

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Dirección de Nuevas Creaciones

E. S. D.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-105992- -00007-0000

Fecha: 2012-11-02 15:35:06 Dep. 2020 DIR NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 264 265

Expediente: 08-105992

Titular: GEETA SHROFF

Asunto: CONTESTACIÓN A REQUERIMIENTO.

MAURICIO PATIÑO BONNET, mayor de edad, vecino de esta ciudad, identificado como aparece al pie de mi firma, portador de la tarjeta profesional número 73.583 del Consejo Superior de la Judicatura, en mi calidad de apoderado de **GEETA SHROFF**, por medio del presente memorial acudo a la Dirección de Nuevas Creaciones de la Superintendencia de Industria y Comercio con el fin de **DAR RESPUESTA** al Oficio No. 11229, de acuerdo como sigue:

EXCEPCIÓN DE PATENTABILIDAD

Con el fin de superar las objeciones que por excepción de patentabilidad planteó su Despacho, presento nuevo pliego reivindicatorio compuesto por sesenta (60) reivindicaciones, en el cual se han eliminado las reivindicaciones 61 a 116 relacionadas con métodos de tratamiento. Adicionalmente, presento nuevo pliego descriptivo en el cual se han corregido los siguientes términos: trasplante, xenotrasplante, trasplantar, trasplantado, trasplantarse, trasplantados, trasplantación y trasplantables.

NO ES UNA INVENCION

La Dirección considera que las reivindicaciones 1 – 60 no son invenciones en virtud del literal (b) del artículo 15 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el cual establece lo siguiente:

"Artículo 15. No se consideran invenciones:

[...]

b) *El todo o parte de los seres vivos **tal como se encuentran en la naturaleza**, los procesos biológicos **naturales**, el material biológico existente en la naturaleza o aquel que pueda ser aislado, inclusive genoma o germoplasma de cualquier ser vivo natural"* (Negrita fuera del texto original).

Las reivindicaciones 1 - 60 pretenden obtener protección sobre dos tipos de desarrollos. En primer lugar, se reivindica una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de células madre embrionarias (hES) y/o sus derivados, en donde las células madre embrionarias humanas están libres de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales complementarios, suplementos de aminoácidos, suplementos vitamínicos, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y medios acondicionados, en donde las células hES y/o sus derivados son suspendidas en una solución salina biocompatible que puede incluir agentes antimicrobianos, agente antibacterianos y agentes farmacéuticos. En segundo lugar, se reivindica un método para aislar células hES, un método para expandir células hES y/o sus derivados, un método para diferenciar parcialmente células hES y/o sus derivados, y un método para elaborar una preparación lista para usarse de células hES y/o sus derivados.

Teniendo en cuenta el breve resumen de las reivindicaciones, consideramos que la norma citada por la Dirección fue erróneamente aplicada por cuanto los desarrollos reivindicados por mi mandante no pretende consolidar derechos exclusivos sobre partes de seres vivos *tal como se encuentran en la naturaleza* o procesos biológicos *naturales*, por lo que debe ser considerados como **invenciones**.

En efecto, la solicitud de mi representada reivindica una **composición farmacéutica** caracterizada porque comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de **células hES y/o sus derivados suspendidas**

en una solución biocompatible con agentes antimicrobianos, agente antibacterianos y agentes farmacéuticos. En ese sentido, se está reivindicando la composición farmacéutica entendida como una unidad indivisible, sin pretender derechos exclusivos sobre los elementos que la conforman aisladamente considerados. Al respecto, cabe mencionar lo establecido en el Instructivo de Exámenes de Solicitud de Patentes de Invención y Modelos de Utilidad (en adelante Instructivo):

"[...] los nuevos productos farmacéuticos y alimenticios que sean obtenidos a partir de materia que se encuentra en la naturaleza, no están excluidos de patentabilidad, por que no se reivindica la materia tal como se encontraba en su estado natural"¹.

En la medida en que no se reivindican las células hES en su estado natural, sino que se reivindica una composición farmacéutica que contiene entre otros, células hEs y/o sus derivados, no es factible concluir que se pretenden derechos exclusivos sobre una parte de seres vivos tal como se encuentra en la naturaleza. Así las cosas, la patentabilidad de la composición farmacéutica reivindicada es admisible.

Por otro lado, es preciso tener en cuenta que el término *proceso biológico natural* incluido en el literal (b) del artículo 15 de la Decisión 486 hace referencia a **"cualquier proceso biológico que se dé espontáneamente en la naturaleza y en el que la invención humana no afecte al resultado final"**². De esto se infiere que no son patentables los procesos que se desarrollen sin injerencia del intelecto humano.

Partiendo de la citada definición, se hace evidente que en el presente caso hay injerencia directa de la invención humana en los métodos reivindicados. Esto se debe a que no es dable que una célula hES se aísle espontáneamente del organismo en el que debe realizar el proceso de división celular o se expanda por fuera de éste; así como tampoco es factible que una célula hES se diferencie en un ambiente neutro sin haber recibido ningún tipo de información por parte del organismo para adquirir la morfología de un tipo celular

¹ Instructivo de de Exámenes de Solicitud de Patentes de Invención y Modelos de Utilidad. Superintendencia de Industria y Comercio. Colombia, 2012. Página 32

² Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina. Proceso 21 – IP – 2000.

específico. En efecto, estos métodos reivindicados requieren de la participación activa de personas que tengan un amplio conocimiento en la materia para lograr llevarlos a cabo.

No sobra aclarar que cualquier persona del oficio normalmente versada en la materia sabría que los métodos de la presente invención pueden ser practicados sin destruir un embrión humano. Así, las células hES utilizadas en la presente invención pueden ser células obtenidas de una línea celular depositada tal como WiCell o ATCC. En efecto, la descripción de la presente invención establece que *"las células hES y sus derivados pueden obtenerse a través de cualquier metodología de cultivo de células conocida y aprobada, la cual está libre de células alimentadoras, y libre de contaminación de cualquier fuente y segura para trasplante a humanos"* (ver página 15). Así, una persona versada en la materia técnica, apreciaría que el cultivo de células es un proceso con un alto grado de injerencia del intelecto humano que envuelve múltiples fases, tales como la obtención de células, expansión, mantenimiento, almacenamiento, subcultivo o introducción de diferenciación.

En concordancia con lo anterior, las células hES y/o sus derivados pueden ser obtenidas a través de diferentes fuentes tales como aislamiento directo de embriones, obtenidas de un banco de células o a través de la solicitud directa a un laboratorio que haya reportado el establecido de una línea celular novedosa en una publicación revisada por pares.

Aunado a lo anterior, las células hES pueden ser obtenidas de partenotes humanas producidas mediante la activación de un oocito no fertilizado, por lo que se empieza a dividir y formar un blastocito como si se fertilizara³. Los partenotes, como es bien sabido, sólo pueden sobrevivir un número limitado de ciclos de división y no son capaces de desarrollarse a largo plazo por la falta de la impronta paterna⁴. Así mismo, no desarrollan un trofotodermo ni tejido endodermo-extra-embriionario primitivo, por lo cual se asemejan a los

³ Ver: Mai, Q et al. (2007) *Derivation of Human Embryonic Stem Cells Lines from Parthenogenetic Blastocysts*. CELL RES. 17, 1008-1019. Revazova, E.S. et al. (2007) *Patient-specific Stem Cell Lines Derived from Human Parthenogenetic Blastocysts*. CLONING STEM CELLS 9, 432-449; Revazova, E.S. et al. (2008) *HLA Homozygous Stem Cells Lines Derived from Human Parthenogenetic Blastocysts*. CLONING STEM CELLS 10, 11-224.

⁴ Vrana, K.E. et al (2003) *Nonhuman Primate Parthenogenetic Stem Cell*. PROC. NATL. ACAD. SCI. USA. 100 (Suppl- 1), 11911-1111916.

teratomas ováricos más que a embriones normales. Por lo tanto, los partenotes pueden usarse para derivar líneas de células hES pero no tienen el potencial de desarrollarse en un embrión humano y mucho menos tener un desarrollo fetal.

Adicionalmente, y teniendo en cuenta que la presente invención reivindica una composición que incluye **derivados de las células hES** definidas en el texto de la patente como "*células madre multipotentes, células madre pluripotentes, células madre adultas y células madre específicas de tejido*" (ver página 41), es importante poner de presente que estas células, embrionarias de origen, permanecen en el tejido de un individuo humano adulto y pueden ser recuperadas subsecuentemente sin requerir la destrucción de un embrión humano. Llamo la atención del señor examinador a algunas patentes otorgadas en Estado Unidos que enseñan la producción de células madre a partir de diferentes tipos de tejido humano, como el tejido adiposo⁵, mamario⁶ o del hígado⁷.

Cabe mencionar la reciente decisión emitida por el Tribunal Europeo de Justicia, en el caso Brüstle vs. Greenpeace, en donde se establece que los desarrollos que involucren la extracción de células madre son **invenciones susceptibles de ser patentadas** siempre y cuando cumplan con los requisitos de patentabilidad (novedad, nivel inventivo y aplicación industrial) y no impliquen la destrucción del embrión⁸. Esta posición fue adoptada en la última versión de la Directriz para el Examen de la Oficina Europea de Patentes del 20 de junio de 2012. La Directriz establece específicamente que la composición o el método que implique la manipulación de células hES es una **invención patentable** si la obtención de las células no involucra la destrucción del embrión, y por su puesto si cumple con el resto de los requisitos exigidos para su patentabilidad⁹.

En el presente caso, ha quedado absolutamente claro que (i) mi representada está reivindicando una composición no existente en la naturaleza, y por lo

⁵ US 6,777,231.

⁶ US 5,814,551

⁷ US 6,129,911

⁸ Tribunal Europeo de Justicia. Sentencia del 18 de octubre de 2011. Asunto C-34/10.

⁹ Directriz para el Examen de la Oficina Europea de Patentes. 20 de junio de 2012. Recuperado de <http://www.epo.org/law-practice/legal-texts/guidelines.html>

tanto una invención, que comprende células hES y/o sus derivados con agentes antimicrobianos, agente antibacterianos y agentes farmacéuticos y (ii) las células hES y sus derivados se obtienen mediante procedimientos que no ocasionan la destrucción del embrión. Por lo tanto, la patentabilidad de la composición y los métodos reivindicados es admisible.

Con base en los anteriores argumentos, respetuosamente solicito a la Dirección evalúe la patentabilidad de las nuevas reivindicaciones 1 – 60. Para estos efectos, atentamente insto al Despacho a acogerse a los principios de la hermenéutica jurídica al momento de realizar la interpretación del literal (b) del artículo 15 de la Decisión 486. El Código Civil señala los principios que se deben seguir al momento de interpretar cualquier norma del ordenamiento jurídico para determinar su aplicación al caso concreto.

En efecto, el inciso primero del artículo 27 del Código Civil establece lo siguiente:

"Cuando el sentido de la ley sea claro, no se desatenderá su tenor literal a pretexto de consultar su espíritu".

Por su parte, el artículo 31 del Código Civil reza de la siguiente manera:

"Lo favorable u odioso de una disposición no se tomará en cuenta para ampliar o restringir su interpretación. La extensión que deba darse a toda ley se determinará por su genuino sentido, y según las reglas de interpretación precedentes".

Toda vez que el literal (b) del artículo 15 de la Decisión 486, es claro al no considerar invenciones a **"El todo o parte de los seres vivos tal como se encuentran en la naturaleza, los procesos biológicos naturales"**, al momento de aplicar esta norma no es factible realizar una interpretación extensiva de la misma para incluir supuestos facticos adicionales que su tenor literal no contempla. Por el contrario, el examinador debe acoger plenamente su sentido genuino, respecto de no considerar invenciones a los seres vivos existentes en la naturaleza y los procesos biológicos naturales a los que se refiere.

En el presente caso no se pretende reivindicar partes de seres vivos en su estado natural ni proceso biológicos naturales. Por lo tanto, no le es dable a la Dirección realizar una interpretación extensiva de la norma citada faltando a su tenor literal, para abarcar dentro de su ámbito composiciones que si bien son conformadas por un elemento de la naturaleza, no existente en la naturaleza como tal. De igual forma, no le asiste razón al realizar una interpretación contraria al tenor literal de la norma citada para hacerla extensiva a métodos que si bien comprenden material biológico, éstos no son realizados de manera espontánea en la naturaleza sino que requieren la injerencia directa de la invención humana para su desarrollo.

NOVEDAD

El Despacho considera que el método para aislar células madre embrionarias humanas a partir de un embrión humano por métodos químicos o mecánicos es conocido en el estado de la técnica en **D1** (*Wang, W.-H., et al., Human Reproduction 20:2987-2989 (2005)*) o **D2** (*Solicitud Internacional No. WO 02/18549*).

Establece el artículo 16:

"Artículo 16. Una invención se considerará nueva cuando no está comprendida en el estado de la técnica [...]".

Respetuosamente pongo de presente que el examinador incurre en un error argumentativo que por demás sustenta el hecho de que la presente solicitud corresponde a una invención.

En efecto, si bien la Dirección sostiene que la solicitud de mi representada se encuentra incurso en el literal (b) del artículo 15 y que por lo tanto no es una invención, hace posteriormente un estudio de novedad, el cual sólo recae sobre aquellas solicitudes cuyo objeto de protección es considerado como invención. Con lo anterior se está reconociendo que la presente solicitud cumple todos los requisitos necesarios para ser estudiada de fondo por no estar incurso en ninguna causal de irregistrabilidad y/o excepción.

Es importante entender que si el objeto de protección no fuera una invención conforme a lo previsto en el artículo 15, no sería necesario entrar a determinar su novedad. De hacerse el estudio de novedad, se presume que existe un reconocimiento del objeto de protección como invención.

En efecto, ese ha sido el entendido y el procedimiento a seguir en la protección de la propiedad industrial en general, y así ha sido interpretado por la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual, en su Manual para el Examen de Solicitudes de Patentes de Invención en las Oficinas de Propiedad Industrial de los Países de la Comunidad Andina, el cual sostiene los siguiente:

*"El examen de fondo de una solicitud de patente de invención se fundamenta en la verificación del cumplimiento de los criterios legalmente establecidos en el Art. 14, a saber: novedad (Art. 16 y 21), nivel inventivo (Art. 18), y aplicación industrial (Art. 19). **El examen se inicia determinando si las reivindicaciones contienen o no materia que no pueda ser patentada ya sea porque se consideran no invenciones o porque siendo invenciones se encuentran excluidas por la Decisión (Art. 15 y 20).** En este sentido, las materias señaladas por dichos artículos deberán ser eliminadas de las reivindicaciones"*¹⁰ (Negrita fuera del texto original).

En este mismo sentido, el Instructivo, en el Capítulo II Examen de Fondo, establece que el examinador debe verificar si la materia objeto de protección se encuentra incurso dentro de las exclusiones y excepciones de patentabilidad, previo análisis de claridad, unidad de invención, novedad, nivel inventivo y aplicación industrial.

Así las cosas, sólo se entra al examen de fondo de una patente, esto es, a determinar su novedad, cuando se da por hecho que la materia objeto de protección no está incurso en los artículos 15 y 20, y que por lo tanto se puede entender que es una invención y no está excluida de patentabilidad. De lo contrario, no habría lugar a tal estudio.

¹⁰ Organización Mundial de la Propiedad Intelectual, Secretaría General de la Comunidad Andina y Oficina Europea de Patentes. Manual para el Examen de Solicitudes de Patentes de Invención en las Oficinas de Propiedad Industrial de los Países de la Comunidad Andina. Ediciones ABYA-YALA. Ecuador, 2004. Página 45.

Con relación a la novedad, el Instructivo, establece:

"El examinador debe evaluar si la invención es nueva o no, de la siguiente manera:

- *Definir cuáles son las características técnicas esenciales de la primera reivindicación independiente*
- *Comparar, elemento por elemento, las características técnicas esenciales con las características de la materia divulgada en cada documento del estado del arte*
- *Verificar, según la comparación anterior, **si la invención reivindicada es idéntica a lo revelado en el estado de la técnica, en cuyo caso se considera que no tiene novedad***
- *Examinar de la misma manera las otras reivindicaciones independientes, y*
- *Revisar si las reivindicaciones dependientes mencionan elementos nuevos."*¹¹ (Negrita fuera del texto)

Las reivindicaciones independientes 28, 31, 43 y 53 están dirigidas a un método para aislar células hES, un método para expandir células hES y/o sus derivados, un método para diferenciar parcialmente células hES y/o sus derivados, y un proceso para preparar una preparación lista para usarse de células hES y/o sus derivados, en donde las células madre embrionarias humanas están libres de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales complementarios, suplementos de aminoácidos, suplementos vitamínicos, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y medios acondicionados. Por lo tanto, las células hES de la presente invención son cultivadas en un medio esencial mínimo en ausencia de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales complementarios, suplementos de aminoácidos, suplementos vitamínicos, factor de crecimiento

¹¹ Superintendencia de Industria y Comercio, o.c. pág. 62.

de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y medios acondicionados. Consecuentemente, el medio no contiene ningún producto de animales.

D1 revela *"con el objeto de producir líneas de células hES seguras para propósitos terapéuticos, todos los pasos para el establecimiento de líneas de células hES debe evitarse el uso de suero animal y/o líneas de células alimentadoras animales"*. Sin embargo, **D1** no proporciona ningún medio o sugerencia que permitiera a una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica alcanzar este objetivo.

D2 describe un método para establecer células madre embrionarias humanas no diferenciadas mediante la descongelación de embriones humanos crioconservados. Sin embargo, los métodos de cultivo descritos en dicha anterioridad son en una capa alimentadora de fibroblasto e incluyen la adición de varios factores inhibidores de diferenciación tales como el factor inhibidor de leucemia (ver página 17, líneas 5-13). Además, el ejemplo presentado para el cultivo de células usa un medio de águila modificado de Dulbecco (DMEM) que contiene factor inhibidor de leucemia (ver Ejemplo 7, página 22, líneas 20-22).

D1 o **D2** no describen células embrionarias en donde las células estén libres de los factores listados en las reivindicaciones independientes 28, 31, 43 y 53. Por lo tanto, según los lineamientos del artículo 16 y del Instructivo, la invención de mi representada goza de novedad a la luz de **D1** o **D2**, toda vez que realizada la comparación elemento por elemento de las características técnicas esenciales, la invención en estudio no es idéntica a lo revelado en el estado de la técnica.

ANEXOS

- i. Nuevo pliego descriptivo y reivindicatorio compuesto por sesenta (60) reivindicaciones.

De acuerdo con todo lo expuesto, solicito en forma muy comedida y respetuosa al Sr. Jefe de la División de Nuevas Creaciones se sirva tener en cuenta las manifestaciones y documentos aportados junto con el presente memorial y, de conformidad con ello, se sirva continuar con el trámite de la solicitud de patente de la referencia.

Del señor Jefe de la Dirección de Nuevas Creaciones,


MAURICIO PATIÑO BONNET
C.C. 11.342.699 de Zipaquirá
T.P. 73583 del C.S. de la J.

COMPOSICIONES QUE COMPRENDEN CELULAS MADRE EMBRIONARIAS
HUMANAS Y SUS DERIVADOS, METODOS DE USO Y METODOS DE
PREPARACION

5

Antecedentes de la invención

Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden células madre embrionarias humanas (hES) o sus derivados, las células madre están libres de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales complementarios, suplementos de aminoácidos, suplementos vitamínicos, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y medios acondicionados, para usarse en el tratamiento de enfermedades, condiciones o trastornos médicos actualmente incurables o terminales. Más particularmente, la invención se refiere a métodos de tratamiento de trastornos clínicos y condiciones terminales o actualmente incurables usando células hES por medio de un protocolo de trasplante. La invención se refiere además a procesos nuevos para preparar líneas de células madre nuevas las cuales están libres de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales complementarios, suplementos de aminoácidos,

suplementos vitamínicos, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y medios acondicionados. Esta invención se refiere además al aislamiento, cultivo, mantenimiento, expansión, 5 diferenciación, almacenamiento y conservación de las células madre.

Técnica anterior

Un gran número de trastornos, condiciones y 10 enfermedades médicas humanas son ya sea actualmente incurables a través de las terapias de fármaco, cirugía o métodos de trasplante existentes, o son terminales.

Las células madre tienen la capacidad de dividirse para generar células "hijas" que conservan las propiedades de 15 la célula madre, o de producir hijas que empiezan a diferenciarse en un tipo de célula más especializado, o de producir una célula hija de cada tipo. Las células madre son entonces cruciales para el crecimiento y desarrollo humano normal, y debido a sus características intrínsecas también 20 son fuentes potenciales de células nuevas para la regeneración de tejido dañado o enfermo. Las células madre están presentes en todas las etapas de desarrollo y en muchos (posiblemente la mayoría) tejidos del adulto. Células madre de diferentes tejidos, y de diferentes etapas de desarrollo, 25 varían en términos del número y tipo de células a las cuales

dan origen normalmente. Las principales clases de células madre de acuerdo con esta clasificación son las células madre embrionarias, células madre somáticas y células germinales embrionarias.

- 5 En las primeras etapas después de la fertilización (hasta la octava etapa celular), todas las células del embrión son totipotentes (es decir, tienen la capacidad de desarrollarse en cada tipo de célula requerida para el desarrollo completo, incluyendo tejidos extra-embrionarios
- 10 tales como la placenta y el cordón umbilical). Después de aproximadamente dos a cinco días se alcanza la etapa de blastocisto. Dentro de esta bola de 50-100 células descansa la masa celular interna, la cual se desarrollará en el embrión adecuado. La masa celular interna comprende
- 15 aproximadamente un cuarto de todas las células en esta etapa de desarrollo y una clase única de células madre; las células madre embrionarias. Las células madre embrionarias tienen la capacidad innata o potencial de diferenciarse en cada uno de los 200 y tantos tipos de células del cuerpo y se describen
- 20 como pluripotentes. La capacidad de las células hES para contribuir a todos los tipos de tejidos en desarrollo aún no ha sido completamente establecida, pero pueden hacerse crecer durante largos periodos de tiempo en cultivo y expandirse en número sin cambiar sus genotipos o fenotipos celulares, y
- 25 conservando su estado pluripotente bajo estas condiciones.

Después de la etapa de blastocisto, las células madre comprenden una proporción descendente de células en el embrión, feto y cuerpo adulto. Muchos si no es que la mayoría de los tejidos en el feto y adulto contienen células madre, las cuales, en su ubicación normal, tienen el potencial de diferenciarse en un número limitado de tipos de células específicos para de esta manera regenerar el tejido en el cual residen normalmente. Estas células madre (células madre somáticas) son multipotentes y pueden tener un potencial más restringido que las células madre embrionarias toda vez que normalmente dan origen a algunos pero no todos los tipos de células del cuerpo humano. Las principales fuentes de células madre somáticas son la médula ósea y sangre de cordón del feto y adulto.

Las células madre embrionarias sirven como un excelente sistema *in vitro* para estudiar eventos de diferenciación celular, tamizado de fármacos y como una fuente primaria de células diferenciadas especializadas para aplicaciones terapéuticas regeneradoras futuras.

Las células madre embrionarias, al ser pluripotentes, tienen el potencial de desarrollo de dar origen a cualquier tipo de célula diferenciada. Así, una enfermedad que resulte de la falla o desregulación, ya sea genética o adquirida, de tipos de células específicas es potencialmente tratable por el trasplante de células hES o

sus derivados mediante reemplazo de las células defectuosas y regeneración del órgano o tejido afectado y también al estimular el tejido latente y que muere.

Se ha sugerido que el trasplante de células hES o
5 sus derivados en el cuerpo humano tiene el potencial como un medio para resolver necesidades médicas no satisfechas.

Se ha considerado ampliamente que el trasplante de células hES revolucionará el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades, condiciones y trastornos pero,
10 hasta la fecha, los estudios han sido restringidos a estudios preclínicos en ratones y primates. Es cuestionable si los resultados observados en modelos con animales son verdaderamente representativos de los eventos que pudieran ocurrir después del trasplante de estas células en el humano.
15 Además, sin el uso clínico del concepto, las composiciones farmacéuticas, protocolos, rutas de administración y dosis de administración de las células madre siguen sin definir y sin probarse. Más aún, aunque las células madre humanas derivadas de fuentes que no son un embrión o xenotrasplante
20 de células, tejidos y órganos de otras especies han sido usadas en el escenario clínico, estos intentos han sido ampliamente inexitosos o presentan una variedad de efectos secundarios debilitadores.

La presente invención proporciona el trasplante de
25 una composición farmacéutica que comprende células hES y/o

sus derivados en humanos que sufren de una variedad de condiciones, enfermedades o trastornos actualmente incurables o terminales.

5 La patente de E.U.A. No. 5,453,457 describe una composición que comprende células pluripotentes de mamífero no murino derivadas de una célula germinal primordial y que incluyen factor de crecimiento de fibroblasto básico, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y factor inhibidor de leucemia.

10 La patente de E.U.A. No. 6,800,480 reclama una composición que comprende células hES no diferenciadas que proliferan en una matriz extracelular.

La solicitud de patente de E.U.A. No. 2003/0017587 describe la expansión *in vitro* de células madre embrionarias no diferenciadas obtenidas de un feto abortado o de blastocistos en etapa de corte frescos o congelados usando un medio de cultivo que no requiere células alimentadoras. Una vez aisladas, las células madre embrionarias son introducidas en un medio de cultivo de células complementado con factores de crecimiento, suero bovino fetal, factor de crecimiento neuronal, factor inhibidor de leucemia, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble o medios acondicionados que no son deseables en vista de potenciales efectos secundarios después de su trasplante en un paciente. Igualmente, la mencionada

15
20
25

solicitud de patente no dice nada acerca del protocolo que se usará para el tratamiento de trastornos genéticos o clínicos excepto que el paciente requiere de una dosis de cada tipo de célula.

5 La solicitud de patente de E.U.A. 2004/0071665 proporciona un método terapéutico que emplea células madre de mamífero para el tratamiento de cardiopatologías. Este ejemplo proporciona células madre embrionarias diferenciadas para formar un racimo cardiomiogénico, cultivada sobre
10 células alimentadoras y luego inyectado en tres sitios del corazón de un ratón que tiene infarto del miocardio.

 La solicitud de patente de E.U.A. No. 2004/0107453 describe un método para obtener, mantener y diferenciar células madre adultas y su uso en tratamiento terapéutico.

15 La solicitud de patente de E.U.A. No. 2005/0124003 describe un método para obtener, mantener y diferenciar células madre fetales y su uso en tratamiento terapéutico.

 En particular, y de relevancia particular para la presente invención, el trasplante de células madre
20 embrionarias en modelos de Lesión de Médula Espinal (SCI) en ratón han mostrado claramente su futuro potencial como un tratamiento de primera línea de SCI aguda (McDonald et al., (1999) Nature Med. 5:1410; Kerr et al., (2003) J. Neurosci. 23:5131; Roy et al., (2004) Nature Biotechnology, 22:297;
25 Hori et al., (2003) Stem Cells, 21:405; Harper, (2004) Proc.

Natl. Acad. Sci. 101:7123). A pesar de la eficacia demostrada en modelos con animales, el escepticismo con respecto a problemas de rechazo de injerto contra huésped, la necesidad potencial de administración de por vida de inmunosupresores y la formación de tumores y teratomas han retrasado las autorizaciones para reproducir la seguridad y eficacia preclínica en pruebas con humanos experimentales. Un problema adicional que enfrenta el diseño de estudios clínicos y de particular relevancia para la presente invención es que, hasta el momento, no hay protocolos o programas de administración establecidos, no hay estudios de lo que pudiera ser una dosis terapéuticamente efectiva o una composición farmacéutica activa, o qué tipos de células o combinaciones de células deben usarse.

Por lo tanto un objetivo de la presente invención es desarrollar composiciones farmacéuticas que comprendan células hES y sus derivados las cuales estén libres de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales complementarios, suplementos de aminoácidos, suplementos vitamínicos, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y medios acondicionados suspendidos en una solución biocompatible, portadora o matriz, entonces adecuada para uso humano.

Otro objetivo más de la presente invención es desarrollar un protocolo para el tratamiento de trastornos actualmente incurables o terminales.

5 Un objetivo más de la presente invención es desarrollar un protocolo para el tratamiento de SCI (Lesión de Médula Espinal).

10 Las composiciones de la presente invención son simples de preparar, seguras, económicas, eficientes, fácilmente transportables, escalables, tienen una vida útil adecuada y están libres de efectos secundarios tales como reacciones antígeno-anticuerpo, enervaciones aberrantes, tumorigenicidad, formación de teratomas o rechazo de injerto contra huésped. Asimismo, la presente invención requiere de sólo un embrión y por consiguiente el suministro continuo de
15 embriones humanos no se requiere. Igualmente, el protocolo para tratamiento de acuerdo con la presente invención no requiere el uso de inmunosupresores, y no depende de tipificación de HLA, no depende de raza, género o edad del sujeto tratado para el tratamiento efectivo de las
20 enfermedades, condiciones o trastornos, no tiene regresión y no tiene la necesidad de un entrenamiento anterior en la técnica de administración. El tratamiento de sujetos con las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la práctica de la presente invención es por lo tanto posible en cualquier
25 instalación clínica adecuadamente equipada a nivel mundial.

Para trasplantar células madre embrionarias humanas en humanos para propósitos terapéuticos es importante que estas células estén libres de contaminación tal como bacterias, virus, priones o tiroides. La adopción de prácticas de laboratorio operacionales estándares tales como adecuadas prácticas de fabricación y clínicas reducen el riesgo de estas contaminaciones a un nivel aceptable.

Los riesgos para el paciente existen, no obstante, a través de metodologías de cultivo de células existentes.

Un gran riesgo es que los componentes del medio de cultivo de células, mantenidos en el producto farmacéutico para su administración a sujetos humanos, se administren y por lo tanto representen un riesgo para el paciente a través de efectos secundarios hasta el momento no anticipados que no hubieran podido ser anticipados a través de estudios de "seguridad" en pruebas con animales.

La eliminación de este riesgo es por lo tanto deseable.

Las características de una fuente de cultivo de células madre embrionarias para su administración a sujetos humanos ha sido identificada como teniendo el siguiente diseño: son capaces de proliferación durante un periodo de tiempo extendido sin diferenciación, mantienen un cariotipo en el cual todas las características del donador se conservan fielmente durante el cultivo, mantienen el potencial de

diferenciarse en derivados del endodermo, mesodermo y ectodermo a través del cultivo, no se diferenciarán cuando sean cultivadas en ausencia de factores exógenos, no darán origen a teratomas, no serán inmunogénicas, no formarán conexiones aberrantes y tejido ectópico, actuarán en el tejido dañado y no se dividirán continuamente *in vivo* sino que están programadas para hacerlo en un ciclo de vida natural. No debe haber contaminantes presentes en la metodología de cultivo y la línea de células descrita en la invención.

El principal impulso de investigación hasta ahora ha sido desarrollar condiciones de cultivo que satisfagan estos requerimientos, pero hasta la fecha ninguna de estas condiciones han sido esperanzadoras o validadas a través de pruebas clínicas. En particular, la investigación hasta la fecha se ha enfocado en la eliminación del requerimientos de células alimentadoras de ratón como una matriz para el crecimiento y des-diferenciación de un cultivo de células madre embrionarias humanas. El remedio parcial de proporcionar factores de crecimiento desconocidos a través de la remoción de células alimentadoras y la suplementación de "medios acondicionados" también ha revelado un riesgo inaceptable en el medio de cultivo ideal. Las células madre embrionarias humanas cultivadas en presencia de medios acondicionados alimentadores conservan aún un riesgo

inherente de contaminación y por lo tanto un riesgo inaceptable durante su trasplante a humanos.

Un factor adicional en el diseño de condiciones de cultivo de células madre embrionarias humanas destinadas para su administración a humanos es la cuestión de complementos exógenos residuales en los medios que pudieran estar presentes en la composición farmacéutica administrada pero que son esenciales durante la fase de expansión celular.

Estos incluyen factor de crecimiento de fibroblastos, factor inhibidor de leucemia, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble, suero, albúminas u suplementos de albúmina, suplementos de aminoácidos, suplementos vitamínicos, transferrinas o suplementos de transferrina, antioxidantes, insulina o sustitutos de insulina, precursores de colágeno o sustitutos de precursor de colágeno, elementos residuales, residuos de "medios acondicionados", productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, combinaciones de minerales complementarios, suplementos de aminoácidos y suplementos vitamínicos.

Los residuos de estos suplementos adicionales se ven como riesgos innecesarios para la seguridad de los pacientes durante el trasplante de células madre embrionarias humanas en estos sujetos. Además, la suplementación de estos factores en el medio de cultivo se añade al riesgo de

contaminación del ambiente y se añade al costo futuro de una terapia con células madre y por lo tanto limita su capacidad de aplicación en una amplia gama de enfermedades, condiciones o trastornos médicos.

5 Un número de enfoques han sido adoptados para reducir estos riesgos incluyendo: las patentes de E.U.A. y solicitudes Nos. 5,843,780; 5,690,926; 6,642,048; 6,800,480; 5,166,065; 6,200,806; 5,453,357; 6,090,622; 6,562,619; 6,921,632, 2006/0073587 y 2002/076747.

10 Sin embargo, ninguno de estos enfoques ofrecen un sistema para la producción de un producto farmacéutico que contenga células madre embrionarias humanas y sus derivados el cual esté libre de factores potencialmente contaminantes que pudieran afectar la eficacia y seguridad de células madre
15 embrionarias humanas y sus derivados después de administración a humanos.

 Es por lo tanto otro objetivo de la invención desarrollar un sistema de cultivo de células simplificado para la expansión de las células hES y sus derivados en un
20 estado sustancialmente no diferenciado para producir así un producto farmacéutico que esté listo para usarse en una amplia variedad de trastornos médicos.

 Más particularmente, un objetivo de la presente invención es proporcionar una técnica de cultivo que produzca
25 una línea de células madre libre de productos animales,

células alimentadoras, factores de crecimiento, factor
inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales
complementarios, suplementos de aminoácidos, suplementos
vitamínicos, factor de crecimiento de fibroblastos, factor
5 Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y medios
acondicionados.

Breve descripción de la invención

La presente invención proporciona composiciones
10 farmacéuticas que comprenden células hES y/o sus derivados, y
el uso de las células hES y sus derivados para tratar una
amplia variedad de condiciones, enfermedades y trastornos en
las que las células madre se introducen en el cuerpo humano
mediante una variedad de rutas de administración,
15 aplicaciones tópicas o inserción intralesional.

La presente invención proporciona además un método
para tratar un sujeto que sufra de una enfermedad, trastorno
o condición terminal o actualmente incurable, que comprende
un programa de administración de una cantidad
20 terapéuticamente efectiva de células hES o sus derivados
mediante inyección intramuscular, intravenosa, caudal,
intravítrea, intraestriatal, intraparenquimal, intratecal,
epidural, retrobulbar, subcutánea, intracardiaca,
intracística, intra-articular o intratecal, infusión por
25 catéter epidural, infusión por catéter de bloque

subaracnoide, infusión intravenosa, por medio de nebulizador, por medio de aspersor, por medio de rutas intravaginales, por medio de gotas oculares y óticas locales, y un programa de administración de las células hES y sus derivados tópicamente o intralesionalmente.

Es preferible usar células hES o sus derivados que estén libres de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales complementarios, suplementos vitamínicos, suplementos aminoácidos, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y medios acondicionados, para evitar cualquier probabilidad de contaminación y posibilidades de efectos secundarios negativos. Las células hES y sus derivados pueden obtenerse a través de cualquier metodología de cultivo de células conocida y aprobada, la cual está libre de células alimentadoras, y libre de contaminación de cualquier fuente y segura para trasplante a humanos. Los derivados de hES incluyen células diferenciadas más del cuerpo humano.

La presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas para el tratamiento de enfermedades, trastornos o condiciones terminales o actualmente incurables que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de células hES y/o sus derivados, en donde las células hES o sus derivados están libres de

productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales complementarios, suplementos de aminoácidos, suplementos vitamínicos, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y medios acondicionados, suspendidos en una solución farmacéuticamente aceptable y biocompatible o cualquier otro vehículo portador.

La presente invención incluye también células hEs y/o sus derivados libres de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales complementarios, suplementos de aminoácidos, suplementos vitamínicos, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y medios acondicionados, atrapados en un material o matriz biocompatible. El material biocompatible o matriz puede seleccionarse de biopolímeros, incluyendo polipéptidos o proteínas, polisacáridos, incluyendo fibronectina, varios tipos de colágeno, laminina, queratina, fibrina, fibrinógeno, ácido hialurónico, sulfato de heparina, sulfato de condroitina, agarosa o gelatina.

Las composiciones de la presente invención pueden estar en una forma de fármaco listo para usar en las cuales las células madre tienen viabilidad adecuada, es decir, tienen una viabilidad lo suficientemente alta como para ser

útiles en uno o más métodos de la presente invención. En una modalidad, las células madre tienen una viabilidad de más de aproximadamente 40%, por ejemplo más de alrededor de 50%, 60%, 70% u 80%. Las composiciones pueden incluir además un agente antimicrobiano, agente antibacteriano, producto hormonal u otro agente farmacéutico.

Para preparar las composiciones, alrededor de 750,000 a aproximadamente 160 millones de células hES y/o uno o más de sus derivados tales como progenitores de células madre hematopoyéticas, progenitores de células madre neuronales, progenitores de células madre mesenquimáticas, progenitores de células madre productoras de insulina, progenitores de células madre de hepatocitos, progenitores de células madre cardíacas, progenitores de células madre epiteliales o mezclas de los mismos se suspenden en aproximadamente 0.25 mL a alrededor de 100 ml de un vehículo portador. En una modalidad, aproximadamente 750,000 a alrededor de 80 millones de células hES se suspenden en alrededor de 0.25 ml a aproximadamente 10 ml del vehículo portador. En enriquecimiento para tipos progenitores de células madre diferenciados específicos en una población es una prioridad, aunque una proporción de células madre no diferenciadas permanecerá en la composición. En una modalidad, la porción de células madre no diferenciadas será de no más de aproximadamente 80% de la población total de

células. En otra modalidad, la porción de células madre no diferenciadas será de no más de alrededor de 40% de la población total de células.

Las enfermedades terminales y otros trastornos o

5 condiciones que pueden ser tratados o reducidos de acuerdo con la presente invención incluyen, sin limitación, cáncer, trastornos hepáticos y renales, trastornos del sistema nervioso, trastornos de la piel, trastornos autoinmunes, trastornos genéticos, trastornos oculares, trastornos

10 musculoesqueléticos, trastornos de fertilidad y reproductivos y trastornos cardiovasculares y sin limitación incluyen Leucemia Mieloide Aguda, Adenocarcinoma, Artritis, Astrocitoma, Atrofia del Nervio Auditivo, Autismo, Trastornos Autoinmunes, enfermedad de Alzheimer, Espondilitis

15 Anquilosante, Distrofia Muscular de Becker, Daño Cerebral, Quemaduras, Accidente Cerebrovascular, Parálisis Cerebral, Coma, Úlceras Corneales, Rechazo de Injerto Corneal, Degeneración Cortico-Basal del Sistema Nervioso, Enfermedad de Arterias Coronarias, Diabetes, Demencia, Síndrome de Down,

20 Distrofia Muscular de Duchenne, Enfermedad Renal en Etapa Terminal, Parálisis de Erb, Distrofia Muscular Fascio Escapular, Trastornos de Fertilidad, Ataxia de Friederich, Insuficiencia Cardíaca, Carcinoma Hepatocelular, Enfermedad de Neuronas Espino Motoras Hereditaria, Corea de Huntington,

25 Enfermedad de Krabbe, Distrofia del Cíngulo de las

Extremidades, Cirrosis Hepática, Degeneración Macular, Retraso Mental, Esclerosis Múltiple, Enfermedad de Neuronas Motoras, Infarto del Miocardio, Síndrome Nefrótico, Enfermedad de Niemann Pick, Ulceración No Sanadora de la Piel, Atrofia Olivo-Ponto Cerebelar, Atrofia del Nervio Óptico, Mal de Parkinson, Encefalopatía Post Choque Eléctrico, Encefalopatía Post-Vacuna Contra la Rabia, Llagas por Presión, Parálisis Supranuclear Progresiva, Psoriasis, Ptisis Bulbi, Cardiomiopatía Restrictiva, Retinitis Pigmentosa, Bloque de Ramificación del Fascículo Derecho, Sarcoidosis, Bradicardia del Seno, Distrofia Muscular Espinal, Ataxia Espino Cerebelar, Síndrome de Steven Johnson, Lupus Eritematoso Sistémico, Trombocitopenia, Talasemia, Colitis Ulcerativa, Estado Vegetativo, Fibrosis Quística, Enfermedad Pulmonar Intersticial, Azoospermia, Insuficiencia Ovárica Primaria, Ulceras Aftosas, Desequilibrio Hormonal, Osteo-Artritis, Síndrome de Horner y Osteogénica Imperfecta, junto con Canalopatía e Hipogamaglobulinemia.

Más específicamente, la presente invención proporciona un método de tratamiento de SCI en un sujeto, que comprende:

- a) administrar aproximadamente 750,000 a alrededor de 80 millones de células hES y/o sus derivados mediante inyección subcutánea;
- b) repetir la etapa (a) después de un periodo

predeterminado y posteriormente administrar células hES y/o sus derivados mediante inyección intramuscular;

5 c) administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales y progenitores de células madre hematopoyéticas, mediante inyección o infusión intravenosa;

10 d) administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales, mediante inyección epidural y repetir la dosis después de un periodo predeterminado dependiendo de la condición del sujeto evaluada por examen clínico y/o neurológico;

15 e) administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales, mediante inyección caudal;

20 f) administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales, mediante inyección intratecal o catéter de bloque subaracnoide;

25 g) administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales,

mediante inyección epidural o catéter epidural;

h) administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de células hES y/o sus derivados mediante inyección espinal profunda sobre cada lado de la espina y

5 i) administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de células hES y/o sus derivados mediante infusión intravenosa;

en donde las etapas (a) e (b) se llevan a cabo primero y las etapas restantes pueden llevarse a cabo en
10 cualquier orden. En una modalidad, la etapa (f) se repite seguida por la etapa (g), al menos una vez, hasta que el sujeto exhiba señales clínicas de recuperación de la SCI.

La invención proporciona también un método para tratar un sujeto con una enfermedad, trastorno y condición
15 que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de células hES y/o sus derivados cultivados en medio libre de productos animales, células alimentadoras, medios acondicionados, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel
20 asociado a membrana o factor Steel soluble, mediante inyección intramuscular e inyección intravenosa o inyección intraepidural o catéter epidural o inyección retrobulbar inyección subcutánea o inyección intracardiaca o inyección intracística o inyección intratecal o mediante aplicación
25 tópica o aplicación intralesional. En una modalidad, la

enfermedad, trastorno o condición es una enfermedad, trastorno o condición terminal o actualmente incurable.

La invención proporciona también un método para tratamiento de trastornos del sistema nervioso en desarrollo, degenerativos, hereditarios y traumáticos y ataque
5 cerebrovascular que comprende la administración de alrededor de 750,000 a aproximadamente 160 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales y progenitores de células madre
10 hematopoyéticas solos o en combinación, mediante inyección intravenosa, inyección subcutánea, inyección intramuscular, inyección intratecal, infusión por catéter epidural e infusión por catéter de bloque subaracnoide.

La invención proporciona también un método para el
15 tratamiento de trastornos de la piel que comprende la administración de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre hematopoyéticas, mediante inyección subcutánea o intravenosa.

20 La invención proporciona también un método de tratamiento de úlceras por decúbito que comprende la administración de alrededor de 750,000 a aproximadamente 160 millones de células hES y/o sus derivados mediante aplicación local o tópica y mediante inyección intramuscular.

25 La invención proporciona también un método de

tratamiento de trastornos autoinmunes que comprende la administración de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre hematopoyéticas, mediante inyección intramuscular, e inyección intravenosa, o inyección subcutánea o inyección intraarticular o infusión intravenosa o combinaciones de las mismas.

La invención proporciona también un método para el tratamiento de trastornos genéticos, que comprende la administración de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales y progenitores de células madre hematopoyéticas solos o en combinación, mediante inyección intravenosa, inyección subcutánea, inyección intramuscular, inyección intratecal, infusión por catéter epidural o infusión por catéter de bloque sub aracnoide o combinaciones de los mismos.

La invención proporciona también un método de tratamiento de gangrena, que comprende la administración de alrededor de 750,000 a aproximadamente 160 millones de células hES y/o sus derivados mediante inyección intravenosa, inyección intramuscular o aplicación local en la unión de tejido viable y muerto o combinaciones de los mismos.

La invención proporciona también un método para el

tratamiento de condiciones asociadas con envejecimiento, que comprende la administración de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células hES y/o sus derivados mediante inyección intravenosa, inyección subcutánea, 5 inyección intramuscular, o aplicación local en suspensión o mezclada con un vehículo biocompatible tal como un gel, ungüento, matriz, pasta o spray de aerosol.

La invención proporciona también un método para el tratamiento de diabetes mellitus, que comprende la 10 administración de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden células progenitoras productoras de insulina, mediante inyección intravenosa o intramuscular o combinaciones de las mismas.

La invención proporciona también un método para 15 tratar trastornos cardiovasculares, que comprende la administración de alrededor de 750,000 a aproximadamente 160 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprende progenitores de células madre 20 hematopoyéticas, mediante inyección intravenosa, inyección subcutánea, inyección intramuscular, inyección intracardiaca, angiografía e inyección directa durante cirugía.

La invención proporciona también un método de tratamiento de Trastornos Hepáticos y Renales que comprende 25 la administración de aproximadamente 750,000 a alrededor de

160 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprende progenitores de células madre hematopoyéticas, progenitores de células madre productoras de albúmina y progenitores de células madre productoras de bilirrubina, mediante inyección intravenosa, inyección subcutánea, inyección intramuscular, infusión intravenosa o inyección local.

La invención proporciona también un método para el tratamiento de Trastornos de Fertilidad y Reproductivos que comprende la administración de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre hematopoyéticas, mediante inyección intramuscular local, inyección intratesticular o a través de inyección en piel subcutánea cerca del epidídimo.

La invención proporciona también un método de tratamiento de Trastornos Musculoesqueléticos que comprende la administración de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales y progenitores de células madre hematopoyéticas solos o en combinación, mediante inyección intravenosa, inyección subcutánea, inyección intramuscular o infusión por catéter intravenoso.

La invención proporciona también un método para el

tratamiento de Trastornos Oculares que comprende la administración de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales, progenitores de células madre hematopoyéticas, progenitores de células madre mesenquimáticas solos o en combinación, mediante inyección intravenosa local, inyección subcutánea, inyección intramuscular, inyección retrobulbar, inyección intravítrea o aplicación tópica. En una modalidad, aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células hES y/o sus derivados que comprenden progenitores de células madre neuronales se administran mediante inyección retrobulbar. En otra modalidad, alrededor de 750,000 a aproximadamente 160 millones de células hES y/o sus derivados que comprenden progenitores de células madre neuronales, se administran mediante inyección intravítrea. En otra modalidad, aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células hES y/o sus derivados que comprenden progenitores de células madre mesenquimáticas se aplican a lentes de contacto para su colocación en el ojo para el tratamiento de abrasión corneal (por ejemplo, el lente de contacto se cultiva con las células hES y/o sus derivados para recubrir al lente de contacto con células y el lente se pone después en el ojo durante aproximadamente 24 horas).

La invención proporciona también un método de

tratamiento de Trastornos Pulmonares que comprende la administración de 750,000 a 160 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre hematopoyéticas solos o en combinación con progenitores de células madre neuronales mediante inyección intramuscular, inyección intravenosa, aspersión o nebulizador. En una modalidad 750,000 a 160 millones progenitores de células madre hematopoyéticas se administran mediante nebulizador en el cual se añaden 2 ml de solución salina normal. En otra modalidad 750,000 a 160 millones de progenitores de células madre hematopoyéticas se administran mediante aspersión (descarga instantánea).

La invención proporciona también un método para el tratamiento de Trastornos Hormonales que comprende la administración de 750,000 a 160 millones de células hES y/o sus derivados en donde las células comprenden células madre hematopoyéticas y neuronales mediante rutas intramusculares intravenosas.

La invención proporciona también un método para el tratamiento de Ulceras Aftosas y otras úlceras, que comprende la administración de 750,000 a 160 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden células madre hematopoyéticas y neuronales en combinación o solas mediante rutas intramusculares e intravenosas.

La invención proporciona también un método para el

tratamiento de Osteoartritis de la rodilla y cadera, que comprende la administración de 750,000 a 160 millones de células hES y/o sus derivados mediante inyección intramuscular, intravenosa o intra-articular. En una

5 modalidad 750,000 a 160 millones de progenitores de células madre hematopoyéticas se administran intra-articularmente.

La presente invención proporciona una metodología de cultivo de células que es aplicable al cultivo de células hES y sus derivados que se puede usar para el trasplante en

10 humanos sin ningún efecto secundario tal como formación de teratomas, formación de tumores, problemas de antigenicidad o rechazo de injerto contra huésped.

El diseño de la metodología de cultivo es específicamente para la producción de células hES y sus

15 derivados de viabilidad suficiente y de características apropiadas para la actividad terapéuticamente óptima después de su trasplante en humanos.

En una modalidad preferida, la metodología de cultivo de células se usa para el crecimiento, expansión,

20 diferenciación y almacenamiento de células hES. Además, la invención se refiere a composiciones listas para inyectar que comprenden células hES y/o sus derivados que se almacenan en condiciones de almacenamiento que son adecuadas para trasplante directo después de descongelarlas.

25 En contraste con las metodologías de cultivo de

células existentes para el mantenimiento de células hES en un estado sustancialmente no diferenciado, el medio de cultivo no contiene suplementos tales como factor de crecimiento de fibroblastos básico, factor inhibidor de leucemia, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble, suero, 5 albúminas o suplementos de albúmina, suplementos de aminoácidos, suplementos vitamínicos, transferrinas o suplementos de transferrina, antioxidantes, insulina o sustitutos de insulina, precursores de colágeno o sustitutos 10 de precursores de colágeno, elementos residuales, residuos de "medios acondicionados", productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, combinaciones de minerales complementarios, suplementos de aminoácidos y suplementos vitamínicos.

15 En contraste adicional con otras metodologías de cultivo de células para la expansión de células hES, la práctica de la presente invención no lleva a la formación de cuerpos embrioides, evitando así la necesidad de disección quirúrgica. Cabe mencionar en este punto que el producto de 20 la invención que es un producto totalmente humano, podría no ser necesario el xenotrasplante (por ejemplo, pruebas con animales). La instancia de la primera gestación de fertilización *in vitro* (IVF) es un ejemplo corolario.

A diferencia de otras metodologías de cultivo de 25 células, las técnicas de cultivo de células de la presente

invención permiten la expansión casi ilimitada de células hES sin diferenciación significativa. Una gran ventaja de la presente invención es que un solo embrión es suficiente para proporcionar cantidades terapéuticamente efectivas de células hES y/o sus derivados para tratar multitudes de pacientes. Así, no existe la necesidad de una procuración repetida de embriones humanos, y pueden evitarse muchas de las cuestiones éticas asociadas con el uso de embriones humanos.

Una ventaja más de los métodos de la presente invención es que las células hES y sus derivados son productos universalmente aceptables en términos inmunológicos, por lo que no se requiere una comparación cruzada de pacientes y células y no se requiere inmunosupresión.

Un aspecto de la invención se refiere a métodos para aislar células hES, que comprende:

(a) coleccionar un embrión de 2 a 7 días de edad en medio esencial mínimo,

(b) aislar células hES del embrión mediante medios mecánicos.

Un aspecto de la invención se refiere a un método para expandir células madre embrionarias humanas libres de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales complementarios, suplementos de aminoácidos,

suplementos vitamínicos, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y medios acondicionados, que comprende las etapas de:

(a) introducir células madre embrionarias humanas en un medio de células que consiste en medio esencial mínimo, una progestina y un agonista de gonadotropina coriónica β (β hCG) humana e

(b) incubar las células madre en una temperatura de aproximadamente 34°C a alrededor de 38°C en un ambiente de alrededor de 3.5% a aproximadamente 6% de dióxido de carbono durante alrededor de 12 horas a aproximadamente 48 horas.

Otro aspecto de la invención se refiere a métodos para cultivar células hES de tal forma que estén en una etapa antes de la etapa parcialmente diferenciada y estén libres de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales complementarias, suplementos de aminoácidos, suplementos vitamínicos, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y medios acondicionados, que comprende las etapas de:

(a) introducir células hES en un medio de cultivo que consiste en medio esencial mínimo y

(b) incubar las células madre a una temperatura de alrededor de 34°C a aproximadamente 38°C en un ambiente de alrededor de 3.5% a aproximadamente 6% de dióxido de carbono

durante aproximadamente 12 horas a alrededor de 48 horas.

Otro aspecto de la invención se refiere a un proceso para preparar una preparación de células madre embrionarias humanas lista para usar para su trasplante a

5 humanos, que comprende:

(a) obtener células madre embrionarias humanas libres de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales complementarias, suplementos de aminoácidos, suplementos vitamínicos, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y medios acondicionados,

10

(b) centrifugar las células madre para obtener un gránulo y

15

(c) suspender el gránulo en una solución biocompatible.

Otro aspecto de la invención se refiere a un método para almacenar una célula madre embrionaria humana en una condición viable, que comprende:

20

(a) tomar células madre preparadas mediante los métodos de la presente invención,

(b) añadir un agente de crioconservación y

(c) congelar las células a -4 a -80°C.

25

El propósito de cultivar células hES de acuerdo con la práctica de la presente invención en ausencia de estos

complementos es reducir el riesgo de introducir contaminantes bacterianos, fúngicos, virales u otras contaminaciones en el cultivo. Esto reduce el riesgo de infección y variabilidad en las características de las células.

5 Un propósito más de la presente invención es proporcionar métodos simples, económicos y escalables para la producción y expansión de células hES y sus derivados en una forma que esté libre de cualquier residuo contaminante y se asegura para su uso en humanos.

10 El propósito de esta invención es por lo tanto proporcionar productos farmacéuticos en los cuales el riesgo de administración de toda la co-contaminación se reduzca, y en los cuales se elimine la contaminación residual de factores complementarios.

15 Un propósito más de la presente invención es proporcionar una metodología de cultivo de células que reduzca el riesgo de aberraciones cromosómicas o inestabilidad genética.

20 Otro propósito de la presente invención es proporcionar una metodología de cultivo de células que reduzca el riesgo de formación de teratomas en pacientes en los cuales el cultivo sea trasplantado.

25 Un propósito más de la presente invención es proporcionar una metodología de cultivo de células que reduzca el riesgo de formación de tumores en pacientes en los

cuales el cultivo sea trasplantado.

Otro propósito de la presente invención es proporcionar una metodología de cultivo de células que reduzca el riesgo de problemas de antigenicidad o de
5 problemas de rechazo de injerto contra huésped en pacientes en los cuales se trasplante el cultivo.

La presente invención proporciona específicamente composiciones que comprenden células hES y sus derivados y un medio biocompatible que están en una forma que cumple con las
10 normas reguladoras internacionales de seguridad y calidad, y por lo tanto en una forma que está lista para su inyección a pacientes humanos para propósitos terapéuticos.

La presente invención proporciona también un producto de manufactura que comprende una suspensión de
15 células hES y/o sus derivados suspendida en una solución biocompatible y contenida en un recipiente para almacenamiento, transporte o trasplante directamente a un humano.

La presente invención proporciona también un método
20 para la expansión de células hES y sus derivados.

La presente invención proporciona también un método para la expansión de células hES y sus derivados y la inhibición de su diferenciación.

La presente invención proporciona también un método
25 para el crecimiento de células hES y sus derivados que las

hace terapéuticamente efectivas después de su trasplante a un humano que esté sufriendo de una enfermedad, condición o trastorno.

5

Descripción detallada de la invención

Definiciones

10

En la siguiente descripción y ejemplos se usa un número de términos. Para proporcionar un entendimiento claro y conciso de la descripción y reivindicaciones, incluyendo el alcance que se le dará a estos términos, se proporcionan las siguientes definiciones.

15

Se debe notar que los términos usados para describir generalmente la presente invención se usan de una manera que se mantenga acorde con su significado común y como el entendido por alguien de capacidad ordinaria en la técnica.

20

"Célula madre embrionaria" se refiere a células pluripotentes de humanos (es decir, células hES). En una modalidad, las células hES son aisladas de un embrión en etapa pre-blastocisto. En otra modalidad, las células hES se preparan mediante diferenciación en células al menos parcialmente diferenciadas (por ejemplo, células multipotentes) y son totipotentes en la práctica. Los métodos para preparar células hES se conocen bien y se enseñan, por ejemplo, en las patentes de E.U.A. Nos.

25

5,843,780, 6,200,806, 7,029,913, 5,453,357, 5,690,926,
6,642,048, 6,800,480, 5,166,065, 6,090,622, 6,562,619,
6,921,632 y 5,914,268, la solicitud de patente de E.U.A.
publicada No. 2005/0176707 y solicitud internacional No.

5 WO2001085917.

"Células madre fetales" se refiere a las células madre derivadas de tejido fetal, es decir, tejidos de un humano en desarrollo después de la implantación del embrión en el útero.

10 "Multipotentes" se refiere a células madre que producen sólo células de una familia de células estrechamente emparentada.

"Pluripotentes" se refiere a células madre que son descendientes de células totipotentes y pueden crecer en
15 cualquier tipo de célula excepto para las células madre totipotentes.

"Totipotentes" se refiere a células madre que se producen a partir de la fusión de una célula de huevo y espermatozoide. Las células producidas por las primeras
20 pocas divisiones de la célula de huevo fertilizada también son totipotentes. Estas células pueden crecer en cualquier tipo de células sin excepción.

"Cantidad terapéuticamente efectiva" se usa en la descripción para describir concentraciones o cantidades de
25 componentes tales como células madre embrionarias, células

neuroprogenitoras, células neuronales, progenitores de células madre hematopoyéticas, progenitores de células madre cardíacas o cualquier otro derivado de células madre, u otros agentes y mezclas de los mismos que sean efectivos para producir un resultado deseado dentro del contexto de la práctica de uno o más aspectos de la presente invención.

Los términos "trasplantar" y "trasplante" se usan a lo largo de la descripción indistintamente para describir el proceso mediante el cual células madre embrionarias y/o sus derivados de acuerdo con la presente invención se suministran al sitio dentro del cuerpo humano en donde las células están destinadas a exhibir un efecto favorable en relación con el tratamiento o disminución de una enfermedad, trastorno o condición descrita en la presente incluyendo, sin limitación, para reparar daño en el sistema nervioso central de un sujeto, tratar una enfermedad neurodegenerativa o tratar los efectos de daño nervioso causado por apoplejía, enfermedad cardiovascular, un ataque cardíaco o lesión o trauma físico o daño genético o insulto ambiental al cerebro y/o médula espinal u otros órganos, causados por, por ejemplo, un accidente u otra actividad, daño hepático, trastorno autoinmune, disfunción sexual o reproductiva, degeneración de varias partes del ojo, daño renal, etc.

"Solución biocompatible" se usa en la descripción para referirse a soluciones en las cuales las células hES y/o

sus derivados se suspenden para usarse en el protocolo de trasplante o en cualquier otro uso subsecuente. Estas soluciones biocompatibles incluyen solución salina y pueden comprender además otros ingredientes tales como conservadores, antimicrobianos y similares y otros agentes farmacéuticos.

"Vehículo biocompatible" se usa en la descripción para referirse a vehículos sólidos, soluciones y mezclas en las cuales las células hES y/o sus derivados se suspenden para usarse en el protocolo para tratamiento tópico, trasplante o para cualquier otro uso subsecuente. Estos vehículos biocompatibles incluyen geles, ungüentos, pastas y nebulizadores de aerosol.

"Recipiente biocompatible" se usa en la descripción para referirse a contenedores (por ejemplo, recipientes de cultivo o almacenamiento de células) en las cuales las células hES y/o sus derivados se ponen y los cuales no evitan que las células se usen en trasplante, es decir, no contaminan las células con compuestos que no pueden ser administrados a sujetos. Ejemplos de materiales recipientes biocompatibles incluyen sin limitación vidrio, acero inoxidable y poliestireno.

Una "progestina" es cualquier hormona natural o sintética que tiene actividad tipo progesterona, es decir, que tiene al menos 25% de la actividad de progesterona en

cualquiera de un ensayo conocido para actividad biológica. Ejemplos incluyen sin limitación progesterona, didrogesteron, medroxiprogesterona, noretisterona, levonorgestrel, norgesterel, gestodeno y drospirenona.

5 Ejemplos de otras progestinas se describen en las patentes de E.U.A. Nos. 7,091,234, 7,084,151, 7,081,457, 7,071,205, 6,562,857, 6,319,911, 6,245,757, 6,043,235 y 6,028,064.

"Agonistas de gonadotropina coriónica β (β hCG) humana" se definen como cualquier β hCG que ocurre
10 naturalmente o sintética o fragmento derivado de la misma que tiene al menos 25% de la actividad de β hCG natural en uno de cualquier ensayo conocido para actividad biológica. Ejemplos de agonistas de β hCG incluyen sin limitación β hCG y aquellos descritos en las patentes de E.U.A. Nos. 6,635,445,
15 6,585,982, 6,583,109, 6,469,139 y 5,997,871.

"Medio esencial mínimo" se usa en la descripción para referirse a un medio de cultivo de células que comprende aminoácidos, sales, glucosa y vitaminas. Ejemplos incluyen RPMI, DMEM, EMEM y GMEM.

20 "Nebulización" significa la administración de un fármaco o sustancia en los pulmones mediante un nebulizador.

Intra-articular significa la administración en el espacio intra-articular.

25 Retrobulbar significa administración en el espacio retrobulbar.

Infusión intravenosa significa administración en la vena usando un fluido intravenoso que comprende el producto o fármaco.

5 Inyección o infusión por catéter "epidural" significa la administración en la región fuera de la duramadre de las meninges.

Inyección o infusión con catéter "intratecal" significa administración en la capa más interior de las meninges, es decir, la materia aracnoide dentro del fluido
10 cerebroespinal, la cual es continua con el cerebro.

Inyección "caudal" significa administración a través de la membrana sacral, la cual está aproximadamente tres centímetros arriba de la punta del cóccix que es continua con el espacio epidural.

15 "Inyección Espinal Profunda" significa inyección en los músculos espinales erectores sobre cada lado de la espina.

Inyección "intramuscular" significa administración entre las láminas musculares.

20 Inyección "intravenosa" significa administración dentro de una vena.

"SCI aguda" significa hasta tres meses después de la fecha de la SCI.

25 "SCI Sub Aguda" significa a partir de tres meses después de la fecha de la SCI hasta nueve meses después de la

fecha de la lesión.

“SCI Crónica” significa más de nueve meses después de la fecha de la SCI.

5 Los “derivados” de células hES incluyen células madre multipotentes, células madre pluripotentes, células madre adultas y células madre específicas de tejidos y no incluyen células completamente diferenciadas. Ejemplos de células madre específicas de tejidos pueden encontrarse en la siguiente tabla:

10

Tipo de célula	Número de patente
Células madre derivadas de tejido adiposo	6,777,231
Células madre epiteliales de mama	5,814,511
15 Células madre endoteliales	6,852,533
Células progenitoras de ganglio de la raíz dorsal	6,835,567
20 Células progenitoras hematopoyéticas CD34 ⁻ , CD7 ⁺ , Lin ⁻ , Lin ⁻ , CD45RA ⁺ ,	6,537,807
Células madre hematopoyéticas Thy-1 ⁺	5,061,620
Células madre hematopoyéticas Thy-1 ⁺ , CD34 ⁺	5,750,397
25 Células madre hematopoyéticas CD34 ⁺ , CD38 ⁻ , HLA-DR ⁺	5,840,580
Células linfoides y dendríticas	5,972,627

25

Tipo de célula	Número de patente
hematopoyéticas CD34 ⁺ , CD45RA ⁺ , CD10 ⁺ ; Células dendríticas hematopoyéticas CD34 ⁺ , CD45RA ⁺ , CD10 ⁺	
Células madre hematopoyéticas c-kit ⁻ , Thy-1 ⁻	5,876,956
Células madre hematopoyéticas CD34 ⁺	5,681,559
Células madre hematopoyéticas HCC-1 ⁺	5,677,136
Células progenitoras hematopoyéticas CD34 ⁺ , lectina ⁺ específica de galactosa	5,858,782
Células madre hematopoyéticas (quiescentes) CD34 ⁺	5,807,686
Células madre queratinocíticas	6,485,971
Células madre hepáticas	6,129,911
No expresan OC2	6,872,389
Células madre progenitoras linfohematopoyéticas My 10 ⁻	5,256,560
Células progenitoras linfoides	6,908,763
Células progenitoras neurales de mesencéfalo	6,913,925
Células madre mesenquimáticas CD45 ⁺	6,387,367
Células madre mesenquimáticas	5,486,359
Células madre mesenquimáticas	5,827,735

Tipo de célula	Número de patente
Células madre mesenquimáticas	5,908,782
Células madre mesenquimáticas	6,936,281
Células madre mesenquimáticas	6,908,764
Células epiteliales pluripotentes derivadas de ductos Mullerianos	6,416,999
Células progenitoras mieloides c-kit ^{hi} , IL-7Rα ⁻	6,465,247
Células progenitoras mieloides Thy-1 ⁻ , IL-7Rα ⁻	6,761,883
Células progenitoras neurales	5,753,505
Células madre neurales	5,851,832
Células progenitoras neuronales	6,251,669
Células madre neuronales	6,969,608
Células progenitoras neuronales que no expresan una proteína Hu	6,852,532
Células precursoras neuronales restringidas en linaje E-NCAM ⁺	6,734,015
Células madre neuroepiteliales	7,037,702
Células madre neurales del sistema nervioso central	5,968,829

Tipo de célula	Número de patente
Células progenitoras neuronales	6,812,027
Células progenitoras neurales	6,913,925
Células precursoras restringidas en neuronas del sistema nervioso central	6,787,353
Células progenitoras de neuronas del mesencéfalo ventral	5,411,883
Células madre de cresta neural	5,589,376
Células multipotentes de cresta neural que contienen proteína RET	6,890,724
Células progenitoras de neutrófilos	5,955,357
Células progenitoras pancreáticas	6,436,704
Células progenitoras de las isletas pancreáticas que expresan ErbB2	6,753,153
Células pluripotentes	5,914,268
Células pluripotentes transformadas con un gen HOX11	5,874,301
Células progenitoras de sangre periférica	5,541,103
Células madre renales	6,410,320
Células madre renales	6,458,588
Células madre retinales	6,117,675

Tipo de célula	Número de patente
Células progenitoras esqueléticas	6,517,872
Células madre FGFR ⁺ , no células ES	6,767,737
Células madre que dan origen a células hemáticas CD34 ⁻ , MHC-1 ⁻ , MHYC-II ⁻	5,744,347
Células progenitoras de linaje T CD8 ^{int} , CD4 ^{int} , c-kit ^{hi} , bcl-2 alta; CD8 ^{lo} , CD4 ^{lo} , c-kit ^{hi} , bcl-2 alta	5,821,108
Células precursoras de linfocitos T CD34 ⁺ , CD7 ⁺ , Leu 8 ⁺	5,622,853

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden células hES y/o sus derivados, las células madre están libres de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales complementarios, suplementos de aminoácidos, suplementos vitamínicos, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y medios acondicionados, para usarse en el tratamiento clínico de enfermedades, condiciones o trastornos actualmente incurables o terminales. En otra modalidad, la invención se refiere a un método de tratamiento de condiciones actualmente incurables o terminales usando

células hES y/o sus derivados mediante un protocolo de trasplante.

La frase "libre de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinación de minerales complementarios, suplementos de aminoácidos, suplementos vitamínicos, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana y medios acondicionados" no excluye las cantidades residuales de progestina y agonista de β hCG que pudieran estar presentes en la composición farmacéutica como resultado de los métodos de cultivo de la presente invención. El término "productos animales" se refiere a cualquier producto no humano.

En otra modalidad, el proceso de esta invención proporciona un método simple, seguro, ampliamente aplicable, reproducible y eficiente para el trasplante de una composición farmacéutica, que comprende células hES y/o sus derivados en una forma lista para usar y que está libre de células alimentadoras y cualquier otro contaminante. Estas células pueden derivarse de cualquier metodología de cultivo y trasplantarse en el cuerpo humano sin importar el antecedente genético del paciente, edad, raza y género y sin reacción anticuerpo-antígeno o rechazo de injerto-huésped, sin la formación de teratomas o tumores, u otros efectos secundarios debilitantes, sin el resultado de enervaciones

aberrantes y sin la necesidad de administración de inmunosupresores para el tratamiento de una variedad de enfermedades, condiciones y trastornos.

En contraste con otros métodos conocidos, las
5 células hES usadas en la preparación de las composiciones farmacéuticas de la presente invención se cultivan en un medio de cultivo que está libre de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales
10 complementarias, suplementos de aminoácidos, suplementos vitamínicos, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y medios acondicionados, y por lo tanto no tienen ninguna clase de contaminación que pudiera interferir con la seguridad y
15 eficacia del uso clínico deseado.

De acuerdo con la práctica de la invención, las células hES y/o sus derivados se introduce en el cuerpo humano mediante inyección intramuscular, intravenosa, caudal, intravítrea, intraestratíal, intraparenquimal, intratecal,
20 epidural, retrobulbar, subcutánea, oral, intracardiaca, intracística, intra-articular o intratecal o catéter epidural, catéter de bloque subaracnoide, infusión intravenosa, mediante nebulizador, mediante aspersión, mediante rutas intravaginales y/o mediante gotas locales para
25 ojos y oídos. En otra modalidad, las células hES y/o sus

derivados se administran tópica o intralesionalmente.

5 Cada ruta de administración usa un volumen de inyección particular y por lo tanto una escala específica de células a partir de las soluciones de abastecimiento de células hES y/o sus derivados según se indica en la tabla 1. Cuando tipos de células son indicados (por ejemplo, en las

10 tablas de programa de inyección abajo), el tipo de célula indicado es el tipo que está presente predominantemente en la población de células.

Tabla 1

Ruta de administración	Volumen	Número de células
Intramuscular	0.25 ml	750,000-1.5 millones
Intravenosa	0.25 ml	750,000-1.5 millones
Subcutánea	0.25 ml	750,000-1.5 millones
Caudal	2 ml	6-16 millones
Epidural	2 ml	6-16 millones
Intratecal	2 ml	6-16 millones

Ruta de administración	Volumen	Número de células
Intra-articular	2 ml	6-16 millones
Retrobulbar	2 ml	6-16 millones
Catéter epidural	4-5 ml	12-40 millones
Infusión intravenosa	0.75 ml	2.25-4.5 millones
Nebulizador	2 ml	6-16 millones
Intravaginal	2 ml	6-16 millones

Entre el laboratorio y el punto de uso final, ya sea en una clínica o cualquier otro lado, las composiciones farmacéuticas deben mantenerse bajo almacenamiento en frío.

5 En una modalidad, las composiciones farmacéuticas se almacenan a aproximadamente +4 a alrededor de -160°C. En otra modalidad, las composiciones farmacéuticas se almacenan a alrededor de -15 a aproximadamente -72°C, por ejemplo, a alrededor de -20 a aproximadamente -40°C.

10 En una modalidad, las células hES usadas en la presente invención se aíslan de un embrión vacío, descartado de un ciclo de fertilización *in vitro* natural y donado a través de consentimiento informado. En una modalidad alternativa, se usan en la presente invención células madre
15 fetales pluripotentes, tales como aquellas descritas en la

solicitud publicada de E.U.A. No. 2005/0124003 aisladas de vello coriónico, fluido amniótico y/o placenta.

Esta invención proporciona un método para el tratamiento de una variedad de enfermedades, condiciones y trastornos incluyendo pero no limitadas a cáncer, apoplejía, trastornos genéticos, trastornos hepáticos, trastornos del sistema nervioso, trastornos vasculares, enfermedades o trastornos de la piel, trastornos autoinmunes, trastornos oculares, trastornos renales, trastornos cardiacos, trastornos musculoesqueléticos, trastornos reproductivos y de fertilidad y artritis usando células hES y/o sus derivados.

Ejemplos no limitativos de cánceres que pueden tratarse de acuerdo con la presente invención incluyen tumor de médula espinal, cáncer de mama, cáncer de próstata, linfoma, cáncer de piel, cáncer pancreático, cáncer de colon, melanoma, melanoma maligno, cáncer ovárico, cáncer cerebral, carcinoma cerebral primario, cáncer de cabeza y cuello, glioma, glioblastoma, cáncer hepático, cáncer de vejiga, cáncer pulmonar de células no pequeñas, carcinoma de cabeza o cuello, carcinoma de mama, carcinoma ovárico, cáncer cervical, lesiones metastásicas, carcinoma pulmonar, carcinoma pulmonar de células pequeñas, tumor de Wilm, carcinoma cervical, carcinoma testicular, carcinoma de vejiga, carcinoma pancreático, carcinoma de estómago, carcinoma de colon, carcinoma prostático, carcinoma

genitourinario, carcinoma de tiroides, carcinoma esofágico, mieloma, mieloma múltiple, carcinoma adrenal, carcinoma de células renales, carcinoma endometrial, carcinoma de corteza adrenal, insulinoma pancreático maligno, carcinoma carcinoide maligno, coriocarcinoma, hipercalcemia maligna, hiperplasia cervical, leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia granulocítica crónica, leucemia granulocítica aguda, leucemia de células pilosas, neuroblastoma, rabdomiosarcoma, sarcoma de Kaposi, vera policitemia, trombocitosis esencial, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, sarcoma de tejidos blandos, sarcoma osteogénico, macroglobulinemia primaria y retinoblastoma.

En una modalidad, las células hES no son tratadas con un agente de diferenciación ya que, al ser embrionarias, las células están programadas, y una vez administradas al sujeto, las células migran al sitio de la lesión. En ese sitio, las células se diferencian en respuesta a señales de diferenciación *in vivo*. En el sitio de la lesión, las células hES y sus derivados no proliferan indefinidamente, requiriendo entonces de un programa de inyecciones repetidas. El hecho de que las células hES y sus derivados no proliferen indefinidamente elimina la posibilidad de tumorigenicidad y formación de teratomas.

Después del tratamiento con células hES y/o sus

derivados de acuerdo con la práctica de la presente invención, el paciente debe descansar y adoptar un estricto régimen de abstinencia de consumo de cualquier sustancia tal como alcohol o tabaco que pudiera deteriorar la función celular e impedir los procesos de regeneración desencadenados por la migración de las células hES y sus derivados al sitio de la lesión. El paciente debe evitar también tomar cualquier medicamento que se sepa sea dañino durante el embarazo, ya que los medicamentos pueden tener efectos adversos en las células transplantadas.

Uso de células hES y sus derivados en el tratamiento de SCI

Actualmente no existen curas efectivas para el tratamiento de SCI incluyendo Daño a Médula Espinal Agudo, Daño a Médula Espinal Subagudo o Daño a Médula Espinal Crónico, lo cual frecuentemente da como resultado paraplejía, tetraplejía y cuadriplejía. El trasplante de células hES para el tratamiento de pacientes de SCI presenta una oportunidad única para resolver una necesidad médica no satisfecha y mejora dramáticamente las vidas de los millones de personas a nivel mundial quienes sufren las consecuencias de SCI. El volver a tener las funciones perdidas de los sistemas nerviosos central y autonómico a través del trasplante de células hES y sus derivados en un estado sustancialmente progenitor permitirá la recuperación de vías

parasimpáticas, simpáticas, motoras, autonómicas y sensoriales a través del reemplazo de la función de células perdidas, regeneración de células neurales perdidas, remoción de barreras físicas tales como tejido cicatricial, bloqueo de vías de señalización inhibitoras y la liberación de factores neurotróficos de los progenitores de células hES transplantadas.

Entre los beneficios de restablecimiento de una función neurológica a través del trasplante de células hES de acuerdo con la práctica de la presente invención están: una mejora en la función motora y sensorial, la calidad de vida en general, reducción en el sistema de soporte proporcionado generalmente por parientes, la reducción en la dependencia en otras composiciones farmacéuticas y otros dispositivos y auxiliares médicos, mejora en el estado mental y psicológico y también en independencia económica. Existe también una reducción en los costos de equipo médico y auxiliares de discapacidad y dependencia a medicamentos a través de una recuperación de las funciones parasimpáticas, simpáticas, sensoriales y motoras. Existe un incremento en autosuficiencia, mejora en estado social, estado marital y capacidad de ejercer derechos reproductivos, sólo con un número limitado de visitas clínicas al año para tratamiento. El tratamiento mediante la administración de células hES y sus derivados de acuerdo con la presente invención no lleva a

problemas de antigenicidad, formación de tumores, formación de teratomas o conexiones neurales aberrantes.

Asimismo, la administración de células hES y sus derivados especialmente para sujetos con SCI resulta en la
5 cura de úlceras por decúbito, reducción en su necesidad por hipertensos o antidepresivos, restablecimiento de sensación y control de la vejiga, restablecimiento de la sensación intestinal y sensación de dolor y tacto, restablecimiento de reflejos perdidos; reducción en síntomas de sudoración fría;
10 reducción en la sensación de mareo; normalización de la presión sanguínea y normalización de la respiración con implicación diafragmática completa.

Un procedimiento para la administración de las células hES a pacientes que sufren de Daño en Médula Espinal
15 Sub-Agudo, o Daño en Médula Espinal Crónico y para quienes mecanismos de recuperación naturales han fallado se da en detalle a continuación. Un procedimiento diferente para el tratamiento de SCI aguda es un tratamiento de primera línea dentro de los tres meses de la lesión de acuerdo con la
20 práctica de la presente invención también es provisto en detalle abajo.

La dosis terapéuticamente efectiva, el programa de administración y ruta de administración de células hES que se administrará depende principalmente de tres factores; en
25 particular tipo de trastorno, estado clínico del paciente y

la severidad de los síntomas presentes. Durante la práctica de la presente invención se ha encontrado que las dosis y programas terapéuticamente efectivos no dependen de la edad, género, peso corporal o raza. El protocolo para cada

5 paciente se establece individualmente con base en un proceso de evaluación continua del paciente.

En una modalidad de la práctica de la presente invención, una composición farmacéutica que contiene células hES y/o sus derivados se administra a un sujeto que sufre de

10 un trastorno actualmente incurable o condición Terminal u otro trastorno clínico como el mencionado arriba a través de una serie de inyecciones para de esta manera tratar el trastorno.

Varias modalidades para el tratamiento de

15 trastornos clínicos y condiciones terminales de acuerdo con la presente invención se describirán ahora con referencia a los siguientes ejemplos.

Tratamiento, dosis, programa, rutas de

20 administración, evaluación y seguimiento de pacientes que
sufren de SCI

En una modalidad, células hES y/o sus derivados se administran a un sujeto que ha sufrido de un SCI por más de tres meses (SCI Sub Aguda y Crónica) a través de una serie de

25 inyecciones para tratar el trastorno. En otra modalidad, los

derivados de hES son células madre progenitoras hematopoyéticas. En otra modalidad, los derivados de hES son células madre progenitoras neuronales.

5 **Dosis de prueba**

En una modalidad, aproximadamente 750,000 a alrededor de 80 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden células madre progenitoras hematopoyéticas y células madre progenitoras neuronales, diluidas en solución salina normal estéril hasta un volumen final de aproximadamente 0.25 a alrededor de 0.1 ml se prueban para contaminación y viabilidad y para conteo usando protocolos estándares y posteriormente se administran mediante inyección subcutánea como una dosis de prueba en el antebrazo. Se hacen observaciones para analizar si existe hecho anafiláctico, dolor e inflamación en el sitio de la inyección, comezón generalizada, salpullido o fiebre después de cinco minutos, diez minutos, quince minutos, treinta minutos, una hora y veinticuatro horas. En una modalidad, la proporción de células hES a células madre progenitoras hematopoyéticas y células madre progenitoras neuronales varía de alrededor de 4:1 a aproximadamente 1:4. En otra modalidad, la proporción es de aproximadamente 1:1.

25 **Dosis inicial**

El protocolo implica la administración de una inyección inicial subcutánea, intramuscular y/o intravenosa de una composición farmacéutica que contiene aproximadamente 750,000 a alrededor de 80 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden células madre progenitoras hematopoyéticas y células madre progenitoras neuronales, resuspendidas en un volumen de aproximadamente 0.25 ml a alrededor de 1.0 ml de solución salina normal estéril. La inyección inicial se administra a través de una inyección de una composición farmacéutica que contiene el mismo número de células hES y sus derivados diariamente durante una semana a 10 días.

Inyección epidural y catéter epidural

Aproximadamente 750,000 a 80 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden células madre progenitoras neuronales, suspendidas en un volumen de 2 ml de solución salina estéril normal y diluidas más a 5 ml a 40 ml de solución salina estéril normal se administran mediante inyección epidural o catéter epidural sobre o debajo del sitio de la lesión dos veces al día durante un periodo de tres días consecutivos, siete a diez días después de la primera inyección inicial. La administración por inyección epidural/catéter epidural se repite sobre o debajo del sitio de la lesión de acuerdo con

el progreso clínico en el desarrollo de síntomas presentados por el paciente y la opinión del médico. Se ha observado también que si el paciente se hace reposar sobre su espalda después de la inyección epidural, una mejora sensorial es sustancial y si se le hace apoyarse boca abajo, la mejora motora es sustancial. En ambos casos, el paciente tiene que tener las piernas mantenidas en una posición elevada.

Intratecal

Aproximadamente 750,000 a 11 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales, suspendidas en 2 ml de solución salina estéril normal y diluidas más por 2 ml de solución salina estéril normal hasta un volumen total de 4 ml se administran mediante inyección intratecal sobre o debajo del sitio de lesión en periodos de dos, cinco, ocho, doce, diecisiete y veintidós meses después del inicio de las inyecciones iniciales.

En una modalidad, el tratamiento de SCI se continúa mediante la administración de células por inyección epidural con un catéter sobre o debajo del sitio de la lesión, por ejemplo, quince días después de la lesión. En una modalidad, una suspensión de aproximadamente 750,000 a 80 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales, en un

volumen de 2 ml de solución salina estéril normal y luego se diluye más a 15 ml a 40 ml de solución salina estéril normal son inyectados. Este tratamiento puede repetirse uno y medio meses más tarde.

5

Inyección espinal profunda

De acuerdo con el progreso observado en la inversión de los síntomas, inyecciones de refuerzo adicionales de la composición farmacéutica pueden administrarse que comprendan aproximadamente 750,000 a alrededor de 80 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden tanto células madre hematopoyéticas como células madre progenitoras neuronales, suspendidas en un volumen de 0.25 ml a 1.0 ml de solución salina estéril normal. En una modalidad, la composición farmacéutica se administra mediante inyección espinal profunda en la parte posterior de la espina semanalmente o una semana sí y otra no. Este tratamiento reforzará los músculos de la espalda e incrementará la rehabilitación física una vez que el paciente haya vuelto a obtener movilidad.

10

15

20

Inyección caudal

De acuerdo con la práctica de la presente invención, una composición farmacéutica de aproximadamente

25

750,000 a alrededor de 80 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales, resuspendidas en 2 ml de solución salina y diluidas en 10 ml sola o en combinación con hasta 20
5 ml de DEPOMEDROL (acetato de metilprednisolona) se administra mediante inyección caudal. Este tratamiento reforzará los músculos de la región lumbar y permitirá volver a obtener potencia sensorial y motora en las áreas lumbares y sacras.

Además de trasplante continuo de células hES, la
10 recuperación del paciente es auxiliada por fisioterapia diaria y una re-educación en su uso de la función motora perdida e instrucción para mantener un estilo de vida saludable que promueva la función celular y procesos de regeneración celular.

15

Administración local

Además del tratamiento directo de SCI usando células hES y/o sus derivados de acuerdo con la práctica de la presente invención, las úlceras por decúbito que se
20 originan como resultado de inmovilización a largo plazo del paciente pueden ser tratadas rápidamente y en forma efectiva a través de la aplicación tópica de una composición farmacéutica que contenga células hES y/o sus derivados.

El tratamiento de las úlceras por decúbito puede
25 lograrse mediante la aplicación tópica de una composición

farmacéutica que contenga aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden células progenitoras hematopoyéticas. Dosis de carga o iniciales se dan mediante inyección intravenosa e intramuscular para permitir un sanado interno así como para promover neovascularización. Como alternativa, las células hES y sus derivados son resuspendidas en 2 ml de solución salina, diluidas con 2 a 4 ml de solución salina y aplicadas intralesionalmente.

10

Infusión intravenosa

De acuerdo con la práctica de la presente invención, una composición farmacéutica que comprende 750,000 a 80 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden células progenitoras hematopoyéticas y neuronales, es resuspendida en 100 ml de solución salina normal y administrada mediante la ruta intravenosa. Este tratamiento asegura un flujo continuo de células madre en el cuerpo y puede ser especialmente útil si las otras rutas directas no son accesibles debido a cualquier razón, por ejemplo, una úlcera por decúbito en el sitio, el paciente muy debilitado, etc.

15

20

Protocolo para el tratamiento de SCI Aguda

Una rápida intervención en el tratamiento de SCI aguda incrementa ampliamente las probabilidades de

25

supervivencia para el paciente. Además, la rápida intervención en el tratamiento de cualquier enfermedad, condición o trastorno incurable a través de la práctica de la presente invención incrementa las probabilidades de recuperación. En una modalidad más de la presente invención, pacientes que sufren de SCI aguda durante menos de tres meses después de la lesión espinal también pueden ser tratados exitosamente como se describe en detalle abajo. Una composición farmacéutica de células hES y/o sus derivados junto con una fisioterapia efectiva, rehabilitación y programa de re-educación de acuerdo con la práctica de la presente invención es una primera línea de tratamiento efectiva para SCI aguda.

El tratamiento de SCI aguda comprende todas las etapas usadas para el tratamiento de SCI Sub-Aguda y Crónica más dos etapas adicionales. Durante la intervención inicial para la SCI inmediatamente después de que ocurre la lesión (por ejemplo, cirugía), células hES y/o sus derivados se administran directamente al sitio de la lesión. El tratamiento de seguimiento comprende dos inyecciones intratecales y una inyección epidural dentro de tres meses de la lesión.

Evaluación clínica y observaciones

Para pacientes que hayan perdido la función motora en sus piernas durante un periodo de tiempo extendido,

mientras sean tratados de acuerdo con la presente invención, los programas para su re-educación para caminar y otra terapia física deben implementarse al regresar la función motora a sus piernas. Como una primera etapa en estos programas, el uso de andaderas y calibres ha probado ser efectivo en la re-educación. Un programa adicional de la muscularización de los brazos y cuerpo superior debe implementarse para que el paciente sea capaz de soportar su peso corporal sin ayuda al caminar. Los programas de re-educación pueden reducirse al continuar el tratamiento y mejorar la condición del paciente.

Además de la reducción en la necesidad de un soporte por dispositivos médicos y terapia física, debido a mejoras en los síntomas simpáticos y parasimpáticos del paciente, a través del tratamiento de acuerdo con la práctica de la presente invención, existe una reducción en el requerimiento de medicamentos, incluyendo medicamentos para la fluctuación de la presión sanguínea, medicamentos contra la depresión, medicamentos para úlceras por decúbito, medicación y dispositivos médicos para complicaciones intestinales y de vejiga, medicamentos antiespasmódicos y bombas.

Además de una reducción en la necesidad de medicamentos para el tratamiento de los síntomas directa o indirectamente asociados con la SCI, se observa que los

diabéticos con SCI y tratados de acuerdo con la presente invención muestran una reducción en la necesidad de sus medicamentos anti-diabéticos.

5 Una evaluación clínica de la progresión en la mejora de los síntomas presentados por el paciente que sufre de SCI y tratado de acuerdo con la presente invención se monitorea regularmente durante el curso del tratamiento y después de la revisión. Un número de parámetros fisiológicos, simpáticos, parasimpáticos, motores,
10 autonómicos y fisiológicos se evalúan para de esta manera establecer la eficacia de la técnica para invertir los síntomas de SCI y éstos se describen en detalle abajo.

Se hace un examen de los registros médicos referentes, incluyendo descripción de síntomas, sitio de
15 categorización de lesión, progresión de síntomas, intervenciones clínicas, tratamientos e historial general de la lesión. Con base en este examen y una cuidadosa auscultación del paciente, incluyendo un escaneo de Imágenes de Resonancia Magnética (MRI), Electromiografía
20 (EMG), Velocidad de Conducción Nerviosa (NCV) y otros exámenes neurológicos e investigaciones que incluyen examen neurológico para evaluar el grado de daño y para obtener un registro de la lesión antes del tratamiento, metodologías para la descripción semi-cuantitativa de mejoras después del
25 trasplante de acuerdo con las prácticas de la presente

invención se hacen y se describen en detalle abajo.

Se registran parámetros simpáticos y bienestar neurológico incluyendo el estado mental del paciente, ya sea deprimido o de otra manera, características de comportamiento, función de nervio craneal y comportamiento generales como parte de una evaluación fisiológica.

Una evaluación de signos y síntomas ligados al daño neurológico en el sitio de la lesión y funcionamiento del sistema nervioso autónomo se hace. Esto incluye un examen neurológico, que prueba la capacidad para detectar presión profunda, sentido del tacto, sensibilidad, equilibrio, capacidad para detectar dolor, capacidad para sentir cambios de temperatura, movimientos involuntarios, presencia de sudor frío, mareo, presión sanguínea, dificultad para respirar, postura anormal mientras se está acostado y capacidad para sentarse sin ayuda.

Se hace una evaluación de la función de la vejiga e intestinal. Esto incluye control de vejiga, chorro de vejiga y sensación de llenura en la vejiga, control de intestinos, tiempo para evacuación del intestino y sensación en el intestino.

Se hace una evaluación de la función motora del cuerpo superior para evaluar el grado de daño al sistema nervioso central. Esto incluye movimiento de hombros, movimiento de muñeca y dedos, reflejos de tendones y fuerza

de movimiento de extremidades, atrofia muscular y agarre manual.

Se hace una evaluación de la función motora del cuerpo inferior para evaluar el grado de daño al sistema nervioso central. Esto incluye movimiento de caderas, movimiento de rodillas, movimiento de pies, reflejos de tendones y fuerzas de las extremidades, atrofia muscular y respuesta plantar. También se lleva a cabo un examen neurológico detallado a intervalos regulares durante el tratamiento para monitorear así el progreso de enervación de extremidades.

Para ayudar a la recuperación del paciente durante el curso de visitas clínicas, las técnicas de terapia física estándares se usan para de esta manera tonificar al paciente al regresar la función motora, de tal manera que pueda recuperar el uso de sus extremidades y articulaciones y se haga más móvil.

La prueba de regeneración neural es demostrada por el restablecimiento de función neurológica y evaluación neurológica. Ejemplos para el protocolo de tratamiento de SCI han sido proporcionados en estudios de casos en la presente solicitud.

Tratamiento de trastornos de desarrollo del sistema nervioso

Las células hES y/o sus derivados de acuerdo con la práctica de la presente invención se administran en una

cantidad de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células para el tratamiento de trastornos de desarrollo tales como autismo y retraso mental. En otra modalidad, aproximadamente 750,000 a alrededor de 80 millones

5 de células se administran mediante rutas intramusculares o intravenosas después de una dosis de prueba. También se puede usar la ruta intratecal. En una modalidad más, se puede usar también trasplante intracraneal. Las células hES y/o sus derivados son células progenitoras predominantemente

10 neuronales. En otra modalidad, células progenitoras hematopoyéticas y neuronales se administran mediante rutas intramuscular o intravenosa. Este tratamiento continúa durante un periodo de un año empezando con inyecciones diarias mediante rutas intramuscular o intravenosa durante un

15 periodo de 3 meses. Después las mismas inyecciones continúan una vez a la semana durante los siguientes 3-6 meses y luego una vez cada quince días durante los siguientes 3 meses y después una vez al mes de acuerdo con las observaciones del médico. La inyección intratecal está incluida en el

20 protocolo sólo 6-8 meses después del inicio del tratamiento y entonces también sólo si el paciente no está mostrando respuesta a las inyecciones intramusculares e intravenosas. En otra modalidad de la presente invención, 750,000 a 80 millones de células hES y/o sus derivados se resuspenden en

25 100 ml de solución salina normal y se administran mediante

infusión intravenosa.

Ejemplo 1

Un paciente diagnosticado con autismo que tiene
5 temblores de aleteo, estado hiperactivo, sin habilidades
sociales, sin contacto visual, movimientos erráticos,
incapacidad para seguir instrucciones, sin disposición a
aprender, mostró una mejora después de la administración de
una composición farmacéutica que comprendía células hES y sus
10 derivados incluyendo progenitores de células madre neuronales
y progenitores de células madre hematopoyéticas.

El programa de inyecciones para este paciente se
muestra en la Tabla 2. para esta tabla y todas las tablas
consiguientes con respecto a programas de inyección, el
15 indicador de tipo de célula "neuronal" se refiere a una
población celular de células hES que han sido parcialmente
diferenciadas en un medio (por ejemplo, DMEM) que promueve
diferenciación para células madre progenitoras neurales. La
población de células comprende células hES y células madre
20 que son predominantemente células madre progenitoras
neuronales. El indicador "no neuronal" se refiere a una
población de células de células hES que han sido parcialmente
diferenciadas en un medio (por ejemplo, DMEM) que promueve
diferenciación para células madre progenitoras diferentes de
25 las células madre progenitoras neuronales. La población de

5
10
15
20
25

Tabla 2

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
3/13	dosis de prueba	no neuronal
3/14	im	neuronal
3/16	im	neuronal
3/17	im	neuronal
3/18	im	neuronal
3/20	im	neuronal
3/21	im	neuronal
3/22	im	neuronal
3/23	im	no neuronal
3/24	im	neuronal
3/27	im	neuronal
3/28	im	no neuronal
3/29	im	no neuronal
3/30	im	no neuronal
3/31	im	neuronal
4/3	im	neuronal
4/4	im	neuronal
4/5	im	neuronal
4/6	im	neuronal
4/7	im	neuronal
4/11	im	neuronal
4/12	im	neuronal
4/13	im	neuronal
4/14	im	neuronal
4/17	iv	neuronal
4/19	im	neuronal
4/21	iv	neuronal
4/24	im	neuronal

4/25	im	neuronal
4/28	iv	neuronal
5/1	iv	neuronal
5/3	iv	neuronal
5/5	im	neuronal
5/8	iv	neuronal
5/10	im	neuronal
5/12	im	neuronal
5/15	iv	neuronal
5/17	im	neuronal
5/29	im	neuronal
5/31	iv	neuronal
6/2	iv	no neuronal
6/5	im	neuronal
6/7	iv	neuronal
6/9	iv	no neuronal
6/12	iv	neuronal
6/14	infusión iv	neuronal
6/16	im	neuronal
6/19	im	no neuronal
6/21	im	neuronal
6/23	iv	neuronal
7/3	iv	neuronal
7/5	infusión iv	neuronal
7/7	im	no neuronal
7/10	im	no neuronal
7/12	im	neuronal
7/14	im	neuronal
7/17	infusión iv x 2	neuronal
7/18	im	no neuronal
7/20	im	no neuronal
7/24	im	no neuronal
7/28	im	no neuronal
7/31	im	no neuronal
8/2	im	no neuronal
8/4	im	no neuronal
8/7	im	no neuronal
8/10	im	no neuronal
8/11	im	no neuronal
8/14	im	no neuronal
8/18	im	no neuronal
8/21	im	neuronal
8/23	im	no neuronal
8/28	im	no neuronal
8/30	im	no neuronal
9/1	im	no neuronal
9/4	im	no neuronal

Tratamiento de Trastornos degenerativos del sistema nervioso

Las células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales y progenitores de células madre hematopoyéticas de acuerdo con la práctica de la presente invención, son administradas en una cantidad de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células para el tratamiento de trastornos degenerativos del sistema nervioso que incluyen pero no están limitados a degeneración cortico-basal, atrofia cerebelar olivo ponto, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, demencia, atrofia del nervio de audición y enfermedad de neurona motora. En otra modalidad, se administran aproximadamente de 750,000 a alrededor de 80 millones células.

Ya que los protocolos de administración pueden variarse para adecuarse al paciente particular, un protocolo típico para el tratamiento de trastornos degenerativos del sistema nervioso en niños comprende inyecciones intramusculares e intravenosas diarias en el primer mes, inyecciones tres veces por semana durante los meses 2-4, inyecciones semanales en los meses 5 y 6 e inyecciones de refuerzo semanales en los meses 9-12. Para adultos un protocolo típico incluye inyecciones intramusculares e intravenosas diarias junto con administración mediante

catéter epidural, punción lumbar, rutas intratecal o caudal. Esto seguido por dos infusiones intravenosas con un espacio mínimo de por lo menos 7 días. Finalmente, se administran inyecciones de refuerzo una vez al mes durante 6 meses y
5 después una vez cada 2 meses por al menos 6 meses. El tratamiento puede continuarse durante periodos largos e incluso puede ser de por vida toda vez que las enfermedades sean progresivas.

En el caso de trastornos progresivos y
10 degenerativos, la detención o estabilización de la progresión de la enfermedad a través de intervención rápida de conformidad con la práctica de la presente invención permite una autodependencia incrementada del paciente. Sólo después del efecto de estabilización se pueden observar algunas
15 mejoras.

Ejemplo 2

Un paciente que sufre de un historial de dos años de esclerosis múltiple progresiva repetitiva que toma
20 SOLUMEDROL (metilprednisolona) diaria no fue capaz de caminar, no tiene control de vejiga o intestino y sufrió de trastornos respiratorios frecuentemente.

De conformidad con el tratamiento de acuerdo con la presente invención, la condición del sujeto mejoró, el
25 paciente fue capaz de caminar y existió un restablecimiento

del control de vejiga e intestino y el uso de SOLUMEDROL se redujo. El MRI ha mostrado un 50% de mejora.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la Tabla 3.

5

Tabla 3

10

15

20

25

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
7/15	dosis de prueba	neuronal
7/25	im	neuronal
7/26	im	neuronal
7/27	im	no neuronal
7/28	im	neuronal
7/29	im	neuronal
8/1	im	neuronal
8/2	im	neuronal
8/3	im	neuronal
8/4	im x 2	neuronal
8/5	im x 2	neuronal
8/9	im x 2	neuronal
8/10	im x 2	neuronal
8/11	im	neuronal
8/12	im x 2	neuronal
8/16	iv im	neuronal
8/22	im x 4	hES
8/24	iv im	neuronal
9/2	iv	neuronal
9/8	im	neuronal
9/15	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/19	iv	neuronal
9/22	im	neuronal
9/26	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/29	im	mezcla neuronal y no neuronal
10/3	im	mezcla neuronal y no neuronal
10/6	im	no neuronal
10/13	iv	mezcla neuronal y no neuronal
10/17	im	mezcla neuronal y no neuronal
10/20	iv	neuronal
10/24	iv	mezcla neuronal y no neuronal
10/31	iv	mezcla neuronal y no neuronal
11/3	iv im	mezcla neuronal y no neuronal
11/7	im	no neuronal

5

10

15

20

25

11/21	iv	no neuronal
11/24	im	no neuronal
1/19	im x 2	no neuronal neuronal
1/25	im x 2	neuronal
2/2	im iv	no neuronal neuronal
2/15	im x 2 iv	neuronal no neuronal
2/23	im x 2 iv	neuronal no neuronal
3/2	im x 2 iv	neuronal no neuronal
3/8	im x 2 iv	no neuronal
3/16	im x 2 iv	neuronal no neuronal
5/2	im x 2	no neuronal
5/12	im x 2 iv	neuronal no neuronal
6/8	im x 2 iv	neuronal no neuronal
6/16	im x 2 iv	neuronal no neuronal
7/3	im	neuronal
7/4	im	neuronal
7/5	im	neuronal
7/6	im	neuronal
7/7	im	neuronal
7/18	im x 2 iv	neuronal no neuronal
7/22	im x 2 iv	neuronal no neuronal
7/24	im x 2 iv	neuronal no neuronal
8/1	im x 2 iv	no neuronal
8/4	im x 2 iv	no neuronal
8/7	im x 2 iv	no neuronal
8/24	im x 2 iv	no neuronal
8/28	im x 2 iv	no neuronal
9/2	im x 2 iv	no neuronal
9/6	im x 2 iv	no neuronal
9/9	im x 2 iv	no neuronal

Ejemplo 3

Un hombre de 60 años de edad presentado con ALS (enfermedad de neurona motora) dos años atrás con deterioración rápida en sus brazos y manos. Existieron espasmos continuos y fasciculaciones en sus brazos, manos y lengua. No podía rotar y poner boca abajo el brazo izquierdo o elevarlo arriba de su cabeza. Su brazo derecho podía ser elevado con un reflejo y tenía manos esqueléticas.

Año y medio después del tratamiento, sus manos se habían recuperado del marco esquelético con regeneración de músculos hipotocar y tenar de ambas manos. La supinación y pronación son posibles con ambos brazos. Tuvo la misma dificultada para tragar, la cual no ha empeorado desde entonces. No existe deterioro con sus piernas, respiración y habla.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 4.

Tabla 4

5

10

15

20

25

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
8/2	im	neuronal (dosis de prueba)
8/4	im	neuronal no neuronal
8/5	im	neuronal
8/8	im	neuronal
8/9	im	neuronal
8/10	im	neuronal
8/11	im	neuronal
8/12	im	neuronal
8/16	im	neuronal
8/17	im	hES
8/22	im	neuronal
8/23	im	neuronal
8/24	im x 3	no neuronal
8/25	im x 3	no neuronal
8/26	im	neuronal
8/29	im	neuronal
8/31	im iv	neuronal
9/2	im	neuronal
9/5	im iv	neuronal
9/7	im	neuronal
9/9	im	neuronal

5

10

15

20

25

	iv	mezclado
9/12	im iv	neuronal no neuronal
9/13	im iv	neuronal no neuronal
9/16	im	mezclado
9/19	im iv	neuronal mezclado
9/22	iv	neuronal
9/23	im iv	neuronal no neuronal
9/26	im	mezclado
9/27	im	mezclado
9/28	im iv	neuronal no neuronal
9/30	im iv	mezclado no neuronal
10/3	iv	mezclado
10/7	im	no neuronal
10/10	iv	neuronal
10/12	iv	mezclado
10/17	im iv	neuronal mezclado
10/20	epidural	neuronal
10/21	iv	neuronal
10/24	iv	mezclado
10/27	iv	neuronal
10/28	iv	mezclado
10/31	iv	mezclado
11/2	iv	mezclado
11/3	epidural	neuronal
11/4	iv	mezclado
11/7	im	no neuronal
11/9	im	no neuronal
11/11	im	neuronal
11/14	im	neuronal
11/17	im	no neuronal
11/21	im	no neuronal
11/23	im	no neuronal
12/13	im	no neuronal
12/19	im	neuronal
12/21	im	neuronal
12/23	im	neuronal
12/29	im	neuronal
1/3	im	neuronal
1/9	im	neuronal
1/12	im	neuronal
1/13	iv	no neuronal
1/16	iv	neuronal

5

10

15

20

25

1/19	im iv	neuronal no neuronal
1/23	epidural	neuronal
1/27	im iv	neuronal no neuronal
1/29	im iv	neuronal no neuronal
2/1	iv	neuronal
2/3	im iv	neuronal no neuronal
2/6	im iv	neuronal no neuronal
2/8	iv	no neuronal
2/10	iv	no neuronal
2/13	iv	no neuronal
2/15	iv	no neuronal
2/17	im iv	neuronal no neuronal
2/20	im iv	neuronal no neuronal
2/22	im iv	neuronal no neuronal
2/24	im iv	neuronal no neuronal
2/27	iv oral spray	neuronal no neuronal
3/1	im iv	neuronal no neuronal
3/6	iv	no neuronal
3/8	epidural	neuronal
3/9	epidural	neuronal
3/10	epidural	neuronal
3/11	iv	neuronal
3/22	im	no neuronal
3/24	im	no neuronal
3/27	iv	no neuronal
3/29	im iv	no neuronal
3/31	im aspersión oral	neuronal no neuronal
4/3	im iv	neuronal no neuronal
4/5	im iv	neuronal no neuronal
4/7	im iv	neuronal no neuronal
4/10	im iv	neuronal no neuronal
4/12	im	neuronal

5

10

15

20

25

	iv	no neuronal
4/19	epidural	neuronal
4/24	iv	neuronal
4/26	iv	no neuronal
4/28	im	neuronal
	iv	no neuronal
5/2	im	no neuronal
5/3	im	neuronal
5/5	im	neuronal
	iv	no neuronal
5/8	iv	no neuronal
5/11	infusión intravenosa	neuronal
5/12	im	no neuronal
5/14	im	neuronal
	iv	no neuronal
5/15	im	neuronal
	iv	no neuronal
5/16	im	neuronal
	iv	no neuronal
5/17	im	neuronal
	iv	no neuronal
5/19	im	neuronal
	iv	no neuronal
5/22	im	neuronal
	iv	no neuronal
5/24	im	neuronal
	iv	no neuronal
5/26	im	neuronal
	iv	no neuronal
5/29	im	neuronal
	iv	no neuronal
6/1	im	neuronal
	iv	no neuronal
6/2	im	neuronal
	iv	no neuronal
6/5	catéter epidural	neuronal
6/6	catéter epidural	neuronal
6/7	catéter epidural	neuronal
6/12	im	neuronal
		no neuronal
6/14	im	neuronal
	iv	no neuronal
6/16	infusión intravenosa	neuronal
6/21	im	neuronal
6/24	im	neuronal
7/3	iv	neuronal
7/5	iv	neuronal
7/7	iv	neuronal
7/10	iv	neuronal

5

10

15

20

25

7/12	iv	neuronal
7/14	iv	neuronal
7/17	iv	no neuronal
7/20	iv	no neuronal
7/24	iv	no neuronal
7/25	epidural (intratecal)	no neuronal
7/31	iv	neuronal
8/2	iv	neuronal
8/3	iv	no neuronal
8/8	iv	no neuronal
8/11	iv	no neuronal
8/16	iv	neuronal
8/23	iv	neuronal
8/28	iv	no neuronal
8/29	iv	no neuronal
9/5	iv	no neuronal
9/6	iv	no neuronal
9/8	iv	no neuronal
9/13	iv	no neuronal
9/15	im iv	no neuronal
9/18	im iv	no neuronal
9/19	infusión intravenosa	neuronal
9/20	infusión intravenosa	no neuronal
9/22	im iv	no neuronal
9/25	im iv	no neuronal
9/27	im iv	no neuronal
9/29	im iv	no neuronal
10/2	im iv	no neuronal
10/4	im iv	no neuronal
10/9	im iv	no neuronal
10/13	im iv	no neuronal
10/16	im iv	no neuronal
10/18	im iv	no neuronal
10/20	im iv	no neuronal
10/23	im iv	no neuronal

5

10

15

20

25

10/25	infusión iv	mezclado
10/27	infusión iv	no neuronal
11/1	im iv	no neuronal
11/6	im iv	no neuronal
11/8	im iv	no neuronal
11/10	intratecal	neuronal
11/13	im iv	no neuronal
11/15	im iv	no neuronal
11/17	im iv	neuronal no neuronal
11/20	im iv	no neuronal
11/22	im iv	no neuronal
11/24	iv	neuronal
11/27	im iv	mezclado
12/1	im iv	mezclado
12/4	infusión iv	mezclado
12/6	im iv	no neuronal
12/8	iv	neuronal
12/11	im iv	no neuronal
12/14	infusión iv	no neuronal
12/15	infusión iv	no neuronal
12/18	im iv	no neuronal
12/20	iv	neuronal
12/27	im iv	neuronal
12/29	im iv	neuronal
1/4	im iv	no neuronal
1/8	infusión iv	mezclado
1/9	infusión iv	mezclado
1/10	infusión iv	mezclado
1/12	im iv	no neuronal
1/16	im iv	no neuronal
1/19	im	no neuronal

	iv	
1/22	im iv	mezclado

5

Ejemplo 4

El paciente fue diagnosticado sufriendo de enfermedad de Parkinson. El paciente no respondió al tratamiento estándar y su condición se volvió peor mientras progresaba el tiempo. El tenía una braquibasia típica. Temblores unilaterales estuvieron presentes en el brazo derecho y él estuvo fisiológicamente mucho muy deprimido. No podía abrir sus ojos. Desde que empezó el tratamiento, el paciente ha mostrado mejora gradualmente y después de un año de tratamiento con células hES el paciente mejoró notablemente. El caminar es normal, los temblores en la mano son mínimos y psicológicamente está contento. Él abre sus ojos completamente. Ahora puede firmar y escribir, lo cual fue imposible al inicio del tratamiento. Ahora es menos dependiente de los demás.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 5.

Tabla 5

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
1/30	im iv	neuronal (dosis de prueba)
1/31	im	neuronal
2/1	iv	neuronal
2/2	iv im	no neuronal neuronal
2/3	iv im	neuronal
2/4	iv im	neuronal
2/5	iv im	neuronal
2/6	iv im	no neuronal neuronal
2/8	iv im	no neuronal neuronal
2/9	iv im	no neuronal neuronal
2/10	iv im	no neuronal neuronal
2/11	iv im	no neuronal
2/12	iv im	neuronal no neuronal

5

10

15

20

25

2/13	iv im	neuronal no neuronal
2/14	iv	neuronal
2/15	iv im	neuronal no neuronal
2/16	iv im	neuronal no neuronal
2/17	iv im	neuronal no neuronal
2/18	iv im	neuronal no neuronal
2/19	iv im	neuronal no neuronal
2/20	iv im	neuronal no neuronal
2/21	iv im	neuronal no neuronal
2/23	iv im	neuronal no neuronal
2/25	iv im	neuronal no neuronal
2/26	iv im	neuronal no neuronal
2/27	iv im	neuronal no neuronal
2/28	iv	neuronal
3/1	iv im	neuronal no neuronal
3/2	iv im	neuronal no neuronal
3/3	iv	neuronal
3/4	im	neuronal
3/5	iv	neuronal
3/7	im	neuronal
3/9	iv	no neuronal
3/10	iv im	neuronal no neuronal
3/11	iv im	neuronal no neuronal
3/12	iv im	neuronal no neuronal
3/13	iv im	neuronal no neuronal
3/28	iv	neuronal
3/29	iv im iv im	neuronal no neuronal
3/30	iv im im	neuronal no neuronal
3/31	iv	neuronal

5

10

15

20

25

	im	no neuronal
4/1	iv	neuronal
	im	no neuronal
4/2	iv	neuronal
	im	no neuronal
4/3	iv	neuronal
	im	no neuronal
4/4	iv im	neuronal
	im	no neuronal
4/5	iv	neuronal
	im	no neuronal
4/6	iv	neuronal
	im	no neuronal
4/7	iv im	neuronal
	im	no neuronal
4/8	iv	neuronal
	im	no neuronal
4/9	iv	neuronal
	im	no neuronal
4/10	iv	neuronal
	im	no neuronal
4/11	iv	neuronal
	im	no neuronal
4/12	iv	neuronal
	im	no neuronal
4/13	iv	neuronal
	im	no neuronal
4/14	iv	neuronal
	im	no neuronal
4/15	iv	neuronal
	im	no neuronal
4/16	iv	neuronal
	im	no neuronal
5/20	iv	neuronal
	im	no neuronal
5/21	infusión	no neuronal
7/10	iv	neuronal
	im	no neuronal
7/11	iv	neuronal
	im	no neuronal
7/12	iv	neuronal
	im	no neuronal
7/13	iv	neuronal
	im	no neuronal
7/14	iv	neuronal
	im	no neuronal
7/15	infusión iv	no neuronal
7/16	infusión iv	no neuronal
7/17	iv	neuronal

5

10

15

20

25

	im	no neuronal
7/18	iv	neuronal
	im	no neuronal
7/19	iv	neuronal
	im	no neuronal
7/20	iv	neuronal
	im	no neuronal
7/21	iv	neuronal
	im	no neuronal
7/22	infusión iv	neuronal
7/23	infusión iv	neuronal
7/24	infusión iv	no neuronal
7/25	iv	neuronal
	im	no neuronal
7/26	iv	neuronal
	im	no neuronal
7/27	iv	neuronal
	im	no neuronal
7/28	iv	no neuronal
	im	
7/29	infusión iv	neuronal
7/30	im	neuronal
		no neuronal
9/9	im	no neuronal
	iv	
9/12	im	no neuronal
	iv	
9/13	iv	no neuronal
	im	
9/14	im	no neuronal
	iv	
9/15	im	no neuronal
	iv	
9/16	im	no neuronal
	iv	
9/17	infusión iv	neuronal
9/18	infusión iv	neuronal
9/19	iv	neuronal
9/20	im	no neuronal
	iv	
9/21	im	no neuronal
	iv	
9/22	im	no neuronal
	iv	
9/23	infusión iv	no neuronal
9/24	infusión iv	no neuronal
9/25	iv	no neuronal
	im	
9/26	iv	no neuronal

	im	
9/27	iv im	no neuronal
9/28	iv im	no neuronal
9/29	iv infusión iv	neuronal
9/30	iv im	no neuronal
11/9	iv im	no neuronal
11/10	iv im	no neuronal
11/11	iv im	no neuronal
11/12	iv im	no neuronal
11/14	infusión iv	mezclado
11/16	iv im	no neuronal
11/17	iv im	no neuronal
11/18	infusión iv	neuronal
11/19	infusión iv	neuronal
11/20	iv im	no neuronal
11/21	iv im	no neuronal
11/22	iv im	no neuronal
11/23	iv im	no neuronal
11/24	infusión iv	neuronal
11/25	infusión iv	neuronal
11/26	im iv	mezclado
11/29	iv im	no neuronal
1/9	iv im	no neuronal
1/10	iv im	no neuronal
1/11	iv im	no neuronal
1/12	iv im	no neuronal
1/13	infusión iv	mezclado
1/14	infusión iv	mezclado
1/15	iv	no neuronal

5
10
15

Tratamiento de parálisis cerebral

20

25

cerebral. El protocolo y la dosificación son la misma que para el tratamiento de trastornos neurodegenerativos.

Ejemplo 5

5

Un hombre de 48 años de edad diagnosticado con AIIMS como CP al nacer tiene pronunciación inarticulada, caminado arrastrando los pies, dificultad al tragar, y semiparálisis del lado izquierdo. Se hizo el diagrama de tono muscular, reflejo y poder para confirmar lo mismo.

10

Seis meses después del tratamiento tiene una pronunciación más clara, no tiene dificultad para tragar, es capaz de usar el lado izquierdo de su cuerpo y su caminar ha mejorado. Es capaz de rasurarse con la mano izquierda y también de usar su mano izquierda para alzar tazas, etc. Su equilibrio es mejor y es capaz de hacer caminatas largas.

15

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 6.

20

25

Tabla 6

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
3/8	dosis de prueba	no neuronal
3/10	iv im	neuronal
3/17	iv im	neuronal
4/8	iv im x 2	neuronal
4/9	iv x 3 im x 3	neuronal no neuronal
4/10	iv x 3 im x 3	neuronal no neuronal
5/10	iv im	neuronal no neuronal
5/11	im x 2 iv	neuronal
5/12	infusión iv x 2	neuronal
5/13	infusión iv	no neuronal
5/14	infusión iv iv im	neuronal no neuronal
5/15	infusión iv	no neuronal
7/19	iv im	neuronal no neuronal
7/20	infusión iv	no neuronal
7/21	infusión iv x 2	no neuronal
7/22	iv im	neuronal no neuronal
7/24	iv im	neuronal no neuronal
7/25	espinal profunda	neuronal
7/26	iv im	neuronal no neuronal
7/27	iv im	neuronal no neuronal
7/28	iv im	no neuronal
7/31	iv im	neuronal no neuronal
8/1	iv im	no neuronal
8/2	iv	no neuronal

5

10

15

20

25

	im	
8/3	iv im	no neuronal
8/4	infusión iv x 2	no neuronal
8/5	infusión iv	no neuronal
8/7	iv im	no neuronal
8/8	iv im	no neuronal
8/9	iv im	no neuronal
8/10	iv im	no neuronal
8/11	iv im	no neuronal
8/12	iv im	no neuronal
8/14	espinal profunda	neuronal
8/16	infusión iv	neuronal
8/17	infusión iv	neuronal
8/18	iv im	neuronal
8/19	espinal profunda	neuronal
8/20	iv im	no neuronal
8/21	iv im	no neuronal
8/22	iv im	no neuronal
8/24	infusión iv	no neuronal
8/25	infusión iv	no neuronal
8/26	iv im	no neuronal

~~HUA EN BLANCO~~

Ejemplo 6

Una niña de 3 años de edad se trajo a la clínica con CP y parecía y se comportaba como una bebé de un mes de edad sin control de cuello, llanto débil sin respuesta e incapaz de succionar a través del biberón. Ella estaba absolutamente blanda.

Después de un año y medio de tratamiento ella ha crecido y parece una niña de 2 años de edad. Ella tiene control del cuello, reconoce a sus progenitores, gatea en la cama, come comida normal, sonríe al reconocer y se sienta con soporte y ha dado algunos pasos con su madre deteniéndola. Su caminar es un caminado de tijera y ella también ha empezado a llamar a sus padres.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 7.

Tabla 7

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
8/4	im	neuronal (dosis de prueba)
8/5	im	neuronal
8/8	im	neuronal
8/9	im	neuronal
8/10	im	neuronal
8/11	im	neuronal
8/12	im	neuronal
8/16	im	neuronal
8/17	im	neuronal
8/18	im	neuronal
8/19	im	no neuronal
8/22	im	mezclado
8/23	im	mezclado
8/25	im	mezclado
8/26	im	neuronal
8/29	im	neuronal
8/30	im	neuronal
8/31	im	neuronal
9/1	im	neuronal
9/2	im	neuronal
9/5	im	no neuronal
9/6	im	neuronal
9/7	im	neuronal
9/8	im	neuronal
9/12	im	mezclado
9/14	im	no neuronal
9/16	im	mezclado
9/19	im	neuronal
9/23	im	neuronal

5

10

15

20

25

9/26	im	mezclado
9/28	im	mezclado
9/30	im	mezclado
10/3	im	mezclado
10/5	im	neuronal
10/10	im	no neuronal
10/17	im	mezclado
10/19	im	no neuronal
10/21	im	neuronal
10/24	im	mezclado
10/28	im	mezclado
10/31	im	mezclado
11/4	im	mezclado
11/7	im	no neuronal
11/9	im	no neuronal
11/11	im	neuronal
11/14	im	neuronal
11/15	im	no neuronal
11/16	im	no neuronal
11/18	im	no neuronal
11/22	im	no neuronal
11/23	im	no neuronal
11/25	m	no neuronal
11/28	im	mezclado
11/29	im	mezclado
12/2	im	mezclado
12/7	im	no neuronal
12/9	m	no neuronal
12/12	im	no neuronal
12/14	m	neuronal
12/16	im	neuronal
12/19	im	no neuronal

5

10

15

20

25

12/21	m	neuronal
12/23	im	neuronal
12/26	m	no neuronal
12/30	im	neuronal
1/5	im	neuronal
1/11	im	neuronal
1/13	im	neuronal
1/16	im	neuronal
1/18	im	neuronal
1/23	im	neuronal
1/25	im	neuronal
1/27	m	neuronal
1/30	im	neuronal
2/1	im	neuronal
2/3	im	neuronal
2/6	im	neuronal
2/8	im	neuronal
2/10	im	neuronal
2/13	im	neuronal
2/15	im	neuronal
2/17	im	no neuronal
22.2.06	im	neuronal
2/24	im	neuronal
2/27	im	neuronal
3/1	m	neuronal
3/3	im	neuronal
3/6	im	no neuronal
3/8	im	no neuronal
3/22	im	no neuronal
3/24	im	neuronal
3/27	im	no neuronal
3/29	im	neuronal

5

10

15

20

25

3/31	im	neuronal
4/7	im	neuronal
4/10	im	neuronal
4/12	im	neuronal
4/14	im	neuronal
4/17	im	neuronal
4/19	im	neuronal
4/21	im	neuronal
4/24	im	neuronal
4/26	im	neuronal
5/1	im	neuronal
5/8	im	no neuronal
5/18	im	neuronal
5/22	im	neuronal
5/26	im	neuronal
5/29	im	neuronal
5/31	im	neuronal
6/2	im	neuronal
6/5	im	neuronal
6/12	im	neuronal
6/16	im	neuronal
6/19	im	neuronal
6/21	im	neuronal
6/28	im	neuronal
6/30	im	neuronal
7/4	im	neuronal
7/7	im	neuronal
7/17	im	neuronal
7/19	m	neuronal
7/21	im	neuronal
7/24	im	neuronal
7/26	im	neuronal

5

10

15

20

25

7/31	im	no neuronal
8/2	im	no neuronal
8/4	im	no neuronal
8/7	im	no neuronal
8/9	im	no neuronal
8/11	im	no neuronal
8/14	im	no neuronal
8/16	im	no neuronal
8/18	im	no neuronal
8/21	im	no neuronal
8/23	im	no neuronal
8/25	im	no neuronal
8/28	im	no neuronal
8/30	im	no neuronal
9/1	im	no neuronal
9/4	im	no neuronal
9/11	im	no neuronal
9/13	im	no neuronal
9/15	im	no neuronal
9/20	im	no neuronal
9/25	im	no neuronal
9/27	im	no neuronal
10/3	im	no neuronal
10/4	im	no neuronal
10/13	im	no neuronal
10/16	im	no neuronal
10/18	im	no neuronal
10/19	im	no neuronal
10/23	im	no neuronal
10/25	im	no neuronal
10/27	im	no neuronal
10/30	im	no neuronal

5

10

15

20

10/31	im	no neuronal
11/3	im	no neuronal
11/6	im	no neuronal
11/8	im	no neuronal
11/10	im	no neuronal
11/13	im	no neuronal
11/15	im	no neuronal
11/17	im	no neuronal
11/20	im	no neuronal
11/22	im	no neuronal
11/24	im	no neuronal
11/27	im	no neuronal
11/29	im	no neuronal
12/1	im	no neuronal
12/8	im	no neuronal
12/11	im	no neuronal
12/15	im	no neuronal
12/26	im	neuronal
12/27	im	neuronal
1/3	im	no neuronal
1/7	im	no neuronal
1/15	im	neuronal
1/24	im	neuronal
1/25	im	neuronal
1/29	im	neuronal

Ejemplo 8

Una niña de 8 años de edad fue diagnosticada con parálisis cerebral con retraso mental severo y fue incapaz de caminar por sí misma. No podía identificar objetos y tenía una duración de atención muy corta. Existía mucho babeo incontrolado y ella mantenía la boca abierta.

Después del tratamiento, ella ya no babea incontroladamente, su duración de atención ha mejorado y ella se ve más alerta. Ella está caminando con soporte mínimo.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 8.

15

20

25

Tabla 8

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
10/9	im	no neuronal (dosis de prueba)
10/10	im	no neuronal
10/11	im	no neuronal x 2
10/12	im	no neuronal
10/13	im	no neuronal
12/5	im	no neuronal
12/6	im iv	no neuronal
12/7	im x 3	no neuronal
12/8	im iv	no neuronal
12/9	im iv	no neuronal
12/10	im x 3	no neuronal
12/11	im iv	no neuronal
12/12	im x 3	no neuronal
12/13	im iv	no neuronal
12/14	im	no neuronal
12/15	im iv	no neuronal
12/16	im x 3	no neuronal
12/17	im iv	no neuronal
12/18	im	no neuronal
12/19	im iv	no neuronal
12/20	im x 3	no neuronal
12/21	im iv	no neuronal
12/22	im iv	no neuronal
12/23	im iv	no neuronal
12/24	im iv	no neuronal neuronal
12/25	im iv	neuronal
12/26	im iv	neuronal mezclado
12/27	im x 3	neuronal
12/28	im	neuronal

5

10

15

20

	iv	
12/29	im x 3	neuronal
12/30	im iv	neuronal
12/31	im x 3	neuronal
1/1	im iv	mezclado
1/9	infusión iv	mezclado
1/10	infusión iv	mezclado
1/11	im iv	no neuronal
1/12	im iv	no neuronal
1/13	im iv	no neuronal
1/14	im iv	no neuronal
1/15	im x 3	no neuronal
1/16	im iv	no neuronal
1/17	im x 3	no neuronal
1/18	im	no neuronal
1/19	im	no neuronal
1/20	im	no neuronal
1/21	im	mezclado
1/22	im	mezclado
1/23	im	mezclado
1/24	im	neuronal
1/25	im	neuronal
1/26	im	mezclado
1/27	im	mezclado
1/28	im iv	neuronal
1/29	im iv	neuronal
1/30	im iv	neuronal
1/31	im	no neuronal
1/2	iv	no neuronal
2/2	im	no neuronal

Tratamiento de trauma en el sistema nervioso

25

Las células hES y/o sus derivados, en donde las

células comprenden progenitores de células madre neuronales y progenitores de células madre hematopoyéticas de acuerdo con la práctica de la presente invención, son administradas en una cantidad de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células para el tratamiento de trauma en el sistema nervioso, incluyendo pero no limitado a daño cerebral, coma y estado vegetativo. En otra modalidad se administran aproximadamente de 750,000 a alrededor de 80 millones de células.

Aunque se pueden variar los protocolos de administración para adecuarse al paciente particular, un protocolo típico para el tratamiento de trauma en el sistema nervioso comprende inyecciones intramusculares e intravenosas diarias durante los primeros 2 meses junto con inyecciones intratecales y epidurales.

Tratamiento de apoplejía o accidente vascular cerebral

Las células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales y progenitores de células madre hematopoyéticas de acuerdo con la práctica de la presente invención, son administradas en una cantidad de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células para el tratamiento de apoplejía o accidente vascular cerebral. En otra modalidad, se administran alrededor de 750,000 a aproximadamente 80

millones de células.

Aunque se pueden variar los protocolos de administración para adecuarse al paciente particular, un protocolo típico para el tratamiento de accidente vascular cerebral comprende inyecciones intramusculares e intravenosas durante dos semanas e infusión intravenosa durante 3 días en lo sucesivo durante el primer mes, infusión intravenosa durante 2 días cada 15 días durante los mese 2 y 3, infusión intravenosa durante 2 días e inyección intratecal durante el mes 5, e infusión intravenosa durante 4 días seguida por inyección intramuscular durante 4 días durante los meses 8, 10 y 12.

Ejemplo 9

Un paciente diagnosticado con apoplejía o accidente vascular cerebral sufría de semiparálisis del lado derecho con babeo incontrolado, dificultad al tragar e incapacidad para hablar o caminar. Además, el paciente tiene cáncer de colon. Después del tratamiento de acuerdo con la presente invención, el paciente mostró signos de mejora toda vez que la pronunciación y actividades motoras mejoraron, la espina se alineó, y se curó la semiparálisis.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 9.

Tabla 9

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
8/17	dosis de prueba	no neuronal
8/22	im	hES
8/23	im x 2	neuronal hES
8/24	im x 2	hES
8/25	im	hES
8/26	im x 2	neuronal
8/29	im	neuronal
8/30	iv	neuronal
8/31	im	neuronal
9/2	im x 2	neuronal
9/5	iv	no neuronal
9/6	iv	neuronal
9/7	im	neuronal
9/8	iv	neuronal
9/9	iv	neuronal
9/12	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/13	iv	neuronal
9/14	im	no neuronal
9/19	iv	neuronal
9/22	iv	neuronal
9/26	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/29	iv	neuronal
10/3	im	mezcla neuronal y no neuronal
10/6	im	no neuronal
10/10	iv	neuronal
10/13	iv	neuronal
10/17	iv	mezcla neuronal y no neuronal
10/20	iv	no neuronal
10/24	iv	mezcla neuronal y no neuronal
10/27	iv	neuronal
10/31	iv	mezcla neuronal y no neuronal
11/3	iv	mezcla neuronal y no neuronal
11/7	im	no neuronal
11/10	iv	no neuronal
11/14	im	neuronal
11/17	im	no neuronal
11/21	im	no neuronal
11/24	im	no neuronal
12/4	iv	mezcla neuronal y no neuronal
12/12	iv	no neuronal
12/19	iv	neuronal
12/26	iv	no neuronal
1/4	iv	neuronal
1/11	infusión iv	neuronal
8/18	iv im	neuronal

5

8/21	iv im	no neuronal
8/22	iv im	no neuronal
8/24	im iv	no neuronal
9/1	infusión iv	no neuronal
9/2	infusión iv	no neuronal

Ejemplo 9

10

15

20

25

Un hombre de 82 años de edad que sufrió una apoplejía cerebral 5 años atrás y se presentó con semiparálisis del lado derecho, con asimetría facial y pronunciación inarticulada. Él caminaba con un bastón y un gran coqueo y no era capaz de comer con su mano derecha debido a la dificultad en coordinación. No podía sentarse o pararse por sí solo y arrastraba los pies al caminar. Existía babeo incontrolado de saliva y tampoco podía tragar bien.

Dos meses después del tratamiento, él es capaz de caminar sin soporte, se sienta y se para por sí solo, come con su mano izquierda, no tiene pronunciación inarticulada y no tiene asimetría facial. Es capaz de levantarse de una silla. Está doblando la rodilla afectada al caminar mientras mantiene el equilibrio.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 10.

Tabla 10

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
11/4	im	no neuronal (dosis de prueba)
11/6	im	no neuronal
11/7	im	neuronal
11/8	im	no neuronal
11/9	im	neuronal
11/10	im	neuronal
11/11	im	no neuronal
11/13	im	no neuronal
11/14	im	no neuronal
11/15	iv	neuronal
	im	
11/16	iv	neuronal
	im	
11/18	iv	no neuronal
	im	
11/22	infusión iv	neuronal
11/23	infusión iv	neuronal
11/24	im	neuronal
11/27	im	neuronal
11/28	im	no neuronal
11/29	im	neuronal
11/30	im	neuronal
12/2	im	no neuronal
12/4	im	no neuronal
12/5	infusión iv	neuronal
12/6	infusión iv	mezclado
	im	
12/7	im	mezclado
12/8	im	mezclado
12/9	im	mezclado
12/11	im	mezclado
12/12	im	mezclado
12/14	im	mezclado
	iv	
12/15	im	mezclado
12/16	im	mezclado
12/18	im	mezclado
12/19	im	mezclado
	iv	
12/20	im	mezclado
12/21	im	mezclado
12/22	im	mezclado
12/23	im	mezclado
12/25	im	neuronal
12/26	im	neuronal
12/27	iv	mezclado
12/28	im	neuronal
12/29	im	neuronal
12/30	im	neuronal
1/1	im	mezclado
1/2	im	mezclado
1/3	iv	no neuronal
1/4	im	no neuronal

Tratamiento de trastornos del sistema nervioso hereditarios

Las células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales y progenitores de células madre hematopoyéticas de acuerdo con la práctica de la presente invención, son administradas en una cantidad de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células para el tratamiento de trastornos del sistema nervioso hereditario, incluyendo pero no limitando a atrofia cerebral olivo ponto y corea de Huntington. En otra modalidad, se administran de alrededor de 750,000 a aproximadamente 80 millones de células. Las rutas de administración son intramuscular e intravenosa junto con intratecal, catéter epidural e infusión intravenosa. Esto podría muy probablemente continuar para toda la vida de la persona pero el primer año podría ser un programa intensivo como sigue - inyecciones intramusculares e intravenosas durante al menos tres meses tiempo durante el cual también son administradas intratecal, catéter epidural e infusión intravenosa. El mismo conjunto de inyecciones son administradas después de un espacio de un mes y medio durante un periodo de 21 días. Las inyecciones intramusculares e intravenosas diarias se continúan y después se reducen a tres veces por semana, dos veces por semana, una vez por semana, una vez durante la noche y después mensualmente dependiendo de la condición del paciente. La inyección intratecal se

puede repetir en un espacio de 4-6 meses igual que el catéter epidural. Las infusiones intravenosas pueden darse cada dos semanas, cada mes o cada dos meses.

Ejemplo 10

5 Un paciente diagnosticado con ataxia espino cerebral esporádica con incapacidad de voltearse en la cama, caminar o cambiar su posición mientras está sentado, tiene dificultad al pronunciar, tiene temblores e incapacidad de levantar su cuello.

10 Después del tratamiento con células madre de acuerdo con la práctica de la presente invención, fueron notadas mejoras en todos los síntomas y el paciente fue capaz de equilibrarse y caminar algunos pasos. La pronunciación se volvió coherente.

15 El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 11.

Tabla 11

	Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
	8/8	dosis de prueba	no neuronal
	8/9	im	neuronal
20	8/10	im x 2	neuronal
	8/11	im x 2	neuronal
	8/12	im x 2	neuronal
	8/13	im x 2	neuronal
	8/16	im x 2	neuronal
	8/17	im x 2	no neuronal
	8/18	im espinal profunda	neuronal
	8/19	im	hES
25	8/23	im	neuronal hES

120
121

5

10

15

20

25

8/24	im x 2	hES
8/25	im x 2	hES
8/26	im x 2	neuronal
8/29	im x 2	neuronal
8/31	im x 2	neuronal
9/5	im iv	no neuronal
9/7	im	neuronal
9/12	im	neuronal
9/15	epidural	neuronal
9/16	im	neuronal
9/19	iv	neuronal
9/22	iv	neuronal
9/28	im	neuronal
9/30	iv	neuronal
10/3	im iv	neuronal
10/4	im iv	no neuronal mezcla neuronal y no neuronal
10/5	iv	neuronal
10/13	im	neuronal
10/14	intra-articular	neuronal
10/17	iv	neuronal
11/15	iv	neuronal
11/18	im	no neuronal
11/21	iv	no neuronal
11/23	im	no neuronal
12/1	im iv	mezcla neuronal y no neuronal
12/6	im	mezcla neuronal y no neuronal
12/8	im	no neuronal
12/13	im	no neuronal neuronal
12/15	epidural	neuronal
12/16	im	neuronal
12/21	im	neuronal
12/22	im iv	neuronal
12/25	im iv	no neuronal
3/5	espinal	no neuronal

Ejemplo 11

Un paciente con atrofia cerebral olivo ponto hereditaria se diagnosticó en la Universidad John Hopkins. Su padre, hermana gemela y hermano estaban afectados por la misma enfermedad. Ella no podía hablar al expirar, estaba atada en silla de ruedas con goteo continuo de orina y se tenía que hacer evacuación de heces manualmente. Ella tenía temblores sobre todo el cuerpo y no podía mantener el equilibrio por sí misma incluso mientras estaba sentada. Existía hipotensión de posición severa.

Después de 2 años de tratamiento el paciente va al baño para sus funciones corporales, habla bien, no tiene temblores y es capaz de caminar con soporte. No ha existido deterioro aún incluso a pesar de que su hermana gemela está postrada en cama con la misma enfermedad. No existe hipotensión de postura y ella definitivamente no se ha deteriorado.

Tratamiento de trastornos dérmicos

Las células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales y progenitores de células madre hematopoyéticas de acuerdo con la práctica de la presente invención, son administradas en una cantidad de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células para el tratamiento de trastornos

122
123

dérmicos, incluyendo pero no limitados a úlceras no sanadas, psoriasis, llagas por presión y sarcoidosis. En el caso de trastornos dérmicos, también pueden usarse células hES tópicamente para tratar el trastorno o daño dérmico. En otra
5 modalidad, se administran aproximadamente 750,000 a alrededor de 80 millones de células.

En una modalidad, las células hES o células dérmicas y extracto embrional diferenciados pueden mezclarse con un vehículo biocompatible, tal como un gel, ungüento o
10 pasta y aplicarse a la piel dañada o tejido mucoso para acelerar la curación así como para sanar heridas resistentes a curación, tales como úlceras por decúbito o diabetes. Como alternativa, las células se pueden proporcionar en una suspensión o emulsión. En una modalidad, el vehículo también
15 contiene agentes antimicrobianos, analgésicos u otros agentes farmacéuticos.

Como alternativa, en una modalidad diferente, las células hES se cultivan en un substrato poroso artificial estéril tal como gasa y se aplican directamente a la herida.
20 Después de 12-24 horas la gasa se remueve y las células madre continúan creciendo y curando la herida. Al aplicar intralesionalmente, las células hES diferencian y eventualmente reemplazan las células dañadas.

Ejemplo 12

Una mujer de 70 años que sufre de una lesión por quemadura en su tobillo izquierdo que no ha sanado a pesar de terapia convencional. Después de la aplicación de las
5 células hES en el sitio de quemadura, su herida empezó a sanar y tres años después la piel está absolutamente bien.

Tratamiento trastornos autoinmune

Las células hES y/o sus derivados, en donde las
10 células comprenden progenitores de células madre hematopoyéticas de acuerdo con la práctica de la presente invención, son administradas mediante inyección intramuscular, inyección intravenosa, inyección subcutánea, inyección intra-articular o infusión intravenosa o
15 combinaciones de las mismas, en una cantidad de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células para el tratamiento de trastornos autoinmunes incluyendo pero no limitados a lupus eritematoso sistémico, espondilitis anquilosante, cardiomiopatía, sarcoidosis,
20 artritis y colitis ulcerativa. En otra modalidad, se administran alrededor de 750,000 a aproximadamente 80 millones de células. La administración de células hES es altamente efectiva no únicamente en el tratamiento de enfermedades autoinmunes sino también en el restablecimiento
25 de un sistema inmune suprimido. Como una alternativa al

124
125

tratamiento con inmunosupresores o como un método para
pacientes "preinyectados" para trasplante de órgano y otra
intervención médica, se pueden usar las células hES y sus
derivados para permitir aceptación del órgano a través de
5 reducción en los procesos de rechazo de injerto-huésped.

Aunque se pueden variar los protocolos de
administración para adecuarse al paciente particular, un
protocolo típico para el tratamiento de trastornos
autoinmunes comprende inyecciones diarias durante los
10 primeros 2 meses, día alternado inyecciones junto con una
infusión intravenosa durante el mes 3, inyecciones semanales
junto con una infusión intravenosa de 2 días continuos cada
15 durante los meses 5-7 y 10-12, e inyecciones de refuerzo
cada 3 meses durante un año y después cada 6 meses durante 1
año.

Ejemplo 13

Un paciente que sufre de psoriasis desde hace 26
años estaba confinado a una silla de ruedas con hipertensión,
20 diabetes melitus y artritis psoriática con grandes úlceras en
su pierna que no eran curables y no tratables con injerto de
piel.

Después de recibir terapia durante 6 mese ella no
tiene úlceras ni artritis. Su diabetes e hipertensión
25 estaban bajo control. Ella ha empezado a caminar por sí

125
726

misma y ha empezado todas las actividades y está
recibiendo inyecciones de refuerzo durante el último
año. Ella a citado que ha caminado por primera vez
desde hace 26 años y es capaz de hacer todos sus
5 quehaceres cotidianos por sí misma.

El tratamiento con células madres fue hecho
localmente a las llagas y las llagas se curaron.
También después del tratamiento no se han detectado
más llagas. La escamosidad y comezón de la piel y la
10 hinchazón de las piernas también fueron reducidas.
La condición diabética también fue curada con presión
sanguínea controlada que llevó a una reducción en la
medicación.

El programa de inyecciones para este paciente
15 se muestra en la tabla 12.

20

25

126
197

Tabla 12

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
12/27	dosis de prueba	no neuronal
1/22	im	no neuronal
2/20	im	neuronal
2/23	im	neuronal
2/28	m	neuronal
4/1	im	neuronal
4/7	im	mezcla neuronal y no neuronal
4/10	im	mezcla neuronal y no neuronal
4/21	m	mezcla neuronal y no neuronal
6/29	im	no neuronal
7/6	m	no neuronal
7/29	im	no neuronal
10/17	aspersión im	no neuronal
11/1	aspersión im	mezcla neuronal y no neuronal
11/2	aspersión im	mezcla neuronal y no neuronal
11/3	aspersión im	mezcla neuronal y no neuronal
11/4	im x 2	neuronal
11/5	aspersión iv	no neuronal
11/6	aspersión im	no neuronal
11/7	aspersión im	no neuronal
11/11	aspersión iv	neuronal
11/14	aspersión iv	neuronal
11/15	aspersión	no neuronal

	im	
11/16	im	no neuronal
11/21	iv	no neuronal
11/23	im	no neuronal
11/29	im	mezcla neuronal y no neuronal
1/4	im	no neuronal
3/28	im	no neuronal

127
128

Tratamiento de trastornos hemáticos

Aún otra modalidad del método de acuerdo con la práctica de la presente invención es en el tratamiento de trastornos hemáticos tales como trombocitopenia, talasemia, leucemia mieloide aguda mediante inyección intravenosa de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden células progenitoras de células madre hematopoyéticas. Las células se administran durante 10 días a 14 días y después se repite como una inyección semanal para condiciones benignas. Para condiciones malignas las inyecciones son suministradas diario durante 40 días y después se repite si existe una recaída.

Tratamiento de trastornos genéticos

Otra modalidad de métodos de trasplante de células hES de acuerdo con la práctica de la presente invención es en el tratamiento de trastornos genéticos incluyendo pero no limitados a síndrome de Down, ataxia de Friedereich, Corea de Huntington, síndrome de Asperger y atrofia espinomuscular.

Los síntomas de trastornos genéticos se manifiestan mediante retraso mental, disfunción musculoesquelética y falla de órganos en combinación o solos y dan como resultado debilidad incurable seria y expectativa de vida reducida. En el caso de pacientes que sufren de un trastorno genético, las células hES se administran al paciente de conformidad con la

128
129

práctica de la presente invención y, una vez administradas, se diferencias para proporcionar al paciente con una población de células que expresan el producto génico faltante o comprometido con un restablecimiento consiguiente de homeostasis intracelular.

Aunque se pueden variar los protocolos de administración para adecuarse al paciente particular, un protocolo típico para el tratamiento de trastornos genéticos comprende inyecciones intramusculares e intravenosas diarias durante el primer mes, inyecciones alternando día durante el mes 2, inyecciones dos veces a la semana durante el mes 3, inyecciones una vez por semana durante los meses 5, 7, 9, 11 y 12 e inyecciones de refuerzo cada 3 meses durante un año. También se suministran infusiones intravenosas cada 15 días.

15

Ejemplo 14

Un paciente con síndrome de Down, no mostró respuesta a órdenes verbales, no fue capaz de subir y bajar escaleras y tuvo peso corporal bajo como resultado de dificultades al comer. El paciente no era capaz de comer, presentaba una postura holgada típica, y sufría de tos y resfriados frecuentes. Los ojos eran mongoloides.

20

De conformidad con el tratamiento de acuerdo con la presente invención, el paciente es capaz de entender y llevar a cabo órdenes verbales, empezó a hablar y empezó a subir y

25

129
130

bajar escaleras. Pruebas de DQ han mostrado que la edad mental es de 1 año atrás de su edad cronológica como contra 2 años 6 meses atrás dentro de un intervalo de menos de 1 año. Socialmente, ella va a la escuela y juega con otros niños.

5 También se puede alimentar por sí misma.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 13.

Tabla 13

10

15

20

25

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
7/8	dosis de prueba	no neuronal
7/16	im	neuronal
7/25	im	neuronal
7/26	im	neuronal
7/27	im	neuronal
7/30	im	neuronal
8/3	im	neuronal
8/10	im	neuronal
8/12	im	neuronal
8/16	im	neuronal
8/18	im	neuronal
8/22	im	hES
8/26	im	neuronal
8/29	im	neuronal
8/31	im	neuronal
9/2	im	neuronal
9/6	im	neuronal
9/8	im	no neuronal
9/13	im	no neuronal
9/19	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/22	im	no neuronal

130
131

5

10

15

20

25

9/30	im	no neuronal
10/3	im	mezcla neuronal y no neuronal
10/10	im	no neuronal
10/18	im	no neuronal
10/27	im	neuronal
11/7	im	no neuronal
11/8	im	no neuronal
11/9	im	no neuronal
11/10	im	no neuronal
11/11	im	neuronal
11/14	im	neuronal
11/17	im	no neuronal
11/18	im	no neuronal
11/21	im	no neuronal
11/22	im	no neuronal
11/23	im	no neuronal
11/25	im	no neuronal
11/28	im	mezcla neuronal y no neuronal
12/4	im	mezcla neuronal y no neuronal
12/8	im	no neuronal
12/12	im	no neuronal
12/15	im	neuronal
12/19	im	neuronal
12/27	iv	neuronal
1/4	im iv	no neuronal
1/11	im	no neuronal neuronal
1/19	im	neuronal
1/20	im	no neuronal
1/23	im	no neuronal
1/30	im	neuronal
2/9	im	neuronal
2/13	im	neuronal
2/23	im	neuronal
2/27	im	neuronal
3/10	im	neuronal
3/14	im	neuronal
3/20	im	neuronal
5/11	im	neuronal
5/15	im	neuronal
5/16	im	neuronal
5/17	im	neuronal
5/18	im	neuronal
5/22	im	neuronal
5/23	im	neuronal
7/3	im	neuronal
7/5	im	neuronal

131
D2

7/11	im	neuronal
7/13	im	neuronal
7/17	im	neuronal
7/19	im	neuronal
7/21	iv	neuronal
7/24	im	neuronal
7/28	im	no neuronal
7/31	im	neuronal
8/2	im	no neuronal
8/21	im	no neuronal
8/23	im	no neuronal
8/28	im	no neuronal
8/30	im	no neuronal

Ejemplo 15

Una niña de 3 años de edad fue diagnosticada con síndrome de Down. Ella no era capaz de hablar, comprender o subir y bajar escaleras. Ella no podía comer por sí sola y su vocabulario de monosílabas limitado era muy poco claro.

Después de 8 meses de tratamiento ella entiende todo, habla oraciones de tres palabras y reconoce colores, formas y tamaños. Ella es capaz de subir y bajar escaleras por sí sola y ha empezado a comer por sí sola.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 14.

832
173

Tabla 14

5

10

15

20

25

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
1/30	im	neuronal (dosis de prueba)
2/6	im	neuronal
2/7	im	neuronal
2/8	im	neuronal
2/9	im	neuronal
2/10	im	no neuronal
2/13	im	neuronal
2/15	im	neuronal
2/16	im	neuronal
2/17	im	neuronal
2/20	im	neuronal
2/22	im	neuronal
2/24	im	no neuronal
2/27	im	neuronal
3/1	im	neuronal
3/3	im	no neuronal
3/6	im	no neuronal
3/13	im	neuronal

135
134

5

10

15

20

25

3/15	im	neuronal
3/22	im	neuronal
3/24	im	neuronal
3/26	im	neuronal
3/27	im	no neuronal
3/29	im	neuronal
4/3	im	neuronal
4/5	im	neuronal
4/7	im	neuronal
4/10	im	neuronal
4/12	im	no neuronal
4/14	im	no neuronal
4/21	im	neuronal
4/24	im	neuronal
4/26	im	neuronal
4/28	im	neuronal
5/1	im	neuronal
5/10	im	neuronal
5/12	im	neuronal
5/13	im	no neuronal
5/22	im	neuronal
5/24	im	neuronal
5/29	im	neuronal
6/5	im	neuronal
6/7	im	neuronal
6/10	im	neuronal
6/14	im	neuronal
6/16	im	neuronal
6/19	im	neuronal
6/21	im	neuronal
6/23	iv	no neuronal
6/27	im	neuronal
6/29	im	neuronal
7/3	im	neuronal
7/5	im	neuronal
7/12	im	neuronal
7/14	im	neuronal
7/17	im	neuronal
7/19	im	neuronal
7/21	im	neuronal
7/27	im	neuronal
7/28	im	no neuronal
8/1	im	no neuronal
8/3	im	no neuronal
8/5	im	no neuronal
8/7	im	no neuronal
8/19	im	no neuronal
8/24	im	no neuronal

134
135

5

10

15

20

25

8/26	im	neuronal
8/28	im	no neuronal
8/31	im	no neuronal
9/2	im	no neuronal
9/7	im	no neuronal
9/9	im	no neuronal
9/11	im	no neuronal
9/14	im	no neuronal
9/21	im	no neuronal
9/23	im	no neuronal
9/25	im	no neuronal
9/28	im	no neuronal
9/29	im	no neuronal
10/4	im	no neuronal
10/7	im	no neuronal
10/10	im	no neuronal
10/14	im	no neuronal
10/16	im	no neuronal
10/18	im	no neuronal
10/22	im	no neuronal
10/26	im	no neuronal
10/28	im	no neuronal
11/1	im	no neuronal
11/4	im	no neuronal
11/7	im	no neuronal
11/9	im	no neuronal
11/13	im	no neuronal
11/16	im	no neuronal
11/17	im	no neuronal
11/20	im	no neuronal
11/23	im	no neuronal
11/27	im	no neuronal
11/30	im	no neuronal
12/3	im	no neuronal
12/4	im x 2	no neuronal
12/7	im	no neuronal
12/9	im	no neuronal
12/11	im	no neuronal
12/14	im x 2	no neuronal
12/16	im	no neuronal
12/21	im	no neuronal
12/24	im	no neuronal
12/27	im	neuronal
1/1	im	mezclado
1/3	im	no neuronal
1/6	im	no neuronal
1/9	im	no neuronal
1/12	im	no neuronal

135
136

1/15	im	no neuronal
1/18	im	no neuronal
1/22	im	mezclado
1/25	im	neuronal
1/28	im	neuronal

5

Ejemplo 16

Un niño de 13 años de edad que sufre de un defecto genético con carencia de concentración, convulsiones frecuentes y deterioro visual. Tiene visión en túnel total.

10 Tiene dificultad para sentarse en clase y observar el pizarrón aún cuando él estaba sentado en la fila de adelante. Tiene retraso en desarrollo y si lee algo él tiene que leerlo tres veces para recordar qué leyó. Él también tiene dificultad para ubicar cosas en una habitación.

15 Desde que empezó con las células hES su visión ha mejorado y él se sienta dos filas atrás en el salón de clases y puede ver el pizarrón mucho mejor. Él es capaz de recordar mucho más y su tiempo de respuesta a órdenes verbales ha mejorado. No tiene convulsiones tanto como antes y se ha

20 reducido su medicación. Reportes del oftalmólogo muestran que las áreas muertas en la periferia han sido reestablecidas.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 15.

136
13+

Tabla 15

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
6/8	im	neuronal (dosis de prueba)
6/9	im	neuronal
6/12	im	neuronal
6/13	im	neuronal
6/14	im	no neuronal
6/15	im	no neuronal
6/16	im	neuronal
6/20	im	neuronal
6/21	im	no neuronal
6/22	im	neuronal
6/23	iv	no neuronal
6/27	im	neuronal
6/28	im	neuronal
6/29	im	neuronal
7/3	im	no neuronal
7/4	im	neuronal
7/5	im	neuronal
7/6	im	neuronal

137
13 r

5

10

15

20

25

7/7	im	neuronal
7/10	im	neuronal
7/11	im	neuronal
7/12	im	neuronal
7/13	im	no neuronal
7/14	im	neuronal
7/17	im	neuronal
7/18	im	neuronal
7/20	im	neuronal
7/21	infusión iv	neuronal
7/22	infusión iv	neuronal
7/24	im	neuronal
7/25	im	neuronal
7/26	im	neuronal
7/27	im	neuronal
7/28	im	no neuronal
7/31	im	no neuronal
8/2	im	no neuronal
8/3	im	no neuronal
8/4	im	no neuronal
8/7	im	no neuronal
8/8	im	no neuronal
8/9	im	no neuronal
8/10	im x 2	no neuronal
8/11	infusión iv	no neuronal
8/12	infusión iv	no neuronal
8/13	im	no neuronal
8/14	im	no neuronal
8/17	im x 2	no neuronal
8/18	im	no neuronal
8/21	im	no neuronal
8/22	im	no neuronal
8/23	im	no neuronal
8/24	im	no neuronal
8/25	im	no neuronal
8/2/	im	no neuronal
8/29	im	no neuronal
8/30	im	no neuronal
9/2	infusión iv	no neuronal
9/3	infusión iv	no neuronal
9/4	im x 3	no neuronal
9/5	im	no neuronal
9/6	im	no neuronal
9/7	im	no neuronal
9/8	im	no neuronal
9/11	im	no neuronal
9/13	im	no neuronal
9/14	im	no neuronal

138
139

5

10

15

20

25

9/16	im	no neuronal
9/18	im	no neuronal
9/19	im	no neuronal
9/21	im x 2	no neuronal
9/22	infusión iv	no neuronal
9/23	infusión iv	no neuronal
10/3	im	no neuronal
10/4	im	no neuronal
10/5	im	no neuronal
10/6	im	no neuronal
10/9	im	no neuronal
10/10	im	no neuronal
10/11	im	no neuronal
10/12	im	no neuronal
10/13	retroorbital	neuronal
10/16	im	no neuronal
10/17	im	no neuronal
10/18	im	no neuronal
10/20	im	no neuronal
10/23	im	no neuronal
10/24	im	no neuronal
10/25	im	no neuronal
10/26	im	no neuronal
10/27	infusión iv	no neuronal
10/28	infusión iv x 3	no neuronal
10/31	im x 2	no neuronal
11/2	im x 2	no neuronal
11/3	im x 2	no neuronal
11/6	im x 2	no neuronal
11/8	im	no neuronal
11/9	im	no neuronal
11/10	im	no neuronal
11/13	im	no neuronal
11/14	retroorbital	neuronal
11/15	im	no neuronal
11/16	im	no neuronal
11/17	im	no neuronal
11/20	im	no neuronal
11/21	im	no neuronal
11/23	im	no neuronal
11/24	im	no neuronal
11/29	im	no neuronal
11/30	iv	mezclado
12/1	infusión iv	mezclado
12/4	im	no neuronal
12/5	iv	mezclado
12/6	im	no neuronal
12/7	im	no neuronal

BT
1 up

5

12/8	im	no neuronal
12/11	im	no neuronal
12/12	im	no neuronal
12/13	im	no neuronal
12/14	im	no neuronal
12/18	im	no neuronal
12/19	iv	no neuronal
12/21	im	no neuronal
12/22	retroorbital	neuronal
12/29	im	neuronal
2/2	im	no neuronal

Ejemplo 17

10

El paciente es un hombre de 32 años de edad que sufre de ataxia de Fredrick y cuya hermana murió de esta enfermedad. Él no puede pararse, tiene pronunciación que se apaga, dificultad al tragar, estaba confinado a una silla de ruedas y necesitaba ayuda para ir al baño. Había sido tratado en Alemania y Estados Unidos de Norteamérica sin resultados. Su corazón estaba dilatándose y funcionaba de 15 a 20%.

15

20

Desde que empezó las células hES, él ha mostrado mejora. Él es capaz de hablar mucho más claro y no tiene dificultad al tragar. Su corazón ha mejorado con todas las dimensiones regresando a la normalidad y la capacidad de funcionamiento hasta 58 a 60%. No ha habido deterioro.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 16.

25

140
141

Tabla 16

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
2/17	im	no neuronal (dosis de prueba)
2/20	im iv	neuronal no neuronal
2/21	im iv	neuronal no neuronal
2/22	im iv	neuronal no neuronal
2/23	im iv	neuronal no neuronal
2/24	im iv	neuronal no neuronal
2/25	im iv	neuronal no neuronal
2/26	im iv	neuronal no neuronal
2/27	epidural	neuronal
2/28	im	neuronal

141
142

5

10

15

20

25

	iv	no neuronal
3/1	im	neuronal
	iv	no neuronal
3/2	im	neuronal
	iv	no neuronal
3/3	im	neuronal
	iv	no neuronal
3/4	im	neuronal
	iv	no neuronal
3/5	im	neuronal
	iv	no neuronal
3/6	im	neuronal
		no neuronal
3/7	epidural (catéter)	neuronal
3/8	epidural (catéter)	neuronal
3/9	epidural (catéter)	neuronal
3/10	epidural (catéter)	neuronal
3/13	im	neuronal
	iv	no neuronal
3/14	im	no neuronal
3/16	im	no neuronal
3/17	im	neuronal
	iv	no neuronal
3/18	im	neuronal
	iv	no neuronal
3/19	im	neuronal
	iv	no neuronal
3/20	im	neuronal
	iv	no neuronal
3/21	im	no neuronal
3/22	im	no neuronal
3/24	im	neuronal
	iv	no neuronal
3/25	im	no neuronal
3/26	im	no neuronal
3/27	im	neuronal
3/28	im	no neuronal
3/29	im	no neuronal
3/30	im	no neuronal
3/31	im	no neuronal
4/1	im	no neuronal
4/2	im	no neuronal
4/3	im	no neuronal
4/4	im	neuronal
	iv	no neuronal
4/5	im	no neuronal
4/6	im	no neuronal
4/7	im	no neuronal
4/8	im	no neuronal

142
149

5

10

15

20

25

4/9	im iv	neuronal no neuronal
4/10	im iv	neuronal no neuronal
4/11	im	no neuronal
4/15	im	no neuronal
4/16	im	no neuronal
4/18	im iv	neuronal no neuronal
4/19	im iv	neuronal no neuronal
4/20	im iv	neuronal no neuronal
4/21	im	no neuronal
4/22	im	no neuronal
4/24	im	no neuronal
4/25	im	no neuronal
4/26	iv im	neuronal no neuronal
4/27	iv im	neuronal no neuronal
4/29	iv	neuronal
4/30	iv im	neuronal no neuronal
502	im	no neuronal
5/3	iv	neuronal
5/5	iv epidural	neuronal
5/7	iv im	neuronal no neuronal
5/9	iv im	neuronal no neuronal
5/10	iv im	neuronal no neuronal
5/12	iv im	neuronal no neuronal
5/13	iv im	neuronal no neuronal
5/14	iv im	neuronal no neuronal
5/16	epidural (intratecal)	neuronal
5/18	iv im	neuronal no neuronal
8/26	im iv	no neuronal
8/27	im iv	no neuronal
8/28	iv infusión iv	no neuronal

143
144

5

10

15

8/29	iv infusión iv	no neuronal
8/30	im iv	no neuronal
8/31	im iv	no neuronal
9/4	im iv	no neuronal
9/6	im iv	no neuronal
9/7	im iv	no neuronal
9/9	im iv	no neuronal
9/10	epidural (intratecal)	neuronal
9/12	im iv	no neuronal
9/14	im iv	no neuronal
9/15	epidural (catéter)	neuronal,
9/16	epidural (catéter)	neuronal,
9/17	epidural (catéter)	neuronal
9/18	im iv	no neuronal
9/19	im iv	no neuronal
9/20	iv infusión iv	no neuronal
9/21	iv infusión iv	no neuronal

Tratamiento de trastornos oculares

20

25

Otro uso del trasplante de células hES de acuerdo con la práctica de la presente invención es en el tratamiento de trastornos oculares que incluyen pero no están limitados a atrofia del nervio óptico, degeneración macular, daño ocular, rechazo a injerto de córnea y retinitis pigmentosa a través de inyección directa de progenitores neuronales y células hES

144
145

de acuerdo con la práctica de la presente invención a la porción retrobulbar del ojo, área superficial del ojo y cámara interna del ojo.

Aunque se pueden variar los protocolos de
5 administración para adecuarse al paciente particular, un protocolo típico para el tratamiento trastornos oculares comprende 10 días de inyecciones intramusculares e intravenosas seguidas por una inyección retrobulbar o intravítrea, 15 días de inyecciones intramusculares e
10 intravenosas seguidas por una inyección retrobulbar, 2 infusiones intravenosas y una inyección retrobulbar después de 2 meses. Un total de 4 inyecciones retrobulbares se suministran durante un periodo de 8 meses a un año antes de que se observen resultados pero en algunos casos los
15 resultados son observados antes. Se pueden usar rutas intravítreas. También se puede reparar la córnea mediante el uso de lentes de contacto en los cuales se ha cultivado la córnea. También se pueden usar gotas oculares que comprenden células madres.

20

Ejemplo 18

Un paciente diagnosticado con atrofia de nervio
óptico tenía condiciones que incluían dificultada al leer
letras pequeñas y no ser capaz de ver objetos ubicados lejos.
25 Tampoco eran visibles los colores azul oscuro y violeta. La

145
146

visión era nula con percepción de luz y ahora es 6/24.

Conforme a la terapia de células madre de acuerdo con la presente invención, es decir, células hES y sus derivados que incluyen progenitores de células madre neuronales administradas por inyección retrobulbar y células ges y sus derivados que incluyen progenitores de células madre neuronales y progenitores de células madre hematopoyéticas de acuerdo con la práctica de la presente invención se administra mediante inyección intravenosa local o inyección subcutánea o inyección intramuscular, inyección intravítrea o aplicación tópica en una cantidad de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células, el paciente mostró mejoras significativas. Él es capaz de leer la hora y puede ver carteles así como ver la televisión desde una distancia.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 17.

Tabla 17

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
2/14	im	neuronal
2/15	iv	neuronal no neuronal
3/20	iv x 2 im	neuronal
3/21	iv retrobulbar	neuronal
4/30	iv	no neuronal
5/1	iv im	neuronal

146
147

5/2	retrobulbar	no neuronal
-----	-------------	-------------

Tratamiento de trastornos en hígado y riñón

Aún otro uso de trasplante de células hES de
5 acuerdo con la práctica de la presente invención es para el
tratamiento de trastornos de hígado y trastornos de riñón
incluyendo pero no limitados a nefrosis renal de etapa final
y síndrome nefrótico a través de la trasplantación de acuerdo
con la práctica de la presente invención. Las rutas de
10 administración son intravenosa, intramuscular y mediante
infusión intravenosa.

Ejemplo 19

Un paciente diagnosticado con síndrome nefrótico
15 exhibió niveles de urea, creatina y proteína P elevados. La
diferenciación corticomedular no se mantuvo y el cuerpo fue
hinchado. Las células hES y sus derivados incluyendo
progenitores de célula madre hematopoyética, progenitores de
células madre productores de albúmina y progenitores de
20 células madre productores de bilirrubina de acuerdo con la
práctica de la presente invención se administraron mediante
inyección intravenosa o inyección subcutánea o inyección
intramuscular o infusión intravenosa en una cantidad de
aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de
25 células. Después del tratamiento con células madre, el

147
148

cuerpo estaba menos hinchado y la diferenciación corticomedular fue reestablecida. También se normalizaron los niveles de urea, creatina y proteína P.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 18.

Tabla 18

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
8/10	dosis de prueba	neuronal
8/11	im	neuronal
8/12	im	neuronal
8/16	im	hES
8/22	im	hES
8/24	im	hES
8/25	im	neuronal
8/29	im	neuronal
9/1	im	neuronal
9/7	im	neuronal

9/8	im	no neuronal
9/12	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/19	im	mezcla neuronal y no neuronal
10/3	im	mezcla neuronal y no neuronal
10/10	im	mezcla neuronal y no neuronal
10/11	iv	mezcla neuronal y no neuronal
10/31	iv	no neuronal
11/10	im	no neuronal
11/21	im	no neuronal
12/8	im	no neuronal
12/23	iv	no neuronal
2/7	im	no neuronal
8/24	im	no neuronal
8/25	im	no neuronal
9/9	im	no neuronal

Tratamiento de trastornos músculo-esqueléticos

Otro uso de trasplante de células hES de acuerdo con la práctica de la presente invención es para el tratamiento de trastornos músculo-esqueléticos incluyendo pero no limitados a artritis, distrofia muscular de Duchenne, distrofia de Limb Girdle, atrofia muscular espinal y atrofia muscular de Becker.

Aunque se pueden variar los protocolos de administración para adecuarse al paciente particular, un protocolo típico para el tratamiento de trastornos músculo-esqueléticos comprende inyecciones intramusculares e intravenosas diarias durante el primer mes, inyecciones dos veces por semana durante los meses 3, 5, 6 y 7, inyecciones semanales durante los meses 9-12 e inyecciones de refuerzo cada 3 meses. Se suministran infusiones intravenosas cada 10 a 15 días y se suministran inyecciones musculares espinales profundas cada 15 a 30 días.

20

Ejemplo 20

La historia del caso de un paciente diagnosticado con distrofia muscular de Duchenne mostró síntomas tales como languidez, cara y muslos hinchados y signo de Gower positivo, con niveles

25

altos de creatina fosfocinasa (CPK) en 10,000 unidades.

Después del tratamiento del paciente con células hES y sus derivados incluyendo progenitores de células madre neuronales y progenitores de células madre hematopoyéticos solos o en combinación mediante inyección intravenosa o inyección subcutánea o inyección intramuscular, o infusión de catéter intravenoso, o infusión de catéter epidural o infusión de catéter de bloque sub-aracnoide durante un periodo predeterminado, los niveles CPK caen drásticamente a 1198 unidades y el signo de Gower fue negativo.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 19.

150
151

Tabla 19

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
3/18	dosis de prueba	no neuronal
3/19	im	neuronal
3/20	im x 2	neuronal
3/25	im x 2	no neuronal
3/26	im x 2	no neuronal
3/27	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
3/28	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
3/29	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
3/30	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
3/31	im x 4	neuronal no neuronal x 3
4/1	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
4/2	im x 3	neuronal no neuronal x 2
4/3	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
4/4	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
4/5	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
4/6	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
4/7	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
4/8	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
4/9	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
4/10	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
4/11	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
4/12	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2

151
152

5

10

15

20

25

4/13	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
4/14	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
4/15	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
4/16	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
4/17	im x 5	neuronal x 3 no neuronal x 2
4/18	im x 3	neuronal no neuronal x 2
4/19	im x 3	neuronal x 2 no neuronal
4/20	im x 3	neuronal no neuronal x 2
4/21	im x 3	neuronal no neuronal x 2
4/22	im x 3	neuronal no neuronal x 2
4/23	im x 3	neuronal x 2 no neuronal
4/24	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
4/25	im x 3	neuronal no neuronal x 2
4/26	im x 2	neuronal no neuronal
7/1	im x 2	neuronal no neuronal
7/2	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
7/3	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
7/4	im x 2	neuronal no neuronal
7/5	infusión iv x 2	neuronal
7/6	infusión iv x 2	neuronal
7/7	im x 2	neuronal
7/8	im x 2	neuronal
7/9	im x 2	neuronal no neuronal
7/10	im x 2	neuronal no neuronal
7/11	im x 2	neuronal no neuronal
7/12	im x 2	neuronal no neuronal
7/13	im x 2	neuronal

X52
153

5

10

15

20

25

		no neuronal
7/14	im x 2	neuronal no neuronal
7/15	im x 2	neuronal no neuronal
7/16	im x 3	neuronal
7/17	infusión iv im x 2	neuronal no neuronal
7/18	infusión iv im x 2	neuronal no neuronal
7/19	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
7/20	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
7/21	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
7/22	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
7/23	iv x 2 im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 4
7/24	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
7/25	iv im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 4
7/26	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
7/27	iv im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 4
7/28	im x 4	neuronal no neuronal x 3
7/29	iv im x 4	no neuronal
7/30	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
7/31	iv im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 3
8/1	im x 4	neuronal x 2 no neuronal x 2
8/2	im x 4	no neuronal
8/3	infusión iv x 2	no neuronal
8/4	infusión iv x 2	no neuronal
8/5	im x 4	no neuronal
8/6	im x 4	no neuronal
8/7	infusión iv im x 2	no neuronal
8/8	infusión iv im x 2	no neuronal
8/9	infusión iv x 2 im x 2	no neuronal

153
154

8/10	im x 4	no neuronal
8/11	im x 4	no neuronal
8/12	infusión iv im x 2	neuronal

5

Ejemplo 21

Un joven de 14 años de edad diagnosticado con un caso de DMD estaba postrado en cama sin fuerza en ambas manos y piernas y con atrofia muscular. Él también tenía escoliosis.

10

Después de 8 meses de terapia él ha desarrollado músculos en los bíceps, tríceps y brahui-radiales y es capaz de elevar sus brazos al nivel del codo. Él ha subido de peso y está creciendo sin ninguna escoliosis espinal asociada.

15

Sus niveles CPK, los cuales indicaron la velocidad de falla muscular, han sido reducidos.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 20.

20

25

15A
155

Tabla 20

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
4/13	im	no neuronal (dosis de prueba)
4/14	im	no neuronal
4/15	im	neuronal
4/16	im	neuronal
4/17	im	neuronal no neuronal
4/18	im	no neuronal
4/19	im	neuronal no neuronal
4/20	im	neuronal no neuronal
4/21	im	neuronal no neuronal
4/22	im	neuronal no neuronal
4/23	im	neuronal no neuronal
4/24	im	neuronal no neuronal
4/25	im	neuronal no neuronal
4/26	im	no neuronal
4/27	im	no neuronal
4/28	im	neuronal no neuronal

155
156

5

10

15

20

25

4/29	im	neuronal no neuronal
4/30	im	neuronal no neuronal
5/1	im	no neuronal
5/2	im	no neuronal
5/3	im	neuronal no neuronal
5/4	im	no neuronal
5/5	im	neuronal no neuronal
5/6	im	neuronal
5/7	im	neuronal no neuronal
5/8	im	neuronal no neuronal
5/9	iv infusion im	neuronal
5/13	im	neuronal no neuronal
5/15	im	no neuronal
5/16	im	no neuronal
5/17	im	neuronal no neuronal
5/18	im	neuronal no neuronal
5/19	im	neuronal no neuronal
5/20	im	neuronal no neuronal
5/21	im	neuronal no neuronal
5/22	im	neuronal no neuronal
5/23	im	neuronal no neuronal
5/24	im	neuronal no neuronal
5/26	im	neuronal no neuronal
5/27	im	neuronal no neuronal
5/28	im	neuronal no neuronal
5/29	im	neuronal no neuronal
5/30	im	neuronal no neuronal
6/1	im	neuronal

156
157

5

10

15

20

25

		no neuronal
6/2	im	neuronal no neuronal
6/3	im	neuronal no neuronal
6/4	im	neuronal no neuronal
6/5	im	neuronal no neuronal
6/6	im	neuronal no neuronal
6/7	im	neuronal no neuronal
6/8	im	neuronal no neuronal
6/9	im	neuronal no neuronal
6/10	im	neuronal no neuronal
6/11	im	neuronal no neuronal
6/12	im	no neuronal
6/13	im	neuronal no neuronal
6/14	im	neuronal no neuronal
6/15	im	neuronal no neuronal
6/16	im	neuronal no neuronal
6/17	im	neuronal no neuronal
6/18	im	neuronal no neuronal
6/19	im	neuronal x 2
6/20	im	neuronal no neuronal
6/22	im	neuronal x 2
6/23	iv	no neuronal x 2
6/24	iv	no neuronal x 2
6/25	iv	no neuronal x 2
6/27	im	neuronal no neuronal
6/28	im	neuronal no neuronal
6/29	im	neuronal no neuronal
6/30	im	neuronal no neuronal

157
158

5

10

15

20

25

7/1	im	neuronal no neuronal
7/2	im	neuronal no neuronal
7/3	im	neuronal no neuronal
7/4	im	neuronal no neuronal
7/5	im	neuronal x 2
7/6	im	neuronal x 2
7/7	im	neuronal x 2
7/8	im	neuronal no neuronal
7/9	im	neuronal no neuronal
7/10	im	neuronal no neuronal
7/11	im	neuronal no neuronal
7/12	im	neuronal no neuronal
7/13	im	neuronal no neuronal
7/14	im	neuronal no neuronal
7/15	im	neuronal no neuronal
8/18	im	no neuronal x 3
8/19	im	no neuronal x 2
8/20	im	no neuronal x 3
8/21	im	no neuronal x 3
8/22	im	no neuronal x 3
8/23	im	no neuronal x 3
8/24	im	no neuronal x 3
8/25	im	neuronal no neuronal x 2
8/26	im	neuronal x 3
8/27	im	no neuronal x 3
8/28	iv	no neuronal 7
8/29	iv	no neuronal 7x 2
8/30	im	no neuronal x 2
8/31	im	no neuronal x 3
9/1	infusión iv	no neuronal
9/2	infusión iv	no neuronal
9/3	im	no neuronal x 3
9/4	im	no neuronal x 3
9/5	im	no neuronal x 3
9/6	im	no neuronal x 3
9/7	im	no neuronal x 3

158
159

5

10

15

20

25

9/8	im	no neuronal x 3
9/9	im	no neuronal x 3
9/10	im	no neuronal x 3
9/11	im	no neuronal x 3
9/12	im	no neuronal x 3
9/13	im	no neuronal x 3
9/14	im	no neuronal x 3
9/15	im	no neuronal x 3
9/16	im	no neuronal x 3
9/17	im	no neuronal x 3
9/18	im	no neuronal x 3
9/19	im	no neuronal x 3
9/20	im	no neuronal x 3
9/21	im	no neuronal x 3
9/22	infusión iv	no neuronal
9/23	infusión iv	no neuronal
9/24	im	no neuronal x 3
9/25	im	no neuronal x 3
9/26	im	no neuronal x 3
9/27	im	no neuronal x 3
9/28	im	no neuronal x 3
9/29	im	no neuronal x 3
9/30	im	no neuronal x 3
10/1	im	no neuronal x 3
10/2	im	no neuronal x 3
10/3	im	no neuronal x 3
10/4	im	no neuronal x 3
10/5	im	no neuronal x 3
10/6	im	no neuronal x 3
10/7	im	no neuronal x 3
10/8	im	no neuronal x 3
10/9	im	no neuronal x 3
10/11	im	no neuronal x 3
10/12	im	no neuronal x 3
10/13	im	no neuronal x 3
10/14	im	no neuronal x 3
10/15	im	no neuronal x 3
10/16	im	no neuronal x 3
10/17	im	no neuronal x 3
10/18	im	no neuronal x 3
10/19	im	no neuronal x 3
10/20	im	no neuronal x 3
10/21	im	no neuronal x 3
10/23	im	no neuronal x 3
10/24	im	no neuronal x 3
10/25	im	no neuronal x 3
10/26	im	no neuronal x 3
10/27	im	no neuronal x 3

159
160

5

10

15

20

25

10/28	im	no neuronal x 3
10/29	im	no neuronal x 3
10/30	im	no neuronal x 3
10/31	im	no neuronal x 5
11/2	im	no neuronal x 4
11/3	im	no neuronal x 3
11/4	im	no neuronal x 3
11/5	im	no neuronal x 3
11/7	im	no neuronal x 3
11/8	im	no neuronal x 2
11/9	im	no neuronal
11/10	im	no neuronal x 3
11/11	im	no neuronal x 3
11/12	im	no neuronal x 3
11/13	im	no neuronal x 3
11/14	im	no neuronal x 3
11/15	im	no neuronal x 3
11/30	im	mixed x 3
12/1	im	no neuronal x 3
12/2	im	no neuronal x 3
12/3	im	no neuronal x 3
12/4	im	no neuronal x 3
12/5	im	no neuronal x 3
12/6	im	no neuronal x 3
12/7	im	no neuronal x 3
12/8	im	no neuronal x 3
12/9	im	no neuronal x 3
12/10	im	no neuronal x 3
12/12	im	no neuronal x 3
12/13	im	no neuronal x 3
12/14	im	no neuronal x 3
12/15	im	no neuronal x 3
12/16	iv infusion	no neuronal
12/17	iv infusion im	no neuronal x 3
12/18	im	no neuronal
12/19	iv im	no neuronal
12/20	im	no neuronal x 3
12/21	iv im	no neuronal x 3
12/22	iv	no neuronal x 3
12/23	im	no neuronal x 3
12/24	im	no neuronal x 3
12/25	im	mezclado x 3
12/26	iv im	no neuronal x 3
12/27	iv	mezclado

20

25.

Un niño de 8 años de edad confinado a una silla de ruedas debido a DMD no fue capaz de caminar o levantarse. Después de 6 meses de tratamiento su nivel CPK fue reducido. Él no se ha deteriorado y es capaz de mover sus brazos. Él empezó a caminar con soporte mínimo.

161
162

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 21.

Tabla 21

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
4/29	im	neuronal no neuronal
4/30	im	no neuronal
5/1	im	neuronal no neuronal
5/3	im	neuronal
5/4	im	neuronal no neuronal
5/5	im	neuronal no neuronal
5/6	im	neuronal no neuronal
5/7	im	no neuronal
5/8	im	neuronal no neuronal
5/9	im	neuronal no neuronal
5/10	im	neuronal no neuronal
5/11	im	neuronal no neuronal
5/12	im	neuronal no neuronal
5/13	im	neuronal no neuronal
5/14	im	neuronal no neuronal
5/15	im	neuronal no neuronal
5/16	im	neuronal no neuronal
5/17	im	neuronal no neuronal
5/18	im	neuronal no neuronal
5/19	im	neuronal no neuronal
5/20	im	neuronal no neuronal
5/21	im	neuronal no neuronal
5/22	im	neuronal no neuronal
5/23	im	neuronal no neuronal
5/24	im	neuronal no neuronal
5/25	im	neuronal no neuronal

82
163

5

10

15

20

25

5/26	im	neuronal no neuronal
5/27	im	neuronal no neuronal
5/28	im	neuronal no neuronal
5/29	im	neuronal no neuronal
5/30	im	neuronal no neuronal
6/1	im	neuronal no neuronal
6/2	im	neuronal no neuronal
6/3	im	neuronal no neuronal
6/4	im	neuronal no neuronal
6/5	im	neuronal no neuronal
6/6	im	neuronal no neuronal
6/7	im	neuronal no neuronal
6/8	im	neuronal no neuronal
6/9	im	neuronal no neuronal
11/15	im	no neuronal
11/16	infusión intravenosa	neuronal
11/17	infusión intravenosa	neuronal
11/18	im	no neuronal
11/19	im	no neuronal
11/20	im	no neuronal
11/21	infusión intravenosa	mezclado
11/22	infusión intravenosa	mezclado
11/23	im	no neuronal
11/25	im	mezclado
11/26	im	mezclado
11/27	im	mezclado
11/29	im	no neuronal
12/1	im	no neuronal
12/2	im	no neuronal
12/3	im	no neuronal
12/5	im	no neuronal
12/6	im	no neuronal
12/7	im	no neuronal
12/8	infusión intravenosa	mezclado
12/9	infusión intravenosa	no neuronal

183
164

5

10

15

12/10	im	no neuronal
12/11	im	no neuronal
12/12	im	no neuronal
12/15	im	no neuronal
12/16	infusión intravenosa	no neuronal
12/17	infusión intravenosa	no neuronal
12/18	im	no neuronal
12/19	im iv	no neuronal
12/20	im	no neuronal
12/21	im	no neuronal
12/22	im	no neuronal
12/23	im	no neuronal
12/24	im	no neuronal
12/25	im	neuronal
12/26	im	neuronal
12/27	iv	mezclado
12/28	im	neuronal
12/29	im	neuronal
12/30	im	neuronal
12/31	im	neuronal
1/1	im	neuronal
1/2	im	mezclado
1/4	im	no neuronal
1/5	iv	no neuronal
1/6	infusión intravenosa	no neuronal
1/7	im	no neuronal
1/8	im	no neuronal

Ejemplo 23

20

25

Un niño de 10 años de edad diagnosticado con DMD quien fue capaz de dar algunos pasos con soporte se trajo para terapia. Él no era capaz de voltearse por sí solo en la cama o sentarse por sí solo. Él podía levantar sus brazos hasta 30° hasta el nivel del codo. Después de pocos meses de tratamiento, su nivel de CPK ha comenzado a caer y él es capaz de voltearse sólo y puede levantar un tarro con agua arriba de su cabeza para bañarse. Él no ha perdido peso.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 22.

164
165

Tabla 22

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
1/20	im	no neuronal (dosis de prueba)
1/23	im	no neuronal
1/24	im	no neuronal
	iv	
1/25	im	no neuronal
1/26	im	neuronal no neuronal
1/27	im	no neuronal
2/1	im	no neuronal
2/2	im	neuronal no neuronal
2/3	im	no neuronal
2/4	im	neuronal no neuronal
2/5	im	neuronal
2/6	im	no neuronal
2/7	im	no neuronal
2/8	im	neuronal no neuronal
2/10	im	neuronal no neuronal
2/11	im	neuronal no neuronal
2/12	im	neuronal no neuronal
2/14	im iv	neuronal no neuronal
2/15	im	neuronal no neuronal
2/16	im	neuronal no neuronal
2/17	im	neuronal no neuronal
2/18	im	neuronal no neuronal
2/21	im	neuronal no neuronal
2/22	im	neuronal no neuronal
2/23	im	neuronal no neuronal
2/24	im	neuronal
2/25	im	neuronal
2/26	im	neuronal no neuronal
2/27	im	neuronal no neuronal
2/28	im	neuronal no neuronal
3/28	im	neuronal no neuronal
3/29	im	neuronal

5

10

15

20

25

165
166

5

10

15

20

25

3/30	im	neuronal no neuronal
4/4	im	neuronal
4/5	im	neuronal no neuronal
4/6	im	neuronal no neuronal
4/7	im	neuronal no neuronal
4/8	im	neuronal no neuronal
4/9	im	neuronal no neuronal
5/16	im	neuronal no neuronal
5/17	im	neuronal no neuronal
5/18	im	neuronal no neuronal
5/19	infusión iv	no neuronal
5/20	infusión iv	no neuronal
5/21	im	neuronal no neuronal
5/22	im	neuronal no neuronal
5/23	im	neuronal no neuronal
7/27	infusión iv	neuronal
7/28	infusión iv im	neuronal no neuronal
7/29	im	neuronal no neuronal
7/30	im	neuronal no neuronal
7/31	im	no neuronal
8/1	im	no neuronal
8/24	im	neuronal no neuronal
8/25	im	neuronal no neuronal
8/26	infusión iv m	no neuronal
8/27	infusión iv im	no neuronal
8/28	iv	neuronal no neuronal
8/29	infusión iv im	no neuronal
8/30	im	no neuronal

166
167

5

10

15

20

25

8/31	im	no neuronal
9/1	im	no neuronal
9/2	infusión iv im	no neuronal
9/3	infusión iv im	no neuronal
9/4	im	no neuronal
9/5	im	no neuronal
11/17	iv im	mezclado no neuronal
11/18	infusión iv im	neuronal no neuronal
11/19	infusión iv im	neuronal no neuronal
11/20	im	no neuronal
11/22	infusión iv	neuronal
11/23	iv im	mezclado no neuronal
11/24	iv im	mezclado no neuronal
11/25	im iv	mezclado
11/26	im iv	mezclado
11/27	iv im	no neuronal
11/28	iv	mezclado
11/29	iv	mezclado
11/30	im	mezclado
12/1	iv im	no neuronal
12/2	iv im	no neuronal
12/3	iv im	no neuronal
12/4	iv	mezclado
12/5	im iv	no neuronal
1/2	im	mezclado
1/3	im	no neuronal
1/4	im	no neuronal
1/5	infusión iv im	no neuronal
1/6	infusión iv im	mezclado no neuronal
1/7	infusión iv	mezclado
1/8	infusión iv im	mezclado no neuronal
1/9	im	no neuronal

167
168

Tratamiento de enfermedades y trastornos cardiacos

Otro uso de trasplante de células hES de acuerdo con la práctica de la presente invención es para el tratamiento de enfermedades y trastornos cardiacos incluyendo pero no limitados a cardiomiopatía restrictiva, insuficiencia cardiaca, bradicardia de seno y enfermedad de arteria coronaria. Alguna porción de las células diferenciadas son incorporadas en el tejido cardiaco del paciente., reproduciendo y reparando el músculo dañado.

Aunque se pueden variar los protocolos de administración para adecuarse al paciente particular, un protocolo típico para el tratamiento de enfermedades y trastornos cardiacos comprende inyecciones intramusculares e intravenosas cada tercer día durante 2 semanas y después cada 3 días durante las siguientes 2 semanas, e inyecciones intramusculares una vez al mes junto con infusiones intravenosas durante los meses 3, 6, 10 y 12. Se pueden suministrar inyecciones intracardiacas alrededor del área dañada durante cirugía de derivación.

168
169

Ejemplo 23

Un paciente diagnosticado con síndrome de Sinus Corda con bradicardia de seno se informó que tiene un marcapasos implantado. El paciente se trató de acuerdo con la práctica de la presente invención en donde las células hES y sus derivados incluyendo progenitores de células madre hematopoyéticos mediante inyección intravenosa o inyección subcutánea o inyección intramuscular o inyección intracardiaca o durante angiografía fueron administradas en una cantidad de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células. El paciente mostró signos de mejoría después de someterse al tratamiento con células hES y la necesidad de un marcapasos fue eliminada.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 22.

Tabla 22

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
7/6	dosis de prueba	no neuronal
7/19	im x 2	neuronal
7/21	im x 2	neuronal
7/26	im x 2	neuronal

169
170

5

10

8/4	im x 2	neuronal
8/10	im x 4	neuronal
8/26	im x 2	neuronal
9/1	im x 2	neuronal
9/8	iv	neuronal
9/15	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/22	iv im	neuronal no neuronal
9/28	caudal	neuronal
10/13	iv x 2	mezcla neuronal y no neuronal
10/27	im x 2	mezcla neuronal y no neuronal neuronal
11/8	im x 2	no neuronal
3/23	intra-articular en meniscos	neuronal
4/14	intra-articular en meniscos	neuronal
5/18	intra-articular en meniscos	neuronal
6/14	caudal	neuronal

15

**Tratamiento de células cancerígenas y tejidos
oncogénicos**

20

25

Como alternativa, las células hES pueden administrarse de acuerdo con la práctica de la presente invención para complementar tratamiento de quimioterapia convencional de pacientes con cáncer. En quimioterapia convencional, se administran agentes citotóxicos para destruir las células cancerígenas. Sin embargo, los agentes citotóxicos no distinguen entre células normales y células cancerígenas y pueden destruir las células no cancerígenas del paciente, incluyendo las células del sistema inmune del paciente. Como consecuencia, mientras se somete a

170
171

quimioterapia, y por algún periodo después de detener la quimioterapia, pacientes con cáncer son susceptibles de infección debido a su sistema inmune comprometido. Al administrar células madre hematopoyéticas, células madre
5 neuronales y células hES a pacientes sometidos a quimioterapia alguna porción de las células inyectadas se diferenciaron en un nuevo sistema inmune, reemplazando los glóbulos blancos, glóbulos rojos, plaquetas y otras células destruidas por la quimioterapia. También, regeneración de
10 médula ósea aplásica como resultado de radioterapia y quimioterapia, a través de la regulación de los mecanismos de mitosis, y restauración de trayectorias de comunicación celular normal refuerzan el sistema inmune y detiene mitosis desregulada adicional. Las células hES y/o sus derivados
15 pueden ser administradas mediante inyección intravenosa o intramuscular o administración directa en el cultivo. Estas células también actúan en la trayectoria hedgehog aberrante y la controlan para permitir la detención de la multiplicación excesiva.

20

Ejemplo 24

Un paciente que se reporta con adeno-carcinoma grado III que fue sometido a tratamiento de quimioterapia y cirugía sin éxito. Debido al ataque de metástasis hepáticas
25 múltiples con apariencia nodular y nodos celiacos y

171
172

retropancreáticos, el paciente necesitó cuidado de apoyo.

Las células hES y sus derivados de acuerdo con la práctica de la presente invención se administraron en una cantidad de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de células al paciente lo que dio como resultado en mejoras notables incluyendo restauración de un hígado uniformemente heterogéneo que anteriormente era nodular y un área ecogénica incrementada en los nodos linfáticos.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 23.

Tabla 23

15

20

25

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
3/23	dosis de prueba	no neuronal
3/24	im	no neuronal
3/25	im	no neuronal
3/26	im	no neuronal
3/27	im	no neuronal
3/28	iv	no neuronal
3/29	iv	no neuronal
3/30	iv	no neuronal
3/31	iv	neuronal
4/1	iv	no neuronal
4/2	im	no neuronal
4/3	iv	no neuronal
4/4	iv	no neuronal
4/5	iv im x 2	neuronal no neuronal
4/6	iv im	no neuronal neuronal
4/7	iv	no neuronal
4/8	iv	no neuronal
4/9	iv	no neuronal
4/10	iv	no neuronal
4/11	iv im	no neuronal neuronal

172
173

5

10

15

20

4/12	iv im	no neuronal neuronal
4/13	iv im	neuronal no neuronal
4/14	iv	neuronal
4/15	iv im	no neuronal neuronal
4/16	iv im	no neuronal neuronal
4/17	iv	no neuronal
4/19	iv im	no neuronal neuronal
4/20	iv im	no neuronal neuronal
4/21	iv im	no neuronal neuronal
4/23	iv infusion	neuronal
4/24	iv	no neuronal
4/25	im	no neuronal
4/26	iv	no neuronal
4/27	im	no neuronal
5/2	iv	no neuronal
5/3	iv	no neuronal
5/6	im iv	neuronal no neuronal
5/7	im	neuronal no neuronal
5/8	iv	no neuronal
5/12	iv	no neuronal
5/16	im iv	neuronal no neuronal
5/18	iv infusion	no neuronal
5/19	iv	no neuronal
5/20	im iv	neuronal no neuronal
5/22	iv infusion iv x 2	no neuronal
5/23	iv infusion iv x 2	no neuronal

Tratamiento de úlceras aftosas/liquen plano

25

Aún otro uso de células hES y/o sus derivados en el

tratamiento de cualquier úlcera en las áreas mucosas del cuerpo, tales como úlcera aftosa de la boca. Las células se administran intravenosamente, intramuscularmente y localmente. Las inyecciones diarias se suministran intramuscular o intravenosamente durante los primeros 4 meses e infusión intravenosa cada 15-30 días. También se hace aplicación local directamente o mediante mezclado con un gel.

Ejemplo 25

Una mujer de 65 años de edad llegó con una lengua completa de tejido necrótico y úlceras aftosas las cuales eran dolorosas. Ella tenía dificultada al comer y tragar y al hablar. Al recibir células hES ella está mejor; resultando más fácil tragar y hablar y abrir su boca mejor. Ella también mostró recuperación con las úlceras y el tejido necrótico.

Tratamiento de osteoartritis, artritis y coyunturas anquilosantes

Aún otro uso de las células hES y sus derivados es el tratamiento de osteoartritis, artritis y coyunturas anquilosantes. Se suministran inyecciones intramusculares diarias durante cebado x 10 días. Inyección intra-articular de 750,000 a 80 millones de células hES mezcladas con salumedrol se suministran y se repite 1½ a 3 meses después.

Tratamiento de lesión de plexo braquial

Otro uso adicional de las células hES y sus derivados es el tratamiento de lesiones de plexo braquial en donde el brazo afectado es paralizado. Las células se administraron intramuscularmente, intrevenosamente y en el plexo braquial y se repitió cada 1½ mes durante un año o hasta que el brazo mejore. También se usaron infusiones intravenosas.

10

Ejemplo 26

El paciente es un hombre de 26 años quien sufrió de lesión de plexo braquial (Lt.) en la mano y que ha perdido la función de ésta durante los últimos 7-8 años. Con tratamiento de células madre su mano izquierda ha mejorado mucho con más fuerza motora hasta el codo y muñeca. Es capaz de mover su muñeca y la mano no está tan flácida como estaba antes. Él es capaz también de mover su brazo hacia arriba.

15

Tratamiento de trastornos reproductivos

Aún otro uso de trasplante de células hES de acuerdo con la práctica de la presente invención es para el tratamiento de trastornos reproductivos, a través de la restauración de fertilidad en pacientes que sufren de atrofia testicular, falla ovárica y azoospermia.

20

25

175
176

Ejemplo 27

El tratamiento de un paciente azoospermático con células hES y sus derivados incluyendo progenitores de células madre hematopoyéticos mediante inyección intramuscular local de acuerdo con la práctica de la presente invención dio como resultado la producción de espermatozoides. También se usaron inyecciones intramusculares e intravenosas así como inyecciones directas en los testículos y también se usó inyección subcutánea cerca del epidídimo.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 24.

Tabla 24

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
2/1	dosis de prueba	no neuronal
8/4	im	no neuronal
2/5	im	no neuronal
8/7	im	no neuronal
2/2	im	mezcla neuronal y no neuronal
7/27	im	neuronal
3/6	im	no neuronal
9/1	im	neuronal
9/2	im	neuronal
9/6	im	neuronal
9/7	im	neuronal
9/12	im	neuronal
9/13	im	mezcla neuronal y no neuronal
1/17	iv	no neuronal
3/27	im	no neuronal
4/26	im	neuronal
5/8	im	no neuronal
5/25	im	no neuronal
8/11	im	no neuronal
8/17	im	no neuronal
9/7	im	no neuronal

176
177

Regeneración tisular

Se pueden administrar las células hES de acuerdo con la práctica de la presente invención para la inducción de regeneración tisular, incluyendo pero no limitados a regeneración muscular, el tratamiento de cirrosis de hígado y en la formación de nuevos vasos sanguíneos (neovascularización) la cual es efectiva en el tratamiento de enfermedades degenerativas y al tratar úlceras que no cicatrizan.

5
10

Tratamiento de diabetes

Otra modalidad para la invención es el uso de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden células progenitoras que producen insulina, en el tratamiento de diabetes. Los pacientes diabéticos tienen cuatro veces más alto riesgo de sufrir un ataque al corazón o apoplejía y también tienen un riesgo incrementado de degeneración e insuficiencia de órganos múltiples, incluyendo riñones, ojos, sistema nervioso e inmunidad general. Al tratar la diabetes a través de trasplantación de células hES productoras de insulina y restablecimiento de producción de insulina en el cuerpo, existe una reducción en la necesidad de insulina y una reducción en los efectos secundarios debilitantes.

15
20
25

Aunque se pueden variar los protocolos de

177
178

administración para adecuarse al paciente particular, un protocolo típico para el tratamiento de diabetes comprende inyecciones intramusculares e intravenosas dos veces a la semana durante el primer mes e inyecciones una vez a la semana durante los meses 3, 6, 11 y 12. También pueden ser suministradas las infusiones intravenosas durante el mes 6.

Ejemplo 28

El paciente es un hombre de 70 años de edad con diabetes y quien ha sufrido de hipercetoacidosis y estaba con 52 unidades de insulina y un hipoglucemiante oral. Dentro de 6 meses de terapia se le retiraron todos los medicamentos e insulina y ahora actualmente es capaz de mantener su azúcar en sangre en una dieta normal durante el último 1½. Él recibe inyecciones de refuerzo.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 25.

Tabla 25

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
9/5	dosis de prueba	no neuronal

178
179

5

10

15

20

25

9/6	im	neuronal
9/7	im	neuronal
9/8	im	no neuronal
9/9	im	no neuronal
9/12	iv	neuronal
9/13	im	no neuronal
9/19	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/22	iv	no neuronal
9/26	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/29	im	mezcla neuronal y no neuronal
10/3	im	mezcla neuronal y no neuronal
10/5	im	no neuronal
10/10	im	no neuronal
10/13	iv	no neuronal
10/17	im	mezcla neuronal y no neuronal
10/20	iv	no neuronal
10/24	iv	mezcla neuronal y no neuronal
10/31	iv	mezcla neuronal y no neuronal
11/3	iv	mezcla neuronal y no neuronal
11/7	im	no neuronal
11/10	im	no neuronal
11/14	iv	neuronal
11/17	im	no neuronal
11/21	im	no neuronal
12/12	iv	no neuronal
12/19	iv	neuronal
12/26	iv	no neuronal
1/4	im	no neuronal
8/18	im	no neuronal
8/21	im	no neuronal
8/22	im	no neuronal
8/24	im	no neuronal
8/26	im	no neuronal

Ejemplo 29

Un hombre de 54 años de edad presentado con diabetes mellitus no controlada durante los últimos tres años y que estaba tomando 42 unidades de insulina junto con un hipoglucemiante oral. Su azúcar en sangre en ayunas fue de 200 mg/dl y su azúcar post prandial fue de 280 mg/dl con

579
1 x 0

todas las medicaciones.

Después de tomar células hES durante tres semanas él ha dejado de tomar insulina y está con una dosis reducida de fármacos hipoglucemiantes. Él se siente mucho mejor y
5 está más alerta.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 26.

Tabla 26

10

15

20

25

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
1/18	im	neuronal (dosis de prueba)
1/19	im	no neuronal
1/20	im	no neuronal
1/21	im	mezclado
1/22	im	mezclado
1/23	im	mezclado
1/24	im	neuronal
1/25	im	neuronal
1/26	im	no neuronal
1/27	im	no neuronal
1/28	im	neuronal
1/29	im	neuronal
1/30	im	neuronal
1/31	im	mezclado

180
181

Ejemplo 30

Un hombre de 45 años de edad tenía angina y era diabético. Él tomaba insulina y un hipoglucemiante oral y fue sometido a angioplastía.

5 Tres meses después de haber recibido tratamiento de células hES él ha dejado la insulina y está con una dosis reducida de hipoglucemiante oral. Sus registros de azúcar en sangre y medicación están mostrando niveles de azúcar en sangre bien
10 controlados.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 27.

Tabla 27

15

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
8/21	im	no neuronal (dosis de prueba)
8/22	im	no neuronal
8/23	im	no neuronal
8/24	im	no neuronal
8/25	im	no neuronal

20

25

181
182

5

10

15

20

25

8/28	im	no neuronal
8/30	im	no neuronal
9/1	im	no neuronal
9/4	im	no neuronal
9/6	iv	no neuronal
9/8	im	no neuronal
9/11	im	no neuronal
9/13	im	no neuronal
9/18	im	no neuronal
9/20	im	no neuronal
9/25	im	no neuronal
9/28	im	no neuronal
9/29	im	no neuronal
9/30	im	no neuronal
10/9	im	no neuronal
10/11	im	no neuronal
10/18	im	no neuronal
10/23	im	no neuronal
10/25	im	no neuronal
10/31	im	no neuronal
11/2	im	no neuronal
11/08	im	no neuronal
11/11	infusión iv	mezclado
11/12	infusión iv	mezclado
11/13	im	no neuronal
11/15	im	no neuronal
11/17	im	no neuronal
11/18	infusión iv	neuronal
11/19	infusión iv	neuronal
11/20	im	no neuronal
11/22	im	no neuronal
11/25	infusión iv	neuronal
11/26	infusión iv	neuronal
11/27	im	no neuronal
11/29	iv im	neuronal no neuronal
11/30	infusión iv	neuronal
12/1	infusión iv	neuronal
12/10	infusión iv	mezclado
12/11	im	no neuronal
12/13	im	no neuronal
12/16	infusión iv	neuronal
12/17	infusión iv	neuronal
12/18	im	no neuronal
12/20	im	neuronal
12/21	im	neuronal
12/22	iv	neuronal
1/5	im	no neuronal

182
183

1/6	im iv	no neuronal
1/8	im	no neuronal

5 **Tratamiento de enfermedad pulmonar**
intersticial

Ejemplo 31

Una mujer de edad mediana vino a la clínica
sufriendo de ILD (enfermedad pulmonar intersticial).
10 Ella estaba en etapa terminal con 69% de SPO₂ en
descanso. Hasta el presente con tratamiento de
células hES su enfermedad ha parado de progresar. La
paciente se siente mucho mejor en general e incluso
su respiración ha mejorado. El tratamiento continúa.
15 Existen sonidos al respirar que pueden escucharse en
auscultación y su prueba de función pulmonar general
mostraron alguna mejoría.

El programa de inyecciones para este paciente
se muestra en la tabla 28.

20

25

183
184

Tabla 28

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
10/16	im	no neuronal (dosis de prueba)
10/17	im	no neuronal
10/18	im	no neuronal
10/19	iv epidural nebulización	neuronal no neuronal
10/20	nebulización iv	neuronal
10/21	nebulización iv	neuronal
10/22	im nebulización iv	neuronal no neuronal
10/23	nebulización iv	neuronal
10/24	nebulización im	no neuronal
10/25	im nebulización iv	mezclado
10/26	nebulización iv	mezclado
10/27	nebulización iv	mezclado

25

5
10
15
20
25

5
10
15
20
25

187
188

5

10

15

20

25

	nebulización	
1/3	im nebulización iv	no neuronal
1/4	im nebulización iv	no neuronal
1/5	im nebulización iv	neuronal no neuronal
1/6	im nebulización iv	mezclado no neuronal
1/7	im nebulización iv	mezclado no neuronal
1/8	im nebulización iv	mezclado no neuronal
1/9	im nebulización iv	mezclado no neuronal
1/10	im iv nebulisation	mezclado no neuronal
1/11	im nebulización iv	mezclado no neuronal
1/12	im nebulización iv	mezclado no neuronal
1/13	iv	mezclado
1/14	im nebulización iv	mezclado no neuronal
1/15	im nebulización iv	neuronal no neuronal
1/16	im nebulización iv	mezclado no neuronal
1/17	im nebulización iv	mezclado no neuronal
1/18	IM nebulización iv	mezclado no neuronal
1/19	im iv	mezclado no neuronal

20

Desarrollo de nuevo fármaco

25

189
190

células hES se pueden cultivar de acuerdo con la práctica de la presente invención y usarse como un sustrato para evaluar los objetivos, modo de acción, absorción, metabolismo, excreción, toxicidad y seguridad de nuevas entidades químicas, candidatos de fármacos y nuevos farmacéuticos durante búsqueda y desarrollo farmacéutico. En una modalidad, la presente invención se refiere a métodos para evaluar el efecto de un compuesto en las células hES y/o sus derivados que comprende cultivar células hES y/o sus derivados obtenidos por los métodos de la presente invención en presencia del compuesto y determinar el efecto del compuesto en las células.

Ejemplo 32

Los efectos de los antibióticos tetraciclina y ceftriaxona en células hES cultivadas fueron analizados junto con suero del paciente. Estos fármacos fueron introducidos en forma separada así como juntos en concentraciones diferentes y los efectos se estudiaron en las células madre. Finalmente, la dosis de la medicación y la eficacia de los fármacos se determinó.

Suministro de fármaco

Otro uso de las células hES y/o sus derivados es portar fármacos al sitio de una lesión o enfermedad para

190
191

suministro localizado. Las células hES y/o sus derivados pueden incubarse en presencia de un fármaco de forma que las células absorban el fármaco. Las células cargadas pueden entonces suministrarse localmente al sitio de tratamiento en donde el fármaco se propaga fuera de las células y el tratamiento de la lesión o enfermedad será efectuado. En otra modalidad, las células cargadas pueden suministrarse a un sitio diferente del área dañada o enferma si el área dañada o enferma no es adecuada para aplicación directa del fármaco (por ejemplo, el área está muy dañada para inyección directa del fármaco). Este método de suministro de fármaco permite el uso de fármacos que podrían ser tóxicos si se administran sistemáticamente a un sujeto. El método también permitiría ser administradas concentraciones más altas del fármaco al sitio que las que pueden ser posibles por otras rutas de administración. En una modalidad más, las células hES y/o sus derivados se pueden cargar con uno o más fármacos que podrían mejorar el tratamiento producido por el trasplante de células por sí mismas. Ejemplos no limitativos incluyen cargar células con agentes anti-hipertensos para tratamiento de enfermedades cardíacas, cargar células con agentes quimioterapéuticos para tratamiento de pacientes con cáncer y cargar células con factores neurotróficos para tratamiento de SCI. En una modalidad, la presente invención se refiere a métodos para suministrar un fármaco a un sujeto

que comprende cultivar células hES y/o sus derivados obtenidos mediante los métodos de la presente invención en presencia del fármaco, en donde las células absorben el fármaco, y administrar las células a un sitio en el sujeto, en donde se suministra el fármaco.

En un aspecto de la invención, las metodologías de cultivo de la presente invención permiten la exposición de las células hES y/o sus derivados para fármacos y otros agentes activos *in vitro* antes del trasplante, en comparación con administración de fármacos o agentes activos directamente a pacientes. La exposición de las células *in vitro* proporciona ventajosamente los efectos positivos de los fármacos (por ejemplo, los efectos neurotróficos del ácido valproico) mientras que se evita la toxicidad de la administración sistémica del fármaco.

Tratamiento de lesión en médula espinal: Estudios de casos

Tratamientos clínicos usando células hES y sus derivados para SCI han mostrado resultados notables. Dado la naturaleza de la práctica de la presente invención y que los pacientes fueron voluntarios incurables y que su condición fue SCI crónica ASIA A y por lo tanto más allá de la etapa en la cual son posibles proceso de regeneración neural neutral, pruebas controladas de doble ciego o placebo no han sido

142
143

llevadas a cabo, con respecto al juramento de los doctores. Los resultados del protocolo fueron demostrados a través de ejemplos detallados provistos como estudios de casos abajo.

5 **Estudio de caso 1**

La práctica de la presente invención dio como resultado el cambio de los síntomas de SCI en un sujeto que sufría de SCI mediante trasplantación de células hES de acuerdo con el protocolo descrito en la presente.

10 ReRo 1.3.4/000/220905/α, un sujeto de 29 años de edad con una fractura C6-C7 y dislocación se declaró intratable mediante diferentes prácticas médicas. El sujeto no tenía sensación desde el área inter mamaria hacia abajo y fue incapaz de sentarse por sí mismo, no tenía control de
15 vejiga o intestino, no fue capaz de mover sus brazos y dedos y no tenía fuerza o tono en sus piernas. El sujeto ha desarrollado úlceras por prolongada estadía en cama bilaterales no cicatrizantes durante un periodo de tres años. La administración de células hES y sus derivados de acuerdo
20 con las prácticas de la presente invención fue iniciada bajo estas condiciones como sigue.

Una composición farmacéutica que contenía aproximadamente alrededor de 750,000 a aproximadamente 80 millones de células hES y sus derivados que incluyen
25 progenitores de células madre hematopoyéticos y progenitores

de células madre neuronales fueron diluidas en solución salina estéril normal hasta un volumen final de 0.25 a 1.0 ml, cariotipificadas, probadas para contaminación, viabilidad y conteo usando protocolos estándares y después administrados
5 mediante inyección subcutánea en el antebrazo. El sujeto fue observado para choque anafiláctico, dolor o inflamación en el sitio de la inyección, comezón generalizada, ruborización o fiebre después de cinco minutos, diez minutos, quince minutos treinta minutos, una hora y veinticuatro horas.

10 El tratamiento del sujeto fue mediante administración de una inyección de cebado subcutánea de una composición farmacéutica que contenía 750,000 a 80 millones de células hES y sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre hematopoyéticas y
15 progenitores de células madre neuronales, se volvieron a suspender en un volumen de 0.25 ml a 1.0 ml de solución salina normal estéril. Una inyección de cebado adicional portando el mismo número de células madre hematopoyéticas y células madre neuronales se volvieron a suspender en 0.25 ml
20 a 1.0 ml de solución salina estéril normal se administró mediante inyección intramuscular. Una inyección de cebado final de 750,000 a 80 millones de progenitores de células madre neuronales resuspendidos en un volumen de 0.25 ml a 1.0 ml de solución salina normal estéril fue administrada
25 mediante inyección intravenosa.

19A
145

El tratamiento directo de SCI de acuerdo con la práctica de la presente invención se llevó a cabo mediante resuspensión de una composición farmacéutica que comprende 750,000 a 80 millones de células hES y sus derivados, en
5 donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales, resuspendidas en un volumen de 2 ml de solución salina normal estéril y diluidas además de 15 ml a 40 ml de solución salina estéril normal y administradas mediante inyección epidural en el sitio, bajo del sitio y arriba del
10 sitio de la lesión siete días después de la primera inyección de cebado. El tratamiento mediante administración de inyección epidural fue repetida después de un mes y medio de cebado, cuatro meses después de cebado y seis meses después de cebado.

15 Además de la administración epidural, el sujeto fue tratado mediante inyección intratecal de una composición farmacéutica que comprendía 750,000 a 11 millones de células hES y sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre hematopoyéticos y progenitores
20 de células madre neuronales resuspendidos en 2 ml de solución salina estéril normal dos y cinco meses después de iniciar el tratamiento.

Más aún, el sujeto se trató con una inyección epidural de una composición farmacéutica que comprendía
25 750,000 a 11 millones de células hES y sus derivados, en

895
196

donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales, resuspendidos en 2 ml de solución salina estéril normal y diluidos además hasta un volumen final de 4 ml, dos veces diario durante tres días consecutivos.

5 El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 29.

Tabla 29

10

15

20

25

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
8/24	dosis de prueba	no neuronal
8/25	im x 3	hES
8/27	im x 2	neuronal
8/28	aspersión para antidecúbito	neuronal
8/29	im x 4	neuronal
9/6	im x 2	neuronal
9/8	epidural	neuronal
9/9	iv	neuronal
9/10	im	no neuronal
9/14	im	mezcla neuronal y no neuronal
10/4	im intratecal	no neuronal
10/7	im espinal profunda	no neuronal
10/15	im	neuronal
10/21	im	no neuronal
10/26	iv	neuronal
11/7	im	no neuronal
3/1	im espinal profunda x 3	neuronal
3/2	im x 2	neuronal
3/3	im x 2	neuronal
3/5	im	neuronal
3/6	im x 2	neuronal
3/7	im x 2	neuronal
3/8	im epidural x 2	neuronal
3/9	catéter epidural	neuronal
3/10	catéter epidural	neuronal
3/11	catéter epidural	neuronal
3/12	espinal profunda	neuronal
3/13	espinal profunda	neuronal

196
197

5

10

15

3/14	im	neuronal
3/15	im	neuronal
3/16	im	neuronal
3/17	im	neuronal
3/18	im	neuronal
3/19	im	neuronal
3/20	im	neuronal
3/21	im	neuronal
3/22	im	neuronal
3/23	im	neuronal
3/24	im	neuronal
3/25	im	neuronal
3/26	im	neuronal
3/27	im	neuronal
3/28	im	neuronal
3/29	im	neuronal
3/30	im	neuronal
3/31	im	neuronal
5/1	im	neuronal
5/2	im	neuronal
5/3	catéter epidural	neuronal
5/4	catéter epidural	neuronal
5/5	catéter epidural	neuronal
5/6	im	neuronal
5/8	im	no neuronal
5/12	im	neuronal

20

25

El bienestar neurológico del sujeto fue evaluado a intervalos regulares después de iniciar el tratamiento, y un mejoramiento notable del estado mental e higiene general del sujeto se observó después de dos semanas como se muestra en la tabla 30.

Tabla 30

Periodo de Tiempo	Estado Mental	Higiene	Comportamiento	Nervios Craniales
0 día	Deprimido	Pobre	Correcto	Normal
3 días	Deprimido	Pobre	Correcto	Normal
15 días	Optimista	Promedio	Correcto	Normal
2 meses	Contento	Promedio	Correcto	Normal
3 meses	Optimista	Promedio	Correcto	Normal
10 meses	Muy contento y deseando vivir	Promedio	Correcto	Normal

Los signos y síntomas típicos de daño del sistema nervioso autónomo como resultado de una fractura C6-C7 fueron evaluados durante el curso del tratamiento. Una mejoría marcada y progresiva en todos los parámetros evaluados, incluyendo la capacidad de sentir presión profunda, sentido del tacto, sensación, equilibrio, capacidad para sentir dolor, capacidad APRA sentir cambio en la temperatura, movimientos involuntarios, presencia de sudores fríos, vértigo, presión sanguínea, dificultada al respirar, postura anormal mientras se está acostado y capacidad de sentarse sin ayuda, se observaron como se muestra en la tabla 31.

198
144

Tabla 31

5

10

15

20

25

Periodo de tiempo	Presión profunda	Tacto	Sensación	Equilibrio	Dolor	Temp.
0 días	Inter-mamaria	Borde inferior de clavícula	Borde inferior de clavícula	No sentado	Borde superior de clavícula	Borde superior de clavícula
3 días	Ombligo	Brazo inter-mamario	Antebrazo brazo inter-mamario	No sentado	Inter-mamario	Inter-mamario
15 días	Ombligo inferior	Xifi-esternón	Xifi-esternón y brazo interior	Sentado	Xifi-esternón y brazo interior	Xifi-esternón y brazo interior
2 meses	Espina isquial	Espina isquial	Xifi-esternón y brazo interior	Muy bien sentado	Espina isquial	Espina isquial
3 meses	Borde superior de muslo	Espina isquial	Xifi-esternón y brazo interior	Sentado	Espina isquial	Espina isquial
10 meses	"	Perineal	Ombligo	Bien sentado	Perineal	Perineal
05.06	Perineal	Mitad inferior hacia abajo de muslo	Ombligo	Bien sentado	Perineal	Perineal

199
200

Tabla 31 (cont.)

5

10

15

Periodo de tiempo	Sudor frío	Vértigo	BP	Respiración	Postura anormal mientras está acostado
0 días	++++	++++	fluctuante	Respiración diafragmática	Incapaz de sentarse
3 días	+++	+++	fluctuante	Respiración diafragmática	Incapaz de sentarse
15 días	++	+	Estable	Normal	Estable sentado
2 meses	Nulo	+ al sentarse	Estable	Normal	Muy bien sentado
3 meses	Nulo	+ al sentarse	Estable	Normal	Muy bien sentado
10 meses	Nulo	+ al levantarse	Estable	Normal	Se levanta con compás y andadera
05.06	Nulo	Nulo	Estable	Normal	Se levanta con compás y andadera y da un paso hacia adelante

20

25

Disfunción de vejiga e intestino se asocia comúnmente con daño neurológico como resultado de SCI. Este daño da como resultado control de vejiga malo, corriente de vejiga y sensación de llenura en vejiga, control de intestino, tiempo para evacuación del intestino y sensación en el intestino. Durante el curso del tratamiento mejoras marcadas y progresivas en todos los parámetros evaluados fueron observadas como resultado del tratamiento como se muestra en la tabla 32.

208
201

Tabla 32

5

Periodo de tiempo	Movimientos involuntarios	Control de vejiga	Corriente de vejiga	Sensación (vejiga)	Control de intestino	Tiempo de evacuación	Sensación (intestino)
0 días	Nulo	Nulo	Nulo	Nulo	Nulo	3 horas	Nulo
3 días	Nulo	Nulo	Nulo	Nulo	Nulo	3 horas	Nulo
15 días	Nulo	Nulo	Nulo	Nulo	Nulo	2.5 horas	Nulo
2 meses	Nulo	Nulo	Nulo	Nulo	Nulo	2 horas	+
3 meses	Nulo	Nulo	Nulo	Inicio	+	0.5 horas	++

10

15

Cambios en la función motora del cuerpo superior, como evidencia de regeneración neural en el sitio de la lesión C6-C7 fueron evaluados durante el curso del tratamiento. Se observaron mejorías marcadas y progresivas en movimiento de hombre, muñeca y movimiento de dedos, fuerza en los dedos, reflejos de tendón, fuerza de movimiento de extremidad, atrofia muscular y asimiento manual como se muestra en la tabla 33.

Tabla 33

20

25

Periodo de tiempo	Hombro		Muñeca Dedos		Reflejo de tendones		Fuerza				Atrofia				Asimiento manual
	I	D	I	D	I	D	H	AN	M	D	H	AN	M	D	
0 días	Encogimiento +		Caída de muñeca Dedos debilitados Sin movimiento		Bíceps bilaterales activos		4	2	3	0	0	3+	4+	4+	Nulo B/L
3 días	Encogimiento +		Caída de muñeca Dedos debilitados Sin movimiento		Bíceps bilaterales activos		4	2	3	0	0	3+	4+	4+	Nulo B/L
15 días	Encogimiento +		Mejor caída de muñeca Puede asir Puede mover muñeca		Activos		4	3	4	3	0	3+	4	4+	Presente Puede sostener vaso
2 meses	+		“		Ambiguo		4	4	4	4	0	2+	3+	3+	Puede poner comida en la boca
3 meses	+		Mucho mejor movimiento		Ambiguo		4	4	4	4	0	2+	3+	3+	

Cambios en la función motora del cuerpo inferior, como evidencia de regeneración neural en el sitio de la lesión C6-C7 fueron evaluados durante el curso del tratamiento, incluyendo movimiento de cadera, movimiento de rodilla, movimiento de dedo del pie, reflejos de tendones, fuerza del muslo, atrofia muscular y respuesta de la planta del pie. Aunque no existió mejoría en cualquiera de los parámetros probados durante el curso del estudio, después de tres meses de tratamiento, el sujeto fue capaz de levantarse con la ayuda de una andadera como se muestra en la tabla 34.

Tabla 34

Periodo de tiempo	Cadera		Rodilla		Tobillo		Reflejo		Fuerza		Atrofia		Planta del pie	
	I	D	I	D	I	D	I	D	I	D	I	D	I	D
0 día	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4+	4+	Ambiguo	
3 días	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4+	4+	Ambiguo	
15 días	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4+	4+	Ambiguo	
2 meses	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4+	4+	Ambiguo	
3 meses	SE LEVANTÓ CON ANDADERA DURANTE 10 MINUTOS												Ambiguo	

Estudio de caso 2

ReRo 1.3.4./001/051004/α001, un sujeto de veintidós años que sufrió de SCI con paraplejia post traumática como resultado de una fractura D6-D7 después de una caída desde un terraza en segundo piso. El sujeto cayó en coma durante dos días después de la caída y recuperó la conciencia, pero desarrollo parálisis bilateral con pérdida de sensibilidad y

202
203

motora total de la mitad inferior del cuerpo desde la región inter mamaria hasta los pies, y fue incapaz de levantar sus pies o piernas y fue incapaz de sentarse sin ayuda o levantarse en una posición de sentado. El sujeto fue
5 confinado a la cama permanentemente, tuvo pérdida de vejiga e intestino y fue completamente dependiente del soporte de su familia aunque sus extremidades superiores no fueron afectadas.

La administración de una composición farmacéutica
10 que comprendía células hES y sus derivados de acuerdo con la práctica de la presente invención fue iniciada después de cinco meses de la lesión. En un periodo de cinco meses, el sujeto recuperó control de vejiga e intestino y capacidad para sentarse sin soporte, y deslizarse arriba y abajo al
15 levantar la cadera. La percepción sensorial se reestableció al nivel perineal. El sujeto puede llevarse en una andadera sin ayuda y puede levantarse con facilidad en la andadera sin la necesidad del soporte de las rodillas. El tratamiento dio como resultado la capacidad del sujeto para caminar usando la
20 andadera sin el soporte de un aparato ortopédico para la rodilla y regresó a trabajar, es decir, él ha recuperado un estilo de vida regular.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 35.

203
204

Tabla 35

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
10/5	dosis de prueba	neuronal
8/17	im x 3	neuronal
8/18	im	neuronal
8/19	im	neuronal
9/5	im	no neuronal
9/6	im x 2	neuronal
9/7	im	neuronal
9/8	im	neuronal
9/10	im	no neuronal
9/13	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/14	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/15	im	no neuronal
11/6	catéter epidural	neuronal
11/7	catéter epidural x 3	neuronal
11/8	catéter epidural x 3	neuronal
11/9	catéter epidural x 3	neuronal
11/10	catéter epidural x 3	neuronal
11/11	iv	neuronal
11/12	im	neuronal
11/13	iv	neuronal
11/14	iv	neuronal
11/15	iv	neuronal
11/16	im	no neuronal
11/18	im	no neuronal
1/12	im	neuronal
2/14	im	no neuronal
2/15	im	neuronal
2/16	im	no neuronal
2/17	im	no neuronal
2/18	im	neuronal
3/26	im	neuronal
3/27	catéter epidural x 3	neuronal
3/28	catéter epidural x 4	neuronal
3/29	catéter epidural x 2	neuronal
3/30	catéter epidural x 2	neuronal
3/31	iv	neuronal
5/21	im	neuronal
5/24	intratecal	neuronal
5/26	im	neuronal
7/14	im	neuronal
7/15	im	neuronal
7/16	im	neuronal
7/17	im	neuronal
7/18	intratecal	neuronal
7/19	im	neuronal
7/21	im	neuronal
7/22	im	neuronal
7/24	caudal	neuronal

20A
205

Estudio de caso 3

ReRo 1.3.4/002/040205/ α , un sujeto de cuarenta años de edad sufrió de SCI cuadripléjica como resultado de una lesión C5-C6 y rigidez y dolor en el cuello. El sujeto fue
5 sometido a cirugía después de seis meses y fue cuadripléjico desde entonces. El sujeto sufrió de un sentimiento de debilitamiento y mareo si se le hacía sentar con soporte, y tenía sensación desde el borde superior del omóplato hacia arriba, con pérdida total de fuerza en las cuatro
10 extremidades y pérdida de función de intestino y vejiga inmediatamente después de la cirugía.

La administración de una composición farmacéutica que comprende células hES y sus derivados de acuerdo con la práctica de la presente invención se inició después de nueve
15 meses de la cirugía. Como resultado del tratamiento con células hES, el sujeto es capaz de sentirse confortablemente sin necesidad de soporte, y es capaz de moverse y doblarse a un lado mientras esta sentado en una silla con sus piernas colgando confortablemente. El sujeto recuperó una mejoría
20 notoria del control de su cuerpo superior. El sujeto recibió mejoría sustancial en su bienestar psicológico a través de la movilidad incrementada e independencia y actividades. Él es capaz de levantarse con soporte con fuerza en sus extremidades inferiores, control del movimiento del dedo del
25 pie y sin caída de muñeca. El tratamiento está en curso de

205
206

acuerdo con las mejoras de la condición del sujeto.

Estudio de caso 4

5 ReRo 1.3.4/003/260902/ β , un sujeto de treinta y
siete años de edad quien sufrió de lesión espinal con daño
cerebral diecisiete días atrás después de un accidente de
circulación por carretera y fue confinado a una silla de
ruedas. El sujeto también sufrió de hemiplejía del lado
derecho, incapacidad para hablar, parálisis facial, una
10 pérdida total de memoria y sin control de vejiga.

El sujeto fue administrado con composición
farmacéutica que comprende células hES y sus derivados de
acuerdo con la práctica de la presente invención durante un
año y dos meses lo cual dio como resultado la capacidad de
15 caminar con la ayuda de una andadera, habla de unas pocas
palabras, cuello enderezado, remoción de parálisis facial y
mejoría de memoria.

Estudio de caso 5

20 ReRo 1.3.4/004/030505/ α , un sujeto de cincuenta y
seis años de edad quien sufrió de una fractura post-traumática
en C5-C8 con retrovulsión de las vertebrae fracturadas causando
contusión de la médula y asociada hemorragia epidural
anterior y fue parapléjico. El sujeto fue incapaz de mover
25 ambas extremidades inferiores y sufrió de dolor agudo en la

206
207

espalda.

La administración de una composición farmacéutica que comprende células hES y sus derivados de acuerdo con la práctica de la presente invención se llevó a cabo durante un periodo de un año lo que dio como resultado la recuperación de alguna fuerza en ambas piernas, percepción sensorial tal como vibración en las piernas y capacidad de levantarse con la ayuda de una andadera sin dolor en la espalda. El sujeto puede caminar con la ayuda de una andadera, recuperó el control de la vejiga y sensación y superó ataques de sudoraciones frías y vértigo.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 36.

20

25

207
208

Tabla 36

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
5/25	dosis de prueba	no neuronal
5/27	im	neuronal - mezclado > hematopoyético
6/3	im	neuronal - mezclado > hematopoyético
6/6	im	neuronal - mezclado > hematopoyético
6/20	im	neuronal - mezclado > hematopoyético
6/22	im	neuronal - mezclado > hematopoyético
6/24	im	neuronal - mezclado > hematopoyético
6/27	im	neuronal - mezclado > hematopoyético
6/29	iv	neuronal - mezclado > hematopoyético
6/30	im	neuronal - mezclado > hematopoyético
	iv	
7/1	iv	neuronal - mezclado > hematopoyético
7/4	im	neuronal - mezclado > hematopoyético
7/5	iv	neuronal - mezclado > hematopoyético
7/6	im	neuronal - mezclado > hematopoyético
7/7	iv	neuronal - mezclado > hematopoyético
7/11	im	no neuronal
7/12	im	hES
7/18	iv	neuronal
7/19	im	neuronal
7/20	im	neuronal
7/21	im x 2	neuronal
7/25	im x 2	neuronal
7/26	im	neuronal
7/27	im x 2	neuronal
7/28	im	neuronal
7/29	im x 2	neuronal
7/30	im x 2	neuronal
8/1	im x 2	neuronal
8/2	im x 2	neuronal
8/16	im x 2	neuronal
8/17	im	neuronal
8/25	im x 2	hES
8/30	im x 2	neuronal
9/1	im x 2	neuronal
9/2	im x 2	neuronal

208
209

5

10

15

20

25

9/6	intratecal	neuronal - mezclado > hematopoyético
9/7	im	neuronal
9/13	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/14	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/15	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/19	im x 2	neuronal mezcla neuronal y no neuronal
10/4	im	neuronal
10/5	im	neuronal
	intratecal	
10/11	espinal profunda	neuronal
10/13	epidural	neuronal
10/17	lado de la columna	neuronal
11/5	intratecal	neuronal
11/7	im	no neuronal
11/8	im	no neuronal
11/9	espinal profunda	neuronal
11/17	im x 2	no neuronal
paciente en hospital hasta enero		
1/12	im	no neuronal
1/25	im	neuronal
2/8	im	neuronal
3/2	im x 3	neuronal (2) no neuronal
3/8	im	no neuronal
3/9	im	no neuronal
3/10	im	no neuronal
3/13	catéter epidural x 4	neuronal
3/14	catéter epidural x 4	neuronal
3/15	catéter epidural x 4	neuronal
3/16	catéter epidural x 2	neuronal
3/20	im	neuronal
3/22	im	neuronal
3/28	im	no neuronal
3/29	im	no neuronal
4/3	im	no neuronal
4/4	im	no neuronal
4/7	im x 2	neuronal
4/14	im	neuronal
4-20	x 5	neuronal
4/21	x 3	neuronal
4/24	im	neuronal
5/19	im x 2	neuronal no neuronal
5/25	caudal	neuronal
6/5	infusión iv x 2	neuronal
6/6	infusión iv x 2	neuronal

209
210

5

6/9	intratecal	neuronal
6/10	infusión iv	no neuronal
6/11	infusión iv	no neuronal
6/12	iv	no neuronal
6/13	im	no neuronal
6/21	im	neuronal
7/4	im	neuronal
7/10	intratecal	neuronal
7/11	infusión iv x 2	neuronal
7/12	infusión iv x 2	neuronal
7/13	caudal	neuronal
7/14	iv	no neuronal

Estudio de caso 6

10

15

20

25

ReRo 1.3.4/005/130705/β, un sujeto de veinticinco años de edad quien fue diagnosticado con trastorno espinal de Potts en el nivel D6 con paraplejía de extremidades inferiores, fue sometido a cirugía tres veces con una descompresión anterior de la médula espinal. El sujeto fue confinado a una silla de ruedas, no podía sentarse sin soporte, con parálisis flácida en las piernas, no tenía control de intestino y evacuaba mientras estaba acostado y no tenía sensación de vejiga.

El sujeto fue administrado con una composición farmacéutica que comprende células hES y sus derivados de acuerdo con la práctica de la presente invención, once años y seis meses después de la lesión. El protocolo de tratamiento seguido durante el primer año dio como resultado el

210
211

5 fortalecimiento de la espalda, capacidad para sentarse sin soporte, y sensación de pesadez en las piernas. El sujeto también recuperó dolor de espalda durante menstruación y dolor menstrual. Las sensaciones en los muslos, piernas y recuperación de sensación y control de vejiga fueron observados. El sujeto es capaz de caminar con la ayuda de una andadera con buena recuperación del movimiento de las ambas piernas. El tratamiento está en curso.

10 El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 37.

Tabla 37

15

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
7/13	dosis de prueba	no neuronal
7/27	im	neuronal
7/28	im	no neuronal
7/29	im	neuronal
8/3	im x 2	neuronal

20

25

212

8/4	im x 2	no neuronal
8/5	im	neuronal
8/9	im	neuronal
8/12	im x 2	neuronal
8/16	im	neuronal
8/23	im x 2	hES neuronal
8/30	im x 2	neuronal
9/1	im x 4	neuronal
9/2	im x 2	neuronal
9/8	iv	neuronal
9/12	im	neuronal
9/14	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/22	iv	neuronal
9/27	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/29	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/30	im	neuronal
10/4	im	mezcla neuronal y no neuronal
10/6	epidural x 2 ampolletas	neuronal
10/10	im	neuronal
10/19	im	no neuronal
10/21	im	neuronal
10/24	epidural	neuronal
11/7	epidural	neuronal
11/14	iv	neuronal
11/15	im	no neuronal
11/18	im	no neuronal
12/1	intratecal	mezcla neuronal y no neuronal
12/7	espinal profunda	no neuronal
12/23	im	neuronal
12/26	im	no neuronal
1/5	im	neuronal
1/11	im	neuronal
1/17	im	neuronal
1/24	iv	neuronal
1/26	im	neuronal
2/1	im	neuronal
2/3	im	neuronal
2/9	im	no neuronal
2/15	im	no neuronal
2/22	im	neuronal
3/1	im	no neuronal
3/9	im	no neuronal
3/21	im	neuronal
3/28	im	neuronal
4/13	catéter epidural	neuronal
4/26	im	neuronal
5/2	im	no neuronal

212
*253

5

5/4	catéter epidural	neuronal
5/5	catéter epidural	neuronal
5/6	catéter epidural	neuronal
5/7	im	neuronal
5/21	im	neuronal
6/5	im	neuronal
6/12	im	neuronal
6/26	iv x 2	no neuronal
7/8	im	neuronal

Estudio de caso 7

10

15

ReRo 1.3.4./006/220805/α, un sujeto de treinta años de edad que sufre de una SCI parapléjica C6-C7 fue incapaz de mover extremidades inferiores y no tenía control de intestino o sensación de intestino. El sujeto tenía sensación de presión fina y profunda únicamente desde la región inter mamaria hacia arriba. De esta manera, el sujeto tenía dificultad para sentarse. Las manos del sujeto tenían muy poca fuerza, con movimiento de dedos muy débil y el sujeto tenía dificultad para respirar.

20

25

El sujeto se trató de acuerdo con la práctica de la presente invención mediante administración de una composición farmacéutica que comprende células hES y sus derivados alrededor de tres meses después de la lesión. El sujeto recuperó la capacidad de sentarse sin soporte, no sufrió de vértigo, puede sentir presión en la ingle, tiene sensación en el lado medio del codo y siente dolor en las piernas si el paciente intenta moverse. El sujeto respira fácilmente,

213
214

tiene sensación en la vejiga e intestino, tiene sensación en las piernas y ahora puede levantarse por unos pocos minutos con soporte. El sujeto también ha incrementado fuerza y movimiento en los dedos. El tratamiento está en curso.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 38.

Tabla 38

10

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
2/22	dosis de prueba	no neuronal
2/23	im	neuronal
2/24	im	neuronal
2/27	im	no neuronal
2/28	im	no neuronal
3/2	im	neuronal
3/3	im	neuronal
3/8	catéter epidural	neuronal

15

3/9	catéter epidural x 2	neuronal
3/10	catéter epidural x 2	neuronal
3/11	iv	neuronal
3/20	im	neuronal
3/22	im	neuronal
3/23	im x 2	neuronal
3/24	im	no neuronal
3/27	im	no neuronal
4/5	intratecal	neuronal
4/12	im	neuronal
5/1	im	neuronal
	catéter epidural x 4	
5/2	im	neuronal
	catéter epidural	
5/10	catéter epidural x 4	neuronal
5/11	catéter epidural x 4	neuronal
5/12	catéter epidural x 4	neuronal

20

25

27A
215

Estudio del caso 8

ReRo 1.3.4/007/221005/β, un sujeto de veintiséis años de edad, parapléjico como resultado de SCI en D6, fue incapaz de mover ambas extremidades inferiores, aunque fue capaz de sentarse sin soporte. El sujeto no tenía control de vejiga o intestino, y sólo tenía sensación dese el área inter mamaria hacia arriba.

El sujeto fue administrado con composición farmacéutica que comprende células hES y sus derivados de acuerdo con la práctica de la presente invención alrededor de diez meses después de la lesión. El sujeto recuperó sensación en la parte lateral del cuerpo y hasta la región no biliar bilateralmente desde el área de la axila hasta el hueso de la cadera. El sujeto puede caminar con la ayuda de una andadera y un soporte ortopédico con fuerza motora en las piernas.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 39.

Tabla 39

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
9/26	im dosis de prueba	neuronal
9/27	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/28	im	mezcla neuronal y no neuronal
9/29	im	neuronal
9/30	im	mezcla neuronal y no neuronal
10/1	im	mezcla neuronal y no neuronal
10/3	im	mezcla neuronal y no neuronal

215
216

5

10

15

20

10/4	im intratecal	no neuronal
10/5	m	neuronal
10/6	epidural	neuronal
10/8	m	no neuronal
10/10	im	neuronal
10/12	im espinal profunda	neuronal
10/15	iv	neuronal
10/19	im	no neuronal
10/24	im	mezcla neuronal y no neuronal
10/25	epidural	neuronal
12/8	espinal profunda	no neuronal
12/10	intratecal	no neuronal
12/11	im	no neuronal
12/12	espinal profunda	no neuronal
12/13	im	neuronal
12/14	epidural	neuronal
12/15	im	neuronal
2/13	im	neuronal
2/15	epidural	neuronal
2/16	iv	neuronal
2/17	im	neuronal
5/24	im iv	neuronal
5/25	im iv	no neuronal neuronal
5/26	im iv x 2	neuronal no neuronal, neuronal
5/27	im x 2 iv x 2	no neuronal neuronal
5/28	im	neuronal, no neuronal
5/29	im	neuronal, no neuronal
5/30	infusión epidural	neuronal
5/31	im	neuronal

Estudio del caso 9

25

ReRo 1.3.4./008/151005/β, un sujeto de veintisiete años de edad que sufrió de cuadriplejía traumática y ha tenido gran dificultad para hablar y

216
217

respirar, con cuello rígido. Las piernas del sujeto fueron paralizadas y el sujeto no tiene movimiento de los dedos y sin sensación en el resto del cuerpo.

El tratamiento mediante administración de una
5 composición farmacéutica que comprende células hES y sus derivados de acuerdo con la práctica de la presente invención se inicio alrededor de dos años después de la lesión. El sujeto experimentó una mejora en el movimiento del cuello, facilidad al
10 hablar y mejoría en el control del tono de voz. El sujeto encontró menos incómodo respirar y la función motora regresó con algo de movimiento de los dedos. Las piernas se volvieron menos espásticas y el sujeto fue capaz de sentarse sin ayuda. También se
15 renovaron los movimientos del dedo del pie y el sujeto puede mover los hombros.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 40.

20

25

217
218

Tabla 40

5

10

15

20

25

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
5/26	dosis de prueba	no neuronal
5/27	im	neuronal
5/28	im	neuronal
5/29	im	neuronal
5/30	im	neuronal
5/31	im	neuronal
6/1	im	neuronal
6/8	im x 2	neuronal no neuronal
6/9	im	neuronal
6/10	im x 2	neuronal no neuronal
6/11	im x 2	neuronal no neuronal
6/12	im x 2	neuronal no neuronal
6/13	im x 2	neuronal no neuronal
6/14	intratecal	neuronal
6/15	im x 2	neuronal no neuronal
6/16	im x 2	neuronal no neuronal
6/17	im x 2	neuronal no neuronal
6/18	im	neuronal
6/19	im x 2	neuronal no neuronal
6/20	im x 2	neuronal
6/21	im x 2	neuronal no neuronal
6/22	im x 2	neuronal
6/23	iv x 2	no neuronal
6/24	iv x 2	no neuronal
6/25	iv x 2	no neuronal

218
219

5

6/26	catéter epidural x 2	neuronal
6/27	catéter epidural x 2	neuronal
6/28	catéter epidural x 3	neuronal
7/21	im iv	neuronal no neuronal
7/22	im x 2	neuronal no neuronal
7/23	im x 2	neuronal
8/22	intratecal	neuronal

Estudio de caso 10

ReRo 1.3.4/009/300106/ α , un sujeto de veinticinco años de edad tuvo un accidente automovilístico y perdió la capacidad de sentarse sin soporte, la columna fue propensa a doblarse, el sujeto perdió control de vejiga e intestino y el sujeto sufrió de una pérdida total de fuerza en las piernas.

El sujeto fue tratado mediante administración de una composición farmacéutica que comprende células hES y sus derivados de acuerdo con la práctica de la presente invención aproximadamente dos años después de la lesión. El sujeto mostró mejoría rápida y puede sentarse sin soporte. El sujeto no sufrió de vértigo, tiene movimiento en ambos pies, recuperó sensación en las puntas de los dedos y puede experimentar frío fluyendo a través de la espina.

Estudio de caso 11

ReRo 1.3.4./010/020206/ β , un sujeto de veintiséis años con una SCI en D12-L1 como resultado de un accidente de

tráfico automovilístico fue incapaz de levantarse con las rodillas siendo contraídas. El sujeto fue capaz de sentarse sin soporte y tuvo sensaciones normales en las extremidades. El sujeto no tiene control de vejiga o intestino y tuvo espasticidad incrementada.

El sujeto se trató aproximadamente doce años después de la lesión mediante administración de una composición farmacéutica que comprende células hES y sus derivados de acuerdo con la práctica de la presente invención. El sujeto experimentó recuperación admirable en función motora en pierna con espasticidad disminuida, exhibió una pierna derecha completamente estirable y un regreso de fuerza a la pierna izquierda. El sujeto recuperó la capacidad de levantarse y caminar con la ayuda de soporte ortopédico y una andadera. También regresaron al sujeto sensaciones de vejiga e intestino.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 41.

220
221

Tabla 41

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
3/27	dosis de prueba	no neuronal
3/29	im iv	no neuronal neuronal
3/30	im	neuronal
3/31	im	neuronal
4/1	im	neuronal
4/2	im	no neuronal
4/3	im	neuronal
4/4	im	neuronal
4/5	caudal	neuronal
4/7	epidural	neuronal
4/8	im	neuronal
4/10	im	neuronal
4/13	im	neuronal
4/14	im	neuronal
4/14	im	neuronal
4/16	im	neuronal
4/18	iv	no neuronal
4/22	im	neuronal
4/23	im	neuronal
4/24	catéter epidural	neuronal
4/25	catéter epidural	neuronal
4/26	iv	neuronal
4/27	im	neuronal
4/28	im	neuronal
4/29	im	neuronal
4/30	im	neuronal
5/1	im	neuronal
5/2	im	no neuronal
5/3	im	neuronal
5/4	im	neuronal
5/5	im	neuronal
5/7	im	neuronal
5/8	im	no neuronal
5/9	im	no neuronal
5/10	im	neuronal
5/11	caudal	neuronal
5/12	im	neuronal
5/13	im	neuronal
5/14	im	neuronal
5/16	im	no neuronal
5/17	im	neuronal

221
222

5/20	epidural	neuronal
5/21	im	neuronal
5/22	im	neuronal
5/23	im	neuronal
5/24	im	neuronal

5

Estudio de caso 12

El paciente fue un hombre de 26 años de edad con paraplejía después de una lesión entre D6-D8. Él sufrió de un accidente automovilístico traumático en 10 septiembre de 2004. El fue completamente confinado a la cama sin sensibilidad debajo del pecho, sin control de vejiga o intestino y sin sensación o fuerza motora desde el pecho hacia abajo. Él tenía una úlcera de cama muy profunda en la espalda baja en 15 la cual su hueso sacro podía ser observado.

El paciente inició células hES el 27 de abril de 2006. toda vez que la úlcera de cama el no podía someterse a cualquiera procedimiento O/T y fueron 20 suministradas dosificaciones diarias de células intravenosa e intramuscularmente y eventualmente se le aplicaron directamente células hES a su úlcera de cama. También fue suministrado con infusiones intravenosas.

En su onceavo día de tratamiento el podía 25 pararse con soporte ortopédico completo (cintura a

223

tobillo) y una caminadora y dio 2 pasos. Mientras el tiempo continuó su fuerza muscular incrementó y después de 4 meses él podía dar hasta 100 pasos y podía estar parado hasta por 20 minutos. Él es capaz de sentir sus piernas y moverlas también. También es capaz de sentir llenura de vejiga e intestino y es capaz de caminar ahora con solo un aparato ortopédico en la rodilla y la andadera para soporte. Su úlcera de cama ha sanado y él ha renovado sus estudios.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 42.

Tabla 42

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
4/28	im iv	neuronal (dosis de prueba)
4/29	iv im	neuronal no neuronal
4/30	iv im	neuronal no neuronal
5/1	iv im	neuronal no neuronal
5/2	iv im	neuronal no neuronal

223
224

5/3	infusión iv im	neuronal no neuronal
5/4	infusión iv im	neuronal no neuronal
5/5	iv im	neuronal no neuronal
5/6	iv im	neuronal no neuronal
5/8	infusión iv im	neuronal
5/9	infusión iv im	neuronal no neuronal
5/10	infusión iv im	neuronal no neuronal
5/11	iv im	neuronal
5/12	iv im	neuronal no neuronal
5/13	iv im	neuronal
5/14	iv im	neuronal no neuronal
5/15	infusión iv im	no neuronal
5/16	infusión iv im	no neuronal
5/17	iv im	neuronal no neuronal
5/18	iv im	neuronal no neuronal
5/19	iv im	neuronal no neuronal
5/20	iv im	neuronal no neuronal
5/21	iv im	neuronal no neuronal
5/22	infusión iv im	no neuronal
5/23	infusión iv im	no neuronal
5/24	iv im	neuronal no neuronal
5/25	iv im	neuronal no neuronal
5/26	iv im	neuronal no neuronal
5/27	iv im	neuronal no neuronal
5/28	iv	neuronal

22A
225

5

10

15

20

25

	im	no neuronal
5/29	infusión iv im	neuronal no neuronal
5/30	infusión iv im	neuronal no neuronal
5/31	iv im	neuronal no neuronal
6/1	iv im	neuronal no neuronal
6/2	iv im	neuronal no neuronal
6/3	iv im	neuronal no neuronal
6/4	iv im	neuronal no neuronal
6/5	infusión iv im	neuronal no neuronal
6/6	infusión iv im	neuronal no neuronal
6/7	iv im	neuronal no neuronal
6/8	im iv	neuronal no neuronal
6/9	im iv	neuronal no neuronal
6/10	im iv	neuronal no neuronal
6/11	im iv	neuronal no neuronal
6/12	infusión iv	neuronal
6/13	infusión iv im	no neuronal
6/14	iv im	neuronal no neuronal
6/15	iv im	neuronal no neuronal
6/16	iv im	neuronal no neuronal
6/17	iv im	neuronal no neuronal
6/18	iv im	neuronal no neuronal
6/20	iv infusión iv im	neuronal
6/21	iv	neuronal no neuronal
6/22	iv im	no neuronal (2)

225
226

5

10

15

20

25

6/23	iv	no neuronal (2)
6/24	iv	no neuronal (2)
6/25	iv	no neuronal (2)
6/26	iv infusión iv	no neuronal
6/27	iv infusión iv im	no neuronal
6/28	iv im	neuronal
6/29	iv im	neuronal no neuronal x 2
6/30	iv im	neuronal no neuronal x 2
7/1	iv im	neuronal no neuronal x 2
7/2	iv im	neuronal no neuronal x 2
7/3	iv infusión iv im	neuronal no neuronal x 2
7/4	iv infusión iv im	neuronal no neuronal
7/5	iv im	neuronal x 2
7/6	iv im	neuronal x 2
7/7	iv im	neuronal
7/8	iv im	neuronal no neuronal x 2
7/9	iv im	neuronal no neuronal
7/11	iv infusión iv im	neuronal no neuronal
7/12	iv infusión iv	neuronal
7/17	im apósito	neuronal no neuronal
7/18	infusión iv apósito	no neuronal
7/19	infusión iv im	no neuronal
7/20	iv im apósito	neuronal no neuronal
7/21	iv	neuronal

226
227

5

10

15

20

25

	im apósito	no neuronal
7/22	iv im apósito	neuronal no neuronal
7/23	iv im	neuronal no neuronal
7/24	iv im	neuronal no neuronal
7/25	im apósito	neuronal no neuronal x 2
7/26	m apósito	neuronal no neuronal x 2
7/27	im	neuronal no neuronal
7/28	im apósito	no neuronal
7/29	im apósito	neuronal no neuronal
7/30	im	neuronal no neuronal
7/31	im apósito	no neuronal
8/1	im apósito	no neuronal x 2
8/2	im apósito	no neuronal x 2
8/3	im	no neuronal x 2
8/4	im	no neuronal x 2
8/5	im apósito	no neuronal x 2
8/6	im	no neuronal x 2
8/7	im apósito	no neuronal x 2
8/8	im	no neuronal x 2
8/9	im apósito	no neuronal x 2
8/10	im	no neuronal x 2
8/11	im	no neuronal x 2
8/12	im apósito	no neuronal x 2
8/13	im	no neuronal x 2
8/14	im apósito	no neuronal x 2
8/15	im apósito	no neuronal x 2
8/16	im	no neuronal x 2
8/17	im	no neuronal x 2
8/18	infusión iv	neuronal x 3

227
278

5

10

	im	
8/19	im apósito	neuronal x 3
12/5	im	no neuronal
12/6	infusión iv	no neuronal
12/7	infusión iv im apósito	no neuronal
12/8	epidural (intratecal)	neuronal
12/9	im apósito	no neuronal x 2
12/10	im apósito	no neuronal x 2
12/11	im apósito	no neuronal x 2
12/12	epidural (catéter)	neuronal x 2
12/13	epidural (catéter)	neuronal x 2
12/14	epidural (catéter)	neuronal x 2
12/15	infusión iv im	neuronal, no neuronal
12/16	infusión iv	neuronal, no neuronal

Estudio de caso 13

15

El paciente es un hombre de 22 años de edad quien sufrió un accidente cabalgando en junio de 2006 y está parapléjico en T-12 y L-1. Él no tiene fuerza abajo de la cintura, sin control de vejiga o intestino y sin sensación abajo de la cintura.

20

El paciente inició el tratamiento en septiembre de 2006 admitido durante 6 semanas. Él respondió a células hES y dentro de una semana él fue capaz de levantarse y caminar unos cuantos pasos con soporte ortopédico completo (cintura a tobillo) y andadera. Él ha progresado y está en el aparato

25

228
229

ortopédico en la rodilla con la cual él puede pararse durante hasta 30 minutos con una andadera. Él ahora tiene sensación completa y control de intestino y vejiga. Él también tiene buen equilibrio con el bastón y también las muletas. Él es capaz de subir y bajar escaleras con el soporte ortopédico y las muletas.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 43.

Tabla 43

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
10/4	im	no neuronal (dosis de prueba)
10/5	im	no neuronal
10/6	im	no neuronal
10/7	im	no neuronal
10/8	im	no neuronal

229
230

5

10

15

20

25

10/9	infusión iv	neuronal
10/10	infusión iv	neuronal
10/11	im	no neuronal
10/12	im	no neuronal
10/13	im	no neuronal
10/14	im	no neuronal
10/15	im	no neuronal
10/16	caudal	neuronal
10/17	im	no neuronal
10/18	im	no neuronal
10/19	infusión iv im	no neuronal
10/20	infusión iv im	no neuronal
10/21	im	no neuronal
10/22	im	no neuronal
10/23	lumbar	neuronal
10/27	im	no neuronal
10/25	im	no neuronal
10/26	im	no neuronal
10/27	im	no neuronal
10/28	im	no neuronal
10/29	im	no neuronal
10/30	catéter epidural	neuronal
10/31	catéter epidural	neuronal
11/1	catéter epidural	neuronal
11/2	im	no neuronal
11/3	im	no neuronal
11/4	im	no neuronal
11/5	im	no neuronal
11/6	im	no neuronal
11/7	im	no neuronal
11/8	im	no neuronal
11/9	caudal	neuronal
11/10	im	no neuronal
11/11	im	no neuronal
11/12	im	no neuronal
11/13	infusión iv im	mezclado no neuronal
11/14	im infusión iv	no neuronal
11/15	im	no neuronal
12/31	iv	mezclado
1/10	im	no neuronal
1/11	infusión iv	mezclado
1/12	infusión iv	mezclado
1/13	im	no neuronal
1/14	im	no neuronal
1/15	caudal	neuronal

230
231

5

10

1/16	im	no neuronal
1/17	im	no neuronal
1/18	im	no neuronal
1/19	lumbar	neuronal
1/20	im	no neuronal mezclado
1/21	im	mezclado
1/22	im	mezclado
1/23	catéter epidural	neuronal
1/24	im iv	neuronal
1/25	im	neuronal
1/26	infusión im	mezclado neuronal
1/27	infusión im	mezclado neuronal

Estudio de caso 14

15

20

25

El paciente es una mujer de 26 años de edad con paraplégia traumática en T-12 y L-1 quien sufrió de un accidente de tráfico automovilístico en septiembre de 2004. Ella no tiene sensibilidad abajo del pecho y no tiene control de vejiga o intestino. No existió fuerza motora en alguna de las piernas y ella fue confinada a silla de ruedas.

El paciente inició células hES en marzo de 2006. Ella fue capaz de pararse y caminar unos pocos pasos con soporte ortopédico completo (cintura a tobillo) y andadera después de 9 días y continuó progresando. Su estado actual es que ella puede caminar continuamente con soporte ortopédico y

234
232

andadera y también se puede levantar usando el aparato ortopédico en la rodilla. Se han recuperado las sensaciones de intestino y vejiga con control y sin el uso de alguna cateterización o supositorio.

5 La sensación ha mejorado para los niveles de tobillo.

El programa de inyecciones para este paciente se muestra en la tabla 44.

Tabla 44

10

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
3/27	im	no neuronal (dosis de prueba)
3/29	iv	neuronal
	im	no neuronal
3/30	im	neuronal
3/31	im	neuronal
4/1	im	neuronal
4/3	im	neuronal
4/4	im	neuronal

15

20

25

232
233

5

10

15

20

25

4/5	Epidural (caudal)	neuronal x 2
4/7	epidural (intratecal)	neuronal x 2
4/9	im	neuronal
4/10	im	neuronal
4/12	im	neuronal
4/13	im	neuronal
4/14	im	neuronal
4/15	im	neuronal
4/16	im	neuronal
4/17	im	neuronal
4/18	iv	no neuronal
4/20	im	neuronal
4/21	im	neuronal
4/22	im	neuronal
4/24	Epidural (catéter)	neuronal x 4
4/25	Epidural (catéter)	neuronal x 4
4/26	iv (catéter)	neuronal x 4
4/27	im	neuronal
4/28	im	neuronal
4/29	im	neuronal
4/30	im	neuronal
5/1	im	neuronal
5/2	im	no neuronal
5/3	im	neuronal
5/4	im	neuronal
5/5	im	neuronal
5/7	im	neuronal
5/8	im	no neuronal
5/10	im	neuronal
5/11	EPI (caudal)	neuronal
5/13	IM	neuronal
5/14	IM	neuronal
5/16	IM	no neuronal
5/17	IM	neuronal
5/18	EPI (catéter)	neuronal x 2
5/19	EPI (catéter)	neuronal x 2
5/20	EPI (catéter)	neuronal x 2
5/21	im	neuronal
5/22	im	neuronal
5/23	im	neuronal
5/24	im	neuronal
5/25	im	neuronal
10/25	im	no neuronal mezclado
10/26	im infusión iv	no neuronal mezclado
10/27	im	no neuronal
10/28	im	no neuronal

233
234

5

10

10/29	im	no neuronal
10/30	caudal	neuronal
10/31	im	non neuronal
11/1	im	no neuronal x 2
11/2	im	no neuronal x 2
11/3	lumbar	neuronal
11/4	infusión	neuronal
11/5	im	no neuronal x 2
11/6	im	no neuronal x 2
11/7	im	no neuronal x 2
11/8	catéter epidural	neuronal
11/9	catéter epidural	neuronal
11/10	catéter epidural	neuronal
11/11	im	no neuronal x 2
11/12	im infusión	no neuronal mezclado
11/13	caudal infusión	neuronal mezclado
11/14	im	neuronal

Metodología de cultivo de célula madre embrionica humana

15

Las células hES usadas como material de partida para las líneas de células desarrolladas durante la presente invención se derivan a partir de un embrión de 2 a 7 días de edad antes de su implantación en el útero, por ejemplo, un embrión de 2 a 4 días de edad, por ejemplo, un embrión de 3 días de edad.

20

Para aislamiento embrional, el óvulo fue recolectado con consentimiento de donadores humanos quienes se someten a ciclo IVF regular. El ovario se fertiliza mediante el espermato y se cultiva mediante métodos convencionales para obtener embriones. Los embriones extra son incubados durante periodos variables para desarrollo de la línea celular.

25

El embrión se suspende en una pequeña cantidad de

238
235

medio esencial mínimo (por ejemplo, RPMI, por ejemplo, RPMI 1640 con 2.2 g/L de bicarbonato de sodio) y las células hES son aisladas del embrión mediante medios mecánicos (por ejemplo, agitación). Se añade medio adicional a las células aisladas

5 junto con una progestina y un agonista β hCG. En una modalidad, se añaden progesterona (16-64 μ l de 250 mg/ml) y β hCG (16-64 μ l de 5000 iu/ml). Las células aisladas son cultivadas durante 12-45 horas, por ejemplo, 24 horas a una temperatura de entre 34-38°C, en un ambiente de 3.5-6% de dióxido de carbono.

10 En una modalidad, las células hES son cultivadas bajo condiciones anaeróbicas o sustancialmente anaeróbicas para expandir las células mientras se previene diferenciación. "Sustancialmente anaeróbica" se define como menos de aproximadamente 10% de O₂, por ejemplo, menos de 8%,

15 6%, 4%, 2% o 1 % de O₂. Se pueden crear condiciones bajas de oxígeno usando incubadores de célula de gas múltiple (CO₂, O₂, N₂) en los cuales el nivel de oxígeno se puede ajustar entre 0% y 20% al reemplazar el aire ambiental con gas nitrógeno. Ejemplos de incubadores de gas múltiple incluyen Fisher serie

20 11-730, el Napco serie 7000, el Sanyo serie MCO, el Jouan IG750 y el Heraeus Heracell 1150. En otra modalidad, las células se cultivan en un incubador de CO₂ y el nivel de oxígeno se controla por la forma y posición del matraz en el cual están contenidas las células. Por ejemplo, cuando un

25 matraz de cultivo celular se mantiene en una posición

235
236

vertical, mucho del medio de cultivo en el matraz es sustancialmente anaeróbico. En contraste, cuando el matraz de cultivo celular se mantiene en una posición horizontal, el medio de cultivo es sustancialmente aeróbico. El nivel de oxígeno en el medio de cultivo se puede variar entre sustancialmente anaeróbico y sustancialmente aeróbico al alterar la forma y/o posición del matraz de cultivo celular dentro del incubador o la cantidad de medio en el matraz (por ejemplo, la cantidad de vacío).

10 Durante la etapa de expansión, los matraces pueden ser mantenidos en una posición vertical en lugar de horizontal. En una modalidad, se lleva cabo la incubación en un recipiente de cultivo en donde el volumen es casi completamente ocupado por el medio y el recipiente se mantiene en una posición vertical. Como consecuencia, una proporción sustancial de las células no se adhiere a las paredes del matraz de cultivo y el medio de cultivo es sustancialmente anaeróbico.

20 Bajo tales condiciones de cultivo, los ciclos de duplicación de célula o reproducción están en su máximo y los procesos de diferenciación celular son sustancialmente inhibidos. Los ciclos de replicación de células durante expansión proceden durante 12-48 horas, por ejemplo, 24 horas.

25 Para subcultivo o recultivo de las células hES, la suspensión celular se centrifuga, la pella celular se resuspende en una cantidad pequeña de medio de cultivo fresco

236
237

que comprende progesterona y β hCG, las células se alícuotan y se añade medio fresco adicional sin progesterona y β hCG. En una modalidad, la relación de la alícuota de células madre incubadas al medio celular fresco es de aproximadamente 1:3.5 volumen/volumen. Las células se vuelven a incubar a 34-38°C en incubador cubierto con agua complementado con una atmosfera de 3.5-6% de dióxido de carbono bajo condiciones sustancialmente anaeróbicas durante 12 a 48 horas, por ejemplo, 24 horas. En este punto, las células se pueden subcultivar para expansión continua o almacenar para uso futuro.

Las células hES cultivadas bajo esas condiciones permanecen en una forma grandemente indiferenciada como se determina por actividad alcalin fosfatasa y la ausencia de cualquier característica marcadora de especialización o diferenciación celular. Sin embargo, debe notarse que no se obtiene población celular la cual es completamente diferenciada o completamente indiferenciada. La población celular es una mezcla de líneas celulares diferenciadas e indiferenciadas, con una relación que varía de aproximadamente 4:1 a alrededor de 10:1 de células indiferenciadas a diferenciadas.

Para almacenamiento de las células hES expandidas, por ejemplo, en un congelador profundo o en nitrógeno liquido, un agente de crioconservación, incluyendo pero no limitado a 0.2-2% (p/v) de sulfóxido de dimetilo (DMSO), se

237
238

puede añadir al medio de cultivo. El nivel de DMSO usado es menor que el típicamente usado para crioconservación (2-84 µl/0.5 ml tubo) para evitar inducir diferenciación o daño a las células. La relación de la cantidad de agente de crioconservación a aquella del medio de cultivo que contiene células madre puede variar de alrededor de 1:500 a aproximadamente 16:1000. Otros agentes de crioconservación incluyen sin limitación glicerol, propanodiol, butanodiol, etanol, glucosa, D-glucosa, sucrosa, trehalosa, manitol, paparavina, formamida, probuchol, curcumina, polivinilpirrolidona, polietilenglicol, sulfato de condroitina, sulfóxido de glucosaminoglucan dimetilo, glutamina y piruvato de sodio. La temperatura de congelamiento para la suspensión celular puede ser variada de aproximadamente -15 a alrededor de -80°C, por ejemplo, aproximadamente -15 a alrededor de -40°C. En contraste con otras técnicas para el almacenamiento de células madre embrionarias humanas, no existe necesidad de congelamiento instantáneo o almacenamiento en "pajillas". Después de almacenar, las células pueden prepararse para expansión continua o para diferenciación al recolectar las células mediante centrifugación y resuspendiendo la pella celular en medio fresco.

La diferenciación parcial de las células hES expandidas (por ejemplo, depuse de expansión de células frescamente aisladas o almacenamiento de células expandidas

228
279

previamente) se lleva a cabo al sedimentar la suspensión celular en una centrífuga (por ejemplo, a entre 70-1400 rpm durante 5-12 minutos), removiendo y desechando el sobrenadante, y resuspendiendo las células en una pequeña cantidad de medio fresco (por ejemplo, RPMI) que contiene un agonista de progestina y β hCG. Las células son entonces alicuotadas y se añade medio de cultivo adicional (por ejemplo, un medio de esencia mínima tal como RPMI o DMEM, por ejemplo, DMEM libre de ácido glutámico IX o DMEM con 4.5 g/L de glucosa y 3.7 g/L de bicarbonato de sodio) sin progestina o β hCG. Las células se cultivan bajo condiciones sustancialmente aeróbicas (por ejemplo, en un matraz en una posición horizontal) durante 12 a 48 horas, por ejemplo, 24 horas. "Sustancialmente aeróbico" se define como al menos aproximadamente 15% de O_2 , por ejemplo, por lo menos 18% o 20% de O_2 . Bajo condiciones sustancialmente aeróbicas las células hES comenzaran a diferenciarse. La trayectoria de diferenciación para las células hES es dependiente del medio de cultivo usado durante la etapa de diferenciación. Para producir células progenitoras neuronales, las células hES se cultivan en DMEM o su equivalente. Para producir células progenitoras diferentes de progenitoras neuronales, las células hES se cultivan en RPMI o su equivalente. Después de 12-18 horas de ciclo de replicación, las células se pueden recolectar y resuspender en medio fresco para continuar la

239
240

diferenciación. En general, la etapa de diferenciación no debe durar más de 48-72 horas ya que diferenciación adicional más allá de este tiempo produce células que no son adecuadas para trasplante usando los métodos de la presente invención.

5 Una vez que las células están parcialmente diferenciadas, la células pueden ya sea ser almacenadas para uso futuro al añadir un crioprotector y almacenando las células a -15 a aproximadamente -80°C como se describió arriba o preparando las células para uso en los métodos de la
10 invención. Para preparar las células para uso, las células se alicuotan, se añade medio fresco (por ejemplo, DMEM o RPMI según sea adecuado) y las células se cultivan durante 12-48 horas, por ejemplo, 24 horas, bajo condiciones sustancialmente anaeróbicas para prevenir diferenciación adicional. Las
15 células son entonces alicuotadas en medio fresco para expansión continua o recolectadas por centrifugación y resuspendidas en una solución biocompatible (por ejemplo, solución salina) en preparación para trasplante. En este punto, las células pueden ser transplantadas en paciente o
20 almacenadas a +4°C a -80°C para trasplante futuro. El almacenamiento puede ser en un contenedor adecuado incluyendo pero no limitados a tubos de prueba, recipientes, jeringas, etc., que pueden facilitar transportación o uso clínico. En una modalidad, las células resuspendidas en solución
25 biocompatible son almacenadas en una forma lista para usarse

240
241

(por ejemplo, en una jeringa prellenada). Cuando se necesita, alícuotas de células son descongeladas naturalmente sin la necesidad de baños de agua o incubadoras.

5 Bajo las condiciones de almacenamiento descritas en una solución biocompatible, se observa la viabilidad celular de >40% después de volver a descongelar aún después de seis meses de almacenamiento, sin alteraciones fenotípicas o genotípicas (inestabilidad genética) detectables tales como aneuploidia o heteroploidia.

10 En cada etapa de expansión, diferenciación y almacenamiento, una alícuota de las células se prueba para viabilidad mediante exclusión de azul tripano y examen microscópico. Una alícuota del cultivo celular también se prueba para contaminación microbiológica. Una alícuota
15 adicional de la suspensión celular también se coloca en un hemocitómetro y se examina microscópicamente para determinar la densidad celular. Una alícuota más también se toma para probar la actividad fosfatasa alcalina como un marcador para el estado de diferenciación del cultivo celular.

20 Durante el almacenamiento, las células se pueden probar una vez al mes para su cariotipo, para probar su inestabilidad genética que surge como resultado de la metodología de cultivo.

241
242

Ejemplos

Ejemplo 1

Para aislamiento embrionario, se recolectaron ovarios con consentimiento de un donador humano quien fue
5 sometido a ciclo IVF regular, lo cual produjo 8 folículos. El ovario fue fertilizado mediante esperma y cultivado por métodos convencionales para obtener embriones. Tres de los embriones fueron trasplantados en el donador. Los embriones extra fueron incubados durante periodos variables para
10 desarrollo de una línea celular.

El embrión, ya sea intacto o en condición rota, se suspendió en medio de cultivo. Además, se añadieron 84 μ l de progesterona (250 mg/ml) y 84 μ l de β hCG (500 iu/ml). El medio con las células embrionarias se probó para cualquier
15 contaminación, y cualquier embrión infectado se descartó. Las células de los embriones en esta forma se usaron para expansión y almacenamiento.

Después de un día de incubación, se introdujo 1 ml del medio que contenía la célula embrionaria en un medio de
20 cultivo celular de 40 ml (DMEM o RPMI) en un contenedor de 50 ml junto con progesterona y β hCG. El medio de cultivo junto con las células madre fue incubado en una posición horizontal a temperatura ambiente en un ambiente que contenía dióxido de carbono. La tabla 45 muestra algunas de las condiciones
25 experimentales seguidas por este método.

Tabla 45

	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)	(i)	(j)	(k)	(l)
	Etap a Embrional en días	Estado Embrional	Medio Celular	Cantidad de (c)	Adición a Medio	Tiempo de incubación	alicuota de (f)	Medio Celular	Cantidad de (h)	Volumen de contenedor	Temp de incubación grados C	% de CO ₂ en ambiente
5	1	2	Intacto	IVF media	2.5ml	FF	24 hrs	-	-	-	36	4
	2	2	Intacto	IVF media	2.5ml	A	24 hrs	-	-	-	36.5	4.5
	3	3	Roto	RPMI	2.5ml	A	24 hrs	0.5ml	RPMI	45 ml	37	5
	4	3	Roto	RPMI	2.5ml	A& B	24 hrs	1.0ml	RPMI	46 ml	38	5
	5	3	Roto	DMEM	2.5ml	B	24 hrs	0.5ml	DMEM	35 ml	37	5

Tabla 46

	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)	(i)	(j)	(k)	(l)
	Cantidad de cultivo ESC	Medio celular	Cantidad de (b)	Adición a Medio	Volumen de contenedor	Temperatura de incubación	% de CO ₂ en ambiente	Tiempo de incubación	Alicuota de (h)	Medio de cultivo	Volumen de contenedor	Temp Almac.
10	1	0.5 ml	RPMI	A	50 ml	36.5	5	24	0.5ml	RPMI	0.5 ml	-72
	2	1.0 ml	RPMI	B	50 ml	37	5	24	.25 ml	RPMI	0.5 ml	-20
	3	1.5 ml	DMEM	AB	50 ml	37	5	48	1.0 ml	DMEM	1.5 ml	-20
	4	2.0 ml	RPMI	A	50 ml	37.2	5	48	1.5 ml	RPMI	1.5 ml	-18
	5	2.5 ml	DMEM	A	50 ml	36.8	5	24	0.5 ml	DMEM	1.5 ml	-72

FF = fluido follicular aspirado junto con el óvulo durante el ciclo IVF, 16-84 µl
A = progesterona; B = βhCG

243

243
244

Después de 24 horas de incubación, números iguales de células nucleadas (parcialmente diferenciadas) y células en blanco (indiferenciadas) se observaron. Alícuotas de aproximadamente 0.5 ml se tomaron para almacenamiento en esta etapa. Después de 48 horas de incubación, células de forma oblonga con algunas cepas fueron observadas con medio DMEM. Sin embargo, cuando se usó medio RPMI, se observaron muchas células nucleadas con formas variadas. El volumen del contenedor se encontró que era lleno hasta la marca de 37 ml después de 48 horas de incubación. Las alícuotas de 0.5 ml fueron tomadas para almacenamiento en esta etapa. Después de 72 horas de incubación en DMEM, cepas largas de células entrelazadas tipo tejido nervioso fueron observadas. El medio de incubación RPMI produjo células un poco más pequeñas y unas pocas células acumuladas alrededor de una célula central. Alícuotas de 0.5 ml fueron tomadas para almacenamiento en esta etapa.

Una alícuota del cultivo de células embrionarias en cultivo que contenía medio fue introducida en más medio celular (RPMI o DMEM) con otros componentes de prueba, en un contenedor estéril (matraz estéril Tarsons). Las células madre se incubaron a temperatura ambiente en un ambiente de dióxido de carbono en posición horizontal durante varios periodos de tiempo que variaron de 18 horas a 5 días. Después de 24 horas de incubación, se volvieron a introducir

245

alícuotas de aproximadamente 0.5 ml en más medio de cultivo y se volvieron a incubar. Se tomaron alícuotas para preparar composiciones listas para usarse así como para almacenamiento después de diferentes etapas de incubación. La tabla 46
5 ilustra algunas condiciones experimentales seguidas por expansión de células hES.

Ejemplo 2

El embrión, ya sea intacto o en condición rota, se
10 suspendió en medio de cultivo. Además, se añadieron 84 μ l de progesterona y 84 μ l de β hCG. El medio con las células embrionarias se probó para cualquier contaminación, y cualquier embrión infectado se descartó. Las células de los embriones en esta forma se usaron para expansión y
15 almacenamiento.

Después de un día de incubación, se introdujo 1 ml del medio que contenía célula embrionaria en un medio de cultivo celular de 46 ml (DMEM o RPMI) en un contenedor de 50 ml junto con progesterona y β hCG. Las células madre fueron
20 incubadas en una posición vertical a temperatura ambiente en un ambiente que contenía dióxido de carbono. La tabla 47 muestra algunas de las variables de ejemplo de trabajo usadas en este experimento.

Tabla 47

	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)	(i)	(j)	(k)	(l)	
	S.No.	Etapas embrional en días	Estado Embrional	Medio Celular	Cantidad de (c)	Adición a Medio	Tiempo de incubación	alícuota de (f)	Medio Celular	Cantidad de (h)	Volumen de contenedor	Temp de incubación grados C	% de CO ₂ en ambiente
5	1	2	Intacto	IVF media	2.5ml	FF	24 hrs	-	-	-	-	36	4
	2	2	Intacto	IVF media	2.5ml	A	24 hrs	-	-	-	-	36.5	4.5
	3	3	Roto	RPMI	2.5ml	A	24 hrs	0.5ml	RPMI	45 ml	50 ml	37	5
	4	3	Roto	RPMI	2.5ml	B	24 hrs	1.0ml	RPMI	46 ml	50 ml	38	5
	5	3	Roto	DMEM	2.5ml	A& B	24 hrs	0.5ml	DMEM	35 ml	50 ml	37	5

Tabla 48

10		(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)	(i)	(j)	(k)	(l)
		Cantidad de cultivo											
	S.No.	ESC	Medio celular	Cantidad de (b)	Adición a Medio	Volumen de contenedor	Temperatura de incubación	% de CO ₂ en ambiente	Tiempo de incubación	Alícuota de (h)	Medio de cultivo	Volumen de contenedor	Temp Almac.
	1	0.5 ml	RPMI	35 ml	A	50 ml	36.5	5	24	0,5ml	RPMI	0.5 ml	-40
	2	1.0 ml	RPMI	38 ml	A	50 ml	37	5	24	.25 ml	RPMI	0.5 ml	-20
	3	1.5 ml	DMEM	45 ml	B	50 ml	37	5	48	1.0 ml	DMEM	1.5 ml	-18
	4	2.0 ml	RPMI	46 ml	A	50 ml	37.2	5	48	1.5 ml	RPMI	1.5 ml	-20
5	2.5 ml	DMEM	45 ml	AB	50 ml	36.8	5	24	0.5 ml	DMEM	1.5 ml	-72	

234

15

216
205

246
2007

Después de 24 horas de incubación, se observaron en una relación de aproximadamente 1:4 células nucleadas (parcialmente diferenciadas) y células en blanco (indiferenciadas). Después de 48 horas de incubación, se observaron en una relación de aproximadamente 1:2 células nucleadas y células en blanco. Alícuotas de aproximadamente 0.5 ml se tomaron para almacenamiento en la etapa de 24 horas y 48 horas.

0.5 ml del cultivo de células embrionarias en cultivo que contenía medio fue introducida en 46 ml de medio celular (RPMI o DMEM) con otros componentes de prueba, en un contenedor estéril de 50 ml (matraz estéril Tarsons). Las células madre se incubaron en una posición horizontal a temperatura ambiente en un ambiente que contenía dióxido de carbono. Después de 24 horas de incubación, se volvieron a introducir alícuotas de aproximadamente 0.5 ml en 46 ml de medio de cultivo y se volvieron a incubar. La tabla 48 ilustra algunas condiciones experimentales seguidas por expansión de células hES.

Se tomaron alícuotas para preparar composiciones listas para usarse así como para almacenamiento después de la etapa de incubación por 24 horas.

247
148

Ejemplo 3

Almacenamiento

Para almacenamiento, se tomaron células hES en un tubo de almacenamiento de 0.5 ml y se añadió un agente de crioconservación tal como DMSO al 0.2% en una cantidad de 16 µl y depuse de agitar cuidadosamente fueron almacenadas a -20°C. Las células fueron descongeladas naturalmente para hacer composiciones listas para usarse o para expansión adicional. La viabilidad de las células descongeladas se probó y 64% a 84% de las células se encontró que eran viables. Las células almacenadas se evaluaron para contaminación así como viabilidad después de intervalos regulares. La tabla 49 muestra los parámetros reales seguidos por almacenamiento en cinco experimentos diferentes así como la viabilidad de las células después de descongelar.

Tabla 49

No. S	Cantidad de suspensión celular	Cantidad de DMSO	% de DMSO	Medio usado	Viabilidad de células descongeladas
1	0.5ml	16µl	0.2	NaCl	74%
2	0.5ml	32µl	1.4	NaCl	66%
3	0.5ml	64µl	0.4	NaCl	70%
4	0.5ml	48µl	0.2	NaCl	78%
5	0.5ml	16µl	0.2	NaCl	88%

Ejemplo 4

Varias pruebas se llevaron a cabo para verificar cualquier contaminación o infección o anomalía en las

células embrionarias en varios intervalos de las etapas de expansión y almacenamiento y para identificar los derivados de hES que estuvieron presentes en cada cultivo. Las diferentes pruebas incluyen aquellas para VIH, HbSAg (para hepatitis), PCR convencional para prueba de Kochs (para tuberculosis), análisis cromosómico por método CG de agrupamiento de Giemsa, bilirrubina mediante el método de Jendrasiik y Grof y albúmina usando método de unión de tinción BCG (para células progenitoras de hígado), insulina vía método CLIA (para células progenitoras neuronales), prueba CD34 mediante método inmunohistoquímico (para células progenitoras hematopoyéticas), alcalin fosfatasa mediante método PNPP (para células indiferenciadas), pruebas de histopatología (para identificación de célula mediante morfología), etc.. La condición de cultivo fue probada mediante el método de placa de cultivo manual y sensibilidad manual e identificación con versatrek/AP1 se llevó a cabo para infección fúngica. Todas las pruebas se llevaron a cabo y el conteo celular y viabilidad de las células se verificó en cada etapa. La tabla 50 proporciona los resultados de algunas de las pruebas.

249
250

Ejemplo 5

Preparación de células hES para trasplante

15 ml de suspensión de célula madre fue
tomado y centrifugado a 1000 r.p.m. durante 7
5 minutos. El supernadante se descartó. Se añadieron
2 a 15 ml de solución salina a la pella y las células
madre de esta manera se suspendieron. La suspensión
fue verificada para contaminación microbiana.
También se hizo una prueba de viabilidad.

10

Ejemplo 6

Almacenamiento de células hES en forma lista para
usarse

Contenedores (jeringas, tubos de prueba,
15 matraz, recipiente) se llenaron con la suspensión de
células hES trasplantables fueron etiquetadas y
almacenadas a -20°C . La cadena fría fue mantenida
hasta la etapa de trasplante. La suspensión se
descongeló naturalmente inmediatamente antes del
20 trasplante.

25

TABLA 50

Código de Lote	Bilirubina	VIH	HbSAg	Fos Alq	PCR	Albúmina	Insulina S	Neurófilo	Histo	Conteo celular (en millones)	% de Viabilidad	Estado de cultivo
B77	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.86	72	Estéril
B78	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.18	70	Estéril
B79	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.92	70	Estéril
B80	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.96	68	Estéril
L56	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.12	72	Estéril
L57	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.84	72	Estéril
B81	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.16	70	Estéril
B82	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.72	68	Estéril
B83	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.68	74	Estéril
B84	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.72	72	Estéril
B85	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.86	76	Estéril
B86	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.92	78	Estéril
L58	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.86	82	Estéril
L59	1.27	-ve	-ve	97	-ve	1.9	13.2	-	-	3.12	70	Estéril
B87	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.16	72	Estéril
B88	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.84	70	Estéril
L1/V 1	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.68	78	Estéril
L1/V 2	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.72	74	Estéril
B89	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.68	72	Estéril
B90	0.05	-ve	-ve	14	-ve	0.15	-	-	-	3.76	70	Estéril
B91	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.64	68	Estéril
B92	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.72	72	Estéril
B93	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.74	70	Estéril
B94	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.92	72	Estéril
B95	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.86	70	Estéril

-ve = resultado de prueba negativo
- = no hecho

251

251
252

Líneas celulares

Se repitieron subcultivos más de 100 veces para establecer células hES de la presente invención. Además, los subcultivos fueron evaluados para cualquier
5 contaminación/infección en cada etapa de expansión o almacenamiento adicional. Las líneas de células hES se encontró que eran estables y sin alguna anormalidad durante más de cinco años de ciclos de subcultivo.

La presente invención no se debe limitar en alcance
10 por las modalidades y ejemplos específicos, los cuales son diseñados como ilustraciones de un número de aspectos de la invención y cualesquiera modalidades las cuales son equivalentes funcionalmente están dentro del alcance de esta invención. Aquellos expertos en la técnica conocerán, o
15 serán capaces de constatar el uso de no más experimentación de rutina, muchos equivalentes a las modalidades específicas de la invención descritas en la presente. Estos y todos los otros equivalentes son diseñados para ser abarcados por las siguientes reivindicaciones. Todas las patentes, solicitudes
20 de patentes y publicaciones citadas en la presente, se incorporan en su totalidad a manera de referencia.

253

REIVINDICACIONES

Habiéndose descrito la invención como antecede, se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes
5 reivindicaciones:

1. Una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades, trastornos o condiciones, caracterizada porque comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de células madre embrionarias humanas (hES) y/o sus derivados,
10 en donde las células hES y/o sus derivados están libres de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, factor de crecimiento de fibroblastos, suplementos vitamínicos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y medios
15 acondicionados, en donde las células hES y/o sus derivados son suspendidas en una solución biocompatible farmacéuticamente aceptable.

2. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque está en una forma
20 lista para usar.

3. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 2, caracterizada porque la forma lista para usar es una jeringa prellenada.

4. La composición farmacéutica de conformidad con
25 la reivindicación 2, caracterizada porque las células madre tienen suficiente viabilidad para ser terapéuticamente efectivas.

5. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 4, caracterizada porque la viabilidad de
30 las células madre es de más de 40%.

253
254

6. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque la solución biocompatible es salina.

5 7. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque la solución biocompatible comprende además un agente antimicrobiano, agente antibacteriano u otro agente farmacéutico.

10 8. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de progenitores de células madre hematopoyéticas.

15 9. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de progenitores de células madre neuronales.

20 10. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de progenitores de células madre hematopoyéticas y progenitores de células madre neuronales.

25 11. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de progenitores de células madre mesenquimáticas.

30 12. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de progenitores de células madre productoras de insulina.

13. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende una

75A
255

cantidad terapéuticamente efectiva de progenitores de células madre hepatocíticas.

14. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende una
5 cantidad terapéuticamente efectiva de progenitores de células madre cardíacas.

15. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende una
10 cantidad terapéuticamente efectiva de progenitores de células madre epiteliales.

16. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 8, caracterizada porque la cantidad
terapéuticamente efectiva de los progenitores de células madre hematopoyéticas en la composición es de aproximadamente
15 750,000 a alrededor de 160 millones de células.

17. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 9, caracterizada porque la cantidad
terapéuticamente efectiva de células madre neuronales en la composición es de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160
20 millones de células.

18. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque la cantidad
terapéuticamente efectiva de células hES y/o sus derivados es de aproximadamente 750,000 a alrededor de 160 millones de
25 células en aproximadamente 0.25 ml a alrededor de 100 ml de la solución biocompatible.

19. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque la cantidad
terapéuticamente efectiva de células hES y/o sus derivados es
30 750,000 a aproximadamente 80 millones de células en

255
256

aproximadamente 0.25 ml a alrededor de 10 ml de la solución biocompatible.

20. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque las enfermedades, trastornos o condiciones se seleccionan del grupo que
5 consiste en cáncer, apoplejía, trastornos genéticos, trastornos hepáticos, trastornos de desarrollo, trastornos degenerativos, trastornos hereditarios o trastornos traumáticos del sistema nervioso, trastornos vasculares,
10 enfermedades y trastornos de la piel, trastornos autoinmunes, trastornos oculares, trastornos renales, trastornos cardiacos, trastornos musculoesqueléticos, trastornos reproductivos y de fertilidad, y trastornos hemáticos.

21. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque las enfermedades, trastornos o condiciones se seleccionan del grupo que
15 consiste en Leucemia Mieloide Aguda, Adenocarcinoma, Artritis, Astrocitoma, Atrofia del Nervio Auditivo, Autismo, Trastornos Autoinmunes, enfermedad de Alzheimer, Espondilitis Anquilosante, Distrofia Muscular de Becker, Daño Cerebral, Quemaduras, Accidente Cerebrovascular, Parálisis Cerebral, Coma, Ulceras Corneales, Rechazo de Injerto Corneal, Degeneración Cortico-Basal del Sistema Nervioso, Enfermedad de Arterias Coronarias, Diabetes, Demencia, Síndrome de Down,
20 Distrofia Muscular de Duchenne, Enfermedad Renal en Etapa Terminal, Parálisis de Erb, Distrofia Muscular Fascio Escapular, Trastornos de Fertilidad, Ataxia de Friederich, Insuficiencia Cardíaca, Carcinoma Hepatocelular, Enfermedad de Neuronas Espino Motoras Hereditaria, Corea de Huntington,
25 Enfermedad de Krabbe, Distrofia del Cíngulo de las

256
251

Extremidades, Cirrosis Hepática, Degeneración Macular, Retraso Mental, Esclerosis Múltiple, Enfermedad de Neuronas Motoras, Infarto del Miocardio, Síndrome Nefrótico, Enfermedad de Niemann Pick, Ulceración No Sanadora de la Piel, Atrofia Olivo-Ponto Cerebelar, Atrofia del Nervio Óptico, Mal de Parkinson, Encefalopatía Post Choque Eléctrico, Encefalopatía Post-Vacuna Contra la Rabia, Llagas por Presión, Parálisis Supranuclear Progresiva, Psoriasis, Ptisis Bulbi, Cardiomiopatía Restrictiva, Retinitis Pigmentosa, Bloque de Ramificación del Fascículo Derecho, Sarcoidosis, Bradicardia del Seno, Distrofia Muscular Espinal, Ataxia Espino Cerebelar, Síndrome de Steven Johnson, Lupus Eritematoso Sistémico, Trombocitopenia, Talasemia, Colitis Ulcerativa, Estado Vegetativo, Fibrosis Quística, Enfermedad Pulmonar Intersticial, Azoospermia, Insuficiencia Ovárica Primaria, Ulceras Aftosas, Desequilibrio Hormonal, Osteo-Artritis, Síndrome de Horner y Osteogénica Imperfecta, junto con Canalopatía e Hipogamaglobulinemia.

22. Una composición de materia caracterizada porque comprende células hES y/o sus derivados, las células hES y/o sus derivados están libres de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, factor de crecimiento de fibroblastos, suplementos vitamínicos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble, y medios acondicionados, en donde las células hES y/o sus derivados son atrapados en una estructura biocompatible o matriz, en donde la estructura biocompatible de matriz es permeable selectivamente.

23. La composición de materia de conformidad con la reivindicación 22, caracterizada porque las células hES y/o

sus derivados comprenden progenitores de células madre hematopoyéticas.

24. La composición de materia de conformidad con la reivindicación 22, caracterizada porque las células hES y/o sus derivados comprenden progenitores de células madre neuronales.

25. La composición de materia de conformidad con la reivindicación 22, caracterizada porque las células hES y/o sus derivados comprenden una combinación de células madre hematopoyéticas y progenitores de células madre neuronales.

26. La composición de materia de conformidad con la reivindicación 22, caracterizada porque la estructura o matriz biocompatible y selectivamente permeable se selecciona del grupo que consiste en biopolímeros, polipéptidos, proteínas, polisacáridos, fibronectina, colágeno, laminina, queratina, fibrina, fibrinógeno, ácido hialurónico, sulfato de heparina, sulfato de condroitina, agarosa y gelatina.

27. La composición de materia de conformidad con la reivindicación 22, caracterizada porque las células hES y/o sus derivados son atrapados en una mezcla de agarosa y colágeno o en una mezcla de agarosa y gelatina.

28. Un método para aislar células hES, caracterizado porque comprende:

(a) coleccionar un embrión de 2 a 7 días de edad en un medio que consista en medio esencial mínimo,

(b) aislar células hES del embrión por medios mecánicos,

en donde las células hES están libres de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales

258
259

complementarias, suplementos de aminoácidos, suplementos vitamínicos, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble, y medios acondicionados.

5 29. El método de conformidad con la reivindicación 28, caracterizado porque el embrión es un embrión de 2 días de edad.

30. El método de conformidad con la reivindicación 28, caracterizado porque los medios mecánicos son agitación.

10 31. Un método para expandir células hES y/o sus derivados libres de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales complementarios, suplementos de aminoácidos, suplementos vitamínicos, factor
15 de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y medios acondicionados, caracterizado porque comprende las etapas de:

(a) introducir células hES y/o sus derivados en un medio de cultivo de células que consiste en medio esencial
20 mínimo, una progestina y un agonista de gonadotropina coriónica β (β hCG) humana, e

(b) incubar las células madre y/o sus derivados a una temperatura de aproximadamente 34°C a alrededor de 38°C en un ambiente de alrededor de 3.5% a aproximadamente 6% de
25 dióxido de carbono durante aproximadamente 12 horas a alrededor de 48 horas.

32. El método para expandir células hES y/o sus derivados de conformidad con la reivindicación 31, caracterizado porque el medio de cultivo de células es RPMI.

30 33. El método para expandir células hES y/o sus

derivados de conformidad con la reivindicación 31, caracterizado porque comprende además:

(c) tomar una alícuota de células madre incubadas y/o sus derivados de la etapa (b), en donde la alícuota
5 contiene al menos una célula madre,

(d) resuspender las células en medio de cultivo de células junto con progesterona y β hCG a la alícuota,

(e) diluir las células en medio de cultivo de células sin progestina y agonista de β hCG, e

10 (f) incubar las células a una temperatura de alrededor de 34°C a aproximadamente 38°C en un ambiente de alrededor de 3.5% a aproximadamente 6% de dióxido de carbono durante alrededor de 12 horas a aproximadamente 48 horas.

34. El método para expandir células hES y/o sus
15 derivados de conformidad con la reivindicación 31, caracterizado porque la incubación se lleva a cabo en una incubadora de cultivo de células con camisa de agua.

35. El método para expandir células hES y/o sus
20 derivados de conformidad con la reivindicación 31, caracterizado porque las células en medio de cultivo se incuban en un recipiente biocompatible bajo condiciones sustancialmente anaeróbicas.

36. El método para expandir células hES y/o sus
25 derivados de conformidad con la reivindicación 35, caracterizado porque las células no se diferencian después de la proliferación.

37. El método para expandir células hES y/o sus
30 derivados de conformidad con la reivindicación 31, caracterizado porque las células usadas se aíslan de un embrión de 3 días de edad mediante medios mecánicos.

38. El método para expandir células hES y/o sus derivados de conformidad con la reivindicación 31, caracterizado porque comprende además la etapa de probar las células expandidas para cualquier contaminación.

5 39. El método para expandir células hES y/o sus derivados de conformidad con la reivindicación 31, caracterizado porque el proceso de cultivo se lleva a cabo en recipientes biocompatibles.

10 40. El método para expandir células hES y/o sus derivados de conformidad con la reivindicación 31, caracterizado porque la relación de la alícuota de células incubadas al medio de células es aproximadamente 1:3.5 a alrededor de 1:35.

15 41. El método para expandir células hES y/o sus derivados de conformidad con la reivindicación 31, caracterizado porque la incubación se lleva a cabo en un ambiente sustancialmente anaeróbico.

20 42. El método para expandir células hES y/o sus derivados de conformidad con la reivindicación 31, caracterizado porque la incubación se lleva a cabo en un recipiente biocompatible en donde el volumen es casi completamente ocupado por el medio y el recipiente se mantiene en una posición vertical.

25 43. Un método para diferenciar parcialmente células hES y/o sus derivados libres de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales complementarios, suplementos de aminoácidos, suplementos vitamínicos, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a
30 membrana, factor Steel soluble y medios acondicionados,

261
262

caracterizado porque comprende las etapas de:

(a) introducir células hES y/o sus derivados en un medio de cultivo de células que consiste en medio esencial mínimo e

5 (b) incubar las células madre y/o sus derivados a una temperatura de alrededor de 34°C a aproximadamente 38°C en un ambiente de aproximadamente 3.5% a alrededor de 6% de dióxido de carbono durante alrededor de 12 horas a aproximadamente 48 horas.

10 44. El método para diferenciar parcialmente células hES y/o sus derivados de conformidad con la reivindicación 43, caracterizado porque el medio de cultivo de células es RPMI o DMEM.

15 45. El método para diferenciar parcialmente células hES y/o sus derivados de conformidad con la reivindicación 43, caracterizado porque la incubación se lleva a cabo en un incubador de cultivo de células con camisa de agua.

20 46. El método para diferenciar parcialmente células hES y/o sus derivados de conformidad con la reivindicación 43, caracterizado porque las células en medio de cultivo se incuban en un recipiente biocompatible bajo condiciones sustancialmente aeróbicas.

25 47. El método para diferenciar parcialmente células hES y/o sus derivados de conformidad con la reivindicación 46, caracterizado porque las células se diferencian después de la proliferación.

30 48. El método para diferenciar parcialmente células hES y/o sus derivados de conformidad con la reivindicación 43, caracterizado porque comprende además la etapa de probar las células expandidas para cualquier contaminación.

752
263

49. El método para diferenciar parcialmente células hES y/o sus derivados de conformidad con la reivindicación 43, caracterizado porque el proceso de cultivo se lleva a cabo en recipientes biocompatibles.

5 50. El método para diferenciar parcialmente células hES y/o sus derivados de conformidad con la reivindicación 43, caracterizado porque la relación de la alícuota de células incubadas al medio de células es de aproximadamente 1:3.5 a alrededor de 1:35.

10 51. El método para diferenciar parcialmente células hES y/o sus derivados de conformidad con la reivindicación 43, caracterizado porque la incubación se lleva a cabo en un ambiente sustancialmente aeróbico.

15 52. El método para diferenciar parcialmente células hES y/o sus derivados de conformidad con la reivindicación 51, caracterizado porque la incubación se lleva a cabo en un recipiente biocompatible y el recipiente se mantiene en una posición horizontal.

20 53. Un proceso para preparar una preparación lista para usar de células hES y/o sus derivados para su trasplante a humanos, caracterizado porque comprende:

25 (a) obtener células hES y/o sus derivados libres de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, combinaciones de minerales complementarios, suplementos de aminoácidos, suplementos vitamínicos, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana, factor Steel soluble y medios acondicionados,

30 (b) centrifugar las células para obtener un gránulo y

263
264

(c) suspender el gránulo en una solución biocompatible.

54. El proceso para preparar una preparación lista para usar de células hES y/o sus derivados para trasplante a
5 humanos de conformidad con la reivindicación 53, caracterizado porque comprende además:

(d) almacenar la preparación a alrededor de -15°C a aproximadamente -72°C y

(e) descongelar la preparación almacenada
10 naturalmente antes de su trasplantación,

en donde la viabilidad de las células es de al menos 40% luego de descongelarlas.

55. El proceso para preparar una preparación lista para usarse de células hES y/o sus derivados para trasplante
15 a humanos de conformidad con la reivindicación 53 ó 54, caracterizado porque comprende además probar la preparación para cualquier contaminante antes del trasplante.

56. El proceso para preparar una preparación lista para usarse de células hES y/o sus derivados para trasplante
20 en humanos de conformidad con la reivindicación 53, caracterizado porque las células hES y/o sus derivados obtenidos en (a) se producen mediante los métodos de conformidad con las reivindicaciones 31 ó 43.

57. Un método para almacenar una preparación de
25 células hES y/o sus derivados en una condición viable, caracterizado porque comprende:

(a) tomar una preparación de células hES y/o sus derivados preparada por el método de conformidad con la reivindicación 31 ó 43,

30 (b) añadir una agente de crioconservación y

26A
265

(c) congelar las células a alrededor de -15 a aproximadamente -72°C.

58. El método para almacenar una preparación de células hES y/o sus derivados de conformidad con la
5 reivindicación 57, caracterizado porque la relación de la cantidad del agente de crioconservación a aquella del medio de cultivo es de aproximadamente 1:500 a alrededor de 16:1000.

59. El método para almacenar una preparación de
10 células hES y/o sus derivados de conformidad con la reivindicación 57, caracterizado porque el almacenamiento es en un recipiente biocompatible.

60. El método para almacenar una preparación de células hES y/o sus derivados de conformidad con la
15 reivindicación 57, caracterizado porque las células se congelan a aproximadamente -18 a alrededor de -20°C.