



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 217 360**

⑤① Int. Cl.7: **A61B 17/00**

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧⑥ Número de solicitud europea: **97118781 .0**

⑧⑥ Fecha de presentación: **29.10.1997**

⑧⑦ Número de publicación de la solicitud: **0839498**

⑧⑦ Fecha de publicación de la solicitud: **06.05.1998**

⑤④ Título: **Dispositivo para la administración de pegamento de fibrina.**

③⑩ Prioridad: **05.11.1996 US 744488**

④⑤ Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.11.2004

④⑤ Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.11.2004

⑦③ Titular/es: **Bayer Corporation**
100 Bayer Road
Pittsburgh, Pennsylvania 15205-9741, US

⑦② Inventor/es: **Zimmerman, Thomas P.;**
Dadd, Christopher A. y
Baumbach, George A.

⑦④ Agente: **Carpintero López, Francisco**

ES 2 217 360 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

Dispositivo para la administración de pegamento de fibrina.

Antecedentes de la invención

Campo

La presente invención se refiere generalmente a pegamento de fibrina, también conocido como adhesivo de tejido o sellador de fibrina. Más específicamente, la invención se refiere a un sistema de administración que permite el contacto de una solución que contiene fibrinógeno, con trombina, para formar fibrina polimerizable antes de la administración de la solución a un sitio.

Antecedentes

Los pegamentos de fibrina se conocen desde hace muchos años. Por ejemplo, la Patente de EE.UU. 2,533,004 de Ferry muestra el uso de concentraciones de solución de fibrinógeno que varían junto con una solución de trombina para formar coágulos de fibrina.

Además de sus ingredientes principales, la α -trombina y el fibrinógeno, el pegamento de fibrina puede contener una pequeña cantidad de factor XIII que se copurifica con el fibrinógeno cuando se purifica del plasma humano. En presencia de trombina, el fibrinógeno soluble se convierte en fibrina soluble que autopolimeriza en una matriz insoluble. La trombina también convierte el factor XIII en factor XIIIa. El último, entrecruza la matriz de fibrina para dar un polímero muy entrecruzado, que contribuye a la eficacia del adhesivo de tejido o del pegamento de fibrina. Las preparaciones adhesivas permiten la parada fiable del sangrado, contribuyen a la capacidad de buena adherencia a las superficies de la herida o del tejido, proporcionan una alta capacidad de estiramiento de los sitios pegados o heridas selladas, y proporcionan la completa absorbabilidad del adhesivo de tejido en el curso de la cicatrización de la herida. Los pegamentos de fibrina se han usado para el control de sangrado (hemostasis), para el aumento o sustitución de los puntos de sutura o clips de heridas, para adherir injertos de piel, para sellar heridas de punciones, para sellar y adherir catéteres, e incluso para usar como depósito para la administración de fármacos.

El fibrinógeno y la α -trombina deben formularse de una forma que establezca y separe completamente estas dos proteínas hasta el momento de su uso real. Dado que la α -trombina es una proteasa activada, es particularmente difícil almacenarla establemente en solución. Las Patentes de EE.UU. 4,298,598 y 4,377,572 de Schwartz y col. y 4,909,251 de Seelich muestran ejemplos de las composiciones de las preparaciones de pegamento de fibrina.

Las formulaciones comerciales que existen para hacer pegamento de fibrina incluyen preparaciones separadas congeladas o liofilizadas de α -trombina y fibrinógeno preempaquetadas en una jeringa doble. Las formulaciones congeladas requieren que los dos ingredientes del producto se almacenen y se despachen en estado congelado. Finalmente, la doble jeringa usada para dispensar los pegamentos de fibrina existentes es un tanto voluminosa y más difícil de manejar que una jeringa convencional y puede encontrarse difícil de usar.

Se revelan diferentes tipos de aplicadores en la técnica anterior. Por ejemplo, la Patente de EE.UU. 4,359,049 de Redl revela un aparato de tipo jeringa que incluye una pluralidad de cuerpos de jeringa y

una cabeza conectora con una única aguja.

En la Patente de EE.UU. 4,974,368 de Miller se reveló un aplicador mejorado. Este aplicador incluye un par de tubos de jeringa que se pueden hacer actuar juntos o por separado, un miembro que mantiene las jeringas paralelas una a la otra, y un montaje de agujas doble que permite la administración por separado de los componentes del pegamento de fibrina en el sitio del tratamiento.

Otro dispositivo usa jeringas con depósitos que tienen diferentes áreas transversales, alterando así las cantidades relativas de los componentes. Véase la Patente de EE.UU. 4,735,616 de Eibl que muestra una sección transversal de jeringa que tiene un área de 2 a nueve veces mayor que la segunda jeringa.

El documento US PS 4,642,111 se refiere a un dispositivo anticáncer que tiene un fármaco anticáncer y un factor de coagulación de sangre fijado a una estructura. Este dispositivo anticáncer se usa en la embolización arterial transcatéter y en la terapia de agujas con ventaja, y libera lentamente el fármaco anticáncer durante un amplio periodo permaneciendo en el tejido del cáncer y su área cercana.

Se han descrito los selladores de fibrina de una única jeringa. Por ejemplo, en una aplicación, una mezcla de fibrinógeno y protrombina está contenida en una única jeringa y la formación de coágulos tiene lugar mediante la acción del factor Xa endógeno en el sitio de la herida. Véanse también las Patentes para la trombina inhibida, reversible con la luz junto con fibrinógeno (Patentes de EE.UU. 5,219,328 y 5,318,524, ambas de McNally y col.; PCT/US 91/00003).

En el Encuentro de Trombosis y Hemostasis de 1995, hubo dos informes (Resúmenes N° 2150 y 2174) de formulaciones de monómero de fibrina nuevas que se podían prever como pegamento de una sola jeringa. Se usó batroxobina en lugar de trombina para formar monómeros de fibrina solubles y la batroxobina se retiró después mediante cromatografía de afinidad. Sin embargo, la batroxobina, en contraste con la trombina, escinde solo fibrinopéptido A a partir de fibrinógeno y no escinde fibrinopéptido B a partir de fibrinógeno o del factor XIII activado.

La Patente de EE.UU. 5,393,666 de Linnau revela un procedimiento de activación de la protrombina por medio de tripsina, en el que la protrombina se trata con tripsina inmovilizada en un vehículo insoluble en agua y entonces se separa de la tripsina inmovilizada después de la activación.

Un reto principal al diseñar un sistema de administración de una sola jeringa para el pegamento de fibrina es cubrir la necesidad de separar completamente la solución de fibrinógeno de una proteasa activadora, más preferentemente α -trombina, hasta el momento del uso del pegamento de fibrina. Con soluciones de fibrinógeno y trombina, el pegamento de fibrina puede generarse solo de una forma controlada usando un sistema de doble jeringa que separe eficazmente el fibrinógeno de su proteasa activadora hasta el momento deseado de generación de pegamento.

Que se sepa, nadie ha propuesto previamente el uso de un contenedor de proteasa inmovilizado como es un cartucho para unir a un extremo de la jeringa, para activar el fibrinógeno y permitir por ello la administración de la solución activada de fibrina polimerizable con una sola jeringa.

Resumen de la invención

La invención revela un procedimiento que comprende las etapas de poner en contacto una solución de fibrinógeno (preferentemente con factor XIII) con una preparación de trombina inmovilizada bajo condiciones que dan como resultado una solución activa de fibrina polimerizable soluble, y después aplicar la fibrina soluble al sitio deseado como es el sitio de una herida. La trombina inmovilizada escinde el fibrinógeno en fibrina y activa proteolíticamente el factor XIII (si está presente) permitiendo así que el pegamento de fibrina se administre en forma líquida al sitio de aplicación, en el que la polimerización de los monómeros de fibrina y el posterior entrecruzamiento producirá el adhesivo de tejido deseado de una forma oportuna.

La invención se refiere a un aparato o dispositivo para poner juntos los componentes del pegamento de fibrina para la activación y administración. La invención está adaptada particularmente para proporcionar un procedimiento para administrar pegamento de fibrina desde un aparato o dispositivo como es una única jeringa. Un sistema de administración de una sola jeringa se puede usar más convenientemente que los sistemas de doble jeringa voluminosos para aplicar pegamento de fibrina a los sitios de la herida.

Breve descripción de las figuras

Figura 1 Ilustra el paso de fibrinógeno sobre la trombina covalentemente unida a la matriz.

Figura 2 Ilustra un procedimiento similar al de la Figura 1 excepto que la trombina está inmovilizada no covalentemente en la matriz permitiendo por ello al menos que algo de la trombina se libere para fluir a través de la matriz con las moléculas de fibrinógeno.

Figura 3 Ilustra un dispositivo de tipo jeringa descubierto, útil al emplear los procedimientos de esta revelación.

Formas de realización específicas

Materiales y procedimientos

Materiales

Se compraron trombina y fibrinógeno humanos de Enzyme Research Labs (South Bend, IN). Se compró la resina de intercambio catiónico SP-Sepharosa® Fast Flow® de Pharmacia (Piscataway, NJ). Se obtuvieron columnas de Polyprep® y nitrocelulosa de Bio-Rad (Hercules, CA). Se obtuvieron filtros de extremo de jeringa de acetato de celulosa libre de tensioactivo (SFCA), 25 mm, 0,2 μ m de Nalgene® (Rochester, NY). Se compraron jeringas de tuberculina de Becton Dickenson (Franklin Lakes, NJ). Se compraron cartuchos de membrana de Glutaraldehído (GTA) Acti-Disk® 50 de Whatman (Hillsboro, OR). Todos los demás compuestos químicos eran de calidad reactiva o mejores.

Procedimientos generales

Inmovilización covalente de trombina en una membrana activada con glutaraldehído

Se preparó un cartucho de membrana de GTA de 50 mm para la unión covalente de α -trombina. La membrana se lavó con agua y se equilibró con citrato de sodio 10 mM pH 7,2. Se usó una bomba peristáltica para recircular 53418 Unidades (1709 Unidades/ml; 560 μ g/ml) de α -trombina en citrato de sodio 25 mM, NaCl 100 mM, PEG 0,05%, pH 6,5 a través del cartucho de GTA a 1,8 ml/min durante 1,5 h a temperatura ambiente. Como se determinó mediante A₂₈₀ antes y después del entrecruzamiento y el lavado, el 64% de la α -trombina aplicada se entrecruzó

covalentemente en la membrana. Esto representa 11,2 mg de trombina con una actividad de 34,187 Unidades (asumiendo el 100% de actividad). Los sitios de unión de la membrana se bloquearon con Tris 1 M pH 7,8 seguido de etanolamina 1 M pH 7,8. Ambos se recircularon durante 1 h a 1,8 ml/min a temperatura ambiente.

Adsorción de trombina en la resina de intercambio catiónico de SP-Sepharosa® Fast Flow®

Se adsorbió α -trombina (3055 unidades) en 5 ml de resina de cromatografía de intercambio iónico, SP-Sepharosa® Fast Flow®, en un formato de columna. La resina se equilibró con 10 ml de fosfato de sodio 50 mM pH 7,8 antes de la adsorción de la trombina. La α -trombina se añadió a la resina en una columna de Polyprep® de 10 ml y se dejó que se uniera durante 10 min a temperatura ambiente. La resina se lavó con 10 volúmenes de columna de fosfato de sodio 50 mM pH 7,8.

Adsorción de trombina en nitrocelulosa

Un disco circular de 25 mm de nitrocelulosa (Bio-Rad) se colocó en una solución de 411 μ g de α -trombina (Enzyme Research Labs), equivalente a 1256 Unidades, y se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. La nitrocelulosa se lavó 3 veces, 2 min cada, en 200 ml de PBS (fosfato de sodio 100 mM, NaCl 150 mM pH 7,4) a temperatura ambiente para eliminar la trombina no unida.

Descripción detallada de las figuras

Los Principios de esta revelación se pueden entender mediante referencia a las Figuras. La Figura 1 ilustra de un modo muy general como las moléculas de fibrinógeno 22a en una solución acuosa que preferentemente también incluye moléculas de FXIII fluyen a través o entran en contacto con una matriz de inmovilización 27 que incluye moléculas de trombina unidas covalentemente en una forma biológicamente activa (capaz de escindir los fibrinopéptidos de las moléculas de fibrinógeno 22a). Después del paso a través o del contacto con la trombina unida a la matriz de inmovilización 27, los fibrinopéptidos se escinden del fibrinógeno 22 a, dando como resultado moléculas de fibrina polimerizables. El FXIII activado (FXIIIa) introduce entonces entrecruzamientos en la fibrina polimerizante.

La Figura 2 ilustra el mismo flujo general que la Figura 1 excepto que la trombina se adsorbe en los materiales del soporte insolubles en agua que forman la matriz. Esta unión más floja permite que al menos algunas de las moléculas de trombina se transporten con las moléculas de fibrina para la posterior activación del FXIII (si está presente).

La Figura 3 ilustra un dispositivo de tipo jeringa que se usó para demostrar los principios de esta revelación. La Figura 3 comprende una jeringa de un solo depósito 11 formada por un cuerpo de jeringa 17 y émbolo de jeringa 13 que tiene una placa para presionar con el pulgar 15 y una cabeza de émbolo 19 posicionada por encima de la cámara de líquido 21 que incluye una solución de fibrinógeno 22. La jeringa 11 termina en su final inferior en un puerto de salida 23 que es conectable (por ejemplo mediante una conexión de fricción asegurable o de tipo LuerLock®, no mostrado) a un cartucho 25 con un puerto de entrada 31 (no mostrado), un puerto de salida 33, y una pantalla de retención 29. Dentro del cartucho 25 está la matriz y la trombina inmovilizada como se ilustra en las Figuras 1 y 2. Se puede apreciar que la trombina

inmovilizada retenida dentro del cartucho 25 puede estar en una variedad de soportes bien conocidos como son gotas de resina, partículas de cristal poroso, discos adaptados para la inmovilización de proteínas, partículas o discos de nitrocelulosa, etc. Los principales requisitos son que la solución de fibrinógeno 22 sea capaz de fluir a través del cartucho 25 mientras la cabeza del émbolo 19 empuja la solución de fibrinógeno 21 fuera de la jeringa 11 cuando se aplica la presión del pulgar a la placa del pulgar 15 y el flujo a través debería ser bajo condiciones que permitan el contacto fácil del fibrinógeno con la trombina inmovilizada.

En un ejemplo de funcionamiento que demuestra los principios de la invención, se usó un cartucho disponible comercialmente Acti-Disk® y se inmovilizó la trombina en el sistema de cartucho existente. En otros dos ejemplos, se introdujo la matriz de trombina inmovilizada en un cartucho de filtros comercial. El principal requisito para el cartucho 25 es que sea fijable al extremo de administración de una jeringa y sea capaz de retener el material de soporte inmovilizado para la trombina inmovilizada cuando la solución de fibrinógeno 22 pase a su través. Una vez más, la trombina puede ser inmovilizada por enlaces covalentes o no covalentes como se ilustra en las Figuras 1 y 2 y en los ejemplos a continuación.

La alfa-trombina se formula como una preparación estable, inmovilizada unida a una matriz sólida adecuada. En una forma de realización de la invención, la trombina inmovilizada está contenida en un cartucho compacto, reemplazable que se puede fijar con seguridad al extremo LuerLock® de una jeringa estándar. El fibrinógeno se formula y se suministra como una solución estable, preferentemente en una jeringa con un extremo LuerLock® y puede congelarse para asegurar la estabilidad. En el momento del uso, la solución de fibrinógeno se calienta a temperatura ambiente en su jeringa, un cartucho de α -trombina inmovilizada se fija al extremo de salida de la jeringa, y la solución de fibrinógeno se extruye del depósito de la jeringa a través del cartucho que contiene α -trombina para la administración de pegamento de fibrina a un sitio de herida. Si el uso discontinuo de un cartucho que contiene α -trombina da como resultado la obstrucción del puerto de salida con coágulo de fibrina, el cartucho bloqueado puede simplemente sustituirse por un cartucho nuevo para permitir la continuación de la aplicación de pegamento de fibrina usando la solución de fibrinógeno residual contenida en el depósito de la jeringa. Este diseño minimiza el tiempo de preparación de la jeringa de pegamento de fibrina, permite la administración de pegamento de fibrina desde una única jeringa, proporcionando así los usos (por ejemplo cirujano) con un aplicador de jeringa compacto de tamaño y aire familiar. Como ventaja adicional, este diseño único de producto, no requerirá la formulación concomitante con inhibidores de proteasa como es la aprotinina.

La proteasa α -trombina usada para activar el fibrinógeno y el factor XIII se puede inmovilizar o bien covalentemente o no covalentemente en un soporte sólido adecuado o puede estar en forma de CLEC® (Cristales de Enzima Entrecruzados) que están contenidos dentro de una cámara permeable. Se cree que la proteasa se podría inmovilizar covalentemente en soportes sólidos de una variedad de configuraciones (por ejemplo gotas, membranas, filtros, etc) y compo-

siciones (por ejemplo cristal, nitrocelulosa u otro material celulósico, poliestireno, polipropileno, metacrilato polihidroxilado, agarosa entrecruzada, dextrano, etc) mientras que se conserva la actividad biológica sustancial. Cuando la proteasa se inmoviliza covalentemente, será retenida completamente en su soporte sólido, insoluble en agua y no se extruirá al sitio de la herida cuando se aplica el pegamento de fibrina.

La proteasa activadora se puede también inmovilizar no covalentemente en un soporte sólido de acuerdo con fuerzas atractivas químicas o físicas entre la proteasa y su soporte. Estas fuerzas atractivas pueden ser de la naturaleza de estructuras moleculares complementarias (por ejemplo interacciones anticuerpo-antígeno, unión a ión metálica, unión de carbohidrato a resina de boronato o a una lectina inmovilizada, u otras formas de cromatografía de afinidad) o de adsorción basada en las propiedades físicas de superficie (por ejemplo hidrofobicidad, carga, unión a hidrógeno, etc.)

En caso de unión no covalente de la proteasa a su soporte, se pueden crear condiciones por las que la proteasa se retenga unida a su soporte o se libere parcialmente o totalmente durante el paso de la solución de fibrinógeno sobre la proteasa unida al soporte. Para algunas aplicaciones, puede ser preferible permitir la coextrusión de la proteasa y la fibrina/fibrinógeno desde el extremo del cartucho al sitio de la herida para optimizar la calidad del sellado resultante.

De hecho, la forma de realización ideal de esta invención puede incluir una combinación de proteasa activadora inmovilizada covalentemente y no covalentemente. Sin tener en cuenta si la proteasa activadora está unida covalentemente o no covalentemente a su soporte sólido, la tasa de activación del paso de fibrinógeno a fibrina se puede regular variando la cantidad de sitios catalíticos enzimáticos biológicamente activos presentes en el soporte.

Ejemplo 1

Escisión de fibrinógeno soluble en fibrina mediante trombina inmovilizada covalentemente

Se preparó un cartucho Acti-Disk® que contenía trombina inmovilizada (conjugada) como se describe anteriormente. La membrana se lavó después con agua durante 10 min, 2,5 ml/min, a temperatura ambiente y se equilibró con fosfato de sodio 20 mM pH 7,8. Como control negativo, se mezclaron 200 μ l de esta solución de equilibrado con 300 μ l de fibrinógeno de 10 mg/ml. No se observó coagulación.

Se hizo fluir una solución de 10 mg/ml de fibrinógeno en fosfato de sodio 20 mM, NaCl 150 mM, pH 7,8 a través del cartucho Acti-Disk® a 700 μ l/min. El material de salida se recogió. Se pasaron aproximadamente 3 ml de solución a través del cartucho (recogidos como fracciones de 2 ml y 1 ml). Ambas fracciones se coagularon en 2 min. Estos experimentos indican que el fibrinógeno se está escindiendo en fibrina mientras pasa a través de la membrana a la que está unida covalentemente la trombina, dando como resultado la polimerización de la fibrina, externa al cartucho de la membrana.

Ejemplo 2

Escisión de fibrinógeno soluble en fibrina mediante trombina adsorbida a resina de intercambio catiónico SP-Sepharosa® Fast Flow®

La trombina se inmovilizó en SP Sepharosa® como se describe (véase Materiales y Procedimientos). La resina con la trombina adsorbida (100 μ l) se pipeteó

en un filtro de extremo de jeringa SFCA 0, 2 μm seguido por 100 μl de fosfato de sodio 50 mM pH 7,8. Una muestra de 1 ml de fibrinógeno de 10 mg/ml en fosfato de sodio 100 mM, pH 7,8 se cargó en una jeringa de tuberculina de 1 cc. La fuerza iónica de la solución de fibrinógeno fue tal que cuando la solución entró en contacto con la resina catiónica, se eluyó la trombina.

Cuando el fibrinógeno se hizo fluir a través de la resina con la trombina adsorbida, el material que salía de la jeringa y del cartucho del filtro contenía una mezcla de fibrinógeno/fibrina y trombina que dio como resultado la formación de un coágulo de fibrina en aproximadamente 30 segundos. Una resina control negativo sin trombina adsorbida mostró la no-capacidad para coagular la solución de fibrinógeno bajo las mismas condiciones experimentales. El paso de una solución de fibrinógeno más diluida (1 mg/ml) a través de una segunda alícuota de resina catiónica con trombina adsorbida dio como resultado un tiempo de coagulación de 45 segundos y un coágulo que parecía ser más débil. Una disminución en la cantidad de resina catiónica con trombina adsorbida (10 μl) cargada en el cartucho de filtro del extremo de la jeringa, dio como resultado un tiempo de coagulación de 1 min cuando se hizo fluir a través una solución de fibrinógeno de 10 mg/ml en condiciones de la misma fuerza iónica que anteriormente.

Estos experimentos ilustran que la trombina, cuando se adsorbe no covalentemente a una resina de intercambio catiónico, puede escindir el fibrinógeno, dando como resultado un pegamento de fibrina o la formación de coágulos. Además, la fuerza y el tiempo de formación de los coágulos se puede variar cambiando las cantidades de fibrinógeno y/o trombina. Las propiedades de coagulación variadas pueden ser útiles para diferentes aplicaciones.

Ejemplo 3

Escisión de fibrinógeno soluble en fibrina mediante trombina inmovilizada en nitrocelulosa

Se preparó una membrana de nitrocelulosa con trombina inmovilizada en su superficie como se describe anteriormente. La nitrocelulosa se montó dentro de un cartucho de filtro desechable de 25 mm, que se había abierto con un corte, y sellado con película de laboratorio ParafilmTM. Para probar si la trombina estaba siendo retirada mediante lavado de la membrana, se pasó 1 ml de agua a través del cartucho y se recogió en 500 μl de fibrinógeno de 20 mg/ml. El material que salía del cartucho coaguló el fibrinógeno en 5 segundos. Lo anterior se repitió con cuatro alícuotas más de 1 ml de agua, dando como resultado los tiempos de coagulación respectivos de 20 s, 45 s, 2 min y 5 min.

Se pasó después una de 1 ml de solución de fibri-

nógeno de 10 mg/ml (citrato de sodio 5 mM, CaCl_2 2,5 mM, pH 7,8) a través del cartucho y se recogió como 14 fracciones separadas (una gota/fracción). Las primeras tres fracciones no coagularon; probablemente contenían poco fibrinógeno debido al volumen de agua retenido en el cartucho. La fracción n° 4 contenía una coagulación parcial o débil probablemente debido a la concentración de fibrinógeno disminuida como resultado de la dilución por el agua del volumen retenido. Las fracciones 5 hasta la 14 parecían tener la formación de coágulo fuerte después de 1,5 min igualmente.

El experimento anterior se repitió sin lavar la nitrocelulosa en PBS pero en lugar de ello pasando 5 ml de agua a través del cartucho que contenía la nitrocelulosa. Una vez más, se pasó 1 ml de solución de fibrinógeno de 10 mg/ml a través del cartucho, lo que dio como resultado la formación de coágulo en 18 s. Estos experimentos indican que la trombina adsorbida en la nitrocelulosa puede escindir el fibrinógeno en fibrina dando como resultado la formación de coágulos.

Discusión

El fibrinógeno debe escindirse proteolíticamente en monómero de fibrina, cuya polimerización espontánea conduce a la fibrina (pegamento). La estabilidad y fuerza del pegamento de fibrina resultante se potencian mediante el entrecruzamiento de las cadenas de fibrina catalizado por el factor activado XIII (conocido como factor XIIIa). Estos ejemplos muestran diferentes medios por los que tanto el fibrinógeno como el factor XIII pueden escindirse, y activarse consecuentemente, mediante α -trombina cuando se exponen transitoriamente a la proteasa inmovilizada mientras se extruden desde una jeringa. Se pueden usar medios equivalentes para lograr resultados esencialmente similares.

Se cree que las invenciones reveladas aquí, tendrían aplicación en otros sistemas en los que se podría usar un sistema de enzima inmovilizada para catalizar otras reacciones terapéuticas útiles. Por ejemplo, la administración de plasmina para la trombolisis, o la administración de factores de coagulación activados (por ejemplo, factores IIa, VIIa, VIIIa, Ixa, Xa, Xia, XIIa, XIIIa) para la hemostasis, o la administración de proteína C activada para la anticoagulación, podrían beneficiarse de la aplicación de esta invención.

Los ejemplos anteriores pretenden ilustrar la invención y se cree que los expertos en la materia podrán pensar en variaciones de la misma. En consecuencia, se pretende que el alcance de la invención deba estar limitado solo por las reivindicaciones siguientes.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo para aplicar una solución activada de fibrina polimerizable a partir de un puerto de salida (33) en un sitio deseado, comprendiendo el dispositivo:

a) una jeringa con un depósito (11), teniendo el depósito un compartimento (21) para una solución de fibrinógeno (22) y una punta (23) conectada al compartimento,

b) un cartucho (25) con un puerto de entrada (31), el puerto de salida, y un recinto intermedio, definiendo el recinto un espacio interior confluyente con el puerto de entrada y el puerto de salida, siendo el puerto de entrada fijable a la punta del depósito, y

c) un soporte insoluble en agua con trombina inmovilizada en el soporte, estando contenido el soporte en el espacio interior del bastidor del cartucho.

2. El dispositivo de la reivindicación 1, en el que la solución de fibrinógeno comprende adicionalmente el factor XIII.

3. El dispositivo de la reivindicación 1, en el que la trombina se inmoviliza uniéndose al soporte insoluble en agua mediante una combinación de enlaces covalentes e interacciones no covalentes.

4. El dispositivo de la reivindicación 1, en el que la trombina se inmoviliza uniéndose covalentemente al soporte insoluble en agua.

5. El dispositivo de la reivindicación 1, en el que la trombina se inmoviliza uniéndose no covalentemente al soporte insoluble en agua.

6. El dispositivo de una de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el soporte insoluble en agua comprende un material seleccionado del grupo formado por cristal, material celulósico, poliestireno, polipropileno, metacrilato polihidroxilado, agarosa entrecruzada, y dextrano.

7. Un dispositivo que comprende un cartucho (25) que tiene un puerto de entrada (31), un puerto de salida (33), y un recinto intermedio, definiendo el recinto un espacio interior confluyente con el puerto de entrada y el puerto de salida, estando el dispositivo **caracterizado** por ser el puerto de entrada fijable a una jeringa y conteniendo el espacio interior del recinto un soporte insoluble en agua sobre el que se inmoviliza trombina biológicamente activa.

8. El dispositivo de la reivindicación 7, en el que la trombina se inmoviliza en el soporte mediante la combinación de uniones covalentes y no covalentes.

9. El dispositivo de la reivindicación 7, en el que la trombina se inmoviliza uniéndose covalentemente al soporte insoluble en agua.

10. El dispositivo de la reivindicación 7, en el que la trombina se inmoviliza uniéndose no covalentemente al soporte insoluble en agua.

30

35

40

45

50

55

60

65

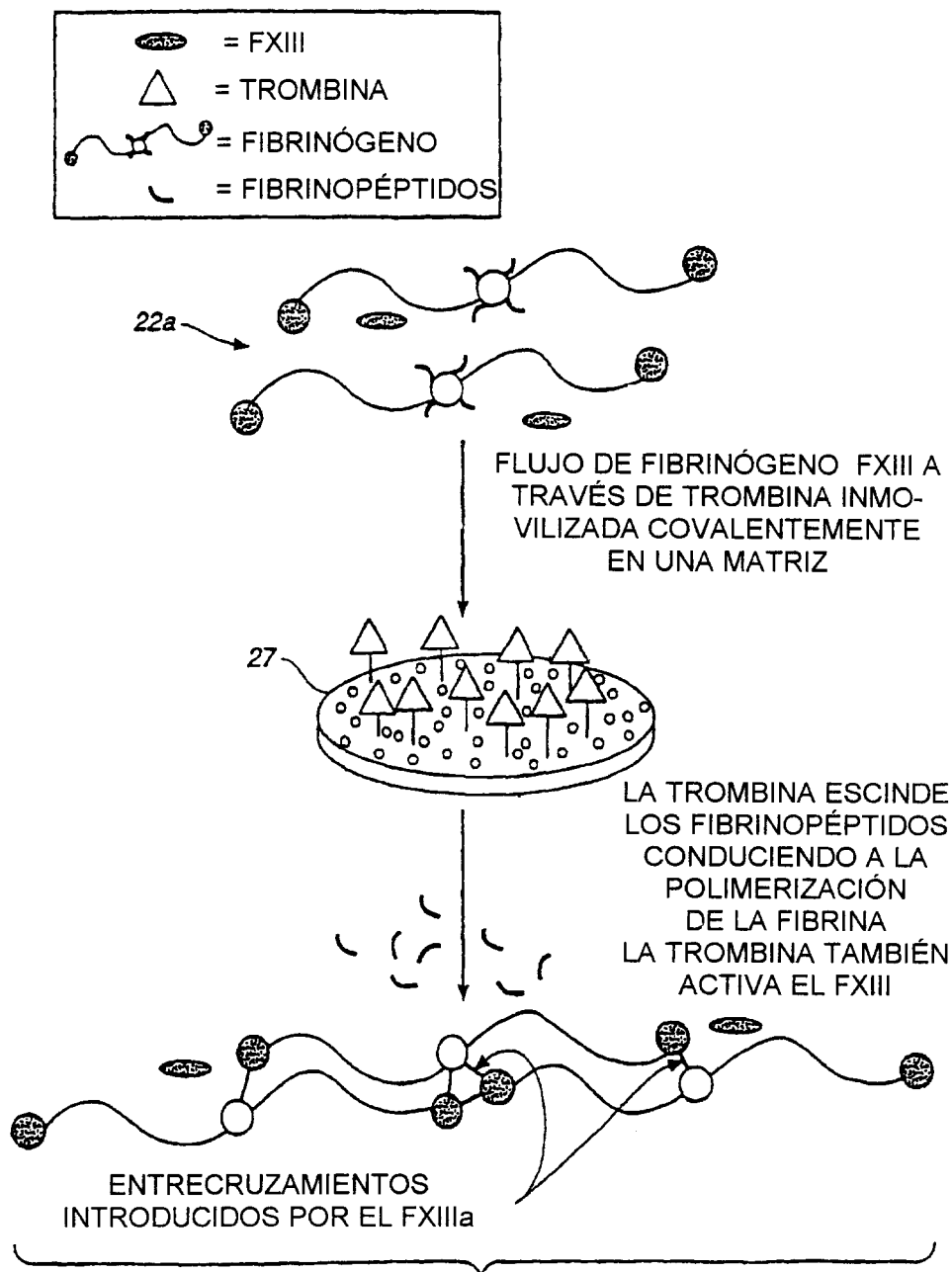


FIG. 1

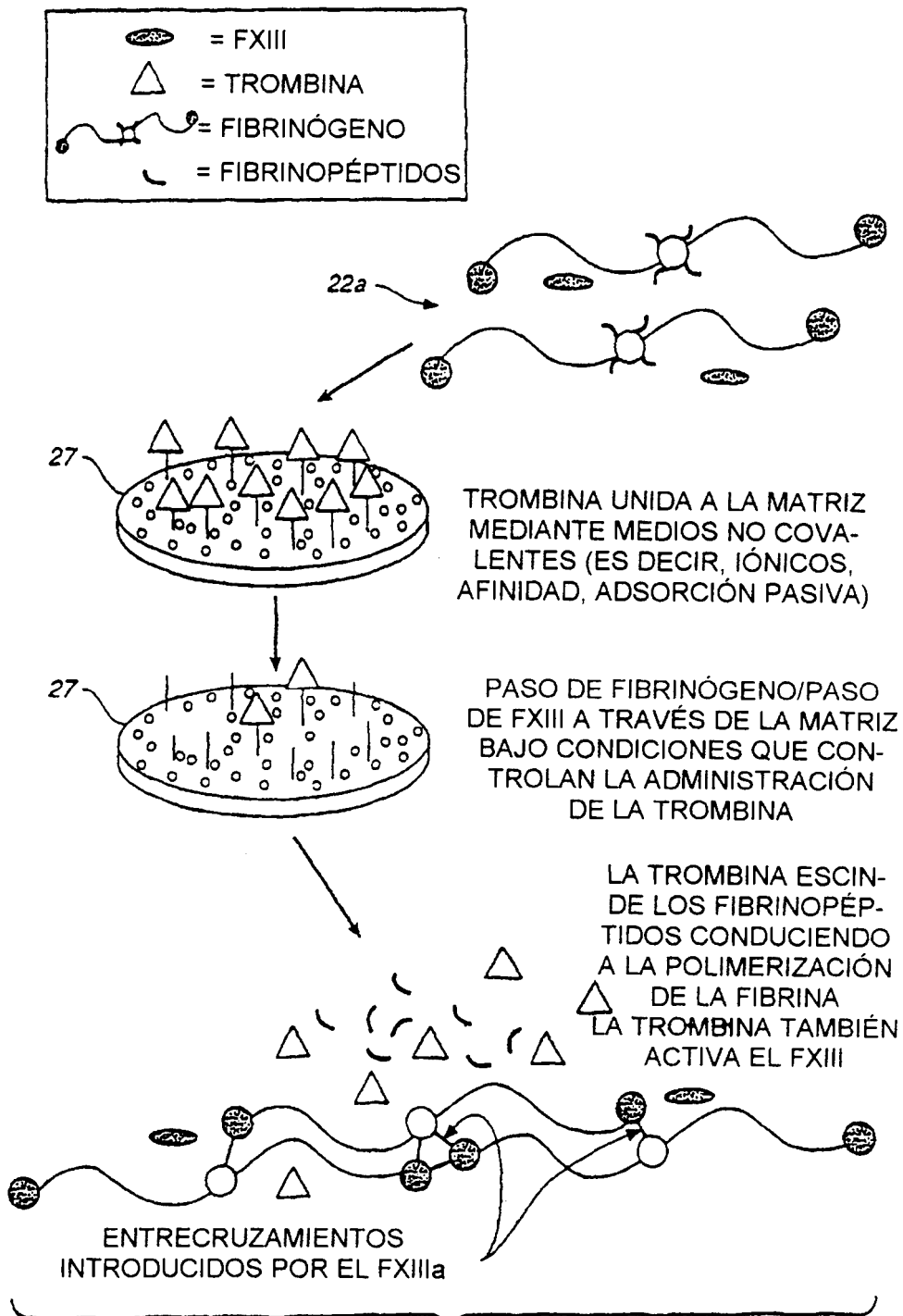


FIG. 2

