

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 602 452**

51 Int. Cl.:

A61L 24/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.05.2001 E 07011684 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.08.2016 EP 1837039**

54 Título: **Utilización de un pegamento tisular que contiene fibrinógeno para la evitación de adherencias de tejidos**

30 Prioridad:

22.05.2000 DE 10025001

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

21.02.2017

73 Titular/es:

**CSL BEHRING GMBH (100.0%)
EMIL-VON-BEHRING-STRASSE 41
35041 MARBURG, DE**

72 Inventor/es:

**METZNER, HUBERT;
DICKNEITE, GERHARD y
KRÖZ, MONIKA**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 602 452 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

Utilización de un pegamento tisular que contiene fibrinógeno para la evitación de adherencias de tejidos

5 Es objeto del invento la utilización de un pegamento tisular para la disminución o evitación de adherencias postoperatorias de tejidos, que se distingue por unas propiedades antiadhesivas mejoradas en comparación con las de los pegamentos tisulares conocidos.

10 Es conocido el hecho de que en el caso del desarrollo de los pegamentos tisulares, la actividad hemostática o la hermetización (p.ej. frente a una pérdida de fluidos corporales) se encontraba hasta ahora en primer plano. Estas indicaciones constituyen también hoy en día todavía una cantidad enteramente esencial de los usos de los pegamentos tisulares.

15 No obstante, en el pasado se ha descrito también - con diverso éxito - el uso preclínico o clínico de unos pegamentos tisulares para la evitación de adherencias después de intervenciones quirúrgicas. Así, H. Moro y colaboradores informaron acerca de una inhibición de adherencias pericárdicas en un modelo con perros (H. Moro, J. Hayashi, H. Ohzeki, T. Nakayama, O. Namura, K. Hanzawa y N. Yagi. Jap J Thor Cardiovasc Surg 47: 79-84, 1999). También H. Takeuchi y colaboradores y P.A. De Iaco y colaboradores describieron el empleo con éxito de unos pegamentos tisulares para la evitación o respectivamente reducción de adherencias al cuerno uterino de un conejo (H. Takeuchi, Y. Toyonari, N. Mitsuhashi y Y. Kuwabara. J Obstet Gynaecol 23: 479-484, 1997; P.A. De Iaco, A. Costa, G. Mazzoleni, G. Pasquinelli, L. Bassein y A. Marabini. Fertil Steril 62:400-404, 1994). Asimismo por S. Lindenberg y colaboradores se describió la disminución de adherencias peritoneales mediante el empleo de pegamentos tisulares en un modelo con ratas (S. Lindenberg y J.G. Lauritsen. Annales Chirurgiae et Gynecologiae 73: 11-13, 1984). No obstante, hubo también otros autores, que en el caso del empleo de pegamentos de fibrina no pudieron observar ninguna disminución de las adherencias en comparación con un testigo no tratado. Estos fueron, entre otros, J.F.H. Gauwerki, J. Mann y G. Bastert, Arch Gynäkol Obstet 247:161 (1990) y V.A.C. Evrard, A. De Bellis, W. Boeckx y I.A. Brosens, Hum Reprod 11:1877-1880 (1996). Los informes en parte contradictorios, se han de atribuir en lo esencial a que el efecto conseguible mediante los productos que estaban presentes no es suficientemente grande o respectivamente manifiesto, para conducir continuamente a unos resultados inequívocos.

30 Recientemente, también en la bibliografía de patentes se mencionó la utilizabilidad de unas capas de fibrina para la evitación de adherencias. La solicitud de patente internacional WO 96/22115 describe un material del tipo de una lámina, que se compone de una fibrina reticulada y que se emplea para la evitación de adherencias, pero que no posee por sí misma ninguna propiedad hemostática. En otra forma de realización, este material se produce in situ, mediante el recurso de que, después de un primer pegamento tisular con actividad hemostática, éste se aplica como una segunda capa de pegamento tisular sin propiedades hemostáticas. Sin embargo, estos procedimientos o bien son impracticables, puesto que la fijación de una tal película de fibrina es difícil, o son complicados, puesto que se tienen que emplear dos pegamentos tisulares, con el fin de conseguir tanto una actividad hemostática como también unas propiedades antiadhesivas.

40 Además de ello, a partir de la solicitud de patente internacional WO 92/22312 se conoce también un preparado a base de fibrina o fibrinógeno y de un polímero biocompatible o biodegradable, que forma una solución viscosa, y tiene propiedades antiadhesivas.

45 Por lo tanto, se planteó la misión de desarrollar un pegamento tisular que, junto con unas buenas propiedades hemostáticas, muestre unos resultados mejorados en el caso de la disminución o evitación de adherencias de tejidos, y que, además de esto, que se contente sin la adición de unos polímeros con propiedades antiadhesivas que formen soluciones viscosas.

50 A causa de su gran importancia médica, en los últimos años se han emprendido unos considerables esfuerzos investigativos, para desarrollar ulteriormente y mejorar los pegamentos tisulares conocidos. En este caso se prestó especial atención también al mejoramiento de la almacenabilidad de los pegamentos tisulares. Así, en las solicitudes de patentes alemanas DE-A-198 53 033, DE-A-198 61 158 y DE-A 100 12 732 se han descrito unos pegamentos tisulares o respectivamente sus componentes, que se distinguen, entre otras cosas, por una almacenabilidad especialmente alta en el estado líquido y/o congelado. La investigación más exacta de estos nuevos pegamentos tisulares ha mostrado, por fin, que ellos tienen todavía otras propiedades ventajosas, que les abren unas adicionales y valiosas posibilidades de uso.

60 En efecto, se ha puesto de manifiesto que estos nuevos pegamentos tisulares disponen de propiedades antiadhesivas considerablemente mejoradas, sin que se tengan que aceptar en este contexto unas mermas en sus propiedades hemostáticas. Las especiales propiedades antiadhesivas de los nuevos pegamentos tisulares se ponen de manifiesto tanto frente a unas heridas no tratadas como también frente a unas heridas tratadas con unos pegamentos tisulares habituales. En particular, en este contexto es sorprendente que, también en comparación con unos pegamentos tisulares habituales, se alcanzan unos efectos manifiestamente mejorados en el caso de la disminución o evitación de las adherencias de tejidos, cuando se emplean los nuevos pegamentos tisulares precedentemente mencionados. Estos efectos se observaron tanto en un típico modelo con animales para la

investigación de la disminución de la adherencia en el caso de una herida en corte longitudinal en el cuerno uterino de conejos, como también en el caso de la utilización de una resección parcial del hígado en un conejo.

Por lo tanto, es un objeto del invento la utilización de un pegamento tisular que contiene

- 5
- un preparado de fibrinógeno estabilizado, que es almacenable en el estado líquido y/o congelado, al que se le ha añadido una sustancia caotrópica, y
 - un preparado de trombina

10 para la disminución o evitación de las adherencias postoperatorias de tejidos.

En este caso, al pegamento tisular se le puede añadir adicionalmente un preparado que contiene el factor XIII de coagulación sanguínea, siempre y cuando que éste no esté contenido en una cantidad suficiente, de tal manera que él se utiliza como un pegamento de 3 componentes. Puesto que una reticulación de la fibrina lo más completa que sea posible puede reforzar el efecto antiadhesivo de un pegamento de fibrina mediante el recurso de que p.ej. la matriz de fibrina es menos accesible a una degradación fibrinolítica. No obstante, también es posible añadir y mezclar el factor XIII de coagulación sanguínea desde el principio al preparado de fibrinógeno, de tal manera que pasa a emplearse un pegamento de 2 componentes. En el caso de un pegamento de 3 componentes, la relación de mezclado de los componentes, el fibrinógeno, el factor XIII y la trombina, se puede escoger de manera apropiada para conseguir unas buenas propiedades mecánicas del pegamento. Por ejemplo, son apropiadas unas relaciones de mezclado de aproximadamente 1:1:1 hasta aproximadamente 10:1:1 o 10:1:2, o generalmente x:y:z siendo $x \geq z \geq y$.

El pegamento tisular utilizado conforme al invento contiene una sustancia caotrópica en el preparado de fibrinógeno. Como apropiadas sustancias caotrópicas se han acreditado p.ej. arginina, guanidina, citrulina, urea o sus derivados o bien sus mezclas. Ellas/os son añadidas al preparado de fibrinógeno por lo general en unas cantidades de 0,1 a 1,0 mol/l, de manera preferida en unas cantidades de 0,5 mol/l.

Las propiedades de los nuevos pegamentos tisulares precedentemente mencionados son influidas ventajosamente por lo demás mediante la adición de un agente antifibrinolítico. Como agente antifibrinolítico se utilizan p.ej. aprotinina, ácido ϵ -aminocaproico (EACA), ácido p-amino-metil-benzoico (PAMBA) o una de sus sales o derivados fisiológicamente compatibles.

Además de ello, en el preparado de fibrinógeno pueden estar contenidos como agentes estabilizadores

- 35
- una sal inorgánica o
 - una o varias sales fisiológicamente compatibles de ácidos carboxílicos orgánicos, en particular del ácido cítrico o del ácido láctico, o
 - uno o varios aminoácidos o
 - 40 - un mono- o disacárido o
 - un alcohol de azúcar

o una de sus mezclas.

Un efecto positivo sobre las propiedades antiadhesivas de los pegamentos de fibrina mejorados que se reivindican, se puede conseguir por lo demás mediante unos apropiados métodos de purificación, p.ej. disminuyendo el contenido de plasminógeno del componente de fibrinógeno. Tales métodos pueden ser, por ejemplo, la cromatografía de inmunoafinidad por medio de anticuerpos acoplados o la cromatografía de afinidad por medio de unos soportes que contienen grupos amino. Por lo tanto, este invento comprende, entre otros, también unos pegamentos de fibrina con unos componentes de fibrinógeno, cuyos contenidos de plasminógeno se han reducido significativamente. Tales componentes de fibrinógeno tienen de manera preferida una relación del plasminógeno al fibrinógeno de $< 1,8 \times 10^{-4}$ (p/p), de manera especialmente preferida de $< 10^{-4}$ (p/p).

El preparado de factor XIII añadido al pegamento tisular, que se ha de emplear conforme al invento, debe de ser asimismo estabilizado, cuando él no es añadido al fibrinógeno que ya ha sido estabilizado. En este caso, es ventajoso añadir al preparado del factor XIII una sal fisiológicamente compatible de un ácido di-, tri- o tetracarboxílico orgánico, en particular del ácido cítrico, y eventualmente otros agentes estabilizadores y/o sustancias tamponadoras para el factor XIII. Como otros agentes estabilizadores adicionales entran en consideración en este caso

- 60
- un mono- o disacárido o un alcohol de azúcar y/o
 - un aminoácido escogido entre el conjunto que se compone de glicina, glicil-glicina, alanina, cisteína, histidina, glutamina o una sal fisiológicamente compatible del ácido glutámico o aspártico y/o
 - un agente reductor o que impide una oxidación y/o
 - una sustancia tensioactiva.

65

Usualmente, ellos son añadidos al preparado del factor XIII en una proporción de hasta 5 % en peso. Unos pegamentos tisulares de este tipo se han descrito en las solicitudes de patentes alemanas DE-A-198 53 033 y DE-A-198 61 158.

5 El preparado de trombina, que está contenido en el pegamento tisular empleado conforme al invento, tiene como característica especial en una forma de realización el hecho de que, como agente estabilizador, él puede contener un inhibidor que se fija de manera no covalente. Unas sustancias apropiadas para ello son unos compuestos tales como la benzamidina o la p-amino-benzamidina, y otros inhibidores de proteasas de baja hasta mediana afinidad. Mediante la adición de estos inhibidores de baja y mediana afinidad no se perjudica esencialmente a la actividad de la trombina frente a unas sustancias tales como el fibrinógeno. Al preparado de trombina se le pueden añadir además de ello, para la estabilización, junto a una sal de calcio soluble, cloruro de sodio, un azúcar o un alcohol de azúcar y/o un aminoácido, o también la sal de un ácido mono- o policarboxílico y/o la sal de un ácido mono- poli(hidroxicarboxílico), o unas mezclas de los mencionados agentes estabilizadores.

15 La trombina utilizada para ello se prepara a partir de la protrombina obtenida a partir de un plasma o de una fracción de plasma. Después de su activación para dar trombina sin la adición de tromboplastina así como eventualmente después de otras etapas de elaboración, ella puede ser purificada mediante una cromatografía de interacción hidrófoba y/o una cromatografía de intercambio de cationes. Este procedimiento se ha descrito detalladamente en la solicitud de patente alemana DE-A-100 12 732. En este caso es especialmente ventajoso que el pegamento tisular o sus componentes sean sometidos también todavía a uno o varios procedimientos para la desactivación de virus.

20 Como un material de partida para la preparación de los componentes individuales de los pegamentos de fibrina conformes al invento, aparte de unas fracciones de plasma, se pueden utilizar también unas proteínas recombinantes, que se preparan mediante aislamiento a partir de cultivos de células o de materiales sobrenadantes de cultivos de células.

25 Para la investigación de las repercusiones de estos pegamentos tisulares mejorados sobre la evitación o la disminución de adherencias postoperatorias de tejidos, por ejemplo se preparó un pegamento tisular mejorado, que tiene la siguiente composición:

30 un componente de fibrinógeno que contiene:

35 90 mg/ml de un concentrado de fibrinógeno,
100 mmol/l de NaCl,
20 mmol/l de citrato de $\text{Na}_3 \times 2 \text{H}_2\text{O}$,
237 mmol/l de L-arginina x HCl y
80 mmol/l de ácido ϵ -aminocaproico o 1.000 KUI/ml de aprotinina

40 un componente del factor XIII que contiene:

120 U/ml de un concentrado del factor XIII,
10 mmol/l de citrato de $\text{Na}_3 \times 2 \text{H}_2\text{O}$,
50 m/Mol/l de L-histidina

45 un componente de trombina que contiene:

50 1.500 UI/ml de un concentrado de trombina,
150 mmol/l de NaCl,
40 mmol/l de CaCl_2 ,
110 mmol/l de manitol,
5 mmol/l de L-histidina.

55 El valor del pH después de la mezclado de los componentes para dar el pegamento tisular fue de aproximadamente 7,4.

La utilización de este pegamento tisular en el caso de operaciones quirúrgicas se describe en lo sucesivo a modo de ejemplo:

Ejemplo 1: Evitación de adherencias al cuerno uterino.

En 12 conejas hembras se hicieron unas incisiones longitudinales en los cuernos uterinos mediando anestesia, después de haber abierto la cavidad abdominal. Las incisiones se cerraron otra vez con un material quirúrgico de sutura. En cada caso seis conejas fueron asignadas a los dos siguientes conjuntos de tratamiento: 1. ningún tratamiento, 2. Un tratamiento con un pegamento tisular mejorado. Las heridas del 2º conjunto se cubrieron en cada caso completamente con un pegamento tisular. Después de haber cerrado la cavidad abdominal, los animales pudieron despertarse otra vez. Después de siete días, las conejas fueron sacrificadas eutanásicamente y las adherencias de los úteros con el tejido circundante fueron valoradas. Se excluyeron de la evaluación las adherencias de las dos incisiones una con otra. Los resultados de la investigación se representan en la Tabla 1.

Los animales no tratados mostraron adherencias en un 63,6 % de todos los casos. Se observó una reducción manifiesta de las adherencias en el conjunto tratado con un pegamento tisular mejorado. En el presente caso, la frecuencia de las adherencias se situaba solamente en un 11,1 %.

Tabla 1: Adherencias del útero con el tejido circundante después del tratamiento con pegamentos tisulares

	1. Ningún tratamiento	2. Pegamento tisular mejorado
Frecuencia de las adherencias	63,6 %	11,1 %

Ejemplo 2: Evitación de adherencias al cuerno uterino

En este experimento se comparó el pegamento tisular mejorado con un pegamento comercial (Beriplast® P) y con ningún tratamiento en total en 36 conejos. Correspondientemente al método descrito en el Ejemplo 1, se formaron tres conjuntos con en cada caso 12 animales, en cuyos casos, por cada animal, se trató un cuerno uterino tal como sigue: 1. ningún tratamiento, 2. Beriplast® P, 3. pegamento tisular mejorado. La frecuencia y la extensión de las adherencias se valoraron el día 7. Los resultados se recopilado en la Tabla 2.

Todos los animales en el conjunto, que no recibieron ningún tratamiento con un pegamento tisular, mostraron adherencias (100 %). Los conejos tratados con Beriplast® P tenían una frecuencia de adherencias manifiestamente más pequeña (75 %). La frecuencia más pequeña de adherencias se observó en el conjunto de animales, que fueron tratados con un pegamento tisular mejorado. La extensión de las adherencias (longitud en cm) proporcionó unos hallazgos similares.

Tabla 2: Adherencia del útero con el tejido circundante después del tratamiento con pegamentos de fibrina

	1. Ningún tratamiento	2. Beriplast® P	3. Pegamento tisular mejorado
Frecuencia de las adherencias (%)	100 %	75 %	50 %
Longitud de las adherencias (cm)	1,52	1,03	0,67

Ejemplo 3: Evitación de adherencias al cuerno uterino.

En otro experimento se compararon unos pegamentos tisulares mejorados con un pegamento comercial (Beriplast® P) así como con un testigo no tratado. Correspondientemente al método descrito en el Ejemplo 2, se formaron varios conjuntos con en cada caso 12 animales, utilizándose por cada animal sólo un cuerno uterino. Los animales se trataron tal como sigue:

1. Ningún tratamiento
2. Beriplast® P
3. Un pegamento tisular mejorado
4. Un pegamento tisular mejorado (con aprotinina en lugar de EACA)
5. Un pegamento tisular mejorado con un contenido reducido de plasminógeno

La frecuencia y la extensión de las adherencias se valoraron en el día 7. La Tabla 3 muestra los resultados del estudio.

Aproximadamente dos tercios de los animales, que no recibieron ningún tratamiento con un pegamento tisular, mostraron adherencias (66,7 %). Se observó una frecuencia manifiestamente más pequeña de adherencias o respectivamente la frecuencia más pequeña de adherencias en el conjunto de animales, que fueron tratados con unos pegamentos tisulares mejorados. La extensión de las adherencias (la longitud en cm) proporcionó unos hallazgos similares.

Tabla 3: Adherencias del útero con el tejido circundante después del tratamiento con diferentes pegamentos de fibrina (valores promedios para n = 12 animales)

	1. Testigo no tratado	2. Beriplast® P	3. Pegamento tisular mejorado	4. Pegamento tisular mejorado (con aprotinina en lugar de EACA)	5. Pegamento tisular mejorado con un contenido reducido de plasminógeno
Frecuencia de las adherencias (%)	66,7 %	41,7 %	33,3 %	16,7 %	0 %
Longitud de las adherencias (cm)	0,59	0,19	0,26	0,13	0

Ejemplo 4: Evitación de adherencias al cuerno uterino.

En este experimento, correspondientemente al método descrito en el Ejemplo 1, se formaron varios conjuntos con en cada caso 8 animales, en cuyo caso se operaron ambos cuernos uterinos. Se emplearon unos pegamentos tisulares mejorados con un conjunto testigo sin ningún tratamiento en 16 cuernos uterinos por conjunto. Se compararon los siguientes conjuntos de tratamiento:

1. Ningún tratamiento
2. Pegamento tisular mejorado con un contenido reducido de plasminógeno
3. Pegamento tisular mejorado con un contenido de plasminógeno que había sido reducido al principio y aumentado otra vez antes del uso

Se evaluaron solamente los cuernos uterinos, que no se adherieron a la incisión del otro cuerno uterino. Los resultados de esta serie de ensayos (véase la Tabla 4) ponen de manifiesto, que el empobrecimiento en cuanto a plasminógeno puede mejorar aún más las propiedades antiadhesivas de un pegamento de fibrina.

Tabla 4: Evitación de adherencias al cuerno uterino después del tratamiento con pegamentos tisulares (valores promedios)

	1. Ningún tratamiento	2. Pegamento tisular mejorado con un contenido reducido de plasminógeno	3. Pegamento tisular mejorado después de una reducción del contenido de plasminógeno y del aumento de plasminógeno
Frecuencia de las adherencias (%)	68,8 %	15,4 %	46,2 %
Longitud de las adherencias (cm)	0,53	0,07	0,32

Ejemplo 5: Evitación de adherencias después de una resección del hígado.

14 conejos fueron anestesiados y se puso al descubierto el hígado después de haber abierto la cavidad abdominal. De un lóbulo del hígado se reseccionó un trozo de aproximadamente 3,5 g, resultando una herida de aproximadamente 4 cm². Para la hemostasia, la herida se cubrió completamente con un pegamento tisular, recibiendo siete conejos en cada caso Beriplast® P o un pegamento tisular mejorado. El número de los animales con una hemostasia completa se determinó en el transcurso de cinco minutos. Después de esto, se cerró otra vez la cavidad abdominal y se concluyó la anestesia. Después de siete días, los animales fueron sacrificados eutanásicamente y se valoraron las adherencias del hígado con el tejido colindante.

La Tabla 5 muestra que el número de las adherencias en el conjunto, que había sido tratado con un pegamento tisular mejorado, era manifiestamente más pequeño que en el conjunto que había sido tratado con Beriplast® P. Todos los animales presentaron una hemostasia completa.

Tabla 5: Hemostasia y adherencias del hígado con el tejido circundante después del tratamiento con pegamentos tisulares

	1. Beriplast® P	2. Pegamento tisular mejorado
Número de animales con adherencias	5/7 (71,4 %)	2/7 (28,6 %)
Número de animales con una hemostasia completa	7/7 (100 %)	7/7 (100 %)

REIVINDICACIONES

1. Un pegamento tisular que contiene
- 5 - un preparado estabilizado de fibrinógeno, que es almacenable en el estado líquido y/o congelado, al que se le ha añadido una sustancia caotrópica, y
- un preparado de trombina
- para la utilización en el caso de la disminución o evitación de adherencias postoperatorias de tejidos.
- 10 2. El pegamento tisular de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** él comprende adicionalmente un preparado que contiene el factor XIII de coagulación sanguínea, el cual también puede ser mezclado con el preparado de fibrinógeno.
- 15 3. El pegamento tisular de acuerdo con las reivindicaciones 1 y 2, **caracterizado por que** él contiene un agente antifibrinolítico.
- 20 4. El pegamento tisular de acuerdo con la reivindicación 3, **caracterizado por que** él contiene el ácido ϵ -amino-caproico como agente antifibrinolítico.
5. El pegamento tisular de acuerdo con la reivindicación 3, **caracterizado por que** él contiene el ácido p-amino-metil-benzoico como agente antifibrinolítico.
- 25 6. El pegamento tisular de acuerdo con la reivindicación 3, **caracterizado por que** él contiene aprotinina como agente antifibrinolítico.
7. El pegamento tisular de acuerdo con la reivindicación 1-6, **caracterizado por que** el contenido de plasminógeno del componente de fibrinógeno se disminuyó mediante una cromatografía de inmunoafinidad por medio de anticuerpos acoplados o mediante una cromatografía de afinidad por medio de un soporte que contiene grupos amino.
- 30 8. El pegamento tisular de acuerdo con la reivindicación 1-7, **caracterizado por que** el componente de fibrinógeno tiene un contenido reducido de plasminógeno, estando situada la relación del plasminógeno al fibrinógeno en $< 1,8 \times 10^{-4}$ (p/p).
- 35 9. El pegamento tisular de acuerdo con las reivindicaciones 2 hasta 8, **caracterizado por que** al preparado que contiene el factor XIII se le han añadido
- 40 - una sal fisiológicamente compatible de un ácido di-, tri- o tetracarboxílico orgánico, en particular el ácido cítrico, y
- eventualmente otros agentes estabilizadores y/o unas sustancias tamponadoras para el factor XIII.
10. El pegamento tisular de acuerdo con la reivindicación 9, **caracterizado por que** al preparado que contiene el factor XIII se le han añadido como otros agentes estabilizadores
- 45 - un mono- o disacárido o un alcohol de azúcar y/o
- un aminoácido escogido entre el conjunto que se compone de glicina, glicil-glicina, alanina, cisteína, histidina, glutamina o una sal fisiológicamente compatible del ácido glutámico o aspártico y/o
- un agente reductor o un agente que impide una oxidación y/o
- una sustancia tensioactiva.
- 50 11. El pegamento tisular de acuerdo con las reivindicaciones 1 hasta 10, **caracterizado por que** al preparado de fibrinógeno se le han añadido una o varias sustancias caotrópicas escogidas entre el conjunto que se compone de arginina, guanidina, citrulina, urea o sus derivados, o bien sus mezclas.
- 55 12. El pegamento tisular de acuerdo con las reivindicaciones 1 hasta 11, **caracterizado por que** al preparado de fibrinógeno se le han añadido adicionalmente como agentes estabilizadores
- 60 - una sal inorgánica o
- una o varias sales fisiológicamente compatibles de ácidos carboxílicos orgánicos, en particular del ácido cítrico o del ácido láctico, o
- uno o varios aminoácidos o
- un mono- o disacárido o
- un alcohol de azúcar
- 65 o una de sus mezclas.

13. El pegamento tisular de acuerdo con las reivindicaciones 1 hasta 12, **caracterizado por que** se emplea un preparado de trombina que es estable en el estado líquido o congelado, el cual puede contener como agentes estabilizadores, junto a una sal de calcio soluble y cloruro de sodio,

- 5
- una sustancia tamponadora
 - un azúcar o un alcohol de azúcar y/o un aminoácido
 - y/o
 - una sal de un ácido mono- o policarboxílico o
 - una sal de un ácido mono- o poli(hidroxicarboxílico) o unas mezclas de los mencionados agentes estabilizadores.

10

14. El pegamento tisular de acuerdo con las reivindicaciones 1 hasta 13, **caracterizado por que** el preparado de trombina contiene como agente estabilizador un inhibidor que se fija de manera no covalente.

15

15. El pegamento tisular de acuerdo con las reivindicaciones 1 hasta 14, **caracterizado por que** él contiene un preparado de trombina, que había sido purificado mediante una cromatografía de interacción hidrófoba y/o una cromatografía de intercambio de cationes.

16. El pegamento tisular de acuerdo con las reivindicaciones 1 hasta 15, **caracterizado por que** él o sus componentes fueron sometidos a uno o varios procedimientos para la desactivación o eliminación de virus.