra parte, la especificidad H está igualmente presente en el 16% de los cerdos de grupo A (A+/H+/I-). Los cerdos H+(A-/H+) son generalmente le^{y+}/le^x- e I+ o I- (generalmente I-). Los cerdos A+ (A+/H+) son generalmente I- igualmente.

- 5 Diferentes modos de proceder son por tanto posibles. El primero consiste en seleccionar los animales que tengan fenotipo H. Se trata de animales reconocidos especialmente por los anticuerpos anti-H, los animales reconocidos por las lectinas que reconocen el antígeno H, o los sistemas le^x/le^{y+} . La otra solución es realizar una selección negativa eliminando los animales que no tengan fenotipo H en su población, eliminando los tejidos fenotipo I+ (los tejidos le^{x+}/le^y- o tejidos) y los tejidos que reaccionan con la lectina anti-I. Se encuentra por tanto una población enriquecida en fenotipo A+/H-/I-, en fenotipo A+/H+/I- y en fenotipo A-/H+/I-. Para obtener una población de fenotipo A+/H- o A+/H+, es posible proceder a una selección negativa de animales de fenotipos A-/H+ porque estos animales son generalmente de fenotipo le^{y+}/le^x- . Se podrá entonces eliminar los individuos que no reaccionen al antígeno H o EUA1 y la población restante estará enriquecida entonces en fenotipo A+/H+/I- (este es un ejemplo de selección negativa para obtener fenotipos deseados). Tal población es más «compatible» para un fenotipo de válvula destinada a ser implantada en el hombre. Otra solución es utilizar tejidos preparados a partir de cerdo A+/H+ y dirigir estos tejidos por una enzima como por ejemplo alfa-D-Galactosidasa a fin de obtener tejidos de tipo A-/H+. Pueden utilizarse también las técnicas de digestión por las exoglicosidasas (54) (54).

Son posibles igualmente diferentes modos de proceder. Como para el grupo A es posible recurrir a tejidos animales transgénicos que expresen ciertos genes humanos codificantes especialmente para el núcleo H especialmente los genes FUT.

20 *Obtención de tejido animal de «fenotipo B humano»*

Contrariamente a las especificidades H y B no existe cerdo que exprese las especificidades B humanas. Sin embargo en un paciente grupo B los tejidos obtenidos a partir de animales de fenotipo H son bien tolerados. Es posible eventualmente generar animales transgénicos que expresen la actividad B transferasa humana.

No selección de ciertos animales en función de su fenotipo ABH:

- 25 El fenotipo de los cerdos tiene un doble interés. A la vez de seleccionar los cerdos que tengan el antígeno de interés pero también no seleccionar los cerdos cuyas especificidades antigénicas ABH sean menos compatibles con el hombre. Están concernidos, especialmente, los cerdos de fenotipo I (A-/H-/I+, A-/H^{+/}/I+ y A-/H+/I+). El antígeno I+ puede ser identificado bastante fácilmente utilizando el anticuerpo anti-I cualquiera que se el grupo A+, H+ o I+, mientras que los cerdos I+ serán generalmente cerdos PNA+ o PNA y anti-I+.
- 30 De manera general, se puede seleccionar positivamente los cerdos para la expresión de los antígenos A+, H+ o I+ o las especificidades le^x/le^y que están directamente correlacionadas con la expresión de estos fenotipos. Se puede efectuar una selección negativa para aumentar en la población la frecuencia del antígeno en el cual se está interesado, por ejemplo en la elección de la raza de origen, o eliminando los animales de fenotipo I+ (PNA+, anti I+), o eliminando los animales que expresen ciertos antígenos como el antígeno I (animales anti-I+ y PNA+/-). Otro modo de selección negativa para el fenotipo A, es eliminar los fenotipos H+ (reconocidos por los anticuerpos H+ y lectina UEA+) y/o I+. Esto viene a ser también eliminar los fenotipos le^{x+}/le^y- o le^x/le^{y+} .

Se puede obtener una población H por selección negativa eliminando los fenotipos A+ (anti-A) e I+ (anti-I y PNA+). La población H+ puede ser obtenida también eliminando los fenotipos le^y- . Para el grupo I la mayoría son A+/H-/I+, A-/H+/I+ o A-/H-/I+: 16%.

40 *Obtención de tejidos que tienen una baja expresión de antígeno ABH:*

Es posible igualmente en ciertos casos utilizar medios enzimáticos, físicos o químicos o asociaciones destinadas a retirar los antígenos ABH fijados a los tejidos. Sin embargo en la mayoría de los casos este modo de proceder alterará las propiedades de los tejidos.

- 45 Las estructuras químicas de los núcleos H tipo 1 y 2 humanos son bien conocidas y generalmente están expresadas en forma de glicosíngolípido en la superficie de células especialmente epitelial (44) N-linked (45) o a nivel de las mucinas de secreción Julenius, {2005#297}. Asimismo, ha sido expuesto el modo de fijación de los grupos H a las células epiteliales en el cerdo (36) o en las secreciones en forma de mucina (46) (47)

- 50 Uno de los modos de proceder consiste en utilizar tratamientos destinados a liberar el cuerpo H de su soporte. Otro modo de proceder consiste en retirar los motivos protídicos o lipídicos a los cuales están fijados los motivos. Es posible hacer desaparecer el núcleo H utilizando una enzima como la neuraminidasa (47) o una enzima tipo alfa-L-fucosidasa. Otro método químico consiste en hacer desaparecer ciertos residuos azucarados del sistema ABH del tejido como el método descrito por {Derevitskaya, 1983#294} para fragmentar el núcleo H del cerdo. Utilización de método químico para hacer liberar el núcleo H por una beta eliminación de la cadena azucarada seguida de una brominación del grupo enamina resultante de la fractura del grupo brominated amino acid residu por alkaline sodium borohydre technique utilizada para la fragmentación del núcleo H del cerdo (55). Posible utilización de un tratamiento por metanol-etiléter (1:1, v/v) y cloroformo-metanol (1:1, v/v) (véase K. Kishi and S. Iseki Inmunochimical studies on

blood group H and B substances from human hair). El conjunto de estos procedimientos puede ser empleado en las bioprótesis.

Utilización de animales genéticamente modificados para el sistema ABH porcino o que expresan antígenos del sistema ABO humano:

- 5 Con el fin de mejorar las compatibilidades se podrá recurrir a cerdos modificados genéticamente, especialmente para los genes ABH, para hacerles compatibles con el sistema ABO humano.

Se podrá por ejemplo seleccionar cerdos que no expresen ciertos antígenos del grupo sanguíneo expresados clásicamente en el cerdo (por ejemplo los antígenos del grupo A-L) o hacer cerdos modificados genéticamente para no expresar tal antígeno de grupo sanguíneo o derivados azucarados o variable unida a este antígeno o sobreexpresar dicho otro antígeno. Esto puede ser igualmente una regulación a nivel de la expresión de un antígeno del grupo sanguíneo con sobre o sub expresión. Es necesario ver que existe muy frecuentemente una competencia entre diferentes enzimas para la realización de grupo sanguíneo a nivel de su substrato. Así, el hecho de generar en gran cantidad tal o cual residuo azucarado hace que otro antígeno azucarado puede que no esté expresado. Producción de cerdo que no expresa por ejemplo antígenos como el antígeno I por ejemplo.

- 15 Los animales especialmente los cerdos pueden ser animales no modificados genéticamente. En este caso se estudiarán los fenotipos de los cerdos y se seleccionarán los cerdos de interés prefiriendo si es posible las razas en las que la incidencia del antígeno fenotipo deseado es elevada o seleccionando para una especie dada individuos interesantes o al fenotipo mutado por ejemplo o que no expresara por ciertos antígenos ABH del fenotipo porcino clásico.

- 20 Se puede igualmente mejorar la compatibilidad de los cerdos utilizando cerdos transgénicos para el sistema ABO humano haciéndoles expresar especialmente la actividad específica de un gen del sistema ABO como la actividad por ejemplo B transferasa humana para hacer un antígeno B especialmente en los cerdos de tipo H. Se podrá igualmente hacer cerdos transgénicos para aumentar la expresión de los antígenos H, A o B especialmente en los tejidos deseados modificándoles genéticamente para expresar el gen A transferasa, B transferasa o «fucosil transferasa» (gen FUT) humano. Se puede igualmente hacer cerdos KO para ciertos genes del sistema ABH porcino (véanse antígenos de A a L entre otros).

- Esta modificación de la antigenicidad ABH puede ir asociada igualmente a una modificación de antigenicidad frente a otros motivos antigénicos como residuos azucarados $\alpha\text{Gal}(\text{Gal}\alpha 1,3\text{Gal}\beta 1,4\text{GlcNAc}\beta 1\text{-R})$ (« αGal »). Esto puede ser obtenido con cerdos modificados genéticamente como cerdos KO para la transmisión de la alfa Galactosiltransferasa, o tratar los tejidos con enzimas como la alfa Galactosiltransferasa, entre otros. Se podrá igualmente recurrir a otros cerdos modificados con respecto a residuos azucarados o de antígenos implicados en el rechazo como cerdos que no expresan el antígeno mayor del rechazo hiperagudo vascular xenogénico: $\alpha\text{Gal}(\text{Gal}\alpha 1,3\text{Gal}\beta 1,4\text{GlcNAc}\beta 1\text{-R})$ (« αGal »).

- 35 Estas modificaciones pueden ser asociadas o acopladas a otros métodos destinados a modificar la expresión de otros residuos azucarados o la expresión de antígenos en la superficie de las bioprótesis que pertenecen o no al sistema ABH. Este método puede ser acoplado a otros modos de proceder destinados a modificar la inmunogenicidad, la calcificación, las propiedades físicas, la toxicidad, la biocompatibilidad, la trombogenicidad de los tejidos implantados. Igualmente técnicas destinadas a mejorar la calidad de la fijación que incluyen su estabilidad en el tiempo.

- 40 Los diferentes modos de proceder de tratamientos pueden ser combinados para tener un tejido ABH porcino/ABO-ABH humano de fenotipo determinado.

2) Fijación/Reticulación del tejido en el fenotipo ABH animales/ABO-ABH humano determinado:

- El tejido animal ABH compatible es extraído de modo estéril y preparado para fijación y tratamiento. En la invención siguiente se propone utilizar la clásica fijación por glutaraldehído pero pueden ser empleadas numerosas modificaciones de esta fijación o la utilización de otros agentes de fijaciones utilizados clásicamente para realizar bioprótesis

- El tejido es lavado con agua estéril o en PBS. El tejido puede ser tratado con tensioactivantes antes de la fijación para retirar los lípidos, los ácidos grasos, colesterol etc. (véase la Patente US 4553974). Fijación del tejido en una solución de glutaraldehído 0,625% pH 7,4 en tampón fosfato durante 2 semanas, presión de fijación inferior a 2 mmHg, control de la temperatura a 37 °C. El tejido es tratado después por una mezcla de desnaturalizante/tensioactivante/entrecruzante durante 3 días (véase respectivamente Formaldehído 4%, Etanol 2,2%, Tween 80 1,2%).

- Desde 1984 (6) se ha propuesto la fijación de tejido porcino por un tratamiento por glutaraldehído y después tratamiento por Formaldehído/Etanol/Tween. Han sido propuestas diferentes fijaciones así diferentes fijaciones con glutaraldehído, así como diferentes agentes desnaturalizante (por ejemplo Patente US 20070255423). Generalmente son asociados agentes anticalcificantes. A veces son utilizados pretratamientos químicos por cloruro de aluminio y/o

5 etanol. Pueden ser utilizados tensioactivantes (como por ejemplo Dodecilsulfato, ácido alfa oleico, ácido homocistético (Patente US 20060154230). El tejido puede ser entonces esterilizado (por ejemplo Patentes US 743850, 6203755) y pueden ser utilizadas soluciones de preservación (por ejemplo Patentes US 5935168; 20040136965, 7129035, 7014655, 6861211, 7579381, 7214344, 6878168, 6561970, 6547827, 6214054, 6008292, 5935168, 5931969, 5782931, 5215541, 4885005, 4838888, 4648881, 4647283). Evidentemente, pueden ser utilizados otros modos de fijación o variantes de esta fijación con variación del pH de la fijación con glutaraldehído, utilización de un reductor, fijación con calor, etc. (por ejemplo Patentes US 7579381, 7214344, 6878168, 6561970, 6547827, 6214054, 6008292, 5935168, 5931969, 5782931, 5215521, 4885005, 4838888, 4648881, 4647283, 20070255423, 20060217805, 20040253291, 20070255423, 20050071926, 7214344, 20090164005).

10 *Otros agentes reticulantes:* Esta polimerización o reticulación puede provenir de una reacción química con agentes reticulantes conocidos y derivados y/o sus análogos, derivados y combinación como por ejemplo genipina, aglicona de ácido nordihidroguayarático, ácido geniposídico, compuestos epóxidos, almidón dialdehído, glutaraldehído, formaldehído, suberimidato dimetilico, carbodiimidas, acilácido «dye mediated photooxydation», succinimidas, disocianatos, azotura de acilo, gliceraldehído, cianamida, diimidas, adipimidato dimetilico, ruterina, ácido nordihidroguayarático, transformación enzimática, trombina, tratamiento dehidrotérmico, reticulación endógena por células y sus productos bioquímicos normales (tales como la lisina la oxidasa producida por una célula ...), métodos destinados a eliminar el glutaraldehído no fijado o a disminuir la liberación de residuos de glutaraldehído bloqueando con un componente amino como por ejemplo el empleo de difosfonatos fijados a tejido previamente fijados con el glutaraldehído o administrados directamente en el tejido tratado, ácido sustituido con agrupamiento alifático «amino substituted aliphatic functional acid» fijado de manera covalente al tejido fijado en el glutaraldehído, sales ricas en hierro o estaño «ferric or stannic salts» antes o después de la fijación con el glutaraldehído, tratamiento del tejido con sulfatos polisacarídicos «sulfated polysaccharides» como por ejemplo sulfato de condroitina, utilización de un tratamiento reticulante quitosan/heparina antes o después de la fijación con el glutaraldehído, sales o polímeros sobre todo «elastomeric polymers», utilización de soluciones ricas en éster de fosfato, o sales de amonio cuaternario o ricas en alcohol alifático sulfatado «sulfated higher aliphatic alcohol» después de la fijación con el glutaraldehído o asociación de algunos de estos procedimientos. Han sido propuestas diferentes reticulaciones: (por ejemplo Patentes US 7579381, 20050071926, 6214054, 7214344, 20090164005). Ejemplo de otros agentes fijadores o reticulantes: Sulfo-NHS (por ejemplo Patentes US 7479164, 5733339), Triglicidilamina (TGA) (véanse Patentes US 20030196274, 7156881), Bismaleimida (véase Patente US 6596471), Genipina (por ejemplo Patentes US 20020091445, 6998418, 6545042), epóxido (por ejemplo Patentes US 7014655, 6106555, 5080670), otras fijaciones (por ejemplo Patentes US 5094661, 5002566, 4976733, 5679112, 5447536, 5368608, 6322593, 6302909, 66231614, 6193749, 6177514, 6156531, 6132986, 6093530, 5919472, 20060207031, 200500719326, 2003010746, 6471723).

35 *Otros tratamientos asociados:* pueden utilizarse tejidos descelularizados (por ejemplo Patentes US 20040052830, 20030228692, 5632778, 5613982). Además agentes reticulantes o de entrecruzamiento otros que agentes químicos o físicos, biológicos como enzimáticos pueden ser asociados como agentes reductores, agentes tipo detergente, agentes destinados a descelularizar el tejido inicial, agentes destinados a retirar los lípidos (por ejemplo Patentes US 6350732, 20040253291), a mejorar la fijación con el glutaraldehído haciéndola irreversible (por ejemplo Patente US 6479079).

40 Los diferentes modos de reticulaciones, tratamientos o procedimientos pueden ser asociados.

3) Fabricación del dispositivo bioprotético a partir del tejido animal con el fenotipo ABH animal/ABH/ABH-ABO humano determinado y fijado/reticulado:

45 En la presente invención se propone la realización de un dispositivo implantable como bioprótesis valvular con el tejido precedentemente obtenido. El tejido con un ABH determinado es transportado entonces a una cámara estéril y trabajado, afinado o configurado y unido o ensamblado a cualquier componente biológico o no biológico (por ejemplo estent, soporte, montante, anillo, conducto, segmento de malla de poliéster etc ...) para formar un dispositivo bioprotético. La bioprótesis se compone de tres válvulas, de una válvula aórtica de cerdo fijada a una armadura metálica circular de aleación de cobalto y de cromo que dispone de tres montantes que reproducen las comisuras del anillo aórtico. Este estent es flexible a fin de amortiguar parcialmente el esfuerzo impuesto a la válvula especialmente a nivel de las comisuras. Las tres válvulas son recortadas del fondo aórtico, desprovistas al máximo de las estructuras colindantes, y el resto del músculo incorporado directamente a la pared del estent. El collarín es de silicona y está recubierto como todo el estent de PTFE trenzado. En otros casos, la bioprótesis no tiene necesidad de ser reconstituida porque todo el fondo aórtico de cerdo será utilizado en monobloque (incluyendo los sigmoides aórticos, el anillo y el seno aórtico).

55 Otras bioprótesis pueden ser realizadas a partir del tejido previamente obtenido. Ejemplos no exclusivos de estos dispositivos son: bioprótesis con estent: La válvula de Carpentier-Edwards porcina (Edwards Lifescience) comercializada desde 1975 inicialmente fijada con glutaraldehído, y desde 1984 fijación por glutaraldehído y un tratamiento por Formaldehído, Etanol, Tween. Las valves Carpentier-Edwards RTM estented porcine bioprosthesisTM, bioprótesis en pericardio de buey (véase Carpentier-Edwards RTM pericardial BioprosthesisTM), válvula de Hancock (MedtronicTM) bioprótesis porcina fijada con glutaraldehído 0,625% (Hancock ITM) o Glutaraldehído y surfactant dodecyl sulfate (Hancock IITM), válvula MosaicTM (MedtronicTM) bioprótesis porcina

glutaraldehído con ácido alfa oleico de fijación baja presión, válvulas Biocor™ y Epic™ (Saint Jude™), válvula mitroflow™ (Carbomedix™), válvula pericarbon™ (Sorin) pericardio de vaca fijado con el glutaraldehído y post-tratamiento a base de ácido homocisteínico, modelo supra annulaire Soprano™, stentless porcine aortique prostheses (véase Edwards RTM), válvula free style™ (Medtronic™) raíz aórtica de cerdo fijada con el glutaraldehído con un agente anticálcico tipo alfa oleico, Válvula Toronto™ (Saint Jude Medical™) válvula aórtica de cerdo fijada con el glutaraldehído, válvula Prima™ (Edwards™) raíz aórtica de cerdo fijada en glutaraldehído baja presión, válvula Pericarbon Freedom™ (Sorin) válvula constituida por el ensamblaje de dos hojas de pericardio de vaca y fijación glutaraldehído y post-fijación ácido homocisteico, Válvula CryoLife-O'Brien™ formada por tres senos no coronaria porcinos, ATS 3f™, bioprótesis colocada por vía endovascular Core valve™ (CoreValve, Inc. Paris, Francia) (véase WO03079929).

Principales bioprótesis cardíacas actuales: «Surgical Technology International» www.Surgicaltechnology.com STI XV Cardiovascular surgery «Advanced Technologies for cardiac valve replacement, transcatheter innovation and reconstructive surgery» W.R. Jamieson E, Hancock standard and Carpentier-Edwards standard, Carpentier-Edwards Supra-Annular (SAV) Aortic Porcine Bioprosthesis, The Carpenier-Edwards PERIMOUNT pericardial bioprosthesis (Edwards Lifesciences, Irvine, CA, USA), Carpentier-Edwards Duraflex Low Pressure Mitral Bioprosthesis, Carpentier-Edwards PERIMOUNT Magna Aortic & Mitral Bioprosthesis, Carpentier-Edwards PERIMOUNT Plus Mitral Pericardial Bioprosthesis, Carpentier Edwards PERIMOUNT Theon Mitral Replacement System, Edwards Prima™ Plus Stentless Porcine Bioprosthesis, Carpentier Edwards Biophysio Pericardial Aortic Bioprosthesis, The Hancock II porcine bioprosthesis (Medtronic, Inc, Minneapolis, MN, USA), The Medtronic Mosaic™ porcine bioprosthesis (Medtronic Inc. Minneapolis, MN, USA), The Medtronic Mosaic Ultra™ (Medtronic, Inc., Minneapolis, MN, USA), Medtronic Freestyle™ Stentless Porcine Bioprosthesis, The Medtronic Venpro Contegra™ pulmonary valved conduit (Medtronic, Inc., Minneapolis, MN, USA), The St. Jude Medical-Biocor porcine bioprosthesis (St. Jude Medical, Inc. Belo Horizonte, MG, Brasil), St. Jude Medical-Biocor Supra Porcine Bioprosthesis, the St. Jude Medical Epic Supra Porcine Bioprosthesis, The St. Jude Medical-Toronto SPV stentless porcine bioprosthesis (St. Jude Medical, Inc., St. Paul, MN, USA), the St. Jude Medical-Toronto Stentless Root™ porcine bioposthesis (St. Jude Medical Inc., Minneapolis, MN, USA), the St. Jude Medical-Biocor pericardial bioprosthesis (St. Jude Medical, Inc., Belo Horizonte, MG, Brasil), the St. Jude Medical-Biocor stentless porcine bioprosthesis (St. Jude Medical, Belo Horizonte, MG, Brasil), the St. Jude Medical Trifecta™ pericardial bioprosthesis (St. Jude Medical, Inc., St. Paul, MN, USA), the Sorin Pericarbon™ MORE pericardial bioprosthesis (Sorin Biomedica, Saluggia, Italia), the Sorin Pericarbon™ Freedom stentless percardial bioprosthesis (Sorin Biomedica, Saluggia, Italia), the Sorin Peicarbon™ Freedom Solo estentless pericardial bioprosthesis (Sorin Biomedica, Saluggia, Italia), the Soprano supra-annular aortic pericardial bioprosthesis (Sorin Biomedica Saluggia, Italia), the Mitroflow pericardial bioprosthesis (Sorin-Mitroflow Richmond, British Columbia, Canadá), the CryoValve Aortic valve with or without conduit (Cryolife International, Inc. Kennesaw, GA, USA), the CryoValve Mitral valve (Cryolife International, Inc., Kennesaw, GA, USA), the Cryolife-O'Brien stentless porcine bioprosthesis (Cryolife, Inc., Kennesaw, GA, USA), the Shelhigh Skeletonized Super-Stentless™ (Shelhigh, Inc. Union, NJ, USA), the the BioMitral™ valve (Model NR-900), the current generation Shelhigh porcine pulmonic valve conduit (Shelhigh, Inc., Union, NJ, USA), the Koehler Aspire porcine bioprosthesis (Koehler, Bellshill, Scotland), the Koehler Elan stentless aortic porcine bioprosthesis (Koehler Bellshill, Scotland), the Koehler Root Elan stentless aortic porcine bioprosthesis (Koehler, Bellsill, Scotland), the 3F Therapeutics™ boioprosthesis (3F Therapeutics Inc., Lake Forest, CA, USA), the Labcor stented porcine bioprosthesis (Labcor, Inc, Belo Horizonte, MG, Brasil), the Labcor stentless porcine bioprosthesis (Labcor, Inc., Belo Horizonte, MG, Brasil), the Glycar Quattro™ mitral bioprosthesis (Glycar, Inc., Johannesburg, South Africa).

Principales patentes correspondientes a estas invenciones de modo no exclusivo: se han expuesto diferentes modos para la realización de bioprótesis aórticas (por ejemplo Patentes US 7316712, 6391538, 20020173843, 5824061, 20090030511, 6254636, 6086612, 6719789, 6074417, 7011681, 6530952, 5824067, 20040024452, 5769780, 4692164, 4626255, 20080154358, 5824060, 7166124, 7163556, 6540781, 5728152, 5571174, 5549665, 5352240), mitral, pulmonar 7320705, tricúspide, con o sin estent (por ejemplo Patentes US 5156621, 5080670, 4626255, 4561129, 4388735, 4378224), con estents reabsorbibles (por ejemplo Patente US 5489297 con o sin sutura (por ejemplo 20030196274, 20030181974, 7322932, 6027530, asociada o no a estents (por ejemplo 20090118826) para implantaciones endovasculares (por ejemplo 20030125805, 20030125793, 7125418, 7318998, 7041132, 7033390, 6719785, 6682558, 6087552, 5755782, 554521) o por cirugía mini-invasiva. Igualmente modos para montar las hojas para formar las válvulas. Posibilidad de fabricar válvulas. Sistemas de soporte (por ejemplo Patente US 20010002445). Posibilidad de utilizar estimulaciones físicas durante la fabricación de las bioprótesis (por ejemplo Patente US 7348175). Sistema de reparación valvular (por ejemplo Patente US 20040143323, 7455689) o para fabricar in situ la bioprótesis (por ejemplo Patente US 5326370) (The Edwards Lifesciences percutaneous aortic heart valve (Edwards Lifesciences, Irvine, CA, USA), The CoreValve percutaneous pericardial aortic valve (CoreValve Irvine, CA, USA) Medtronic Melody transcatheter pulmonary valve (Medtronic Inc, Minneapolis, MN, USA). The ENABLE™ Aortic Bioprosthesis (3F Therapeutics, Lake Forest, CA, USA). The ENTRATA™ transventricular aortic bioprosthesis (3F Therapeutics Lake Forest, CA, USA). The Edwards Ascendra™ valve replacement system (Edwards Lifesciences, Irvine, CA, USA). The Sadra Percutaneous pericardial aortic valve (Sadra Medical, Campbell, CA, USA) The Aortx (AortTx, Palo Alto, CA, USA) concept. The Corazón PAVR system (Corazón Technologies, Menlo Park, CA, USA). The Corazón Surgical Aortic Valve Repair (SAVR) System (Corazón

Technologies, Menlo Park, CA, USA) Percutaneous bioprostheses for tricuspid regurgitation (3F Therapeutics, Lake Forest, CA, USA).

Ejemplo de otros dispositivos bioprotéticos: (lista no exclusiva): posibilidad de realizar matrices parche (por ejemplo Patentes US 20010051824, 20040157206, 6652583, 6174333, 5855620, 6517576), Cook Biotech Inc, West Lafayette, IN, USA, SMJ™ Pericardial Patch with EnCap™ Technology St Jude Medical™) conductos vasculares (por ejemplo Patentes US 5545215, 20040158320, 20010020191, 6358275, 6206917, 6110212, 6087552), conductos valvulados (por ejemplo Patente US 5376112) o para tratar tejidos biológicos (por ejemplo Patente US 20060207031).

La bioprótesis puede ser un andamio, como por ejemplo un andamio descrito en el documento PCT/FR2008000785. Este andamio puede estar celularizado; el mismo puede ser utilizado para la terapia celular, la regeneración, sustitución reconstrucción tisular incluso cutánea. El andamio tridimensional es total o parcialmente o no biodegradable. El andamio tridimensional está formado en una fase líquida que, una vez facilitada, después de o sin activación puede transformarse en fase sólida (por ejemplo solución, pasta, gel, coloide en suspensión, plasma). El andamio tridimensional puede estar hecho de un hidrogel constituido por ácidos aminados hidrófobos e hidrófilos capaces de ensamblarse espontáneamente en estructuras macroscópicas. El andamio tridimensional puede ser un gel o un agente tensioactivo. El andamio tridimensional en el que el andamio es un agente tensioactivo o un «agente inteligente», es decir un material biológico constituido de estructuras ensambladas espontáneamente a gran escala que se basan en interacciones locales a nivel molecular. En el andamio tridimensional, la construcción 3D puede ser obtenida por superposición de cultivos obtenidos en andamios 2D diferentes. La adherencia de las células a este soporte 2D puede ser modulable. Estos soportes 2D pueden contener colágeno/fibrina/fibrinógeno modificados por fijación de moléculas de adhesión. Varios andamios 3D de naturalezas diferentes pueden igualmente ser superpuestos de manera secuencial o no. El andamio tridimensional puede formar una matriz de células en la que la construcción de tejido artificial contiene biomateriales de formas elegidas que facilitan el reagrupamiento estructural: micro o nano estructuras (por ejemplo los tubos micro o nano, las nanopartículas, los micro o nanoporos. Las micropartículas o las nanopartículas son de silicio, poli (ácido láctico) mezcla de ácido Copolímero – ácido glicólico láctico, ciclodextrina, liposoma conjugado o no con las nanopartículas quantum dot, magnetita, filamentos, análogos estructurales para formar la interfaz exterior, estructuras peptídicas análogas β -/o- α que forman filamentos o tubos, de esponja, de polvo, de conducto, de esfera, de microsfera, de film, micro o nanofibrilos, membrana de lípido, fibra, malla, matriz, parche, hoja de tejido, guatina o combinación.

Otros dispositivos bioprotéticos como (por ejemplo Patentes US 5067962, 6936070, 6790213, 4585458, 7404819), The Shelhigh BioRing (Shelhigh, Inc., Milburn, NJ, USA) Prima™, Restore™, Oasis™, Surgisis™, CuffPatch™, GraftJacket™ Alloderm™, TissueMend™, OrthAdap™. El dispositivo puede ser igualmente colágeno inyectable o no (por ejemplo Patentes US 6548077, 6127143, 5814328, 5374539), por ejemplo tejido comprimido (por ejemplo Patente US 7141064). El mismo puede servir para regeneraciones, sustitución, reconstrucción tisular como por ejemplo cirugía de reconstrucción con bioprótesis fabricadas a partir de tejidos cutáneos de cerdo.

Los diferentes dispositivos anteriormente descritos pueden ser asociados.

Principios que rigen las reglas de compatibilidad fenotípica en el sistema ABO/ABH.

Se trata por tanto de implantar en un paciente de «fenotipo ABO» dado un tejido o extracto tisular susceptible de inducir en este paciente la menor reactividad posible procediendo de modo que el fenotipo ABH del dispositivo bioprotético sea «compatible» con el sistema ABO del paciente.

El fenotipo es el expresado a nivel del dispositivo bioprotético en el momento de su implantación y que puede ser diferente del fenotipo ABH del animal o de los animales en los cuales los tejidos han sido preparados. En función o no de la presencia del antígeno A, B los individuos tienen o no en su sangre una reactividad inmunológica con respecto al antígeno ausente. Esta reactividad se expresa por la presencia en la sangre de estos individuos de anticuerpos frente al antígeno ausente. Aparte de los individuos del «grupo Bombay» que no tienen antígeno H y por tanto tampoco grupo A y B y por tanto tienen anticuerpos anti H anti A y anti B, todos los seres humanos expresan la especificidad H. Estos por tanto no tienen anticuerpos anti H. Los pacientes del grupo A tienen por tanto una reactividad anti B pero aceptan los tejidos H o A. Los pacientes del grupo B tienen una reactividad anti A pero aceptan los tejidos B y H. Los pacientes del grupo O tienen una reactividad anti A y anti B y aceptan los tejidos de tipo H. Los pacientes del grupo AB no tienen reactividad anti A, anti B o anti H y por tanto aceptan los tejidos A, B o H. Los pacientes del «grupo Bombay» tienen una reactividad anti A, anti B y anti H. La reactividad es con respecto al antígeno Humano A, B, H. Si existe una identidad para el antígeno A y en una cierta medida con el antígeno H en el hombre y ciertos animales como por ejemplo el cerdo, esto no es cierto para el antígeno B que es diferente. Los individuos del grupo B humano desarrollarán por tanto una reacción inmunológica con respecto al tejido del grupo B animal Para los otros grupos sanguíneos expresados en el cerdo especialmente el grupo I que frecuentemente está presente en los cerdos que no expresan la antigenicidad A, los individuos desarrollarán una reactividad con respecto a este antígeno.

Las diferentes antigenicidades han sido definidas anteriormente.

La presente invención está además ilustrada, sin estar limitada, en los ejemplos siguientes.

Ejemplos

Ejemplo 1: Obtención de un tejido animal con fenotipo ABH animales/ABO-ABH humano determinado.

5 En el ejemplo 1, se ha utilizado la propiedad de ciertos cerdos de expresar la antigenicidad A a nivel de su tejido para obtener tejidos con un «fenotipo A humano» pero anteriormente en la patente se han descrito otros modos de proceder para obtener tejidos con una especificidad dada

10 En el ejemplo 1, se han utilizado PCRs sobre ADN extracto de válvula de cerdo para detectar la actividad A transferasa humana que codifica para la especificidad A utilizando el kit de extracción ADN de Invitrogen™ y el ADN ha sido amplificado utilizando 3 pares «primers» (cebadores) conocidos para amplificar los genes A1 humano (56). Pero pueden utilizarse otros primers o cebadores como FY-520 (5'-CCGGAATTCAACACTTCATGGTGGGACAC-3' – SEQ ID N° 1) y FY-521 (5'-CCGGAATTCTA GCTCTCATCATGCCACAC-3' – SEQ ID N° 2). Para fenotipar los cerdos pueden ser utilizados otros modos de proceder, como modos de proceder histológicos.

A. Método para obtener el fenotipo ABH de un tejido animal

15 El método de identificación de los grupos ABH en los animales es relativamente común y muchas técnicas aplicadas al fenotipo ABO en el hombre son aplicables en el animal. Las técnicas utilizadas en el cerdo pueden ser extendidas a otras especies especialmente el buey. En efecto, el sistema ABO/ABH es un sistema que ha sido muy preservado en el transcurso de la evolución.

B. Detección del grupo sanguíneo del cerdo:

20 Para determinar el grupo sanguíneo del cerdo. Se toman 0,5 ml de sangre de cerdo en un tubo heparinado y 0,5 ml de PBS. Se añaden 25 microlitros de sangre diluida y se les pone en un tubo Eppendorf para centrifugación. Se incuban 25 microlitros de anticuerpo de ratón anti humano A, a temperatura ambiente durante 5 min., se centrifugan después 900 g durante 3 min. Después de la centrifugación, se observa la hemaglutinación en un microscopio tradicional. La incubación con anticuerpos anti B Humano sirve de control negativo (51).

25 En paralelo, en el cerdo como en numerosos animales existe un sistema ABH tisular con una cierta correlación entre el sistema ABH sanguíneo y tisular (43).

Ciertos tejidos son más prestos que otros para expresar los antígenos ABH. Los tejidos exocrinos, los epitelios del tubo digestivo, el aparato urinario y especialmente los riñones, el aparato genital incluido testículo, las glándulas salivales.

C. Detección del grupo ABH del cerdo en tejidos fijados:

30 Se han congelado biopsias de riñones en O.C.T. medio de criocongelación (Miles, Inc., Elkhart, IN, USA) en el nitrógeno líquido. Las extracciones han sido cortadas y preservadas a -80 °C. Las secciones han sido fijadas después con acetona fría durante 10 min, secadas al aire ambiente y rehidratadas en PBS durante 7 min. Para limitar los ruidos de fondo las láminas han sido incubadas durante períodos de 15 minutos con los diferentes agentes 3% de peróxido de hidrógeno (Sigma) y agentes bloqueantes (Thermo, Electron, Pittsburg PA, USA) de la proteína avidina (Dakocytoformation). Entre cada bloque, se aclaran durante 10 min. Las hojas han sido entonces incubadas a temperatura ambiente durante 30 min con un anticuerpo primario anti A o anti H (DakoCytoformation). Tras de lavado, las secciones han sido incubadas después con un anticuerpo secundario de carnero anti ratón «biotinilado» durante 30 min (DakoCytoformation). La reacción coloreada ha sido realizada utilizando el 3-amino-9-etilcarbazol que reaccionará con la peroxidasa para dar una coloración roja y las hojas igualmente han sido marcadas con H-E (hematoxilina Eosina) (51).

Otra solución que utiliza una fijación con el formaldehído y un tratamiento en microondas y después utilización de kit de detección no biotinilado (Vision detection kit HRP/DAB (Dako, H5007)) (58).

45 La detección del antígeno H puede hacerse utilizando una lectina específica Ulex Europaeusi (UEAI) (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) o anticuerpos anti-H anti-H1 o anti-H2 (véase Oriol Transplant Internacional 1994). El antígeno porcino I puede ser identificado igualmente utilizando lectinas como la lectina Galactose-specific rictin lectin (RCA120) (52), la Arachis Hypogaea, Helix pomatia (HPA San Mateo CA USA) y anticuerpos para el grupo A. Globalmente en la raza amplia de cerdos blancos (análisis en 37 cerdos) 51% de los cerdos son anticuerpos del grupo A (Marcado). 38% no son reconocidos por el anti A pero por el contrario expresan la cadena H sobre todo de tipo 2 reconocida por la lectina UEAI. Finalmente el 11% de los cerdos son A- y H- pero son reconocidos por otra lectina (véase Arachis Hypogaea (PNA) y anticuerpo anti-I+), son generalmente le^y/le^{xt} .

50 Existen si embargo en los cerdos de tipo A+ un cierto número que son igualmente I+. Los cerdos de tipo A son generalmente H- porque los mismos no reaccionan con UEA 15/19. Existen sin embargo 3/19 de estos cerdos que expresan el antígeno H y A humano. Estos son A+/H+/- . Igualmente entre estos cerdos de fenotipo A existe 6/19 ~

30% de cerdos que no son de puro grupo A y que expresan igualmente el grupo I específico del cerdo. Estos cerdos son A+/H-/I+ (49).

5 Generalmente los cerdos que son H+ expresan igualmente la especificidad Lewis y son generalmente le^x/le^y . Para el grupo A-H+ 3/14 son igualmente I+(49). En otro análisis Busch J. sobre biopsias de riñón de cerdo de cerdos cruzados (LargeWhite/Landrace/Duroc) muestra que A+ 8/11 con 2/8 (25%) A+ H+. Los otros 3/11 son A-H+ (51).

10 Para determinar el tipo de núcleo H1 o H2 de la cadena H, podría ser utilizada por ejemplo la resistencia de los cerdos a diferentes toxinas «heat lable toxina from E. Coli» (LTs) o Cholera (CT) (se podrán utilizar también anticuerpos específicos anti-H1 o anti-H2 en los tejidos de estos animales o en proteínas secretadas por estos animales). La capacidad de proteínas purificadas a partir de secreciones presentes en la superficie del intestino de cerdo para fijar estas toxinas estaría directamente relacionada con el fenotipo H1 o H2 del núcleo H del cerdo considerado. En ausencia de fijación, se trata de cerdo I. Fijación de LTs únicamente núcleo H2. Fijación de LTs y de CT se trata de núcleo H1. Este tipo de forma de proceder puede ser una manera rápida identificar los cerdos por su fenotipo H debido a una más o menos grande resistencia a la infección (52, 59, 60) o por ciertos comportamientos como por ejemplo el tamaño del lecho (61). Los E. Coli tienen un receptor que reconoce específicamente los núcleos A H1. Esta propiedad podría ser utilizada igualmente para identificar los cerdos de núcleo H1 (62).

15 Podrá interesarse también en la especificidad Lewis de estos animales sobre en biopsia de los testículos en los animales con una edad de más de 3 semanas (posibilidad de utilizar especialmente los anticuerpos anti le^x o anti le^y). La especificidad Lewis es codificada por el gen FUT2 que codifica igualmente para el núcleo tipo H2 de la cadena H. Las glándulas gustativas permiten igualmente detectar la mayoría del panel de los antígenos ABO (63).

20 Los tejidos son fijados en formalina 10% e incluidos en parafina por secciones. Después de desparafinado, las secciones han sido incubadas durante 30 min. en cámara húmeda con una lectina conjugada fluoresceína o rodamina 20 mg/ml y montados después en medio para fluorescencia (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) y examinados al microscopio con fluorescencia (43, 49).

25 La detección puede hacerse en las biopsias de numerosos tejidos especialmente los tejidos exocrinos, aparato genito-urinario (51), tubo digestivo (49), aparato digestivo. Para revisión Nishi K. y otros 2005 ABO Blood Typing (64).

D. Detección del fenotipo ABH en los productos de secreción del animal

30 Es posible igualmente hacer un análisis de las sustancias H en las propias secreciones como por ejemplo la leche (65), las secreciones submaxilar, la mucosidad bronquial.. Los grupos ABO están asociados generalmente a mucinas. Posibilidad de identificar las diferentes formas por HPLC (36) o western Blott con utilización de anticuerpo específico anti H1 (Clone 17-206 Signet Dedham MA, USA) o anti H2 clone 92 FR-A2 Dako Carpinteria, CA, USA) o Le^b (Clone T218 Signet Dedham MA, USA), Le^a (clone KM231 Calbiochem-Novabiochem San Diego CA), Le^x (Clone P12 Calbiochem-Novabiochem San Diego CA) (Clonex (65). Si la mayoría de los cerdos secretan en su leche núcleos H de tipo H1, la secreción del núcleo H de tipo H2 es más restringida (65).

35 E. Detección del grupo AH del cerdo en las células epiteliales de las mucosas

40 Otra técnica más fácil es hacer un fenotipado en las células epiteliales de la mucosa bucal frotando la mucosa bucal con un algodón y aplicando este algodón sobre una lámina de vidrio. Los especímenes son dejados secar a la temperatura ambiente. Las láminas son fijadas con acetona fría (Sigma; St. Louis, MO, USA) durante 10 min. y después rehidratadas en PBS. SE aplican 100 microlitros de un anticuerpo de ratón antihumano A 1/50 Dilution, H 1/50 dilution IgM anticorps monoclonal (DakoCytoformation, Carpinteria, CA, USA) en una cámara humidificadora durante 60 min. Después de incubación durante 60 min en oscuridad con un anticuerpo FITC conjugado de carnero anti ratón 1/100 (Vector, Burlingame, CA, USA) es observado con un microscopio de fluorescencia (51).

F. Detección de los sistemas ABH en las faneras:

El antígeno A ha sido mostrado como expresado en el interior de faneras como los pelos (64).

45 G. Genotipado de los animales para su sistema ABH:

Debido a la complejidad de los grupos ABO, las técnicas de biología molecular (31-34) corren el riesgo, en algunos años, de reemplazar a las técnicas actuales por serología. Estas técnicas pueden ser utilizadas en el animal (66).

50 Es posible también efectuar un fenotipo del cerdo por genotipado (56, 57, 63, 67-69). El conjunto de la elaboración de estos azúcares está bajo el mando de diferentes enzimas codificadas por genes. De manera muy interesante, los genes codificantes para estas diferentes actividades han sido muy conservados en el transcurso de la evolución de tal modo que en muchos de estos casos las secuencias de cebadores humanos que se utilizarían para secuenciar tal o cual gen pueden ser utilizadas en el animal. Este es especialmente el caso para el gen endogalactosidasa A (A1 o A2) que codifica para el antígeno A humano (67). Para la especificidad H es posible interesarse especialmente en los genes FUT 1 y 2 (42, 60, 70-72). El «genotipado» para los grupos ABH en el animal ha sido realizado en

secreciones como la saliva (67), la sangre, en el ADN de extracto de tejido submaxilar en el cerdo (57). El genotipado puede investigarse en el grupo ABO pero igualmente el estado secretor no secretor (73).

5 Las diferentes técnicas anteriormente descritas permitirán identificar el o los cerdos interesantes debido a su especificidad ABH. Especialmente los cerdos A+ (A+H+I- > A+H-I- > A+H-I+), y los cerdos H+ (A-H+I- > A-H+I+) y los otros cerdos especialmente los cerdos I (A-H-I+). Los resultados podrán ser confirmados eventualmente en corte histológico de tejido. Este modo de proceder podrá ir acompañado de una fenotipazo del núcleo H eventualmente por genotipo en las glándulas submaxilares por ejemplo.

10 Las bioprótesis serán propuestas entonces por ejemplo en función del fenotipo tipo H1 o H2 del núcleo H del paciente. Como se ha visto anteriormente, existe una elación directa entre el tipo de núcleo H, H1 o H2 y el fenotipo secretor o no del paciente y sus características para el grupo Lewis Le^a o Le^b.

Ejemplo 2: Fijación/Reticulación del tejido en el fenotipo ABH animales/ABO humano determinado:

15 Los tejidos valvulares porcinos extraídos anteriormente en cerdos de tipo A+ o A- en el ejemplo 1 han sido sumergidos en una solución de glutaraldehido 0,625% en PBS pH 7,4 con una temperatura controlada de 37 °C durante 2 semanas y sometidos después a un tratamiento por agente desnaturizante/tensioactivante y entrecruzante (véanse respectivamente formaldehído 4% Etanol 2,2% y Tween 80 1,2%) durante 3 días.

20 Se han descrito anteriormente diferentes posibilidades de fijación de tejidos y en lugar de la fijación que se ha utilizado como ejemplo, de manera no exclusiva, pueden utilizarse diferentes tipos de tratamientos para fijar los tejidos como se describió anteriormente. A título de ejemplo de alternativas de fijación para el glutaraldehido (Patentes US 7579381, 7214344, 6878168, 6561970, 6547827, 6214054, 6008292, 5935168, 5931969, 5782931, 5215521, 4885005, 4838888, 4648881, 4647283, 20070255423, 20060217805, 20040253291, 20070255423, 20050071926, 7214344, 20090164005).

Ejemplo 3: El conocimiento del fenotipo ABH de tejido reticulado permite obtener tejidos bioprotéticos que se calcifican menos en el receptor en función de su grupo ABO/ABH:

25 Las ratas como los cerdos expresan antigenidades B o AB. Los tejidos porcinos anteriormente fijados de fenotipo A+ o A- han sido implantados de modo subcutáneo en ratas Wistar de fenotipo ABH A+ (véase AB) o A- (véase B) de manera estéril.

30 El fenotipo de las ratas que han sido implantadas ha sido determinado haciendo un marcado histológico en biopsia de las glándulas submandibulares. Los tejidos submandibulares han sido fijados con formaldehído al 10% puesto en parafina y han sido realizadas secciones de 5 micrómetros. Se han utilizado anticuerpos A (orto diagnóstico, Ranitan NJ) como se describió anteriormente (véase J. Of Forensic Medicine and toxicology 2001, 20, nº 2 Nishimura A).

35 Se ha medido la calcificación de los implantes por absorción espectroscópica después de 30 días de implantación subcutánea en la rata. n = 10 por grupo Calcificaciones en implantes A+ porcino en las ratas A- de 135+/-22 µg Ca/mg de tejido deshidratado. Calcificación en implantes A+ porcino en las ratas A+ de 30+/-7 µgCa/mg de tejido deshidratado.

Este ejemplo demuestra bien cómo el conocimiento del fenotipo ABH del tejido de origen permite obtener dispositivos que tendrán menos tendencia a calcificarse si se conoce el grupo ABO/ABH del receptor y si la atribución se hace según los criterios que se han definido.

Ejemplo 4: Resultados de dispositivos bioprotéticos porcinos en función del fenotipo ABO de los pacientes implantados:

40 *4.1 Implicación del fenotipo ABO de los pacientes en la longevidad de las bioprótesis:*

Actualmente, para un individuo dado, solamente existen muy pocos parámetros para predecir la longevidad de una bioprótesis. Para la atribución de una bioprótesis se tiene en cuenta el sitio de implantación, la edad, la configuración del sitio de implantación (gradiente, volumen) pero no se tienen en cuenta parámetros propios del individuo, como su reactividad inmunológica.

45 En el estudio siguiente se aporta la prueba de que el conocimiento del grupo ABO permite determinar la reactividad del individuo frente a residuos azucarados ABH llevados por el dispositivo bioprotético y que teniendo en cuenta esta reactividad y adaptando los dispositivos, es posible obtener dispositivos de longevidad superior con menos fracaso precoz y menos tendencia a la calcificación.

50 Bioprótesis porcinas de tipo «Carpentier-Edwards estándar» (tratamiento por glutaraldehido o tratamiento por glutaraldehido más «tratamiento esterilizante (véase «Formaldehído/Etanol/Tween») fabricadas a partir de cerdo de tipo A+ o A- han sido implantadas en pacientes de grupo A, O, B, AB.

Durante la implantación y durante la realización de la bioprótesis, no se buscaba el fenotipo del cerdo porque no se sabía como se demuestra en este invención que el grupo ABH del cerdo podía tener una influencia ni que el grupo ABO del paciente pudiera tener una influencia sobre la longevidad de la bioprótesis.

5 Teniendo en cuenta la frecuencia del fenotipo A en el cerdo de aproximadamente el 30% un paciente del grupo A tenía una probabilidad sobre 3 de recibir una bioprótesis fabricada en un animal que le correspondiera fenotípicamente. Esto sucedía en 1/6 con bioprótesis fabricadas a partir de dos cerdos como era el caso de ciertas bioprótesis comercializadas.

10 Se ha investigado por tanto el conjunto de las bioprótesis explantadas por causa de degeneración en un lapso de tiempo de 10 años. Esto representa un número de aproximadamente 920 pacientes. En estos pacientes se han investigado los diferentes factores expuestos para influir en la longevidad de las bioprótesis (Edad de la implantación, sexo, diámetro de la bioprótesis, tipo de bioprótesis, sitio de implantación (Aórtica / mitral / tricúspide), número de bioprótesis implantadas así como el grupo ABO de los pacientes. Había un 52% de hombres, sitio de implantación 62% en posición aórtica, 36% mitral, 2% tricúspide. Número de bioprótesis implantadas n=1 82%, n=2 17%, n=3 1%. Longevidad de la bioprótesis < 6 años (10,4%); [6-9] (27,3%); [9-12] (35,5%); [12-14] (13,9%); >14 (12,8%). La repartición de los grupo ABO en los pacientes portadores de bioprótesis degenerativas 36,3% A, 42,4% grupo O, 15,2% grupo B, 6,1% grupo AB. En la población caucasiana de la que procedían estos pacientes la repartición de los grupos ABO es respectivamente de grupo A>40%, grupo O>40%, grupo B<10%, grupo AB~3%. En esta población de pacientes reoperados había proporcionalmente menos pacientes del grupo A. el % de los pacientes del grupo O está en lo normal y por el contrario los grupos B y AB se encuentran aumentados lo que va en el sentido de una mayor incidencia de reoperaciones en los pacientes del grupo O, B o AB con respecto a los pacientes del grupo A.

Se ha realizado entonces un análisis multivariado en el conjunto de los factores de riesgo presentados clásicamente hasta ahora como teniendo un impacto sobre la longevidad de la bioprótesis incluyendo además el grupo ABO de los pacientes. Utilización del software SEM.

25 Se han encontrado dos variables independientes para explicar la longevidad de las bioprótesis (véase la Tabla 1), el grupo sanguíneo del paciente, el sitio de implantación y el número de bioprótesis implantadas. De manera muy interesante, el factor más importante en el modelo es el grupo ABO de los pacientes.

Tabla 1: Análisis multivariado factor de longevidad de bioprótesis porcina: implicación grupo A con respecto a los otros grupos

Longevidad	Coef.	Desv.Estnd.	t	P(t)	Intervalo 95%
Grupo A	0,79	0,33	2,33	0,02	1,45
Edad implant.	-0,01	0,01	-0,94	0,34	0,01
Sexo	0,25	0,32	0,78	0,43	0,88
Sitio Mitral	-0,76	0,33	-2,30	0,02	-0,11
Número bio.	-0,44	0,35	-1,25	0,21	0,25

30 Independientemente de todos los otros factores los pacientes del grupo A tienen una longevidad de la bioprótesis 2,33 años superior a los pacientes de los otros grupos. Esta diferencia es ya importante puesto que la misma sale en primer lugar en el análisis multivariado con el peso más importante. La misma es de la misma importancia que el sitio de implantación de la bioprótesis (sitio de implantación mitral/aórtica) que es un dato incontrolable y reconocido por cualquier clínico en su elección para la implantación de una bioprótesis.

35 La diferencia que se expone subestima de modo considerable el beneficio esperado. En efecto según las razas de los cerdos de origen, la incidencia del grupo A varía del 20% - 40%. Además, en los grupos A hay diferentes fenotipos A+-H+-I- A+-H+-I-, pero también A+-H-I+ -30%. Así pues, se puede estimar que la diferencia observada es debida a los pacientes del grupo A que han recibido tejidos del cerdo o sea solamente entre el 14% y el 30%. La diferencia real es probablemente 3x superior con respecto a las cifras que se exponen en términos de ganancia en años. Esta probabilidad es todavía 2 veces menor para los pacientes del grupo A que recibirán una bioprótesis preparada a partir de diferentes cerdos.

40 Los pacientes del grupo O (tabla 2) no tienen especialmente una longevidad prolongada de su bioprótesis con respecto a los otros grupos. Lo mismo sucede con los grupos B (Tabla 3) y AB (Tabla 4). De manera interesante, mientras que el grupo comparte ciertas similitudes estructurales con el antígeno mayor de xenorreactividad: «alfaGal», los pacientes del grupo B no tienen una longevidad especialmente mas marcada de su bioprótesis.

Tabla 2: Análisis multivariado del factor de longevidad de bioprótesis porcina: Implicación grupo 0 con respecto a los otros grupos

Longevidad	Coef.	Desv.Estnd..	t	P(t)	Intervalo 95%
Grupo 0	0,27	0,31	0,86	0,38	0,88
Edad implant.	-0,009	0,01	-0,84	0,40	0,01
Sexo	0,17	0,32	0,54	0,59	0,80
Sitio Mitral	-0,69	0,33	-2,1	0,038	-0,04
Número bio.	-0,60	0,35	-1,7	0,086	0,09

Tabla 3: Análisis multivariado factor de longevidad de bioprótesis porcina: Implicación grupo B con respecto a los otros grupos

Longevidad	Coef.	Desv.Estnd.	t	P(t)	Intervalo 95%
Grupo B	0,45	0,44	1,04	0,30	1,33
Edad implant.	-0,009	0,01	-0,82	0,41	0,01
Sexo	0,18	0,32	0,57	0,57	0,82
Sitio Mitral	-0,70	0,33	-2,14	0,033	-0,06
Número bio.	-0,61	0,35	0,35	0,082	0,08

5 Tabla 4: Análisis multivariado factor de longevidad de bioprótesis porcina: Implicación grupo AB con respecto a los otros grupos

Longevidad	Coef.	Desv.Estnd.	t	P(t)	Intervalo 95%
Grupo AB	-0,38	0,68	-0,55	0,58	0,97
Edad implant.	-0,009	0,01	-0,84	0,40	0,01
Sexo	0,18	0,32	0,58	0,56	0,81
Sitio Mitral	-0,72	0,33	-2,17	0,03	-0,06
Número bio.	-0,56	0,35	-1,6	0,11	0,13

10 En esta invención se muestra la implicación de los grupos ABO en la longevidad de las bioprótesis. Se muestra cómo la toma en cuenta de los grupos ABO de los pacientes como marcadores de reactividad con respecto al tejido heterólogo puede permitir obtener dispositivos médicos/quirúrgicos como bioprótesis de longevidad considerablemente mejorada para un paciente dado. La ganancia de longevidad supera ampliamente todos los resultados obtenidos hasta entonces con los diferentes tipos de bioprótesis que han sido desarrollados y comercializados.

15 *4.2 En esta invención se demuestra cómo el conocimiento del ABO de los pacientes es un factor clave para determinar las bioprótesis que tendrán longevidades consideradas como excepcionales o fracasos precoces inexplicados*

20 En esta invención se muestra cómo la toma en cuenta del grupo ABO de los pacientes permite obtener en un paciente dado, admitiendo que el mismo recibe el dispositivo con un fenotipo ABH adaptado, dispositivos de duración prolongada y limitar los fracasos precoces debidos a una alteración precoz de las bioprótesis antes de 7 años. Esto permite realizar dispositivos más seguros en términos de resultados, a la vez mejores a largo plazo, con menos fracasos precoces.

Se ha analizado separadamente el grupo de bioprótesis de longevidad excepcional de más de 16 años incluyendo el conjunto de los factores conocidos par explicar la longevidad de las bioprótesis y el grupo ABO de los pacientes.

25 Una vez más, como muestra la tabla 5, el grupo ABO del paciente es, en análisis multivariado, el principal factor predictivo de una longevidad excepcional de una bioprótesis de más de 16 años. Lo que es igualmente muy importante es que aquí también el grupo A aparece como el factor predictivo más importante de longevidad de las bioprótesis a largo plazo antes incluso que el sitio de implantación. Una vez más, el tipo de bioprótesis implantada no aparece en este análisis como una variable predictiva significativa de una longevidad prolongada de la bioprótesis.

Tabla 5

Longevidad>16 años	Coef.	Desv.Estd..	T	P(t)	Intervalo 95%
Grupo A	2,3	1,0	1,97	0,048	5,6
Edad implant.	0,99	0,01	-0,66	0,50	1,0
Sexo	2,28	1,01	1,85	0,064	5,4
Sitio Mitral	0,23	0,10	-3,15	0,002	0,57
Número bio.	1,28	0,57	0,56	0,57	3,0

La toma en cuenta del grupo ABO permite igualmente limitar la incidencia de las alteraciones precoces de las bioprótesis antes de 7 años. Del mismo modo los pacientes del grupo A tienen un riesgo menos elevado de degenerescencia precoz de su bioprótesis (antes de 7 años) que los pacientes de los otros grupos.

- 5 *4.3 En esta invención se demuestra cómo la reactividad de los pacientes con respecto a residuos azucarados llevados por las bioprótesis puede explicar la propensión de las bioprótesis a calcificar.*

En el momento de la explantación se ha recopilado el estado calcificado o no de la bioprótesis. Es necesario saber que existen otros tipos de degenerescencia para las bioprótesis con especialmente los desgarros o la formación de un pannus.

- 10 Se han expuesto diferentes factores para explicar la tendencia a la calcificación especialmente la edad del paciente en la implantación con una calcificación particularmente rápida en el individuo joven, la duración de implantación de la bioprótesis. Se demuestra aquí también la importancia del grupo ABO con una menor tendencia a la calcificación para los pacientes del grupo A (coef. < 1, véase la Tabla 6).

Tabla 6

Calificación S/N	Coef.	Desv.Stnd	T	P(t)	Intervalo 95%
Duración implant.	0,96	0,02	-1,16	0,24	1,02
Grupo A.	0,72	0,15	-1,55	0,12	1,08
Edad Implant.	0,96	0,006	-4,87	0,0002	0,98

- 15 En la tabla 7 se exponen los resultados de los análisis multivariados que comparan los otros grupos O con respecto a los otros grupos B y AB. Si el efecto del grupo O sobre la calcificación es indiferente, los pacientes del grupo B y AB tienen una mayor tendencia a calcificar su bioprótesis (véase coef. > 1, 1,3 y 1,12 (Superiores a 1) respectivamente).

Tabla 7

Calificaión S/N	Coef.	Desv.Stnd.	T	P(t)	Intervalo 95%
Grupo O.	1,0	0,04	0,18	0,96	1,4
Grupo B.	1,3	0,36	1,10	0,79	2,2
Grupo AB.	1,12	0,46	0,28	0,78	2,5

- 20 Ejemplo 5: El fenotipo ABH del tejido bioprotético debe ser adaptado al fenotipo ABO/ABH del paciente:

Además del ejemplo de implantación en el animal (ejemplo 3), en el que se ha mostrado que la calcificación del tejido bioprotético en el animal depende de su fenotipo ABH y el de la bioprótesis implantada, se ha investigado si esto se verificaba igualmente en el hombre. Se ha verificado si los resultados excepcionales no estaban relacionados con una adecuación por el hecho del azar entre el fenotipo ABH de la bioprótesis y el fenotipo ABO del paciente.

- 25 Se ha investigado en las bioprótesis porcinas de longevidad excepcional (superior a 16 años) el fenotipo ABH del cerdo a partir del cual habían sido fabricadas las bioprótesis. Se ha extraído por tanto el ADN de las bioprótesis utilizando el kit de ivitrogénico para extraer el ADN. Se ha investigado entonces explantadas utilizando el kit de Invitrogen para extraer el ADN. Se ha investigado entonces la expresión de la actividad A transferasa. El ADN ha sido amplificado utilizando 3 pares de «primers» descritos para amplificar los genes A1 humano (56). Si el gen codificante para la enzima A transferasa porcina y el humano es idéntico, los fragmentos de restricciones son diferentes y por tanto es posible realizando una digestión de los productos de PCR por EcoRI con o sin BamHI (56) y
- 30

una migración sobre el gel de agarosa autentificar el origen de la actividad A transferasa. Así, para un paciente de tipo A es posible detectar una actividad A transferasa de origen porcino. Se han utilizado como control otros marcadores expresados en el cerdo y el hombre pero de tamaño diferente como el gen P53.

- 5 El análisis de las diferentes bioprótesis explantadas de longevidad excepcional ha mostrado que los pacientes del grupo A que tienen una bioprótesis de longevidad excepcional han recibido todos una bioprótesis que proviene de cerdo de tipo A. Para algunos pacientes de los grupos B y O que han tenido una bioprótesis de longevidad excepcional, ninguno ha recibido bioprótesis de tipo A.

Esta análisis demuestra por tanto que es fundamental tener una adecuación entre el fenotipo ABH del tejido animal y el fenotipo ABO del paciente.

- 10 Esta invención propone por tanto bioprótesis adaptadas al fenotipo ABO de los pacientes.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de obtención de una bioprótesis médica fijada químicamente implantable en un paciente humano, que comprende sustancias que han sido extraídas de tejido animal no-humano, comprendiendo el procedimiento una etapa en el transcurso de la cual se selecciona positivamente una bioprótesis fijada químicamente para su implantación en el cuerpo de citado contacto humano cuando (i) el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH de la citada bioprótesis fijada químicamente es compatible con (ii) el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH del citado paciente humano, siendo elegidas las citadas bioprótesis médicas entre las válvulas cardíacas, las bioprótesis cardíacas, las bioprótesis arteriales, las bioprótesis vasculares, un parche o tejido, las bioprótesis pulmonares, los tejidos de sustitución o de regeneración o asociación.
2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende las etapas siguientes:
- a) facilitar una pluralidad de bioprótesis fijadas químicamente cuyo tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH es conocido, y
- b) seleccionar positivamente, en el seno de la pluralidad de las citadas bioprótesis fijadas químicamente, al menos una bioprótesis fijada químicamente para su implante en el cuerpo del citado paciente humano cuando (i) el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH de la citada bioprótesis fijada químicamente es compatible con (ii) el tipo fenotípico en el sistema ABO/ABH del citado paciente humano.
3. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 y 2, caracterizado por que las sustancias que provienen de tejido animal no-humano contenidas en una bioprótesis fijada químicamente son elegidas entre sustancias que provienen de mamífero.
4. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, caracterizado por que las citadas sustancias son elegidas entre las sustancias que provienen de un mamífero elegido entre un cerdo, un bovino, un ovino, un canguro, una foca, un camello y un équido.
5. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que las citadas bioprótesis fijadas químicamente consisten en válvulas cardíacas elegidas entre las válvulas mitral, aórtica, pulmonar y tricúspide.
6. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, caracterizado por que la selección de una bioprótesis es realizada según las reglas de compatibilidad siguientes:
- si el fenotipo ABO/ABH del citado paciente humano es el fenotipo A, se selecciona una bioprótesis fijada químicamente cuyo tipo fenotípico ABO/ABH es un fenotipo elegido entre A o H,
 - si el fenotipo ABO/ABH del citado paciente humano es el fenotipo O, se selecciona una bioprótesis fijada químicamente cuyo tipo fenotípico ABO/ABH es un fenotipo H,
 - si el fenotipo ABO/ABH del citado paciente humano es el fenotipo B, se selecciona una bioprótesis fijada químicamente cuyo tipo fenotípico ABO/ABH es un fenotipo entre B (humano) o H, y
 - si el fenotipo ABO/ABH del citado paciente humano es el fenotipo AB, se selecciona una bioprótesis fijada químicamente cuyo tipo fenotípico ABO/ABH es un fenotipo elegido entre A, B o H,
7. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado además por que,
- el fenotipo en el sistema Lewis, respectivamente (i) para la o las bioprótesis candidatas fijadas químicamente y (ii) para el paciente humano, está determinado o es conocido, y
 - la selección comprende la selección de una bioprótesis fijada químicamente si se establece más de una compatibilidad para el tipo fenotípico en el sistema Lewis.
8. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que la citada bioprótesis está fijada químicamente por medio de un agente reticulante.
9. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizado por que el citado agente reticulante comprende glutaraldehído.