

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 370 095**

51 Int. Cl.:  
**A61L 24/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07785971 .8**  
96 Fecha de presentación: **10.07.2007**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2037972**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.03.2009**

54 Título: **USO DE GELATINA Y TRANSGLUTAMINASA PARA LA PREPARACIÓN DE UN ADHESIVO MÉDICO RETICULABLE.**

30 Prioridad:  
**10.07.2006 DE 102006033167**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**12.12.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**12.12.2011**

73 Titular/es:  
**GELITA AG  
UFERSTRASSE 7  
69412 EBERBACH, DE y  
TETEC Tissue Engineering Technologies AG**

72 Inventor/es:  
**GAISSMAIER, Christoph y  
AHLERS, Michael**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 370 095 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**

Uso de gelatina y transglutaminasa para la preparación de un adhesivo médico reticulable

5 La presente invención se refiere a un uso novedoso de gelatina y un agente reticulante para la preparación de un adhesivo médico reticulable que forma un gel de gelatina reticulado en una zona de aplicación del cuerpo humano o animal.

Existe la necesidad en distintos campos de la medicina de composiciones con propiedades adhesivas, es decir, los denominados adhesivos médicos. Los campos de aplicación de dichos adhesivos son, por ejemplo, la fijación de tejidos, partes de tejidos u órganos, ocasionalmente como alternativa y/o sustitutivo de suturas quirúrgicas, así como el recubrimiento o cierre de superficies de heridas o la contención de hemorragias, tanto interna como externamente.

10 Como base para dichas composiciones que se utilizan en o sobre el cuerpo, se ofrecen en primer lugar materiales biodegradables que, después de un tiempo determinado cuando la función adhesiva no es ya necesaria, se degradan y se reabsorben por el cuerpo.

15 En la práctica, son conocidos adhesivos médicos que comprenden distintos componentes de origen humano y están basados en el principio de la coagulación sanguínea natural. Los componentes principales de dichos sistemas son generalmente trombina, fibrinógeno y factor de coagulación XIII, en los que inmediatamente después del mezclado de estos componentes, es decir, al cabo de pocos segundos, se genera un gel sólido. Este gel no presenta sin embargo las propiedades deseadas para las principales aplicaciones en distintos aspectos, particularmente respecto a la cinética de la formación de gel y la adhesividad.

20 Con el uso de componentes de origen humano, existe además un cierto riesgo con respecto a la transmisión de enfermedades infecciosas. Este problema se plantea por tanto también en la composición adhesiva descrita en el documento WO 94/01508 A1, en la que se reticula una proteína plasmática o una proteína globular con un aldehído di- o polifuncional.

25 Son conocidos además otros sistemas adhesivos que están basados en una reticulación de seroalbúmina bovina con glutaraldehído. El empleo de glutaraldehído como agente reticulante es sin embargo en parte problemático a causa de sus efectos citotóxicos.

30 El documento DE 10.152.407 A1 da a conocer una composición de al menos dos componentes químicamente reticulables entre sí para el pegado de tejidos biológicos, que comprende una solución de un polímero que porta grupos amino y una solución de un aldehído con al menos tres grupos aldehído. Como posibles componentes portadores de grupos amino, se citan a este respecto tanto polímeros de origen natural como, por ejemplo, quitina desacetilada, como polímeros sintéticos.

En el documento WO 97/29715 A1, se describen composiciones para el sellado de tejidos que comprenden colágeno o gelatina, uno o varios agentes reticulantes y eventualmente un plastificante. Como agentes reticulantes, se utilizan a este respecto aldehídos, particularmente di- o polialdehídos.

35 El documento US 2002/0015724 A1 describe composiciones médicas para el sellado de vasos y como apósitos, en las que se forman composiciones basadas en colágeno polimerizado de tipo I y/o de tipo III. A este respecto, se producen recombinantemente monómeros de colágeno y se polimerizan con un agente adecuado.

M. McDermott *et al.* (Biomacromolecules 2004, 5, 1270-1279) describen las propiedades mecánicas de un adhesivo de tejido basado en gelatina que se reticula con transglutaminasa microbiana. Se utiliza para el adhesivo gelatina de tipo A con un valor Bloom de 175 o 300 g.

40 El documento US 6.007.613 da a conocer un adhesivo biológico con al menos dos componentes, en el que el primer componente semilíquido comprende una solución acuosa de gelatina y el segundo componente, que puede presentarse en forma de un gel, comprende un aldehído.

El documento WO 2006/083384 A1 describe un adhesivo de tejido que se prepara mediante reticulación de albúmina y/o gelatina con determinadas poliaminas y/o policarboxilatos usando una carbodiimida hidrosoluble.

45 El objetivo de la presente invención consiste en proponer un adhesivo médico con propiedades mejoradas.

Se propone para conseguir este objetivo según la invención el uso de gelatina y transglutaminasa como agente reticulante para la preparación de un adhesivo médico reticulable del tipo citado al inicio, que forma en la zona de aplicación un gel de gelatina reticulado, en el que

50 (i) la gelatina y la transglutaminasa se mezclan entre sí para la formación del adhesivo médico reticulable, que se administra a continuación en la zona de aplicación; o

(ii) la gelatina y la transglutaminasa se suministran en forma separada entre sí y se administran simultánea o consecutivamente formando el adhesivo médico reticulable en la zona de aplicación,

y en el que la gelatina presenta una viscosidad de 7 mPa·s o más, medida en una solución al 6,7% en peso a 60°C.

El adhesivo médico según la presente invención comprende como componente principal gelatina como un material biodegradable biocompatible. La invención se basa en el principio de administrar la gelatina en forma disuelta esencialmente no reticulada, y solo se transforma en un gel de gelatina reticulado que actúa como adhesivo médico en la zona de aplicación mediante la acción de un agente reticulante.

Una ventaja especial del adhesivo médico según la invención consiste en que éste es controladamente reticulable. Ha de entenderse por el contrario como reticulabilidad controlada en el marco de la invención, que la firmeza máxima del gel de gelatina reticulado no se alcanza inmediatamente después (es decir, al cabo de algunos segundos) del mezclado de la gelatina y del agente reticulante, sino que se comienza retardadamente la formación de gel y la firmeza del gel aumenta continuamente a lo largo de un periodo determinado. La cinética y la magnitud de la formación de gel pueden influirse o controlarse a este respecto mediante distintos parámetros que se describen en particular más adelante.

El adhesivo médico según la invención no requiere, aparte de la gelatina y el agente reticulante, ningún otro componente que contribuya a la formación del gel de gelatina reticulado. Puede configurarse por tanto de forma esencialmente más sencilla que el sistema descrito anteriormente basado en trombina y fibrinógeno, que comprende necesariamente una pluralidad de componentes adicionales. Aunque la función del presente adhesivo médico puede materializarse mediante solo dos componentes, es decir gelatina y un agente reticulante, no se excluye la presencia de componentes adicionales. Mediante dichos componentes adicionales, pueden conseguirse en parte efectos ventajosos adicionales como se describen detalladamente más adelante.

Una ventaja adicional de la invención consiste en que el adhesivo médico no debe comprender componentes de origen humano, con lo que la preparación es más sencilla y económica.

La reticulación controlada anteriormente descrita ofrece la ventaja de que al médico tratante le queda suficiente tiempo, después del mezclado de gelatina y agente de reticulación, para aplicar el adhesivo médico sobre la zona de aplicación, inyectarlo en ésta o administrarlo de otros modos. Esto es particularmente importante en campos de aplicación de difícil acceso, por ejemplo, en el marco de operaciones, ya que aquí a menudo la administración se configura difícilmente y reclama un cierto tiempo. También, después del inicio de la reacción de reticulación, el adhesivo médico es todavía deformable plásticamente durante un cierto periodo y puede adaptarse a la estructura de la zona de aplicación, por ejemplo, a la superficie de un tejido o a una cavidad para rellenar. La viscosidad del tejido puede aumentar ya durante este periodo. También esto es una ventaja clara frente a adhesivos basados en trombina, que se endurecen repentinamente prácticamente después del mezclado de los componentes y no pueden ya conformarse entonces.

El adhesivo médico según la presente invención presenta una alta adhesividad, y ciertamente no solo frente a superficies estructuradas como, por ejemplo, tejidos, sino incluso frente a superficies de plástico planas (por ejemplo, poli(metacrilato de metilo) pulimentado). En contraposición, las composiciones basadas en trombina y fibrinógeno presentan una adhesividad esencialmente menor y una adherencia esencialmente reducida frente a superficies de plástico planas.

Ha de observarse como una razón de las buenas y duraderas propiedades adhesivas que el gel de gelatina reticulado de la presente invención no presenta esencialmente sinéresis, es decir, no aparece una contracción del gel con descarga de agua. El adhesivo médico según la invención presenta por tanto también una alta estabilidad dimensional, lo que es también particularmente ventajoso en el relleno de cavidades.

El adhesivo reticulable según la invención puede emplearse en distintos campos de la medicina, de modo que según el tipo de campo de aplicación pueden preferirse distintos procedimientos de administración.

Antes de describir con detalle las distintas variantes de suministro y administración de gelatina y agente reticulante, deben detallarse en primer lugar las ventajas especiales que resultan de la selección de gelatina como biomaterial.

La gelatina es obtenible, en contraposición al colágeno, en una composición definida y reproducible así como con alta pureza. Particularmente, no contiene prácticamente telopéptidos inmunogénicos que puedan desencadenar una reacción de defensa del cuerpo. En este sentido, la gelatina presenta una notable compatibilidad con tejidos y células como no puede garantizarse con otros biomateriales reabsorbibles como alginatos o quitosano.

Aunque la gelatina no reticulada es soluble a la temperatura corporal (37°C), como ya se ha mencionado, puede transformarse mediante reticulación en una forma de tipo gel insoluble en estas condiciones, es decir, un gel de gelatina reticulado.

Al mismo tiempo, el gel de gelatina reticulado es totalmente reabsorbible, es decir, se degrada sin residuos en el cuerpo después de determinado tiempo. Se trata a este respecto de una degradación hidrolítica que está apoyada eventualmente por enzimas endógenas.

En principio, puede utilizarse en el marco de la presente invención gelatina de distinta procedencia, prefiriéndose gelatina porcina, particularmente gelatina de corteza de cerdo. Esta es obtenible con alta calidad y está ya autorizada para distintas aplicaciones médicas.

5 Además, el uso de otros tipos de gelatina como, por ejemplo, gelatina de pescado, puede ofrecer también ventajas especiales. Particularmente, la gelatina obtenida de peces de agua fría se caracteriza por una temperatura de gelificación relativamente baja, es decir, las soluciones acuosas de gelatina de pescado (no reticulada) permanecen líquidas a menores temperaturas que, por ejemplo, soluciones de gelatina de corteza de cerdo de igual concentración. Este hecho permite suministrar gelatina de pescado disuelta a temperatura ambiente o incluso enfriada, lo que simplifica el manejo frente a un suministro a temperaturas elevadas de hasta 37°C.

10 Para mejorar más la biocompatibilidad del adhesivo médico, se utiliza preferiblemente una gelatina con un contenido especialmente bajo de endotoxinas. Se trata en las endotoxinas de productos metabólicos o fragmentos de microorganismos que están presentes en el material bruto animal.

El contenido de endotoxina de la gelatina se da en unidades internacionales por gramo (UI/g) y se determina según el ensayo LAL, cuya práctica se describe en la 4ª edición de la Farmacopea Europea (Ph. Eur. 4).

15 Para mantener el contenido de endotoxinas lo más bajo posible, es ventajoso eliminar los microorganismos lo más temprano posible en el transcurso de la preparación de gelatina. Además, deben cumplirse los correspondientes estándares de higiene en el proceso de preparación.

20 Por tanto, el contenido de endotoxina de la gelatina puede reducirse drásticamente mediante determinadas medidas en el proceso de preparación. Se cuentan entre estas medidas en primer lugar el uso de materiales brutos recientes (por ejemplo, corteza de cerdo), evitando tiempos de almacenamiento, la limpieza cuidadosa de todas las instalaciones de producción inmediatamente antes del inicio de la preparación de gelatina, así como eventualmente el recambio de los intercambiadores iónicos y sistemas de filtro de las instalaciones de producción.

25 La gelatina utilizada en el marco de la presente invención presenta preferiblemente un contenido de endotoxina de 1.200 U.I./g o menor, aún más preferiblemente de 200 U.I./g o menor. El contenido de endotoxina se encuentra óptimamente a 50 U.I./g o menor, determinado respectivamente según el ensayo LAL. En comparación con ello, varias gelatinas comerciales presentan contenidos de endotoxina de 20.000 U.I./g y mayores.

30 En gelatina que se ha obtenido mediante extracción de materiales brutos que contienen colágeno, se trata, como ya se ha reivindicado, de un producto hidrosoluble que puede disolverse particularmente a las temperaturas adecuadas para la administración, es decir 37°C o menos. Esta forma soluble es especialmente ventajosa para la administración, ya que la solución puede aplicarse, por ejemplo, sobre la superficie de un tejido para tratar y distribuirse uniformemente allí. Para transformar la gelatina después de la administración, es decir en la zona de aplicación del cuerpo, en un gel de gelatina, se realiza según la invención una reticulación de la gelatina.

35 Si en la zona de aplicación reina una temperatura baja, particularmente una temperatura que se encuentra por debajo de la temperatura de gelificación de la gelatina (aprox. 32 a 33°C), por ejemplo 30°C, se observa sorprendentemente una gelificación acelerada, aunque la actividad de reticulación de la transglutaminasa a estas temperaturas se reduce frente a una temperatura de 37°C. Este resultado se atribuye a que aquí tiene efecto, además de la reacción de reticulación, la formación de gel propia del material de gelatina y en total resulta una velocidad de gelificación elevada.

40 Las temperaturas en la zona de aplicación que se encuentran bien por debajo de la temperatura de gelificación del material de gelatina, por ejemplo 25°C, no se recomiendan generalmente, ya que pueden llevar aquí a una reticulación insuficiente o irregular del material de gelatina.

45 Son conocidos distintos tipos de agentes reticulantes que transforman la gelatina mediante conexiones inter- y/o intramoleculares en un gel de gelatina que es insoluble a temperaturas de 37°C o menores. En estas conexiones entre las moléculas de gelatina, puede tratarse tanto de enlaces covalentes como de la formación de un complejo que está basado, por ejemplo, en interacciones iónicas, puentes de hidrógeno o fuerzas de Van der Waals.

50 Con el trasfondo de la compatibilidad fisiológica, se recurre en la presente invención a la transglutaminasa como agente reticulante enzimático. Esta enzima, que se encuentra en animales, plantas y bacterias, cataliza la hidrólisis del enlace amida de los restos de glutamina y la conexión de los grupos acilo libres generados a este respecto con otros grupos amino. En proteínas, particularmente en gelatina, la transglutaminasa cataliza por tanto en primer lugar una conexión de los restos de glutamina con los grupos ε-amino de restos de lisina, es decir, la formación de enlaces covalentes tanto intermoleculares como intramoleculares. La transglutaminasa es fisiológicamente inocua como enzima natural, siempre que se emplee en la correspondiente forma purificada.

55 Se prefiere en el marco de la invención utilizar transglutaminasas de procedencia bacteriana que son obtenibles con alta calidad y pureza. Puede utilizarse también sin embargo transglutaminasa humana, que puede prepararse particularmente mediante expresión génica recombinante.

Preferiblemente, se utiliza la transglutaminasa en forma inmovilizada sobre un material de soporte. Así, es posible una distribución homogénea de la molécula enzimática en el adhesivo, de modo que pueda alcanzarse una mayor actividad con la misma cantidad de enzima. Son materiales de soporte preferidos para transglutaminasa los oligosacáridos.

5 Según la invención, se realiza la reticulación de gelatina en la zona de aplicación del cuerpo, es decir, la gelatina y el agente reticulante deberían ponerse en contacto entre sí solo después, durante o inmediatamente antes de la administración en condiciones que posibiliten el desarrollo de la reacción de reticulación. Para garantizar esto, son concebibles distintas formas de suministro y administración de la gelatina y del agente reticulante. Las alternativas básicas ya mencionadas anteriormente (i) y (ii) se describirán con detalle a continuación.

10 Según la variante (i) de la invención, se realiza la aplicación del adhesivo médico mezclando la gelatina y el agente reticulante para la formación de un adhesivo médico reticulable y administrando éste en la zona de aplicación. Preferiblemente, se trata en dicho adhesivo de una solución acuosa que contiene el agente reticulante y la gelatina disueltos.

15 Con este modo de proceder, se asegura que se presenta una distribución homogénea de ambos componentes en la solución. Puede administrarse una de dichas soluciones también de modo simple, particularmente mediante simple aplicación o pulverización sobre la zona de aplicación o mediante inyección. No obstante, dicha solución debería prepararse generalmente justo inmediatamente antes de la administración, para evitar que la reacción de reticulación avance demasiado antes de alcanzar la zona de aplicación y de que la viscosidad de la solución sea demasiado alta, por ejemplo para una inyección. Según el tipo de gelatina y de agente reticulante, es también  
20 concebible sin embargo que pueda almacenarse una solución que contiene ambos componentes durante algún tiempo, particularmente a bajas temperaturas, sin que la reacción de reticulación se desarrolle ya en una medida que afecte a la administración.

25 Preferiblemente, se prepara la solución acuosa mediante la disolución de una mezcla de sólidos que comprende gelatina y el agente reticulante, preferiblemente en forma liofilizada. Esta forma de suministro es particularmente adecuada en el caso en que se utilice transglutaminasa como agente reticulante.

El suministro de gelatina y agente reticulante en esta forma sólida en que la reacción enzimática no puede desarrollarse tiene la ventaja de que la mezcla presenta una estabilidad al almacenamiento relativamente alta. Al mismo tiempo, el manejo es sencillo para el médico tratante, ya que solo debe disolver una única mezcla de sólidos en un medio líquido.

30 La disolución de la mezcla de sólidos debería realizarse inmediatamente antes de la administración de la solución acuosa, es decir, particularmente menos de 10 minutos, preferiblemente menos de 10 minutos antes, referido a la temperatura pretendida respectivamente en la zona de aplicación.

35 Mediante la presencia de gelatina en forma liofilizada, se mejora claramente su solubilidad también a bajas temperaturas. Esto es importante, porque la administración del adhesivo médico no debería realizarse generalmente por encima de la temperatura corporal de 37°C. La disolución de la mezcla de sólidos se realiza por tanto preferiblemente a una temperatura de 37°C o menor. La gelatina liofilizada es bien soluble a estas temperaturas, particularmente a temperatura ambiente, ya que se presenta, al menos predominantemente, en forma amorfa,

40 Con respecto a la velocidad de formación del gel de gelatina, así como a su firmeza, es de importancia decisiva la cantidad de agente reticulante utilizada con relación a la cantidad de gelatina. En el caso de usar transglutaminasa, están contenidas preferiblemente en la mezcla anteriormente descrita de 0,6 a 80 unidades de transglutaminasa por gramo de gelatina, aún más preferiblemente de 10 a 40 unidades/g. Sobre la cinética de la formación de gel, que resulta entre otros de la elección de esta relación, se entra en detalles a continuación.

Con respecto a la primera variante (i), la presente invención se refiere por tanto también a una mezcla de sólidos que comprende gelatina y transglutaminasa, preferiblemente en forma liofilizada.

45 En la variante (ii) de la invención anteriormente citada, se realiza la aplicación del adhesivo médico suministrando la gelatina y el agente reticulante en forma separada entre sí y administrándolos simultánea o consecutivamente formando el adhesivo médico reticulante. A este respecto, puede realizarse un entremezclado completo de ambos componentes en distintos momentos, como se describe a continuación.

50 Una forma preferida de suministro consiste en suministrar tanto la gelatina como el agente reticulante en forma de soluciones acuosas separadas. Estas pueden mezclarse entonces por el médico tratante y administrarse en forma de una única solución, como ya se ha descrito anteriormente. El mezclado debería realizarse a este respecto menos de 10 minutos, preferiblemente menos de 5 minutos, antes de la administración.

55 Para excluir un inicio demasiado temprano de la reacción de reticulación con mayor seguridad, es preferible sin embargo que la solución de gelatina y la solución de agente reticulante no se pongan en contacto entre sí antes, sino solo durante o después de la administración. Esto puede conseguirse particularmente mediante la administración simultánea de ambas soluciones (separadas).

Según el tipo de medio utilizado para la administración de las soluciones (por ejemplo, una o varias cánulas de inyección u otros administradores), puede realizarse a este respecto el entremezclado de las soluciones administradas simultáneamente antes, durante o después de alcanzar la zona de aplicación. Es sin embargo ventajoso un entremezclado completo lo más temprano posible, es decir, antes de alcanzar la zona de aplicación, para garantizar una alta homogeneidad de la solución que llega a la zona de aplicación y por tanto la formación de un gel de gelatina reticulado uniforme.

En una forma de realización preferida de la invención, se realiza una administración simultánea de la solución de gelatina y de la solución de agente reticulante mediante la inyección de ambas soluciones con un dispositivo de aplicación multicameral, por ejemplo, un jeringa de doble cámara. A este respecto, la solución de gelatina y de agente reticulante se encuentran en cámaras separadas del dispositivo de aplicación y se administran ya mezcladas, por ejemplo mediante una cánula de inyección común, en la zona de aplicación deseado. El entremezclado completo de ambas soluciones se realiza por tanto en la administración, por ejemplo, a la entrada de la cánula. Para efectuar un entremezclado lo más intenso posible, se prefiere que el dispositivo de aplicación multicameral comprenda un elemento de mezcla. A este respecto, puede tratarse particularmente de una estructura geométrica (mezclador estático) en la ruta de flujo de la cánula en la que se realiza el entremezclado, particularmente un mezclado turbulento de ambas soluciones.

Con respecto a la segunda variante (ii), la presente invención se refiere por tanto también a un dispositivo de aplicación multicameral que contiene una solución acuosa de gelatina y una solución acuosa de agente reticulante en cámaras separadas, en el que la gelatina presenta una viscosidad de 7 mPa·s o más, medida en una solución al 6,7% en peso a 60°C.

Como alternativa, es también posible administrar la solución acuosa de gelatina y la solución acuosa de agente reticulante consecutivamente en la zona de aplicación. También de este modo se asegura que la reticulación de la gelatina tiene lugar solo en la zona de aplicación.

En una forma de realización preferida adicional de la invención, se suministra por un lado una solución acuosa de gelatina así como un agente reticulante en forma sólida. Esta variante es particularmente adecuada en el caso de agentes reticulantes enzimáticos como transglutaminasa, cuya durabilidad en esta forma es generalmente mayor que en solución. La enzima puede suministrarse particularmente en forma de un polvo liofilizado, que se dosifica entonces antes de la administración a la solución de gelatina y se disuelve posteriormente.

Por las razones anteriormente citadas, se prefiere realizar la administración de la solución acuosa de gelatina a una temperatura de 37°C o menor. La preparación de la solución de gelatina puede realizarse sin embargo también a mayores temperaturas, por ejemplo, a 60°C.

Si la solución se almacena entonces a temperatura ambiente o con refrigeración, la gelatina puede ciertamente gelificar y solidificar, pero puede volver a disolverse mediante calentamiento hasta 37°C inmediatamente antes de la administración.

La concentración de la solución de gelatina administrada se selecciona preferiblemente de modo que la concentración de gelatina en el adhesivo médico ascienda a 5 a 20% en peso. Se ha encontrado que concentraciones de gelatina menores no conducen generalmente a buenos geles de gelatina reticulados con suficiente firmeza.

En el caso de uso de transglutaminasa como agente reticulante, se seleccionan preferiblemente su cantidad y concentración en una solución de transglutaminasa de modo que, como ya se ha descrito en relación con la variante (i), resulte una cantidad de 0,6 a 80 unidades de transglutaminasa por gramo de gelatina en el adhesivo médico. Se prefiere además una relación de 10 a 40 unidades/g. A este respecto, el volumen de la solución de transglutaminasa puede seleccionarse generalmente claramente menor que el de la solución de gelatina, de modo que esta última no se diluya esencialmente por el mezclado con la solución de transglutaminasa.

La velocidad de la reacción de reticulación, así como la firmeza del gel de gelatina formado, dependen en gran medida de la concentración de gelatina en el adhesivo médico y de la relación entre gelatina y agente reticulante. Estos parámetros pueden variar dentro de los intervalos preferidos anteriormente citados para equilibrar la influencia de otros factores.

Dichos factores son, por ejemplo, el tipo de gelatina utilizada, particularmente su viscosidad y peso molecular medio, así como el tipo de agente reticulante, particularmente en el caso de transglutaminasa también su tipo y procedencia.

La cinética y la magnitud de la reacción de reticulación pueden describirse mediante distintos parámetros físicos. Para dimensionar estos, se reajusta la formación del gel de gelatina, como se desarrolla en la aplicación terapéutica *in vivo*, mediante una correspondiente reacción *in vitro*. El inicio de la reacción de reticulación se define a este respecto respectivamente por el momento en el que la gelatina y el agente reticulante entran en contacto entre sí en una solución acuosa.

La velocidad de formación del gel de gelatina reticulada puede caracterizarse particularmente mediante la indicación del denominado punto de gelificación. El punto de gelificación se define a este respecto como aquel momento después del inicio de la reacción de reticulación en el que el módulo de almacenamiento  $G'$  y el módulo de pérdida  $G''$  del gel de gelatina son iguales (véase también T. Metzger, "Das Rheologie-Handbuch", Verlag Vincentz, 2000, páginas 173 y siguientes).

En una solución de gelatina líquida no reticulada,  $G'$  se encuentra claramente por debajo de  $G''$ . En el transcurso de la reacción de reticulación, es decir, con la formación de gel creciente, aumentan tanto el módulo de almacenamiento como el de pérdida, aumentando  $G'$  más que  $G''$ . El punto de gelificación anteriormente citado puede establecerse por tanto a partir del punto de corte de ambas curvas en un diagrama en el que se representan  $G'$  y  $G''$  con el tiempo. Puede establecerse experimentalmente el punto de gelificación también como el momento en que en el desarrollo de la reacción de reticulación puede medirse por primera vez una firmeza de gel (véase a continuación).

Para el uso según la presente invención, se prefiere que el punto de gelificación del gel de gelatina reticulado se alcance 10 minutos o menos después del inicio de la reacción de reticulación, con especial preferencia 5 minutos o menos después del inicio de la reacción de reticulación. Los tiempos anteriormente citados se refieren respectivamente a la temperatura predeterminada de la zona de aplicación. El punto de gelificación puede influirse según la zona de aplicación del adhesivo médico mediante la elección de los parámetros anteriormente citados.

Como ya se ha reivindicado, la reticulación de la gelatina se desarrolla controladamente, es decir, la firmeza del gel aumenta continuamente y alcanza su valor máximo solo un cierto tiempo después del punto de gelificación. También después de alcanzar el punto de gelificación, el adhesivo médico es en parte deformable plásticamente y puede adaptarse a la estructura de la zona de aplicación. En muchos casos, es deseable una formación de gel muy rápida, por ejemplo, cuando debe contenerse una hemorragia mediante el pegado de vasos sanguíneos. Si se realiza la formación de gel demasiado rápido, sin embargo, existe el peligro de que el adhesivo médico pierda su fluidez demasiado pronto y que el médico tratante no disponga de suficiente tiempo para la administración.

Con respecto a las propiedades mecánicas del gel de gelatina reticulado, se prefiere que éste presente una firmeza de gel de 100 g o más, medida con un troquel con un diámetro de 12,7 mm a una profundidad de penetración de 4 mm. Estos datos se refieren a la estampación de un troquel de forma circular con un diámetro de 12,7 mm en el gel de gelatina perpendicularmente a su superficie, estando compuesto el troquel por poli(metacrilato de metilo) y presentando una superficie pulimentada (véase "Standardised Methods for the Testing of Edible Gelatine", Gelatine Monograph, junio de 2005, GME).

La firmeza del gel puede expresarse también como fuerza: a una firmeza de gel de 100 g son necesarios 0,981 N para estampar el troquel a 4 mm de profundidad en el gel de gelatina. Referido a la superficie del troquel, la firmeza del gel asciende en este caso a  $774 \text{ mN/cm}^2$ .

La firmeza del gel descrita se refiere al valor máximo que se alcanza en el gel de gelatina. Sin embargo, es un parámetro importante a este respecto también el aumento de la firmeza del gel por unidad de tiempo, que puede estar influido igualmente por la elección de la concentración de gel, la cantidad de agente reticulante y demás. Preferiblemente, el aumento de la firmeza del gel del gel de gelatina reticulado se encuentra en los primeros 10 min después de alcanzar el punto de gelificación en el intervalo de 5 a  $200 \text{ mN/cm}^2 \cdot \text{min}$ , particularmente de 30 a  $150 \text{ mN/cm}^2 \cdot \text{min}$ .

Como medida de la adhesividad del gel de gelatina reticulado, puede referirse su adherencia a una superficie de plástico plana, por ejemplo de poli(metacrilato de metilo) pulimentado, que asciende preferiblemente a  $200 \text{ mN/cm}^2$  o más.

Se ha reivindicado ya que, además de otros factores, también la viscosidad de la gelatina utilizada ejerce influencia sobre la formación de gel, en la que una mayor viscosidad está acompañada generalmente por una formación de gel más rápida. Se entiende por viscosidad de la gelatina a este respecto la viscosidad de una solución estándar al 6,7% en peso de gelatina en agua a  $60^\circ\text{C}$ . Esta asciende a 7 mPa·s o más para la gelatina utilizada en el marco de la presente invención.

La viscosidad de la gelatina depende tanto de su procedencia como del procedimiento de preparación respectivo, y puede estar influida además por determinadas medidas.

En una forma de realización preferida de la invención, se utiliza una gelatina que se ha sometido anteriormente a un pretratamiento térmico a presión reducida. Mediante dicho pretratamiento, puede aumentar la viscosidad de la gelatina, atribuyéndose este efecto en primer lugar a una escisión térmica del agua dentro de la molécula de gelatina.

El pretratamiento térmico se lleva a cabo preferiblemente a temperaturas de  $80$  a  $160^\circ\text{C}$ , ya que por debajo de  $80^\circ\text{C}$  los efectos observados son relativamente poco pronunciados y por encima de  $160^\circ\text{C}$  puede aparecer una coloración indeseada de la gelatina. Los más preferidos son los valores en el intervalo de  $90$  a  $120^\circ\text{C}$ .

La formación de gel depende además también del peso molecular de la gelatina. El uso de gelatina con un peso molecular medio alto, particularmente de 140 kDa o más, es preferible a este respecto, ya que en este caso se genera ya un gel de gelatina insoluble mediante un número de sitios de reticulación menor que en una gelatina de peso molecular bajo.

5 Como alternativa o adicionalmente a una selección o modificación dirigida de la gelatina utilizada, pueden influirse también las propiedades del adhesivo médico según la invención mezclando entre sí dos o más gelatinas con distintas viscosidades y/o valores Bloom. Por ejemplo, puede variarse la velocidad de formación de gel en un amplio intervalo mediante distintas relaciones de mezcla de gelatina de hueso de alta viscosidad con una gelatina de pescado de baja viscosidad.

10 En determinadas aplicaciones, puede ser deseable que el adhesivo médico o la solución que contiene gelatina presente ya antes del inicio de la reacción de reticulación una viscosidad relativamente alta. Este es, por ejemplo, el caso entonces cuando en la zona de aplicación se ejerce una presión sobre el adhesivo médico de modo que se expulse instantáneamente una solución de viscosidad demasiado baja de la zona de aplicación.

15 Puede alcanzarse ventajosamente una elevación de la viscosidad haciendo que el adhesivo médico comprenda un polímero elevador de la viscosidad. Es un polímero elevador de la viscosidad preferido, por ejemplo, carboximetilcelulosa. Mediante su adición, puede aumentar la viscosidad de una solución de gelatina unas 20 veces y más.

20 En una forma de realización preferida adicional de la invención, se utiliza para la preparación del adhesivo médico una gelatina parcialmente reticulada, es decir, la gelatina se somete ya antes de la administración según la invención a una primera etapa de reticulación (parcial). La gelatina parcialmente reticulada puede mezclarse, como se describe anteriormente, con el agente reticulante o administrarse simultánea o consecutivamente con éste, representando entonces la formación del gel de gelatina reticulado en la zona de aplicación una segunda etapa de reticulación.

25 Mediante el uso de gelatina parcialmente reticulada, puede elevarse claramente por un lado la viscosidad de la solución de gelatina para administrar, lo que está acompañado por las ventajas anteriormente mencionadas. Además, puede alcanzarse también mediante estas medidas una formación de gel esencialmente más rápida, pudiendo alcanzarse el punto de gelificación claramente por debajo de 5 minutos, particularmente en el intervalo de pocos segundos. Una formación de gel muy rápida, que se inicia casi inmediatamente después de la aplicación del adhesivo médico, puede ser ventajosa en determinadas aplicaciones, cuando debe evitarse cualquier flujo de salida indeseado del adhesivo de la zona de aplicación. También con el uso de gelatina parcialmente reticulada permanece  
30 sin embargo la ventaja de la reticulación controlada en la zona de aplicación, es decir, también cuando la formación de gel se realiza muy rápidamente, la firmeza del gel aumenta después continuamente y alcanza su valor máximo solo determinado tiempo después del punto de gelificación.

35 Para que la solución de gelatina parcialmente reticulada sea ciertamente de alta viscosidad, pero en las condiciones de aplicación siga siendo fluida, el grado de reticulación parcial no debería ser demasiado alto. Este puede controlarse mediante las condiciones en que se prepara la gelatina parcialmente reticulada, particularmente mediante la concentración de gelatina, la cantidad de agente reticulante y la duración de la reacción de reticulación parcial. Se prefiere reticular parcialmente la gelatina utilizando usando transglutaminasa. Además de las ventajas anteriormente ya mencionadas, el uso de transglutaminasa ofrece la posibilidad de interrumpir la reacción de reticulación parcial mediante la inactivación de la enzima después de un tiempo de reacción definido,  
40 particularmente mediante una desnaturalización térmica o un agente de oxidación como, por ejemplo, peróxido de hidrógeno.

45 Cuando se realiza la reticulación parcial de la gelatina mediante transglutaminasa, pueden utilizarse para ello cantidades claramente menores de transglutaminasa en relación con la gelatina que en el caso del marco de la administración del adhesivo médico. Preferiblemente, se reticula parcialmente la gelatina usando menos de 10 unidades de transglutaminasa por gramo de gelatina, particularmente usando de 1 a 3 unidades de transglutaminasa por gramo de gelatina.

En algunas aplicaciones, puede ser ventajoso que el adhesivo médico comprenda uno o varios principios activos terapéuticos, por ejemplo, agentes inhibidores de la inflamación y/o analgésicos, sustancias de acción antibiótica así como factores que potencian la curación de heridas y/o la angiogénesis.

50 Para posibilitar una liberación retardada y/o continua, se prefiere presentar el o los principios activos en forma encapsulada en el adhesivo médico. Particularmente, pueden encapsularse principios activos en perlas de gelatina.

55 En una forma de realización ventajosa adicional del adhesivo médico, éste comprende un colorante. Así, el médico tratante puede reconocer exactamente en la administración en qué sitio se encuentra el adhesivo dentro de la zona de aplicación y cuánto adhesivo se ha administrado ya. Como colorante puede utilizarse, por ejemplo, azul de metileno, que es biocompatible y se destaca claramente de los tejidos.

A continuación, se representan algunos campos de aplicación preferidos del adhesivo médico según la invención.



Una forma de realización preferida de la invención se refiere al uso de gelatina y un agente reticulante para la preparación de un adhesivo médico reticulante para contener hemorragias, aplicándose el adhesivo médico sobre una zona de aplicación afectado por una hemorragia, de modo que se contenga la hemorragia mediante la formación del gel de gelatina reticulado.

5 La aplicación sobre la zona de aplicación puede realizarse según una de las variantes anteriormente descritas, vertiéndose o pulverizándose preferiblemente una solución acuosa que contiene gelatina y agente reticulante. La solución puede distribuirse uniformemente y recubrir totalmente el campo afectado. El gel de gelatina reticulado formado forma una capa protectora del exterior. A este respecto, se cierran o pegan vasos sanguíneos dañados o separados mediante el gel de gelatina.

10 La invención se refiere particularmente a dichas aplicaciones en operaciones. El empleo del adhesivo médico según la invención ofrece ventajas especiales cuando se llevan a cabo intervenciones en tejidos u órganos especialmente muy irrigados como, por ejemplo, hígado o hueso. Con la aplicación de los procedimientos convencionales, deberían pinzarse a mano a este respecto una multiplicidad de vasos sanguíneos, lo que es muy complicado, largo y, en hemorragias difusas de gran superficie, a menudo también imposible. En contraposición con ello, la hemorragia  
15 puede contenerse con la aplicación del adhesivo médico según la invención muy rápida y fácilmente recubriendo la superficie de corte del tejido u órgano con un gel de gelatina reticulado y por tanto pegándolo.

Es objeto de la invención también a este respecto un procedimiento para contener hemorragias en personas o animales, particularmente en operaciones, comprendiendo el procedimiento la administración de gelatina y un agente reticulante, separadamente o a mediados ya antes de alcanzar la zona de aplicación.

20 La invención se refiere además al uso de gelatina y un agente de reticulación para la preparación de un adhesivo médico reticulante para el tratamiento de heridas y/o quemaduras de piel humana o animal. En una aplicación externa semejante, puede estar en primer plano tanto una función de contención de hemorragia como protectora pura del adhesivo médico. Mediante sus buenas propiedades de adhesión, pueden recubrirse fiablemente las zonas de la piel afectadas.

25 Un campo de aplicación adicional de la invención se refiere al uso del adhesivo médico para la refijación o fijación de tejidos autólogos (por ejemplo, fragmentos de cartílago o hueso) o alógenos (por ejemplo, espongioplastia de hueso homólogo) o de distintos implantes en una zona de aplicación del cuerpo humano o animal. A causa de las buenas propiedades de adhesión del gel de gelatina reticulado, pueden fijarse por tanto implantes de distinto tipo durante un periodo determinado, es decir, hasta la resorción del adhesivo, en o sobre tejidos.

30 Además, puede tratarse en los implantes a fijar de materiales reabsorbibles. Aquí han de citarse particularmente también aquellos materiales que se han colonizado anteriormente *in vitro* con células vivas o en los que han crecido células después de su implante *in vivo*. En estos casos, tanto el material biológico o soporte como el adhesivo experimentan una degradación biológica.

Pueden fijarse también implantes artificiales que están compuestos al menos en parte por plástico y/o metal, con la ayuda del adhesivo según la invención en una zona de aplicación del cuerpo. Dicho pegado de implantes puede ser necesario durante un tiempo determinado, hasta que el tejido circundante pueda adoptar una función de soporte suficiente para el implante.  
35

El adhesivo según la invención puede utilizarse también para fijar y/o sellar canales de guía de nervios. A este respecto, se trata de implantes con forma de tubo que sirven como estructura de guía para la unión de tractos nerviosos separados. En el interior de un canal de guía de nervios, crecen respectivamente células nerviosas individuales (axones), debiéndose introducir manualmente sus extremos en el tubo y fijarse allí. Esto puede efectuarse de modo ventajoso mediante el pegado del axón con el canal de guía de nervios mediante el adhesivo médico según la invención. En esta aplicación, es especialmente ventajoso elevar la viscosidad del adhesivo mediante la adición, por ejemplo, de carboximetilcelulosa, para asegurar que el axón permanece también en estado  
45 aún no reticulado en el tubo.

Según una aplicación adicional del adhesivo según la invención, se utiliza éste para el sellado de suturas quirúrgicas. Por las buenas propiedades adhesivas del gel de gelatina reticulado, pueden sellarse eficazmente suturas para evitar aberturas indeseadas entre distintos tejidos u órganos. Adicionalmente, se protege la sutura de desgastes externos.

50 El adhesivo según la invención puede emplearse también para el sellado de túneles óseos, por ejemplo, en sustituciones del ligamento cruzado. De este modo, se detiene por un lado la hemorragia, y por otro se reduce la infiltración de líquido sinovial entre implante y pared ósea mediante el sellado. La infiltración de líquido sinovial en el túnel puede conducir a una mala incorporación del implante al hueso según el estado de conocimiento actual, de donde puede resultar a continuación un fallo de transplante.

55 La invención se refiere además también al uso del adhesivo médico como capa de separación para órganos o tejidos. Dicho efecto separador del adhesivo puede ser deseable o necesario, por ejemplo, para reducir durante o después de intervenciones quirúrgicas el contacto directo indeseado entre distintos órganos y/o tejidos. A este

respecto, puede realizarse simultáneamente una fijación del tejido participante debido a la alta potencia adhesiva del adhesivo según la invención, de modo que este satisface aquí una doble función.

5 En muchas aplicaciones del adhesivo médico según la invención, resulta un efecto ventajoso adicional por la actividad potenciadora de la angiogénesis de la gelatina. Se ha encontrado que, en presencia de gelatina, particularmente también en forma reticulada, se estimula la neoformación de vasos sanguíneos en tejidos. Dicho efecto es extremadamente ventajoso, por ejemplo, en la aplicación del adhesivo para el tratamiento de heridas o defectos óseos, pero también en muchos otros casos, ya que contribuye a la curación y/o regeneración del tejido afectado.

10 Estas y otras ventajas de la presente invención se ilustran detalladamente mediante los siguientes ejemplos con referencia a las figuras.

Las Fig. 1A a 1E muestran: diagramas en los que se representan la firmeza del gel y la adhesividad del gel de gelatina reticulada para gelatinas con distintas viscosidades en función del tiempo de reacción; y

La Fig. 2 muestra: un diagrama en el que se representa la firmeza del gel y la adhesividad de una composición convencional de trombina y fibrinógeno en función del tiempo de reacción.

15 **Ejemplos**

Ejemplo 1: Reticulación de gelatina con transglutaminasa: influencia de la viscosidad de la gelatina

Se llevó a cabo como sistema modelo para la aplicación médica del adhesivo según la invención la reticulación de gelatina con el agente reticulante enzimático transglutaminasa *in vitro* y se determinó la cinética de la formación de un gel de gelatina reticulada.

20 Preparación de una solución madre de transglutaminasa

Para este y los ejemplos descritos a continuación, se utilizó una transglutaminasa recombinante de queratinocitos humanos.

25 Se preparó una solución madre de transglutaminasa con una concentración de 30 unidades/ml disolviendo la correspondiente cantidad de enzima en agua destilada a temperatura ambiente. Se esterilizó por filtración la solución, se congeló en porciones de 1,5 ml cada vez con la ayuda de nitrógeno líquido y se almacenó a aprox. -18°C.

Pretratamiento térmico de gelatina a presión reducida

30 Para la reticulación con transglutaminasa, se utilizaron gelatinas de corteza de cerdo con distintas viscosidades según la siguiente Tabla 1. El dato de viscosidad se refiere a este respecto siempre a la viscosidad de una solución acuosa al 6,7% en peso de gelatina a 60°C.

Tabla 1

Referencia	Viscosidad (mPa.s)
Gelatina A	3,73 (ej. comp.)
Gelatina B	5,83 (ej. comp.)
Gelatina C	7,62
Gelatina D	8,65

35 Las gelatinas de alta viscosidad C y D se prepararon respectivamente mediante un pretratamiento térmico de gelatinas de menor viscosidad. A este respecto, se obtuvo la gelatina C mediante pretratamiento térmico de gelatina B, así como la gelatina D mediante pretratamiento térmico de otra gelatina de corteza de cerdo con una viscosidad de 6,41 mPa.s.

El pretratamiento térmico de gelatina a presión reducida se llevó a cabo de modo que se obtuvieron respectivamente aprox. 700 g de gelatina en forma molida con la ayuda de un rotavapor durante 4 horas a 105°C a un vacío de aprox. 1,4 kPa. A continuación, se dejó enfriar la gelatina durante una noche en un recipiente cerrado.

40

Práctica de la reacción de reticulación

Para cada una de las cuatro gelatinas A, B, C y D, se preparó una solución al 10% en peso de gelatina en una mezcla de 30% en vol. de tampón PBS (pH 7,2) y 70% en vol. de agua destilada. Para ello, se disolvió la gelatina a 60°C y se calentó la solución homogénea resultante a 37°C.

- 5 Todas las reacciones de reticulación se llevaron a cabo a una temperatura constante de 37°C para aproximarse lo más posible a las condiciones reinantes en la aplicación médica. Para cada preparación, se añadieron 5 ml de solución de gelatina al 10% en peso a un recipiente cilíndrico de un diámetro de 3 cm, que se termostató a 37°C con la ayuda de un bloque de aluminio. Se inició la reacción de reticulación añadiendo 0,3 ml de solución madre de transglutaminasa (30 unidades/ml) y 0,9 ml de agua destilada, precalentada respectivamente a 37°C, y se entremezcló instantáneamente la mezcla de reacción resultante. Esto corresponde a una cantidad de enzima referida a la gelatina de 18 unidades/g.

Determinación de la firmeza del gel y la adhesividad dependientes del tiempo de reacción

- 15 Durante el transcurso de la reacción de reticulación, se determinaron la firmeza del gel y la adhesividad de la mezcla de reacción a intervalos de 50 s mediante un dispositivo de medida de desplazamiento/fuerza de tipo Zwick BZ 2.5/TN1S (fabricante: Zwick GmbH & Co. KG, Ulm).

- 20 La determinación se desarrolla de modo que en cada ciclo de medida, es decir cada 50 s, se sumerge o se estampa un troquel de forma circular con un diámetro de 12,7 mm perpendicularmente a la superficie de la mezcla de reacción a 4 mm de profundidad de ésta, y se mide la fuerza necesaria para ello. A continuación, se vuelve a sacar el troquel, que presenta una superficie de poli(metacrilato de metilo) pulimentada, hacia arriba. En caso de presentarse ya un gel de gelatina reticulado, con la extracción del troquel se pega éste al mismo. Se mide igualmente la fuerza necesaria para sacar el troquel hacia arriba, desprendiéndose del gel de gelatina.

- 25 En las Figuras 1A a 1D, se representa la fuerza medida en función del tiempo de reacción (inicio de la reacción de reticulación a 0 min) para las 4 preparaciones con gelatinas A, B, C o D. Los valores de fuerza positivos dan la fuerza necesaria para el estampado del troquel, es decir, la firmeza del gel (981 mN corresponden a una firmeza del gel de 100 g). Los valores de fuerza negativos dan la adhesividad (adhesión) del gel de gelatina, es decir, la fuerza necesaria para extraer el troquel hasta desprenderlo del gel de gelatina.

- 30 Durante la fase inicial de la reacción, tanto la firmeza del gel como la adhesividad son esencialmente nulas, es decir, se presenta una solución fluida. En la aplicación médica, esto corresponde al periodo en el que la mezcla puede administrarse en la zona de aplicación del cuerpo. El momento más temprano en que puede medirse una firmeza del gel evidente NO nula es el punto de gelificación. En este momento, el módulo de almacenamiento  $G'$  y el módulo de pérdida  $G''$  son iguales.

- 35 Se indican en la siguiente Tabla 2 los distintos puntos de gelificación de las preparaciones A a D, en las que los valores se establecen respectivamente a partir de tres experimentos. Se dan respectivamente la firmeza del gel y la adherencia del gel de gelatina referidas a la superficie del gel, que se han medido 10 min después del punto de gelificación (la superficie del troquel asciende a 1,267 cm<sup>2</sup>). Estos datos sirven en primer lugar para comparar las distintas preparaciones entre sí; resulta claramente de las Figuras 1A a 1D que, particularmente en la firmeza del gel, se alcanzan en parte en el desarrollo posterior de la reacción de reticulación valores claramente mayores.

Tabla 2

Preparación	Viscosidad de la gelatina	Punto de gelificación	Firmeza del gel después de 10 min	Adherencia del gel después de 10 min
Gelatina A (ej. comp.)	3,73 mPa·s	14 min	281 mN/cm <sup>2</sup>	103 mN/cm <sup>2</sup>
Gelatina B (ej. comp.)	5,83 mPa·s	5 min	536 mN/cm <sup>2</sup>	167 mN/cm <sup>2</sup>
Gelatina C	7,62 mPa·s	3,3 min	837 mN/cm <sup>2</sup>	225 mN/cm <sup>2</sup>
Gelatina D	8,65 mPa·s	2,3 min	No medida	No medida

- 40 Se muestra que el punto de gelificación se correlaciona con la viscosidad de la gelatina utilizada, es decir, con una gelatina de alta viscosidad la formación de gel con la misma cantidad de agente reticulante tiene lugar esencialmente más rápidamente que con una de baja viscosidad (ejemplo comp.)\*.

Después de alcanzar punto de gelificación, la firmeza del gel aumenta en las cuatro preparaciones continuamente y de forma esencialmente lineal. La velocidad del aumento resulta de la firmeza del gel dada en la tabla 2 después de 10 min, es decir, para la gelatina A asciende por ejemplo a 28,1 mN/cm<sup>2</sup>·min. El hecho de que la firmeza del gel máxima se alcance solo paulatinamente es una ventaja considerable para la aplicación del adhesivo médico.

5 Mediante la reticulación de desarrollo controlado, el adhesivo puede distribuirse también después de la administración, conformarse plásticamente y adaptarse a las estructuras de tejido respectivas.

En las preparaciones A, B y C, se correlacionan igualmente la firmeza del gel y la adherencia medidas después de 10 min con la viscosidad de la gelatina utilizada, como es también el caso para el punto de gelificación. En la gelatina D, su viscosidad es algo mayor que la de la gelatina C, se alcanza ciertamente el punto de gelificación muy rápidamente, pero la firmeza del gel y la adherencia después de 10 min son menores.

10

Ejemplo 2: Reticulación de gelatina con transglutaminasa: influencia de la concentración de gelatina

En este ejemplo, se reticuló con transglutaminasa la gelatina C pretratada térmicamente del ejemplo 1 a distintas concentraciones de gelatina. La preparación de las mezclas de reacción y la medida de la firmeza del gel se realizaron como se describe en el ejemplo 1.

15

La concentración de las soluciones de gelatina utilizadas, la composición de las mezclas de reacción y los puntos de gelificación resultantes de la medida de la firmeza del gel se representan en la siguiente Tabla 3. Además, se dan la firmeza del gel y la adherencia referidas a la superficie 10 min después del punto de gelificación.

Tabla 3

Preparación	2-1	2-2	2-3	2-4
Concentración de la solución de gelatina	5% en peso	8% en peso	10% en peso	12,7% en peso
Solución de gelatina	5,9 ml	5,9 ml	5 ml	5,9 ml
Solución madre de transglutaminasa	0,2 ml	0,3 ml	0,3 ml	0,5 ml
Agua destilada	-	-	0,9 ml	-
Transglutaminasa por gramo de gelatina	20,3 unidades/g	19,1 unidades/g	18,0 unidades/g	20 unidades/g
Punto de gelificación	5,0 min	4,0 min	3,3 min	2,0 min
Firmeza del gel después de 10 min	265 mN/cm <sup>2</sup>	587 mN/cm <sup>2</sup>	837 mN/cm <sup>2</sup>	869 mN/cm <sup>2</sup>
Adherencia después de 10 min	79 mN/cm <sup>2</sup>	137 mN/cm <sup>2</sup>	225 mN/cm <sup>2</sup>	300 mN/cm <sup>2</sup>

20 Los resultados muestran que, mediante una elevación de la concentración de gelatina, puede acelerarse la formación de gel. El punto de gelificación se alcanza antes y la firmeza del gel y adherencia conseguidas después de determinado tiempo son mayores. En los ensayos llevados a cabo, es claramente reconocible esta tendencia, aunque a las concentraciones de gelatina mayores la cantidad de agente reticulante era en parte menor en relación con la gelatina.

25 La elección de la concentración de gelatina representa por tanto la posibilidad de adaptar el adhesivo médico según la invención a los requisitos especiales de diferentes campos de empleo. Así, será deseable, por ejemplo, una formación de gel relativamente rápida cuando en el marco de una operación deban contenerse hemorragias, mientras que en la fijación de implantes puede ser ventajosa una formación de gel más lenta, ya que ofrece al médico la posibilidad de poder adaptar tranquilamente la posición exacta del implante también después de la administración del adhesivo.

30

Ejemplo 3: Reticulación de gelatina con transglutaminasa: influencia de la cantidad de agente reticulante

En este ejemplo, se reticuló la gelatina C pretratada térmicamente del ejemplo 1 con distintas cantidades de transglutaminasa.

35 Se preparó una solución al 8% en peso de gelatina C como se describe en el ejemplo 1. Para cada preparación, se precalentaron a 37°C 5,9 ml de esta solución y se mezclaron con las cantidades dadas en la siguiente Tabla 4 de solución madre de transglutaminasa (30 U/ml, precalentada a 37°C), para iniciar la reacción de reticulación. La determinación del punto de gelificación mediante la medida de la firmeza del gel se realizó como se describe en el ejemplo 1.

Tabla 4

Preparación	3-1	3-2	3-3
Cantidad de solución madre de transglutaminasa	0,2 ml	0,3 ml	0,5 ml
Transglutaminasa por gramo de gelatina	12,7 unidades/g	19,1 unidades/g	31,8 unidades/g
Punto de gelificación	6,0 min	4,0 min	3,0 min

5 Como se deduce de los valores dados en la Tabla 4, la velocidad de formación del gel de gelatina reticulado puede influirse también mediante la concentración del agente reticulante, en este caso la transglutaminasa. Como se esperaba, una mayor cantidad de agente reticulante conduce a una formación de gel más rápida.

Ejemplo 4: Reticulación de gelatina con transglutaminasa: Uso de gelatina de distintas fuentes de materia prima

10 En este ejemplo, se reticuló con transglutaminasa por un lado gelatina de hueso bovino ("bovine limed bone") y por otro lado gelatina de pescado, que en las condiciones del ensayo estándar de Bloom no gelifica, a distintas concentraciones de gelatina. La preparación de las mezclas de reacción y la medida de la firmeza del gel se realizaron como se describe en el ejemplo 1.

Los tipos de gelatina, la concentración de las soluciones de gelatina utilizadas, la composición de las mezclas de reacción y los puntos de gelificación resultantes de la medida de la firmeza del gel se representan en la siguiente Tabla 5. Además, se dan la firmeza del gel y la adherencia referidas a la superficie 10 min después del punto de gelificación.

15 Tabla 5

Preparación	4-1	4-2	4-3	4-4
Tipo de gelatina	Hueso bovino	Hueso bovino	Gelatina de pescado	Gelatina de pescado
Valor Bloom	240 g	240 g (no gelificado)	(no gelificado)	(no gelificado)
Viscosidad (6,7% en peso, 60°C)	9,2 mPa.s	9,2 mPa.s	2,1 mPa.s	2,1 mPa.s
Concentración de la solución de gelatina	8% en peso	8% en peso	15% en peso	15% en peso
Solución de gelatina	5,9 ml	5,4 ml	5,4 ml	4,8 ml
Solución madre de transglutaminasa	0,6 ml	1,0 ml	1,0 ml	1,6 ml
Transglutaminasa por gramo de gelatina	38 unidades/g	69 unidades/g	37 unidades/g	67 unidades/g
Punto de gelificación	3,0 min	1,5 min	14,5 min	9,3 min
Firmeza del gel después de 10 min	395 mN/cm <sup>2</sup>	870 mN/cm <sup>2</sup>	395 mN/cm <sup>2</sup>	710 mN/cm <sup>2</sup>
Adherencia después de 10 min	80 mN/cm <sup>2</sup>	95 mN/cm <sup>2</sup>	195 mN/cm <sup>2</sup>	240 mN/cm <sup>2</sup>

20 Los resultados muestran que, mediante el uso de la gelatina de pescado de baja viscosidad en comparación con gelatina de hueso bovino, pueden conseguirse puntos de gelificación claramente posteriores, y esto a una concentración de gelatina casi el doble de elevada. A pesar de la formación de gel posterior en el caso de la gelatina de pescado, se alcanzan sin embargo firmezas de gel comparables, y la adherencia (adhesividad) es incluso claramente mayor (10 min respectivamente después del punto de gelificación). Como se esperaba, la elevación de la concentración de agente reticulante conduce en ambas gelatinas a un punto de gelificación más temprano y a una firmeza del gel mayor (preparaciones 4-2 y 4-4 frente a las preparaciones 4-1 o 4-3).

25 Una ventaja especial en el uso de gelatina de pescado no gelificante consiste en que la solución de gelatina permanece líquida a temperatura ambiente y por tanto se simplifican el suministro y manejo del adhesivo médico.

Mediante el empleo de mezclas de distintos tipos de gelatina, por ejemplo, de gelatina de pescado con gelatina de hueso bovino o corteza de cerdo, resulta una posibilidad adicional (además de la variación de la concentración de gelatina y de agente reticulante) de influir en el punto de gelificación, la firmeza del gel y la adherencia del adhesivo médico.

5 Ejemplo 5: Reticulación de gelatina con transglutaminasa: Uso de una combinación de gelatina/carboximetilcelulosa

Se llevó a cabo también en este ejemplo una reticulación de gelatina con transglutaminasa, en la que se preparó en primer lugar una combinación de gelatinas para elevar claramente la viscosidad de partida de la solución de gelatina no reticulada. Esta combinación contenía un 92% en peso de gelatina de corteza de cerdo (261 g Bloom) y un 8% en peso de carboximetilcelulosa (CMC, grado medio de sustitución 0,7, viscosidad de aprox. 8.000 mPa·s en solución al 1% en peso a 25°C). La combinación de gelatina/CMC presentaba un valor Bloom de 260 g y una viscosidad de 162 mPa·s (6,7% en peso a 60°C).

La preparación de la mezcla de reacción y la medida de la firmeza del gel se realizaron como se describe en el ejemplo 1, preparándose en primer lugar 5,0 ml de una solución al 8% en peso de la combinación y mezclándose entonces con 0,3 ml de solución madre de transglutaminasa y 0,9 ml de agua destilada (esto corresponde a 22,5 unidades de transglutaminasa por gramo de combinación de gelatina/CMC).

El punto de gelificación se encontraba en este ensayo a 4,0 min. 10 min después del punto de gelificación, se midieron una firmeza del gel de 350 mN/cm<sup>2</sup> y una adherencia de 70 mN/cm<sup>2</sup>.

La comparación con las preparaciones 2-2 y 3-2 muestra que, a pesar de la clara elevación de la viscosidad de partida de la solución de gelatina mediante la adición de CMC, la cinética de la reacción de reticulación no se influye esencialmente de esta manera. Esto abre una posibilidad adicional de adaptar el adhesivo médico a los requisitos respectivos: con la ayuda de una combinación de gelatina/CMC, puede suministrarse una solución que ya antes de la reticulación es muy viscosa pero no obstante fluida, lo que es una gran ventaja, por ejemplo, en el cierre de canales de guía de nervios.

Ejemplo 6: Reticulación de gelatina con transglutaminasa: Uso de una gelatina parcialmente reticulada

En este ejemplo, se sometió la gelatina en primer lugar a una (primera) etapa de reticulación parcial para elevar la viscosidad de partida de la solución de gelatina y para conseguir una formación de gel claramente más rápida propiamente en la etapa de reticulación (en este caso la segunda).

Como material de partida para la preparación de la gelatina parcialmente reticulada, sirvió una gelatina de hueso de cerdo con un valor Bloom de 250 g y una viscosidad de 6,6 mPa·s (6,7% en peso a 60°C). Se dispuso una solución de esta gelatina al 10% en peso en agua destilada, hinchándose la gelatina en primer lugar durante 45 min a temperatura ambiente y disolviéndose entonces durante 1 hora a 60°C. A continuación, se termostató la solución a 50°C y se añadió la correspondiente cantidad de solución madre de transglutaminasa (30 unidades/ml) de modo que presentara una cantidad de 1,5 unidades de transglutaminasa por gramo de gelatina. Para la práctica de la reticulación parcial, se mantuvo la solución durante 2 horas con agitación a 50°C.

Para detener la reacción de reticulación, se desactivó térmicamente la transglutaminasa mediante calentamiento de la solución a 80°C, a continuación se enfrió instantáneamente la solución en baño de hielo, se vertió en un portaobjetos y se dejó gelificar. Se trituró el gel de gelatina obtenido, se secó a 20°C y una humedad ambiental relativa de un 10% y a continuación se molió. La gelatina parcialmente reticulada obtenida de este modo se designa en adelante como P2.

Se preparó otra gelatina parcialmente reticulada con un grado de reticulación algo mayor como se describe anteriormente, con la modificación de que se llevó a cabo la reacción de reticulación parcial durante 3 horas. Esta gelatina se designa en adelante como P3.

Se representan en la siguiente Tabla 6 los valores Bloom y viscosidades a 60 y 37°C de la gelatina de partida P0 y de las gelatinas parcialmente reticuladas P2 y P3.

Tabla 6

Gelatina	P0 (ej. comp.)	P2	P3
Valor Bloom	250 g	228 g	257 g
Viscosidad (6,7% en peso, 60°C)	6,6 mPa.s	9,6 mPa.s	16,7 mPa.s
Viscosidad (10% en peso, 37°C)	28,6 mPa.s	69,8 mPa.s	200 mPa.s

Mediante la reticulación parcial, pudo elevarse la viscosidad de la gelatina a 60°C aprox. 1,5 veces (P2) o aprox. 2,5 veces (P3) frente a la gelatina no reticulada (P0). El aumento de viscosidad a 37°C, es decir, a una temperatura de aplicación preferida del adhesivo médico, tiene un impacto aún más claro. Aquí, se elevó la viscosidad aprox. 2,5 veces o aprox. 7 veces.

- 5 Con el uso de las gelatinas P0, P2 o P3, se llevó a cabo una reacción de reticulación con transglutaminasa y se determinó la firmeza del gel y la adhesividad dependientes del tiempo de reacción, como se ha descrito en el ejemplo 1. Se partió respectivamente de 5 ml de una solución de gelatina al 10% en peso a la que se añadieron respectivamente 1,2 ml de solución madre de transglutaminasa (30 unidades/ml). Esto corresponde a una cantidad de enzima de 72 unidades por gramo de gelatina.
- 10 Se indican los resultados de medida en la Tabla 7 siguiente.

Tabla 7

Preparación	P0 (ej. comp.)	P2	P3
Punto de gelificación	1,5 min	50 s	< 5 s
Firmeza del gel después de 10 min	1184 mN/cm <sup>2</sup>	592 mN/cm <sup>2</sup>	631 mN/cm <sup>2</sup>
Adherencia después de 10 min	316 mN/cm <sup>2</sup>	197 mN/cm <sup>2</sup>	237 mN/cm <sup>2</sup>

15 Se muestra que, mediante la reticulación parcial de la gelatina, puede alcanzarse un punto de gelificación del gel de gelatina reticulado esencialmente más rápido. Resulta particularmente notable el resultado conseguido con la gelatina P3, es decir, una formación de gel casi inmediata al cabo de menos de 5 s después del mezclado de la gelatina con la transglutaminasa.

20 En la Figura 1E se representa la fuerza medida en función del tiempo de reacción para la preparación con gelatina P3 (práctica de la medida como se describe en el ejemplo 1). A partir de la figura, se observa claramente que, a pesar de la gelificación realizada casi inmediatamente después del mezclado, la firmeza del gel y la adherencia aumentan continuamente y solo poco tiempo después del punto de gelificación alcanzan su valor máximo. Este efecto es extremadamente ventajoso para la aplicación de la presente invención y posibilita que el adhesivo médico sea conformable plásticamente durante un cierto intervalo después de la aplicación y que pueda adaptarse a la estructura de la zona de aplicación.

Ejemplo 7: Verificación de la fuerza adhesiva del adhesivo médico en el pegado de tejido *in vivo*

25 En este ejemplo, se ensayó la actividad adhesiva del adhesivo médico según la invención en condiciones clínicas en tejido vivo. A este respecto, se usaron la gelatina C y la transglutaminasa como agente reticulante descritas en el ejemplo 1.

30 Se preparó una solución de gelatina al 12% en peso en tampón PBS como se describe en el ejemplo 1 y se relleno la primera cámara de una jeringa de doble cámara. En la segunda cámara de la jeringa, se relleno la cantidad correspondiente de solución madre de transglutaminasa descrita en el ejemplo 1 de modo que presentara una cantidad de 30 unidades de transglutaminasa por gramo de gelatina.

35 Para el ensayo práctico, se despegó el tejido subcutáneo ventral de las fascias de un ratón anestesiado (ratón Blab/c) y a continuación se prepararon varios cortes de tejido de la piel con una superficie respectivamente de aprox. 1 cm<sup>2</sup>. Después, se mezclaron entre sí ambos componentes del adhesivo médico, que se habían calentado anteriormente en la jeringa de doble cámara a 37°C, y se aplicaron simultáneamente en una cantidad de aprox. 0,2 ml/cm<sup>2</sup> sobre las fascias. Se insertó ajustadamente el tejido subcutáneo preparado y se fijó mediante una ligera presión. A continuación, se ensayó el pegado mecánicamente con la tensión de tracción. Después de un tiempo de adhesión de aprox. 4 minutos después de la aplicación del adhesivo, pudo constatar una combinación estable entre tejido subcutáneo y fascia en los cortes de tejido individuales.

40 Se repitió el ensayo varias veces con el mismo resultado, no apareciendo ninguna complicación adicional.

Ejemplo 8: Empleo del adhesivo médico *in vivo* como cierre de heridas.

45 Para comprobar si el adhesivo médico según la invención es adecuado para contener hemorragias difusas en condiciones clínicas, se realizó en un ratón anestesiado (ratón Blab/c) una resección en cuña atípica del lóbulo hepático izquierdo. Se aplicó en la superficie de corte sangrante de una longitud de aprox. 0,6 cm aprox. 0,1 ml del adhesivo médico descrito en el ejemplo 6 usando una jeringa de doble cámara. Al cabo de 5 minutos después del empleo del adhesivo, se consiguió una contención completa de la hemorragia.

Se repitió el ensayo varias veces con el mismo resultado, no apareciendo ninguna complicación adicional.

Ejemplo 9: Preparación y comportamiento de disolución de una mezcla de sólidos liofilizados de gelatina y transglutaminasa

Este ejemplo describe la preparación de una mezcla de sólidos que contiene 6 unidades de transglutaminasa por gramo de gelatina.

5 Se hincharon 75 g de gelatina A del ejemplo 1 (gelatina de corteza de cerdo con 290 g Bloom) en 425 g de agua destilada y se disolvieron a 60°C. Se dejó enfriar la solución a 45°C, se mezcló con 15 ml de solución madre de transglutaminasa (30 U/ml, véase el ejemplo 1) y se entremezcló bien. Se enfriaron dos cápsulas de liofilización con nitrógeno líquido, se distribuyó la solución que contiene gelatina y transglutaminasa por ellos y se congeló mediante nitrógeno líquido. Se liofilizó la solución congelada dos días en una instalación de liofilización de tipo Lyovac GT 2-s (fabricante: AMSCO Finn-Aqua GmbH, Hürth).

10 Se molió la mezcla de sólidos liofilizados obtenida con refrigeración estándar con nitrógeno líquido en un mortero hasta un polvo fino y a continuación se secó a vacío. Ya que el polvo es fuertemente higroscópico, se almacenó en ausencia de aire aprox. a 4°C.

15 Se preparó otra mezcla de sólidos repitiendo el modo de procedimiento descrito con las mismas relaciones cuantitativas, pero usando una gelatina instantánea soluble en agua fría en lugar de la gelatina A. Esta gelatina instantánea contiene para la mejora de su solubilidad aprox. un 15% en peso de hidrolizado de gelatina de bajo peso molecular.

20 Se analizó el comportamiento de disolución de las mezclas de sólidos preparadas de este modo como sigue: se pesaron respectivamente 50 mg de mezcla de sólidos en tubos cerrables y se mezclaron con 950 µl de tampón PBS (pH 7,2) que se había precalentado a 37°C. Se agitaron los tubos con la ayuda de un agitador de tubos de ensayo y se determinó el tiempo hasta la disolución visible de la mezcla de sólidos.

La mezcla preparada a partir de gelatina A se disolvió después de 2,7 min, la mezcla preparada a partir de gelatina instantánea, ya después de 2 min.

25 El ejemplo muestra que la gelatina liofilizada puede disolverse a 37°C o menos en una solución acuosa. Esto es atribuible a que la gelatina se presenta predominantemente en forma amorfa como resultado del proceso de liofilización. Mediante el uso de gelatina instantánea, puede mejorarse más la velocidad de disolución.

Dichas mezclas de sólidos liofilizados de gelatina y un agente reticulante pueden utilizarse ventajosamente en el marco de la presente invención. La mezcla puede suministrarse a temperatura ambiente o enfriada y disolverse entonces por el médico tratante en una solución acuosa a 37°C o menos.

30 Ejemplo comparativo:

Comparación de la formación de gel en una composición basada en trombina y fibrinógeno

Para la comparación con la presente invención, se analizó la cinética de formación de gel en un adhesivo médico comercial basado en trombina y fibrinógeno. Este adhesivo de fibrina se basa en el principio de coagulación sanguínea natural y comprende dos componentes para mezclar de la siguiente composición:

35 1<sup>er</sup> componente: solución de proteína adhesiva que contiene:

- fracción proteica del plasma humano con fibrinógeno
- factor de coagulación sanguínea XIII
- fibronectina plasmática
- aprotinina (bovina)

40 2<sup>o</sup> componente: solución de trombina que contiene:

- trombina (humana)
- cloruro de calcio.

45 Para la determinación de la cinética de formación de gel del adhesivo de fibrina, se precalentaron ambos componentes durante 20 minutos a 37°C y se mezclaron entonces en un recipiente cilíndrico (diámetro 3 cm), que se calentó con la ayuda de un bloque de aluminio a 37°C. El mezclado de los componentes define el punto de partida (0 min). La medida de la firmeza del gel y de la adhesividad (adherencia) de la composición dependiente del tiempo de reacción se realizó mediante un dispositivo de medida de fuerza/desplazamiento de tipo Zwick BZ 2.5/TN1S como se describe anteriormente.



5 Se representa el resultado de la medida en el diagrama de la Figura 2. En comparación con las Figuras 1A a 1D, resulta inmediatamente claro que la formación de gel del adhesivo de fibrina presenta un desarrollo completamente distinto que en el adhesivo médico según la invención: prácticamente la composición solidifica instantáneamente, es decir, la firmeza del gel alcanza su valor máximo al cabo de pocos segundos. Después, la firmeza del gel cae de nuevo (a menos de la mitad del valor de partida al cabo de 35 min). El gel presenta una clara sinéresis.

10 Una ventaja adicional del adhesivo según la invención se basa en la disponibilidad de ambos componentes de gelatina y agente reticulante con calidad alta y reproducible. Así, también la cinética de la formación de gel en una composición cuantitativa dada es reproducible en gran medida. En contraposición con ello, se comprobaron en parte en el adhesivo de fibrina analizado, dependiendo de la carga respectiva, claras desviaciones en la formación de gel, lo que podría estar basado, entre otros, en el origen humano de algunos componentes que experimentan una oscilación natural en su calidad.

15 También en la adhesividad, se muestran claras diferencias. La adherencia del adhesivo de fibrina a la superficie de plástico del troquel utilizado es esencialmente constante durante el periodo de medida de 35 min en la Figura 2, mientras que en los adhesivos según la invención del ejemplo 1, se observa un aumento de la adherencia, que está acompañado por un aumento de la firmeza del gel.

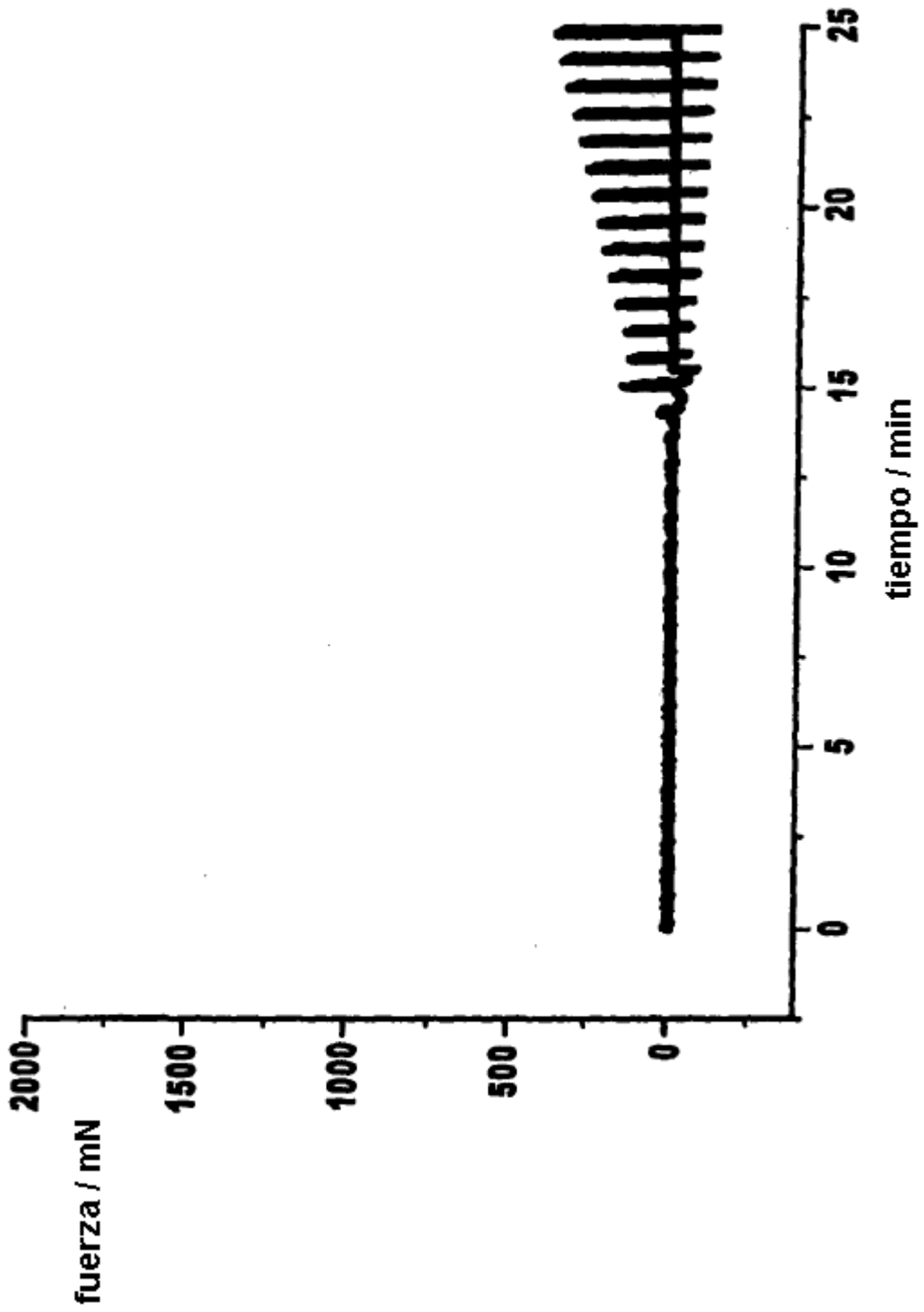
20 Con excepción de la preparación A, se alcanza sin embargo también una adherencia notablemente mayor que en el adhesivo de fibrina, lo que supone claramente otra ventaja de la presente invención. Incluso frente a una superficie de plástico plana, como se utilizó en este ensayo, puede alcanzarse una adherencia muy buena, por ejemplo, de más de 200 mN/cm<sup>2</sup> en la preparación C. El adhesivo médico según la invención es adecuado por tanto no solo para pegar tejido, sino también, por ejemplo, implantes que presentan una superficie plana.

**REIVINDICACIONES**

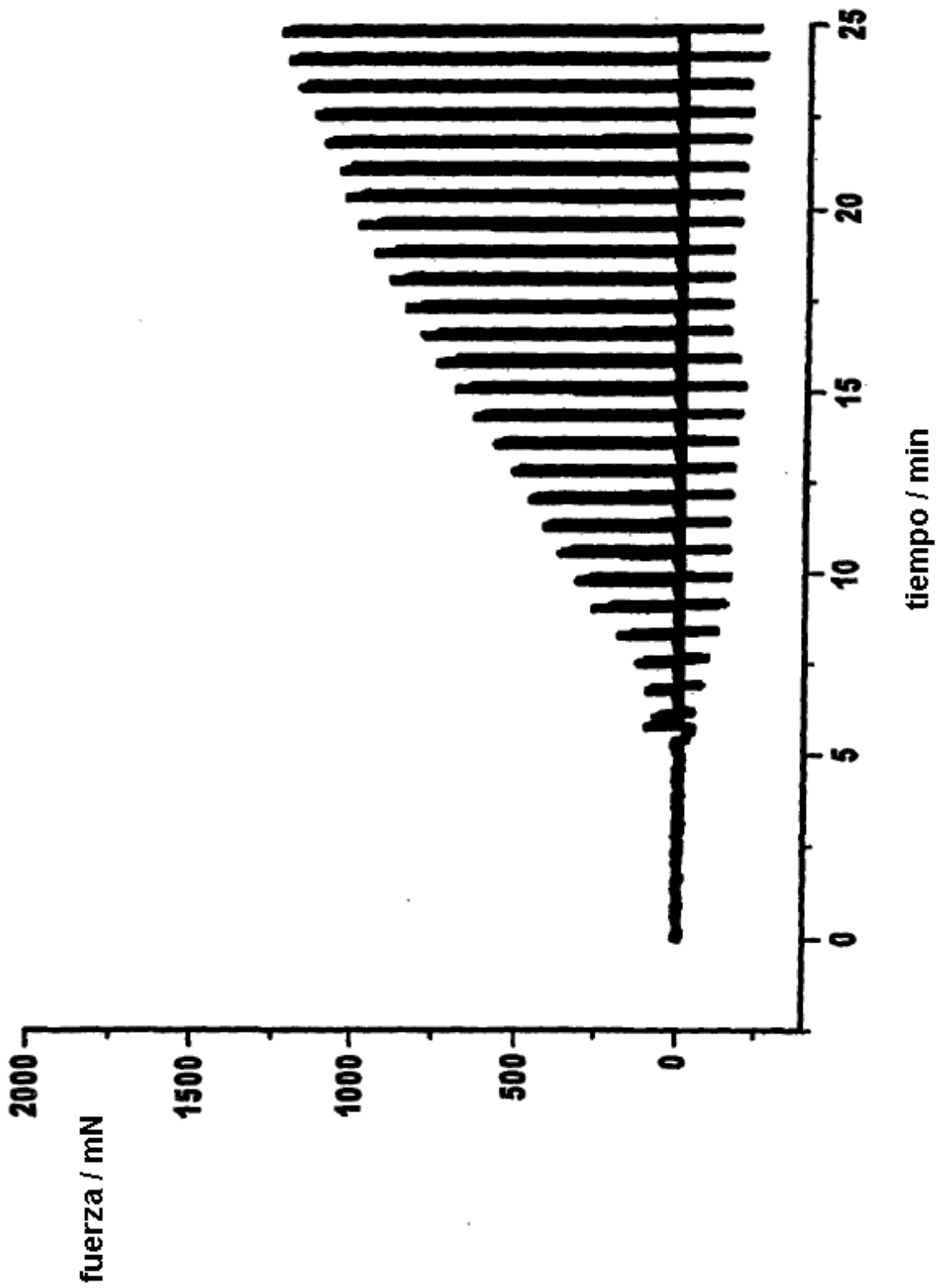
1. Uso de gelatina y transglutaminasa para la preparación de un adhesivo médico reticulable que forma un gel de gelatina reticulado en una zona de aplicación del cuerpo humano o animal, en el que
- 5 (i) la gelatina y la transglutaminasa se mezclan entre sí para la formación del adhesivo médico reticulable, que a continuación se administra en la zona de aplicación; o
- (ii) la gelatina y la transglutaminasa se suministran en forma separada entre sí y se administran simultánea o consecutivamente formando el adhesivo médico reticulable en la zona de aplicación,
- caracterizado porque la gelatina presenta una viscosidad de 7 mPa\*s o más, medida en una solución al 6,7% en peso a 60°C.
- 10 2. Uso según la reivindicación 1, en el que la gelatina es una gelatina de pescado.
3. Uso según una de las reivindicaciones precedentes, en el que el adhesivo médico según (i) es una solución acuosa que contiene la transglutaminasa y la gelatina disueltas.
4. Uso según la reivindicación 3, en el que la solución acuosa se prepara mediante la disolución de una mezcla de sólidos que comprende la gelatina y la transglutaminasa en forma liofilizada.
- 15 5. Uso según la reivindicación 4, en el que la gelatina se presenta al menos predominantemente en forma amorfa.
6. Uso según la reivindicación 4 o 5, en el que la transglutaminasa está contenida en una cantidad de 0,6 a 80 unidades por gramo de gelatina en la mezcla de sólidos.
- 20 7. Uso según la reivindicación 6, en el que la transglutaminasa está contenida en una cantidad de 10 a 40 unidades por gramo de gelatina en la mezcla de sólidos.
8. Uso según la reivindicación 1 o 2, en el que el suministro según (ii) se realiza en forma de una solución acuosa de gelatina y una solución acuosa separada de transglutaminasa.
9. Uso según la reivindicación 8, en el que la administración simultánea de la solución de gelatina y la solución de transglutaminasa se realiza mediante inyección con un dispositivo de aplicación multicameral.
- 25 10. Uso según la reivindicación 1 o 2, en el que el suministro según (ii) se realiza en forma de una solución acuosa de gelatina y la transglutaminasa en forma sólida.
11. Uso según una de las reivindicaciones precedentes, en el que la concentración de gelatina en el adhesivo médico asciende a 5 a 20% en peso.
- 30 12. Uso según una de las reivindicaciones precedentes, en el que el gel de gelatina reticulado presenta una firmeza del gel de 100 g o más, medida con un troquel de un diámetro de 12,7 mm y una profundidad de penetración de 4 mm.
13. Uso según una de las reivindicaciones precedentes, en el que la adherencia del gel de gelatina reticulado a una superficie de plástico plana asciende a 200 mN/cm<sup>2</sup> o más.
- 35 14. Uso según una de las reivindicaciones precedentes, en el que el adhesivo médico comprende un polímero elevador de la viscosidad en una proporción de 1 a 10% en peso, referida a las proporciones de sólidos del adhesivo.
15. Uso según la reivindicación 14, en el que el polímero elevador de la viscosidad comprende carboximetilcelulosa.
- 40 16. Uso según una de las reivindicaciones precedentes, en el que la gelatina está reticulada parcialmente antes del mezclado y/o administración según (i) o (ii).
17. Uso según una de las reivindicaciones precedentes, en el que el adhesivo médico comprende uno o varios principios activos terapéuticos.
- 45 18. Uso según una de las reivindicaciones precedentes para la preparación de un adhesivo médico reticulable para contener hemorragias, en el que el adhesivo médico se aplica sobre una zona de aplicación afectada por la hemorragia, en el que la formación del gel de gelatina reticulado contiene la hemorragia.

19. Uso según una de las reivindicaciones 1 a 17 para la preparación de un adhesivo médico reticulable para el tratamiento de heridas y/o quemaduras de piel humana o animal.
20. Uso según una de las reivindicaciones 1 a 17 para la preparación de un adhesivo médico reticulable para la fijación de tejidos autólogos o alogénos en una zona de aplicación del cuerpo humano o animal.
- 5 21. Uso según una de las reivindicaciones 1 a 17 para la preparación de un adhesivo médico reticulable para la fijación de implantes en una zona de aplicación del cuerpo humano o animal.
22. Mezcla de sólidos que comprende gelatina y transglutaminasa, caracterizada porque la gelatina presenta una viscosidad de 7 mPa\*s o más, medida en una solución al 6,7% en peso a 60°C.
- 10 23. Dispositivo de aplicación multicameral que contiene una solución acuosa de gelatina y una solución acuosa de transglutaminasa en cámaras separadas, caracterizado porque la gelatina presenta una viscosidad de 7 mPa\*s o más, medida en una solución al 6,7% en peso a 60°C.

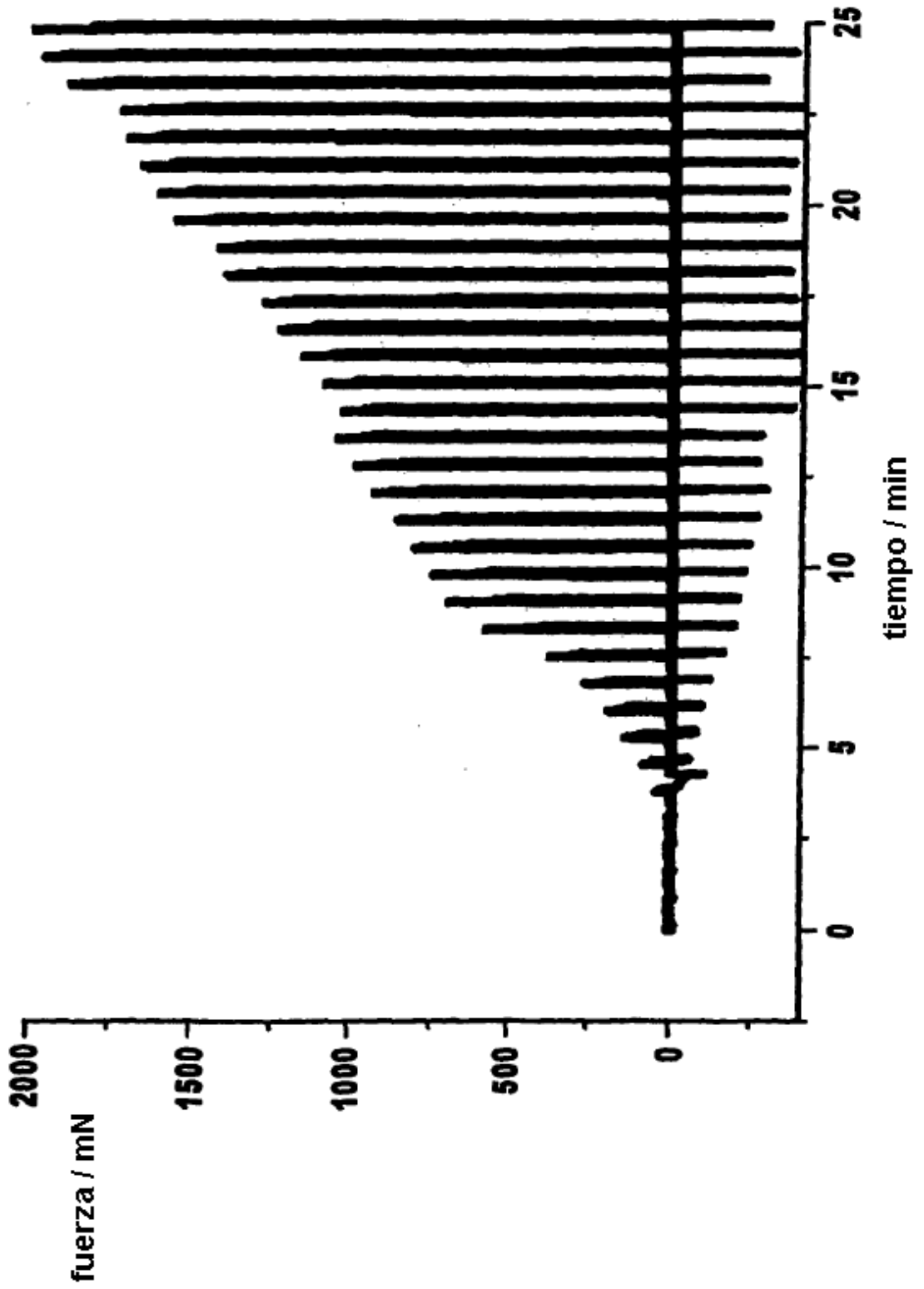
**FIG.1A**



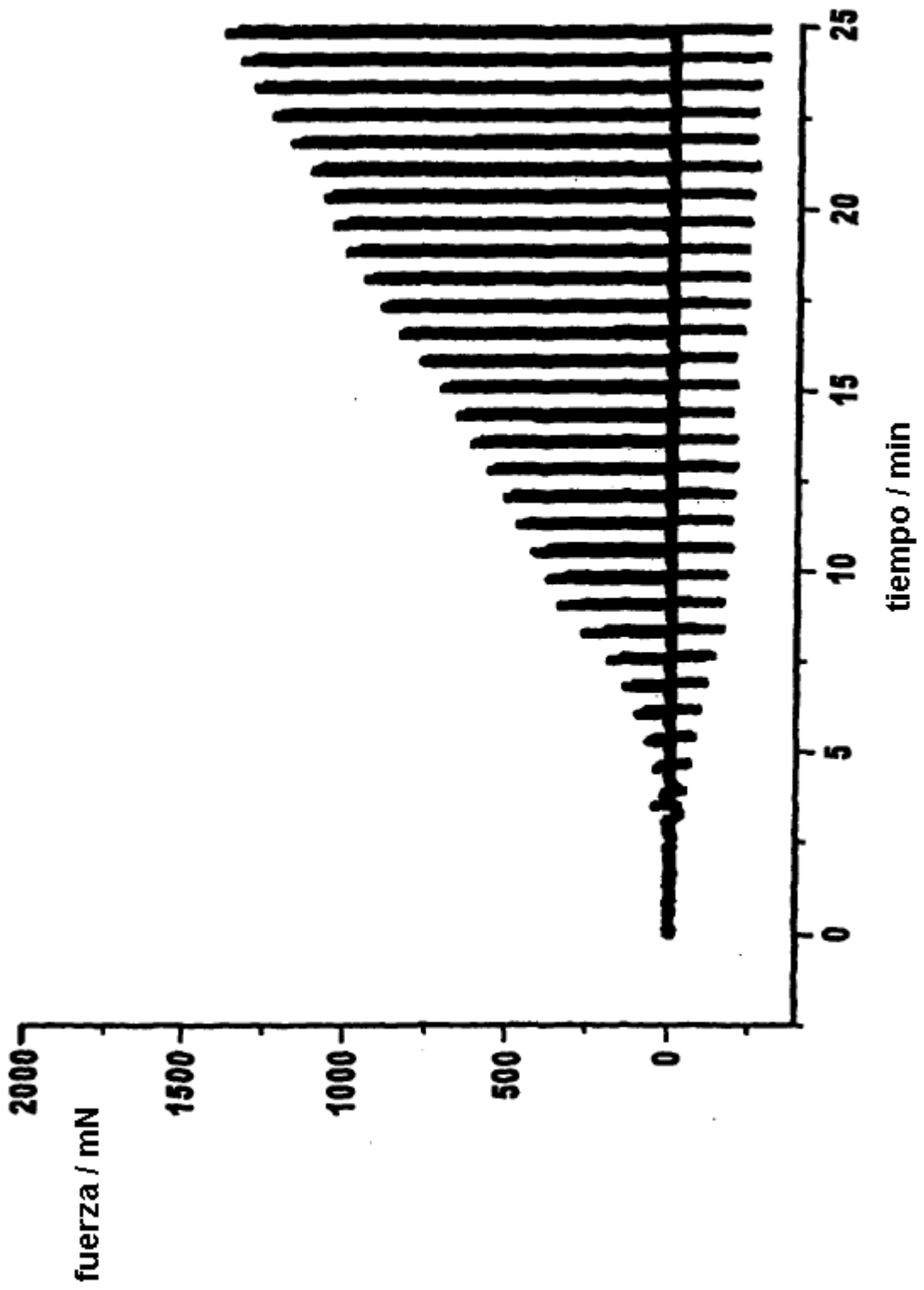
**FIG.1B**



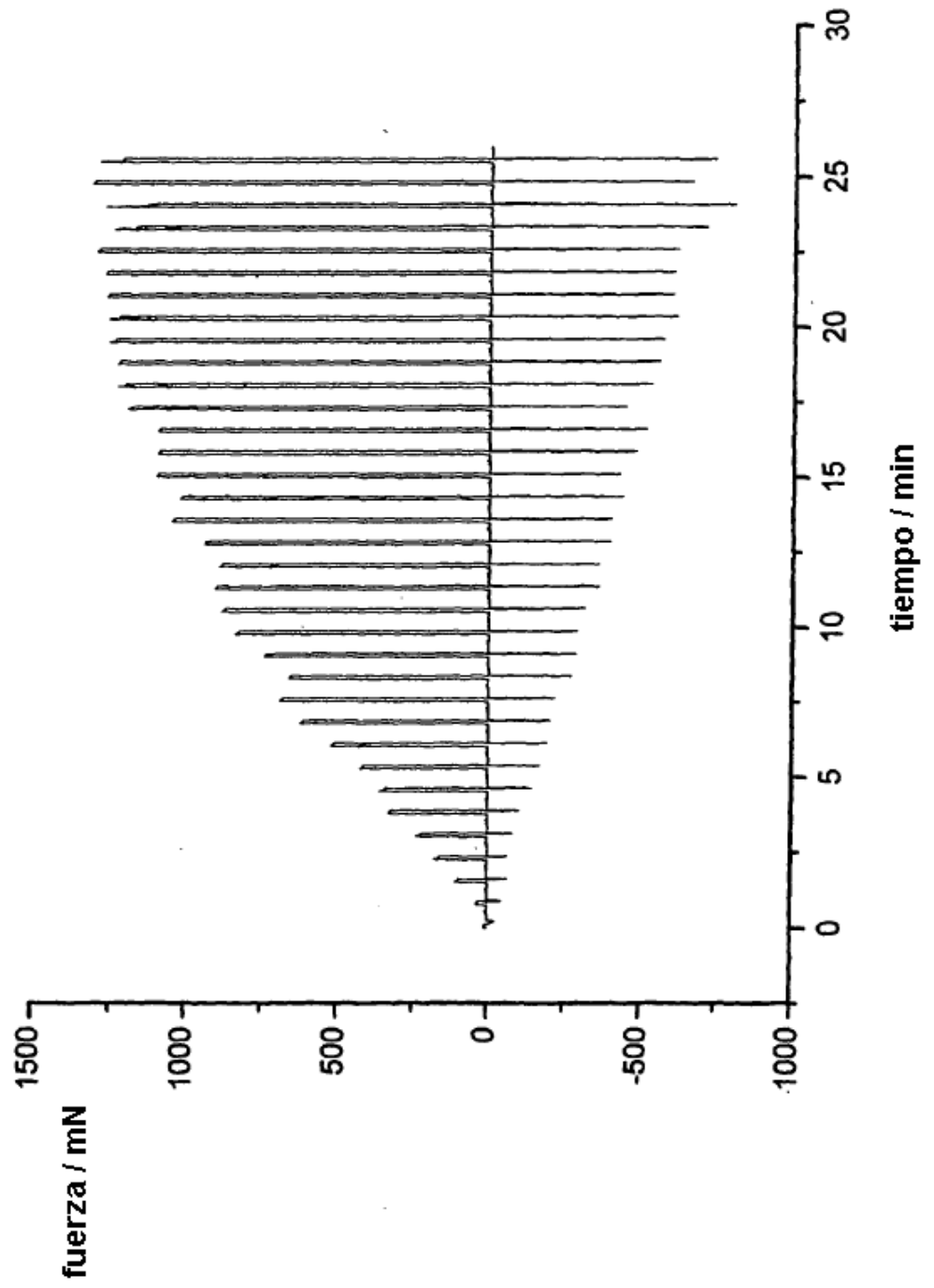
**FIG.1C**



**FIG.1D**



**FIG.1E**





**FIG.2**

