Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 08-105757- -00003-0000
Fecha: 2010-05-25 15:28:57 Dep: 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eva: 379 FASENACIONALII
Act. 400 OPOSIOBSERVTER Folios: 22

FORMULARIO ÚNICO DE OPOSICIÓN

1 OPOSICIÓN A SOLICITUD DE:

- [x] Patente de Invención
- [ ] Patente de Modelo de Utilidad
- [ ] Diseño Industrial
- [ ] Esquema de Trazado para Circuitos Integrados
- [ ] Marca Colectiva
- [ ] Marca de Certificación
- [ ] Lema Comercial
- [ ] Marcas de Productos o Servicios
- [ ] Denominación de Origen

2 SOLICITUD PUBLICADA

Número del expediente: 08-105757
Solicitante: PARTHENIOS BOULIKAS
Apoderado: MAURICIO JARAMILLO CAMPUZANO
Título de la nueva creación o denominación del signo: TRATAMIENTO PARA EL CANCER USANDO OXALIPLATINA ENCAPSULADA EN LIPOSOMAS Y CO-ENCAPSU
Gaceta: No. 613 DE 19/FEB/2010 N.P. 1340

3 OPOSICIÓN PRESENTADA POR:

OPOSITOR

Nombre: LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S.A.
Dirección: CRA. 1 # 46-84
Nacionalidad o Domicilio: COLOMBIA, CALI - VALLE
Lugar de Constitución: CALI- VALLE
Teléfono: 052 6877700 Fax: 052 6877790
E- mail:

IDENTIFICACION
- [ ] C.C.
- [x] NIT
- [ ] C.E.
- [ ] Otro

Cúal
Número 890.301.463-8

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: TITO NOE PARRA MURILLO
Dirección: CALLE 108 # 51-45 BOGOTA
Teléfono: 7422525 Fax: 7424092
E- mail:

IDENTIFICACIÓN
- [x] C.C.
- [ ] NIT
- [ ] C.E.
- [ ] Otro

Cúal
Número 79.579.680 T.P. 71.168

4 FUNDAMENTOS DE LA OPOSICIÓN

Causal:
Signo fundamento de la oposición:
Expediente y/o registro de la marca opositora (De ser marca el signo fundamento de la oposición):
Justificación: VER ANEXO

5 PRÓROGA

- [ ] SI
- [ ] NO

Comprobante de pago No. Fecha:

6 INVOCACIÓN DE NOTORIEDAD

- [ ] SI
- [ ] NO

Comprobante de pago No. Fecha:

7 CONCEPTO DE OPOSICIÓN

- [x] SI
- [ ] NO

Comprobante de pago No. 10-42206 Fecha: 25/MAY/2010

TOTAL F 22

1

☐ SI ☐ NO

8 ANEXOS

- ☑ Comprobante de pago de la tasa.
- ☑ Poderes, si fuera el caso.
- ☐ Pruebas de los fundamentos de la oposición.
- ☐ Documentos que acrediten el legítimo interés , si fuere el caso.
- ☑ Documento que acrediten la existencia y representación legal de las partes, cuando sean personas jurídicas.
- ☐ Tasa de próroga
- ☑ Copias para traslado.

9 Nombre y firma

Nombre: TITO NOE PARRA MURILLO

Firma

C.C. 79.579.680 T.P 71.168

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 42,206
FECHA : MAYO 25 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 08-105757- -00003-0000

Fecha: 2010-05-25 15:28:57 Dep: 2020 DIR.NUEVASCR
Tra: 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act: 400 OPOSIOBSERVTER Folios: 22

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
LAFRANCOL S.A.	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	87989591	19/05/2010	12,205,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-04 PRESENTACION DE OBSERVACIONES	12 MARCAS Y LEMAS COMERCIALES	295,000.00
		TOTAL :	$ 295,000.00

SON: DOSCIENTOS NOVENTA Y CINCO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Señor
SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO
E. S.D.

REF:	**Expediente: 08-105757**
TÍTULO SOLICITADO:	**TRATAMIENTO PARA EL CÁNCER USANDO OXALIPLATINA ENCAPSULADA EN LIPOSOMAS Y CO-ENCAPSULAMIENTO EN LA PARTÍCULA DEL LIPOSOMA DE MÁS DE UNA PREPARACIÓN FARMACÉUTICA O GENES.**
PUBLICACIÓN:	**GACETA 613 del 19 de febrero de 2010, N° de publicación 1340.**
SOLICITANTE:	**PARTHENIOS BOULIKAS**
APODERADO:	**MAURICIO JARAMILLO CAMPUZANO**
TRÁMITE:	**PRESENTACIÓN DE OPOSICIÓN**

TITO NOÉ PARRA MURILLO, mayor de edad y vecino de Bogotá, identificado como aparece al pie de mi firma, abogado en ejercicio, titular de la tarjeta profesional número 71168 del Consejo Superior de la Judicatura, obrando en calidad de apoderado de la sociedad **LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO S.A. LAFRANCOL S.A.,** sociedad constituida y vigente de conformidad con las leyes colombianas, con domicilio en Cali, Valle, en los términos y para los efectos del poder y del certificado de existencia y representación legal adjuntos, y estando dentro del plazo establecido por el artículo 42 de la Decisión 486 de 2000, muy respetuosamente me permito presentar oposición contra la solicitud de patente de invención indicada en el epígrafe.

I. PETICIÓN

Sírvase, señor Superintendente, proceder a negar el beneficio patentario a la solicitud contenida en el expediente 08-105757, por incumplir los requisitos

materiales de patentabilidad establecidos en el Título II, Capítulo I de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina. Lo anterior con base en los fundamentos que se expondrán a continuación.

II. LEGÍTIMO INTERÉS

Asiste a **LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO S.A LAFRANCOL S.A.,** legítimo interés para presentar esta oposición, pues la eventual concesión de la solicitud restringiría, en forma contraria al Régimen Común Andino de Propiedad Industrial, el empleo de ciertas sustancias y composiciones farmacéuticas, en detrimento de sus legítimos intereses comerciales y de la libre competencia.

III. FUNDAMENTOS DE LA OPOSICIÓN

La solicitud de la referencia incumple los requisitos materiales de patentabilidad establecidos en el Titulo II, Capítulo I de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, estos son: Novedad, Nivel Inventivo y Aplicación Industrial. Vale recordar que por Novedad se entiende aquella invención que no se encuentra comprendida dentro del estado de la técnica, siendo ésta última la que comprende todo lo que haya sido accesible al público por una descripción escrita u oral, utilización, comercialización o cualquier otro medio antes de la fecha de presentación de la solicitud de la patente. Con respecto al Nivel Inventivo, cabe señalar que dicho requisito se cumple cuando a una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica correspondiente, no se le hubiese resultado dicha invención obvia o derivada de manera evidente del estado de la técnica. Por último, se entiende que una aplicación es susceptible de aplicación industrial cuando su objeto puede ser producido o utilizado en cualquier tipo de industria, entendiéndose por industria la referida a cualquier actividad productiva.

Así, conforme con lo anterior, es imprescindible señalar quelas composiciones farmacéuticas y los métodos para formar un liposoma que contengan Oxaliplatino para el tratamiento del cáncer son prácticas y eventos totalmente conocidos en la industria farmacéutica. No existe ninguna novedad sobre estos preceptos y mucho menos nivel inventivo. De esta forma, es necesario manifestar que las composiciones farmacéuticas y los métodos que involucran moléculas como las propuestas en la presente solicitud, no presentan ninguna clase de novedad ni de nivel inventivo, luego sería inadecuado conceder un beneficio patentario. Cabe decir que dicha solicitud representa prácticas comunes dentro del sector farmacéutico tanto en Colombia como en muchos otros países. Así, no debe concederse dicho beneficio a composiciones farmacéuticas y métodos que ya son mundialmente conocidos, ya que de ser así, sería flagrante la violación de los preceptos normativos concernientes con los requisitos esenciales que debe cumplir una solicitud de patente para acceder al beneficio.

Ahora bien, con respecto a las composiciones farmacéuticas de las cuales se hace referencia, donde se involucran agentes tales como Oxaliplatino, Cisplatina, Paclitaxel, Docetaxel, Irinotecan, entre muchos otros, es imprescindible manifestar que no puede la solicitante pretender acceder a un beneficio patentario sobre composiciones farmacéuticas que comprenden moléculas que se encuentran descubiertas y plenamente identificadas en el sector químico-farmacéutico. Así, en este orden, consideramos pertinente traer a colación menciones realizadas sobre dichas moléculas con el fin de demostrar lo argumentado hasta el momento. En "The Merck Index" (Anexo), puede observarse que el principio activo Oxaliplatino se encuentra bajo el conocimiento público desde un tiempo considerable. En este sentido, sus características y usos son plenamente conocidos, luego no aplica ninguna novedad al respecto. Por su parte, Cisplatina ostenta beneficios patentarios concedidos por Alemania, **No. DE 2318020 y DE 2329485** (Año 1972). De igual forma, observamos que la molécula Paclitaxel se encuentra plenamente identificada en la bibliografía mencionada; sus usos, aplicaciones y características son totalmente conocidos. Así mismo, encontramos que la molécula Docetaxel ostenta beneficios patentarios concedidos por la Oficina

Europea de Patentes y por Estados Unidos de América, **No. EP 253738 y US 4814470** (Años 1988 y 1989) respectivamente. Finalmente, la molécula Irinotecan obtuvo derechos patentarios concedidos por Japón y por Estados Unidos de América, **No. JP KOKAI 85 19790 y US 4604463** (Años 1985 y 1986) respectivamente.

En este orden, es claro que no puede existir un beneficio patentario que reivindique composiciones farmacéuticas y métodos útiles para el tratamiento del cáncer y que comprendan moléculas plenamente identificadas y utilizadas. A la luz de la normatividad aplicable sobre patentes, nadie puede pretender un derecho de patente sobre composiciones farmacéuticas y métodos que resultan carentes de novedad y nivel inventivo, ya que como es evidente, son eventos plenamente conocidos mundialmente. En consecuencia, es inocuo pretender solicitar una patente de invención como la tramitada bajo el expediente de la referencia.

Cabe destacar en última instancia que la solicitud de la referencia pretende proteger mediante el derecho patentario objetos que no son considerados invenciones. Es claro que una invención es toda creación humana que permita transformar la materia o energía que existe en la naturaleza, para su aprovechamiento por los seres humanos y satisfacer sus necesidades concretas. De igual modo, como ya se mencionó, según los parámetros de la Decisión 486 y normas concordantes, serán patentables las invenciones que cumplan con los requisitos de novedad, nivel inventivo y aplicación industrial. No obstante, puede observarse que la solicitud en comento pretende reivindicar de acuerdo con la totalidad de sus puntos, métodos de tratamiento, los cuales no se consideran invenciones. En este sentido, los métodos de tratamiento quirúrgicos, terapéuticos o de diagnósticos aplicables al cuerpo humano y los relativos a animales, y además la mezcla (Combinaciones) de productos (Moléculas) conocidos y su variación, bien sea en uso, forma, dimensión o de materia, NO se consideran invenciones por cuanto no son susceptibles de aplicación industrial, luego NO pueden acceder a beneficios patentarios. Dicho así, se suma una circunstancia más que imposibilita definitivamente la concesión de la solicitud en mención.

Dicho así, la presente solicitud no cumple con los requisitos esenciales para acceder al derecho patentario por cuanto no se encuentran presentes la novedad, el nivel inventivo y la aplicación industrial.

IV. FUNDAMENTOS DE DERECHO

Son fundamentos de derecho los artículos 16, 18 y 20 de la Decisión 486 de 2000.

V. PRUEBAS

1. The Merck Index. "An enciclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. Fourteenth Edition. 2006. Página 1192. (OXALIPLATINO)

2. The Merck Index. "An enciclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. Fourteenth Edition. 2006. Página 387. (CISPLATINA)

3. The Merck Index. "An enciclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. Fourteenth Edition. 2006. Página 1204. (PACLITAXEL)

4. The Merck Index. "An enciclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. Fourteenth Edition. 2006. Página 574. (DOCETAXEL)

5. The Merck Index. "An enciclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. Fourteenth Edition. 2006. Página 885-886. (IRINOTECAN)

VI. ANEXOS

Para efectos del trámite correspondiente, me permito anexar al presente escrito los siguientes anexos:

1. Poder para actuar.
2. Certificado de existencia y representación legal de LAFRANCOL S.A.
3. Constancia de pago de las tasas de tramitación de oposición.
4. Copia para correr traslado al solicitante.
5. Los mencionados en el acápite de pruebas.

VII. NOTIFICACIONES

Mi representada y el suscrito las recibiremos en la Secretaría de su Despacho, o en la sede de LAFRANCOL ubicada en la Calle 108 No. 51-45 de Bogotá D.C.

Señor Superintendente,

Atentamente,

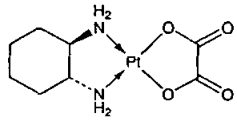
TITO NOÉ PARRA MURILLO
C.C. 79.579.680 DE BOGOTA.
T.P. 71168 C.S.J.

cramps, tatany; convulsions, stupor, coma; kidney damage. Direct contact may cause eye, skin and mucous membrane irritation; eye burns. *See NIOSH Pocket Guide to Chemical Hazards* (DHHS/NIOSH 97-140, 1997) p 238; *Clinical Toxicology of Commercial Products*, R. E. Gosselin *et al.*, Ed. (Williams & Wilkins, Baltimore, 5th ed., 1984) Section III, pp 326-328.

USE: As analytical reagent; in calico printing and dyeing; for bleaching straw (hats) and leather; removing paint or varnish, rust or ink stains; cleaning wood; manuf oxalates; blue ink; celluloid; intermediates and dyes; in metal polishes; in indigo dyeing; in purifying methanol; for decolorizing crude glycerol; for stabilizing hydrocyanic acid. As a general reducing agent; in ceramics and pigments; in metallurgy as cleanser; in the paper industry; in photography; in process engraving; in the rubber mfg industry; in making glucose from starch; as condensing agent in organic chemistry. *In vitro* blood specimen anticoagulant.

THERAP CAT (VET): In 5% solution with 5% malonic acid as hemostatic agent.

6912. Oxaliplatin. [61825-94-3] (*SP*-4-2)-[(1*R*,2*R*)-1,2-Cyclohexanediamine-$\kappa N,\kappa N'$][ethanedioato(2−)-$\kappa O^1,\kappa O^2$]platinum; [(1*R*,2*R*)-1,2-cyclohexanediamine-*N*,*N'*][oxalato(2−)-*O*,*O'*]platinum; oxalato (1*R*,2*R*-cyclohexanediamine)platinum(II); Pt(oxalato)(*trans-l*-dach); oxalato (*trans-l*-1,2-diaminocyclohexane)platinum (II); oxalatoplatin; oxalatoplatinum; *l*-OHP; RP-54780; NSC-266046; Eloxatin; Elplat. $C_8H_{14}N_2O_4Pt$; mol wt 397.29. C 24.19%, H 3.55%, N 7.05%, O 16.11%, Pt 49.10%. Third generation platinum complex. Prepn and antitumor activity: Y. Kidani *et al.*, *J. Med. Chem.* **21**, 1315 (1978); Y. Kidani *et al.*, *Gann* **71**, 637 (1980). Crystal structure: M. A. Bruck *et al.*, *Inorg. Chim. Acta* **92**, 279 (1984). FAB and LAMMA MS analysis: J. Claereboudt *et al.*, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **7**, 1599 (1989). Pharmacokinetics: R. Kizu *et al.*, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **31**, 475 (1993). Clinical evaluation in colorectal cancer: F. Levi *et al.*, *Eur. J. Cancer* **29A**, 1280 (1993). Brief review of antitumor and clinical activity: G. Mathé *et al.*, *Biomed. Pharmacother.* **43**, 237-250 (1989). Review of clinical experience in combination therapy for colorectal cancer: D. Simpson *et al.*, *Drugs* **63**, 2127-2156 (2003).



Colorless, thin triangular plates with truncated vertices. Sol in water 7.9 mg/ml.

THERAP CAT: Antineoplastic.

6913. Oxalomolybdic Acid. [53450-33-2] [Ethanedioato-(2−)-*O*,*O'*]trioxomolybdate(2−) dihydrogen; [ethanedioato(1−)-*O*]hydroxydioxomolybdenum; hydrogen trioxooxalatomolybdate-(VI). $C_2H_2MoO_7$; mol wt 233.97. C 10.27%, H 0.86%, Mo 41.01%, O 47.87%. $H_2[MoO_3(C_3O_4)]$. Usually contains 1 or 2 H_2O.

Colorless crystals, sol in water.

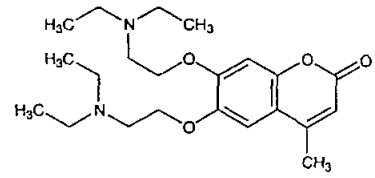
USE: In invisible inks.

6914. Oxalyl Chloride. [79-37-8] Ethanedioyl dichloride. $C_2Cl_2O_2$; mol wt 126.93. C 18.92%, Cl 55.86%, O 25.21%. $(COCl)_2$. Obtained from oxalic acid and PCl_5.

Colorless, fuming liquid; penetrating odor. *Poisonous!* d_4^{13} 1.488. mp −12°. bp 63-64°. n_D^{13} 1.4340. Violently dec by water, also by alcohol.

Caution: Severely irritating to skin, eyes, respiratory tract.

6915. Oxamarin. [15301-80-1] 6,7-Bis[2-(diethylamino)-ethoxy]-4-methyl-2*H*-1-benzopyran-2-one; 6,7-bis[2-(diethylamino)ethoxy]-4-methylcoumarin. $C_{22}H_{34}N_2O_4$; mol wt 390.52. C 67.66%, H 8.78%, N 7.17%, O 16.39%. Deriv of α-pyrone, related structurally to sulmarin, *q.v.* Prepn: E. Massarani, *Farmaco Ed. Sci.* **12**, 691 (1957); G. Cavallini, E. Massarani, US 2895963 (1959 to Maggioni); E. Massarani *et al.*, *J. Med. Pharm. Chem.* **3**, 231 (1961). Comparative study in treatment of varicose syndrome: G. Frantoli *et al.*, *Panminerva Med.* **14**, 290 (1972), *C.A.* **78**, 92741 (1973). Transcutaneous absorption: G. Ciaceri, P. Marini, *Boll. Chim. Farm.* **111**, 321 (1972). Cardiovascular, intestinal smooth muscle effects: *eidem, G. Ital. Patol. Sci. Affini* **19**, 11 (1972), *C.A.* **81**, 130823 (1974). Anti-inflammatory action: *eidem, ibid.* 1, *C.A.* **81**, 130952 (1974).

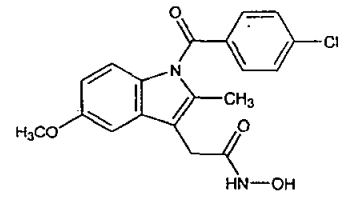


Oil, $bp_{0.5}$ 195°.

Dihydrochloride. [6830-17-7] MG-652; Idro P_3. $C_{22}H_{34}N_2O_4.2HCl$; mol wt 463.44. Crystals from ethanol, mp 224-226° (Massarani, 1957); also reported as mp 234-236° (Massarani *et al.*, 1961).

THERAP CAT: Hemostatic.

6916. Oxametacine. [27035-30-9] 1-(4-Chlorobenzoyl)-*N*-hydroxy-5-methoxy-2-methyl-1*H*-indole-3-acetamide; 1-(*p*-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methylindole-3-acetohydroxamic acid; indoxamic acid; Dinulcid; Flogar. $C_{19}H_{17}ClN_2O_4$; mol wt 372.80. C 61.21%, H 4.60%, Cl 9.51%, N 7.51%, O 17.17%. Deriv of indomethacin, *q.v.* Prepn: R. Aries, **FR 1599495** (1969), *C.A.* **73**, 3797h (1970); F. De Martiis *et al.*, **DE 2008332** corresp to US **3624103** (both 1971 to ABC); *eidem, Boll. Chim. Farm.* **114**, 309 (1975). Pharmaco-toxicological evaluation: *eidem, ibid.* 319. Disposition in rats: L. F. Elsom *et al.*, *Arzneim.-Forsch.* **29**, 1155 (1979). Pharmacokinetics: P. Dittrich *et al.*, *ibid.* **31**, 518 (1981). Effect on prostaglandin biosynthesis: J. S. Franzone *et al.*, *Farmaco Ed. Sci.* **35**, 498 (1980). Clinical study: J. Polderman, M. Colon, *J. Int. Med. Res.* **8**, 156 (1980).



Cryst from dioxane, mp 181-182° (dec). Sol in most organic solvents at elevated temperatures. In strong alkali it is hydrolyzed quickly to the debenzoylated product. LD_{50} orally in rats: 96 mg/kg (De Martiis, U.S. patent).

THERAP CAT: Anti-inflammatory.

6917. Oxamic Acid. [471-47-6] Aminooxoacetic acid; oxamidic acid. $C_2H_3NO_3$; mol wt 89.05. C 26.98%, H 3.40%, N 15.73%, O 53.90%. $H_2NCOCOOH$. Prepd by heating oxamide in water with ammonia, followed by neutralization of resulting ammonium salt: Toussaint, *Ann.* **120**, 237 (1861).

Cryst powder from water, or prisms from alcohol, dec about 210 or 214°. Sparingly sol in water. Practically insol in abs alcohol, ether.

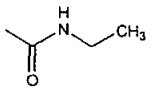
Ammonium salt. $H_2NCOCOONH_4$. Monoclinic prisms, dec about 226°. Very slightly sol in cold water, alcohol.

6918. Oxamide. [471-46-5] Ethanediamide; oxalamide; oxalic acid diamide; ethanedioic acid diamide. $C_2H_4N_2O_2$; mol wt 88.07. C 27.28%, H 4.58%, N 31.81%, O 36.33%. $H_2NCOCONH_2$. Prepd from formamide by glow-discharge electrolysis: Brown *et al.*, *J. Org. Chem.* **27**, 3698 (1962). Crystal structure: G. De With, S. Harkema, *Acta Crystallogr.* **33B**, 2367 (1977). Metabolized in body to form oxalic acid.

Triclinic needles, dec 350°. d_4^{20} 1.667. Sparingly sol in hot water, alcohol.

6919. Oxamniquine. [21738-42-1] 1,2,3,4-Tetrahydro-2-[[(1-methylethyl)amino]methyl]-7-nitro-6-quinolinemethanol; 1,2,3,4-tetrahydro-2-[(isopropylamino)methyl]-7-nitro-6-quinoline-

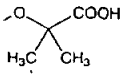
'4-8] (2*E*)-3-(3-Bromophen
'omo-*N*-ethylcinnamamide; B
mol wt 254.12. C 51.99%,
30%. Cinnamic acid derivat
: E. M. Grivsky, DE 25355
Burroughs Wellcome). Pharm
rm. Pharmacol. 33, 741 (198
394 (1983). Pharmacokinet
3. B. Wannamaker, *Curr. Th*
ternin in plasma and urine: R
1466 (1982). Controlled clini
24, 422 (1983); B. Spilker *et*



89-90°. LD_{50} in mice (mg/k
roko).

otox. [372075-36-0] Tox
13-Tx); IL-13PE38. Recom
f human interleukin 13 (IL-1
omonas exotoxin A, PE38QQ
d carcinomas bearing the IL-
al., J. Biol. Chem. 270, 167
417; *eidem*, US 5919456 (19
man Serv.). Review of pharm
Neuro-Oncol. 65, 37-48 (200
l gene expression profile: J. H
of clinical experience in mali
ling, *Curr. Opin. Mol. Ther.*

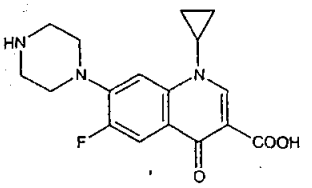
84-3] (2,2-Dichlorocycl
c acid, 4-(2,2-dichlorocycl
in-35833; Ciprol; Lipanor; M
9.15. C 54.00%, H 4.88%,
c agent, related structurally
llips, **DE 2343606** ; *idem*, U
ing). Pharmacokinetics in an
, *Drug Metab. Dispos.* 3, 5
biosynthesis in rats: A. Arno
79). Blood levels, distributio
l., ibid. 33, 351 (1979). Met
Pharm. Sci. 68, 1557 (1979
plessis *et al., Toxicology* 12,



114-116°.

1-33-1] 1-Cyclopropyl-6-fluo
yl)-3-quinolinecarboxylic acid
t 331.3[4] C 61.62%, H 5.48%
luorin; ...inolone antibacte
31428. ...*idem*, US 4670447
Grohe, H. Heitzer, *Ann.* 198
ro: B. Watt, F. V. Brown
986); C. M. Bassey *et al.*, *ibid*
fluids: W. Gau *et al.*, *J. Lig*
acokinetics: G. Hoffken *et al*
375 (1985). Clinical trials:
5); B. E. Scully *et al.*, *Lancet*

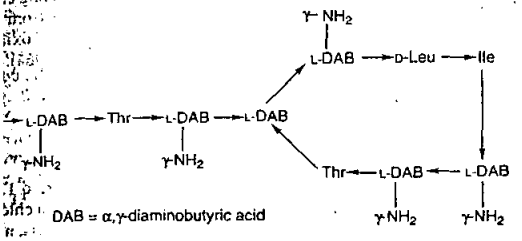
(1986). Symposia on antibacterial spectrum and clinical use: *J. Med.* 82, Suppl. 4A, 1-404 (1987); *J. Antimicrob. Chemother.* Suppl. F, 3-193 (1990). Review of clinical safety and efficacy in dren: R. Kubin, *Infection* 21, 413-421 (1993).



dec 255-257°.

Monohydrochloride monohydrate. [86393-32-0] Bay o 9867; cip; Ciflox; Ciloxan; Cipro; Ciprobay; Ciproxan; Ciproxin; Florin; Septicide; Uniflox; Velmonit. $C_{17}H_{18}FN_3O_3.HCl.H_2O$; l wt 385.82. Light yellow crystalline powder. mp 318-320°.
THERAP CAT: Antibacterial.

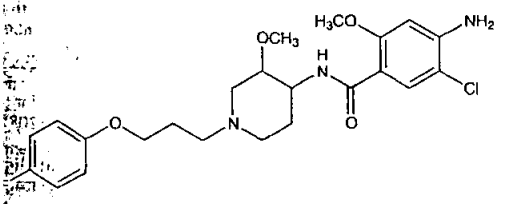
2315. Circulins. Polypeptide antibiotics related to polyxins. Produced by *Bacillus circulans*, a microorganism found il and dust: Murray, Tetrault, *Proc. Soc. Am. Bact.* 1, 20 48); McLeod, *J. Bacteriol.* 56, 749 (1948); Murray *et al., ibid.* 305 (1949). Isoln yields circulins A and B, circulin A being the jor component: Tetrault, US 2676133 (1954 to Purdue Res. nd.). *Review:* Vogner, Studer, *Experientia* 22, 345 (1966).



Circulin A R = (+)-6-methyloctanoyl
Circulin B R = isooctanoyl

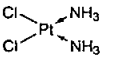
Circulin A. $C_{53}H_{100}N_{16}O_{13}$; mol wt 1169.46. Structure: Fuwa *et al., Experientia* 21, 307 (1965). Synthesis: Studer *et al., Chim. Acta* 49, 974 (1966).
Sulfate. $C_{53}H_{100}N_{16}O_{13}.2½H_2SO_4$. Crystals or amorphous id, dec 226-228°. $[\alpha]_D^{25}$ −61.6° (c = 1.25). Sol in water; less in the lower alcs. Practically insol in acetone and water-immisle solvents.
Circulin B. $C_{52}H_{98}N_{16}O_{13}$; mol wt 1155.43. *Structure:* Hay *et al., Experientia* 24, 656 (1968).

2316. Cisapride. [81098-60-4] *cis*-4-Amino-5-chloro-*N*-[1-(4-fluorophenoxy)propyl]-3-methoxy-4-piperidinyl]-2-methoxyzamide; *cis*-4-amino-5-chloro-*N*-[1-[3-(*p*-fluorophenoxy)pro]-3-methoxy-4-piperidinyl]-*o*-anisamide. $C_{23}H_{29}ClFN_3O_4$; l wt 465.95. C 59.29%, H 6.27%, Cl 7.61%, F 4.08%, N 2%, O 13.73%. Serotonin 5-HT_4 receptor agonist. Prepn: G. n, Daele, **EP 76530**; *idem*, **US 4962115** (1983, 1990 both to ssen); and pharmacology: *idem et al., Drug Dev. Res.* 8, 225 86). Pharmacokinetics: J. A. Barone *et al., Clin. Pharm.* 6, 640 87). Review of pharmacology and therapeutic efficacy: L. R. seman, D. Faulds, *Drugs* 47, 116-152 (1994).



Monohydrate. R-51619; Acenalin; Alimix; Cipril; Prepulsid; Propulsid; Risamol. $C_{23}H_{29}ClFN_3O_4.H_2O$; mol wt 483.96. Crystals from 2-propanol, mp 109.8°. Sol in acetone. Sparingly sol in methanol. Practically insol in water.
THERAP CAT: Gastroprokinetic.

2317. Cisplatin. [15663-27-1] (*SP*-4-2)-Diamminedichloroplatinum; *cis*-diamminedichloroplatinum; *cis*-platinum II; *cis*-DDP; CACP; CPDC; DDP; NSC-119875; Briplatin; Cismaplat; Cisplatyl; Citoplatino; Lederplatin; Neoplatin; Platamine; Platinex; Platiblastin; Platinol; Platinoxan; Platistin; Platosin; Randa. $Cl_2H_6N_2Pt$; mol wt 300.05. Cl 23.63%, H 2.02%, N 9.34%, Pt 65.02%. Prepn: M. Peyrone, *Ann.* 51, 1 (1845); G. B. Kauffman, D. O. Cowan, *Inorg. Synth.* 7, 239 (1963); S. C. Dhara, *Indian J. Chem.* 8, 193 (1970). Originally known as ***Peyrone's salt*** or ***Peyrone's chloride***, it was primarily of interest in the development of coordination theory. Early structural studies: R. Werner, *Z. Anorg. Chem.* 3, 267 (1893); H. D. K. Drew *et al., J. Chem. Soc.* 1932, 988. Discovery of anti-tumor activity: B. Rosenberg *et al., Nature* 205, 698 (1965); 222, 385 (1972). Use as neoplasm inhibitor: M. L. Tobe *et al.*, DE 2318020 (1972 to Rustenburg Platinum Mines Ltd.), *C.A.* 80, 55897e (1974); M. J. Cleare *et al.*, DE 2329485 (1972 to Research Corp.), *C.A.* 81, 21172v (1974). Mechanism of action: J. J. Roberts, J. M. Pascoe, *Nature* 235, 282 (1972); A. Khan, J. M. Hill, *Transplant* 13, 55 (1972); G. L. Cohen *et al., Science* 203, 1014 (1979). X-ray structure of cisplatin-DNA adduct: S. E. Sherman *et al., Science* 230, 412 (1985). Inhibition of *in vitro* DNA synthesis: A. L. Pinto, S. J. Lippard, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82, 4616 (1985). Pharmacology: A. Sirica *et al., Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 12, 4 (1971); C. L. Litterst *et al., Cancer Res.* 36, 2340 (1976); N. P. Johnson *et al., Chem. Biol. Interact.* 23, 267 (1978). Metabolism: R. C. Lange *et al., J. Nucl. Med.* 14, 191 (1973). Clinical studies: J. J. Ochs *et al., Cancer Treat. Rep.* 62, 239 (1978); H. M. Pinedo *et al., Eur. J. Cancer* 14, 1149 (1978). Cisplatin has been shown to have trypanocidal effects: M. S. Wysor *et al., Science* 217, 454 (1982). Toxicology: R. L. Dixon, *Proc. 7th Int. Congr. Chemother.* Vol. 2 (University Park Press, Baltimore, 1972) pp 241-243; R. W. Fleishman *et al., Toxicol. Appl. Pharmacol.* 33, 320 (1975). *Reviews:* D. D. Von Hoff, M. Rozencweig in *Advances in Pharmacology and Chemotherapy* vol. 16, S. Garattini *et al.*, Eds. (Academic Press, New York, 1979) pp 273-294; S. J. Lippard, *Science* 218, 1075-1082 (1982). Review of carcinogenicity studies: *IARC Monographs* 26, 154-161 (1981); of neurotoxicity: R. J. Cersosimo, *Cancer Treat. Rev.* 16, 195-211 (1989). Comprehensive description: C. M. Riley, L. M. Sternson, *Anal. Profiles Drug Subs.* 14, 77-105 (1985). Book: *Cisplatin, Current Status and New Developments*, A. W. Prestayko *et al.*, Eds. (Academic Press, New York, 1980) 527 pp.

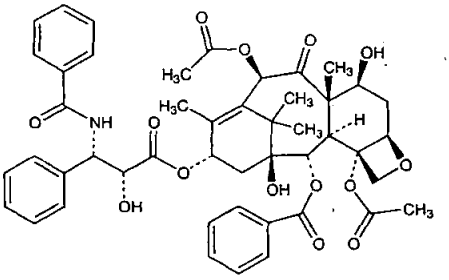


Deep yellow solid, dec 270°. Soly in water 0.253 g/100 g at 25°; slowly changes to *trans*-form in aq soln. Insol in most common solvents. Sol in DMF. LD_{50} in guinea pigs: 9.7 mg/kg i.p. (Fleishman).
Caution: This substance is reasonably anticipated to be a human carcinogen: *Report on Carcinogens, Eleventh Edition* (PB2005-104914, 2004) p III-67.
THERAP CAT: Antineoplastic.

2318. Citalopram. [59729-33-8] 1-[3-(Dimethylamino)-propyl]-1-(4-fluorophenyl)-1,3-dihydro-5-isobenzofurancarbonitrile; 1-[3-(dimethylamino)propyl]-1-(4-fluorophenyl)-5-phthalancarbonitrile; nitalapram; Lu-10-171. $C_{20}H_{21}FN_2O$; mol wt 324.39. C 74.05%, H 6.53%, F 5.86%, N 8.64%, O 4.93%. Selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI). Prepn: K. P. Boegesoe, A. S. Toft, **DE 2657013**; *eidem*, **US 4136193** (1977, 1979 both to Kefalas); A. J. Bigler *et al., Eur. J. Med. Chem. - Chim. Ther.* 12, 289 (1977). Prepn of enantiomers: K. P. Boegesoe, J. Perregaard, **EP 347066**; *eidem*, **US 4943590**, reissued as **US RE 34712** (1989, 1990, 1994 all to Lundbeck). Pharmacology: A. V. Christensen *et al., Eur. J. Pharmacol.* 41, 153 (1977). HPLC determn in plasma and urine: E. Oyehaug *et al., J. Chromatogr.* 308, 199 (1984). Comparative biotransformation of enantiomers: L. L. Von Moltke *et al., Drug Metab. Dispos.* 29, 1102 (2001). Review of clinical

P

6982. Paclitaxel. [33069-62-4] ($\alpha R,\beta S$)-β-(Benzoylamino)-α-hydroxybenzenepropanoic acid (2a*R*,4*S*,4a*S*,6*R*,9*S*,11*S*,12*S*,-12a*R*,12b*S*)-6,12b-bis(acetyloxy)-12-(benzoyloxy)-2a,3,4,4a,5,6,9,-10,11,12,12a,12b-dodecahydro-4,11-dihydroxy-4a,8,13,13-tetramethyl-5-oxo-7,11-methano-1*H*-cyclodeca[3,4]benz[1,2-*b*]oxet-9-yl ester; 5β,20-epoxy-1,2α,4,7β,10β,13α-hexahydroxytax-11-en-9-one 4,10-diacetate 2-benzoate 13-ester with (2*R*,3*S*)-*N*-benzoyl-3-phenylisoserine; taxol A; NSC-125973; Anzatax; Paxene; Taxol. $C_{47}H_{51}NO_{14}$; mol wt 853.91. C 66.11%, H 6.02%, N 1.64%, O 26.23%. Antiproliferative agent first isolated, as the *l*-form, from the bark of the Pacific yew tree, *Taxus brevifolia, Taxaceae;* promotes the assembly of microtubules and inhibits the tubulin disassembly process. Isoln and structure: M. C. Wani *et al., J. Am. Chem. Soc.* **93,** 2325 (1971). *In vitro* promotion of microtubule assembly: P. B. Schiff *et al., Nature* **277,** 665 (1979). Isoln from *Taxus baccala* L. and *in vitro* inhibition of depolymerization of microtubules into tubulin: G. Chauviere *et al., C.R. Seances Acad. Sci. Ser. 2* **293,** 501 (1981). Total synthesis of ***taxusin***, which contains the entire ring skeleton: R. A. Holton *et al., J. Am. Chem. Soc.* **110,** 6558 (1988). Total stereosynthesis: R. A. Holton *et al., ibid.* **116,** 1597, 1599 (1994); K. C. Nicolaou *et al., Nature* **367,** 630 (1994). Production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus associated with *T. brevifolia*: A. Stierle *et al., Science* **260,** 214 (1993). Review of mechanism of action: J. J. Manfredi, S. B. Horwitz, *Pharmacol. Ther.* **25,** 83-125 (1984); S. B. Horwitz *et al., Ann. N.Y. Acad. Sci.* **466,** 733-744 (1986); S. B. Horwitz, *Trends Pharmacol. Sci.* **13,** 134-136 (1992). Symposium on clinical toxicology, pharmacology and efficacy: *Semin. Oncol.* **20,** Suppl. 3, 1-60 (1993). Review of clinical experience in cancer therapy: T. M. Mekhail, M. Markman, *Expert. Opin. Pharmacother.* **3,** 755-766 (2002). Clinical trial in prevention of coronary artery restenosis: G. W. Stone *et al., N. Engl. J. Med.* **350,** 221 (2004).

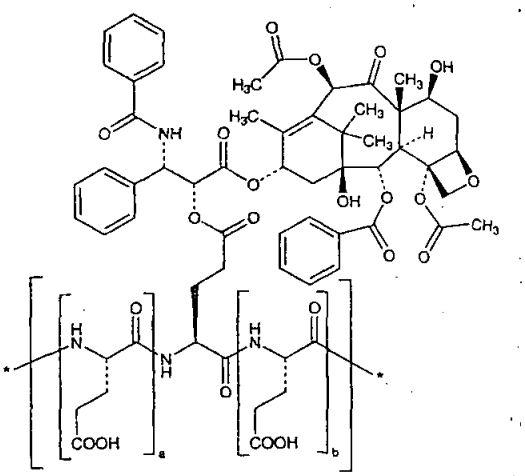


Needles from aq methanol, mp 213-216° (dec). $[\alpha]_D^{20}$ −49° (methanol). uv max (methanol): 227, 273 nm (ε 29800, 1700).

USE: Tool in study of structure and function of microtubules.

THERAPCAT: Antineoplastic; antirestenotic.

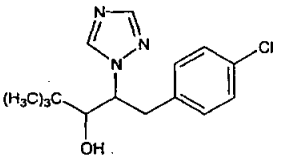
6983. Paclitaxel Poliglumex. [263351-82-2] (1*R*,2*S*)-2-(Benzoylamino)-1-[[[(2a*R*,4*S*,4a*S*,6*R*,9*S*,11*S*,12*S*,12a*R*,12b*S*)-6,12b-bis(acetyloxy)-12-(benzoyloxy)-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,-12a,12b-dodecahydro-4,11-dihydroxy-4a,8,13,13-tetramethyl-5-oxo-7,11-methano-1*H*-cyclodeca[3,4]benz[1,2-*b*]oxet-9-yl]oxy]-carbonyl]-2-phenylethyl ester L-glutamic acid homopolymer; L-polyglutamic paclitaxel; PG-TXL; CT-2103; Xyotax. Biodegradable polymer drug conjugate resulting from the random condensation of L-polyglutamic acid and paclitaxel, *q.v.*, which has on average 10.4 monomeric glutamic acid units per paclitaxel-glutamate conjugate unit. Mol wt 48 kDa. Prepn: C. Li *et al., Cancer Res.* **58,** 2404 (1998). *See also*: *eidem*, **US 5977163** (1999 to PG-TXL Co.). *In vitro* activities in comparison with paclitaxel: A. S. Multani *et al., Anticancer Res.* **17,** 4269 (1997); E. A. Oldham *et al., Int. J. Oncol.* **16,** 125 (2000). Irradiation enhanced tumor specificity: C. Li *et al., Clin. Cancer Res.* **6,** 2829 (2000); L. Milas *et al., Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **55,** 707 (2003). Review of properties and preclinical characterization: J. W. Singer *et al., Adv. Exp. Med. Biol.* **519,** 81-99 (2003); of clinical development: J. W. Singer, *J. Controlled Rel.* **109,** 120-126 (2005); M. Man, H. Rugo, *IDrugs* **8,** 739-754 (2005).



White to off-white powder. Insol in ether; practically insol in 0.1*M* HCl and acetonitrile. Sol in 0.1*M* NaOH, 0.1*M* Na_2HPO_4 (pH 6.5); slightly sol in methanol, DMSO, dimethylformamide.

THERAPCAT: Antineoplastic.

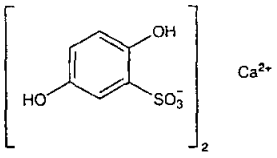
6984. Paclobutrazol. [76738-62-0] ($\alpha R,\beta R$)-*rel*-β-[(4-Chlorophenyl)methyl]-α-(1,1-dimethylethyl)-1*H*-1,2,4-triazole-1-ethanol; 1-*tert*-butyl-2-(*p*-chlorobenzyl)-2-(1,2,4-triazol-1-yl)-ethanol; (2*RS*,3*RS*)-1-(4-chlorophenyl)-4,4-dimethyl-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)pentan-3-ol; ICI-PP-333; PP-333; Bonzi; Cultar; Parlay; Trimmit. $C_{15}H_{20}ClN_3O$; mol wt 293.79. C 61.32%, H 6.86%, Cl 12.07%, N 14.30%, O 5.45%. Plant growth regulator with fungicidal activity. Prepn: B. C. Baldwin *et al.*, **DE 2734426**; S. Balasubramanyan, M. C. Shephard, **US 4243405** (1978, 1981 both to ICI). Physical properties and biological activity: B. G. Lever *et al., Proc. Br. Crop Prot. Conf. - Weeds* **1982,** 3. Resolution and activity of isomers: B. Sugavanam, *Pestic. Sci.* **15,** 296 (1984). GC determn in plant tissue: E. A. Stahly, D. A. Buchanan, *HortScience* **21,** 534 (1986). Comparison with daminozide, *q.v.*, of effect on apple trees: G. R. Stinchcombe *et al., J. Hortic. Sci.* **59,** 323 (1984).



White crystalline solid, mp 165-166°. d 1.22. Vapor pressure at 20°: 1×10^{-6} Pa. Soly: water 35 mg/l, methanol 15%, propylene glycol 5%, acetone 11%, cyclohexanone 18%, methylene dichloride 10%, hexane 1%, xylene 6%.

USE: Plant growth regulator.

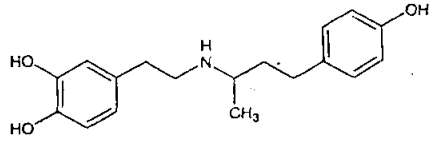
6985. Pactamycin. [23668-11-3] 2-Hydroxy-6-methylbenzoic acid [(1*S*,2*R*,3*R*,4*S*,5*S*)-5-[(3-acetylphenyl)amino]-4-amino-3-[[(dimethylamino)carbonyl]amino]-1,2-dihydroxy-3-[(1*S*)-1-hydroxyethyl]-2-methylcyclopentyl]methyl ester; NSC-52947; U-15800. $C_{28}H_{38}N_4O_8$; mol wt 558.62. C 60.20%, H 6.86%, N 10.03%, O 22.91%. Antitumor antibiotic produced by *Streptomyces pactum* var *pactum*. Discovery and biological properties: Bhuyan *et al., Antimicrob. Agents Chemother.* **1961,** 184. Isoln and characterization: Argoudelis *et al., ibid.* 191. Manuf: **GB 980346** (1965 to Upjohn), *C.A.* **62,** 11115f (1965). Structure: Wiley *et al., J. Org. Chem.* **35,** 1420 (1970). Revised structure: D. J. Duchamp, *Am. Crystallogr. Assn.* (Winter Mtg., Albuquerque, 1972) p 23. Mechanism of action: T. A. Beerman *et al., Adv. Enzyme Regul.* **14,** 207 (1976). ^{13}C-NMR study: D. D. Weller *et al., J. Antibiot.* **30,** 997 (1978). Biosynthesis: D. D. Weller, K. L. Rinehart, *J. Am.*



White, powdery crystals from water, mp >300° (dec). Color deepens to pink upon exposure to air. Very soluble in water and alcohol. Practically insol in ether, benzene, chloroform. LD_{50} in mice: 700 mg/kg (Esteve-Subirana).

THERAP CAT: Vasotropic.

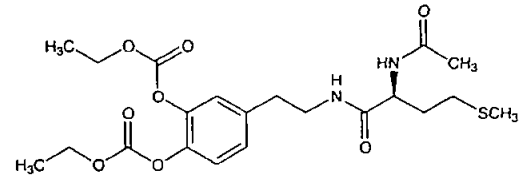
3395. Dobutamine. [34368-04-2] 4-[2-[[3-(4-Hydroxyphenyl)-1-methylpropyl]amino]ethyl]-1,2-benzenediol; (±)-4-[2-[[3-(*p*-hydroxyphenyl)-1-methylpropyl]amino]ethyl]pyrocatechol; 3,4-dihydroxy-*N*-[3-(4-hydroxyphenyl)-1-methylpropyl]-β-phenylethylamine; Compound 81929. $C_{18}H_{23}NO_3$; mol wt 301.38. C 71.73%, H 7.69%, N 4.65%, O 15.93%. β_1-Adrenergic agonist; derivative of dopamine, *q.v.* Prepn: R. R. Tuttle, J. Mills, **DE 2317710**; *eidem*, **US 3987200** (1973, 1976 to Lilly). Pharmacology: R. Weber, R. R. Tuttle in *Pharmacological and Biochemical Properties of Drug Substances* vol. 1, M. E. Goldberg, Ed. (Am. Pharm. Assoc., Washington, DC, 1977) pp 109-124; E. H. Sonnenblick *et al.*, *N. Engl. J. Med.* **300**, 17 (1979). Comprehensive description: R. H. Bishara, H. B. Long, *Anal. Profiles Drug Subs.* **8**, 139-158 (1979).



Hydrochloride. [49745-95-1] Inotrex (obsolete); Dobutrex. $C_{18}H_{23}NO_3$.HCl; mol wt 337.84. Crystals, mp 184-186°. uv max (methanol): 281, 223 nm (ε 4768, 14400). pKa 9.45. Rapidly oxidized at pH 11-13. LD_{50} i.v. in mice: ~73 mg/kg (Weber, Tuttle).

THERAP CAT: Cardiotonic.

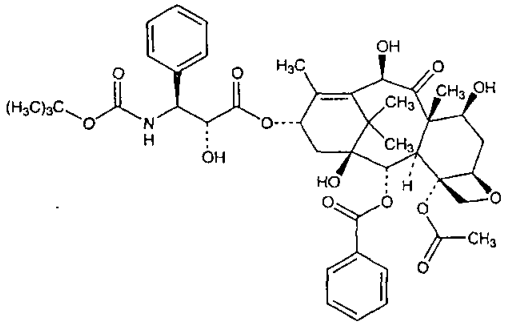
3396. Docarpamine. [74639-40-0] 4-[2-[[(2*S*)-2-(Acetylamino)-4-(methylthio)-1-oxobutyl]amino]ethyl]-1,2-phenylene diethyl ester; (−)-(*S*)-2-acetamido-*N*-(3,4-dihydroxyphenethyl)-4-(methylthio)butyramide bis(ethylcarbonate) (ester); *N*-(*N*-acetyl-L-methionyl)-*O*,*O*-bis(ethoxycarbonyl)dopamine; *N*-(*N*-acetyl-L-methionyl)-3,4-diethoxycarboxyphenethylamine; TA-870; Tanadopa. $C_{21}H_{30}N_2O_8S$; mol wt 470.54. C 53.60%, H 6.43%, N 5.95%, O 27.20%, S 6.81%. Dopamine prodrug. Prepn: T. Kiguchi *et al.*, **EP 7441**; *eidem*, **US 4228183** (both 1980 to Tanabe Seiyaku). Pharmacology: I. Yamaguchi *et al.*, *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **13**, 879 (1989). Mechanism of action: S. Nishiyama *et al.*, *ibid.* **14**, 175 (1989). Pharmacokinetics: M. Yoshikawa *et al.*, *Drug Metab. Dispos.* **16**, 754 (1988). Metabolism in humans: *eidem*, *ibid.* **18**, 212 (1990). HPLC determn in biological fluids: *eidem*, *Biomed. Chromatogr.* **4**, 181 (1990). Review: S. Nishiyama *et al.*, *Cardiovasc. Drug Rev.* **10**, 101-116 (1992).



Crystals form ethyl acetate/*n*-hexane, mp 85-90°. $[\alpha]_D^{20}$ −15.6° (c = 2 in methanol). Also reported as crystalline powder, mp 105-108° (Nishiyama, 1992). Slightly sol in water, readily sol in ethanol. LD_{50} in male, female rats (mg/kg): 1000-1400, ~1000 s.c.; in rats, dogs (mg/kg): >2000 orally (Nishiyama, 1992).

THERAP CAT: Cardiotonic.

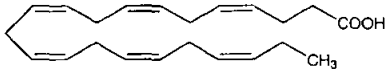
3397. Docetaxel. [114977-28-5] (αR,βS)-β-[[(1,1-Dimethylethoxy)carbonyl]amino]-α-hydroxybenzenepropanoic acid (2a*R*,4*S*,4a*S*,6*R*,9*S*,11*S*,12*S*,12a*R*,12b*S*)-12b-(acetyloxy)-12-(benzoyloxy)-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-dodecahydro-4,6,11-trihydroxy-4a,8,13,13-tetramethyl-5-oxo-7,11-methano-1*H*-cyclodeca[3,4]benz[1,2-b]oxet-9-yl ester; *N*-debenzoyl-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-10-deacetyltaxol; NSC-628503; RP-56976; Taxotere. $C_{43}H_{53}NO_{14}$; mol wt 807.88. C 63.93%, H 6.61%, N 1.73%, O 27.73%. Semisynthetic derivative of paclitaxel, *q.v.*, prepd using a natural precursor, ***10-deacetylbaccatin III***, extracted from the needles of the European yew tree, *Taxus baccata* L., *Taxaceae*. Antimitotic agent that promotes the assembly of microtubules and inhibits their depolymerization to free tubulin. Prepn: M. Colin *et al.*, **EP 253738**; *eidem*, **US 4814470** (1988, 1989 both to Rhône-Poulenc Sante); L. Mangatal *et al.*, *Tetrahedron* **45**, 4177 (1989). Synthesis of the side chain: J.-N. Denis *et al.*, *J. Org. Chem.* **56**, 6939 (1991). Structure-activity study: F. Guéritte-Voegelein *et al.*, *J. Med. Chem.* **34**, 992 (1991). Cytotoxic activity and mechanism of action: I. Ringel, S. B. Horwitz, *J. Natl. Cancer Inst.* **83**, 288 (1991). *In vivo* antitumor activity: M.-C. Bissery *et al.*, *Cancer Res.* **51**, 4845 (1991). HPLC determn: J. C. Vergniol *et al.*, *J. Chromatogr.* **582**, 273 (1992). Clinical pharmacokinetics and toxicology: J.-M. Extra *et al.*, *Cancer Res.* **53**, 1037 (1993). Clinical trials in prostate cancer: I. F. Tannock *et al.*, *N. Engl. J. Med.* **351**, 1502 (2004); D. P. Petrylak *et al.*, *ibid.* 1513. Symposium on clinical experience: *Semin. Oncol.* **27**, Suppl. 3, 1-29 (2000). Review of mechanism of action and combination therapies: R. S. Herbst, F. R. Khuri, *Cancer Treat. Rev.* **29**, 407-415 (2003); of clinical studies in non-small cell lung cancer: A. M. Davies *et al.*, *Expert Opin. Pharmacother.* **4**, 553-565 (2003).



mp 232°. $[\alpha]_D$ −36° (c = 0.74 in ethanol). uv max: 230, 275, 283 nm (ε 14800, 1730, 1670).

THERAP CAT: Antineoplastic.

3398. Docosahexaenoic Acid. [6217-54-5] (4*Z*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic acid; cervonic acid; doconexent; DHA. $C_{22}H_{32}O_2$; mol wt 328.49. C 80.44%, H 9.82%, O 9.74%. Omega-3 fatty acid found in marine fish oils and in many phospholipids. Major structural component of excitable membranes of the retina and brain; synthesized in the liver from α-linolenic acid, *q.v.* Isoln from oil of *Sardina ocellata* J. and structure: J. M. Whitcutt, *Biochem. J.* **67**, 60 (1957). Improved isoln from cod liver oil: S. W. Wright *et al.*, *J. Org. Chem.* **52**, 4399 (1987). Effect on brain and behavioral development: P. E. Wainwright, *Neurosci. Biobehav. Rev.* **16**, 193 (1992). Review of uptake and metabolism by retinal cells: N. G. Bazan, E. B. Rodriguez de Turco, *J. Ocul. Pharmacol.* **10**, 591-603 (1994). Review of clinical studies in infant formula supplementation: M. Makrides *et al.*, *Lipids* **31**, 115-119 (1996).

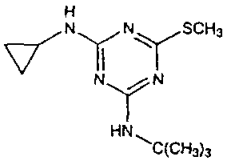


Clear, faintly yellow oil, mp −44.7 to −44.5°. n_D^{26} 1.5017.

USE: Nutritional supplement.

3399. *n*-Docosanol. [661-19-8] 1-Docosanol; behenic alcohol; behenyl alcohol; docosyl alcohol; Abreva; Lidakol. $C_{22}H_{46}O$;

Ecological risk assessment: L. W. Hall, Jr. *et al.*, *Crit. Rev. Toxicol.* **29**, 367-437 (1999).



Crystals from water, mp 128-133°. Soly (ppm): 9.0 in water; 5.9 in 0.3 mol/l salinity; 1.8 in 0.6 mol/l salinity. Vapor pressure 6.6×10^{-7} mm Hg. Log P (*n*-octanol/water): 3.95; also reported as 2.8 (Hall). LC_{50} (96 hr in salt water) in mysid shrimp, inland silverside, sheepshead minnow (ng/l): 400000, 1580000, 3500000; LC_{50} (96 hr in fresh water) in rainbow trout, bluegill sunfish (ng/l): 790000, 2600000 (Hall).

USE: Booster algicide in antifouling paint.

5085. Iridium. [7439-88-5] Ir; at. wt 192.217; at. no. 77; valences 1, 3, 4; also 2, 5, 6. Group VIII (9). Two naturally occurring isotopes: 191 (38.5%); 193 (61.5%); artificial, radioactive isotopes: 182-190; 191; 192; 194-198. Occurrence in earth's crust about 0.001 ppm. Discovered in 1804 by Tennant. Occurs in nature in the metallic state, usually as a natural alloy with osmium (osmiridium); found in small quantities alloyed with native platinum (platinum mineral) or with native gold. Recovery and purification from osmiridium: Deville, Debray, *Ann. Chim. Phys.* **61**, 84 (1861); from the platinum mineral: Wichers, *J. Res. Natl. Bur. Stand.* **10**, 819 (1933). Reviews of prepn, properties and chemistry of iridium and other platinum metals: Gilchrist, *Chem. Rev.* **32**, 277-372 (1943); W. P. Griffith, *The Chemistry of the Rarer Platinum Metals* (John Wiley, New York, 1967) pp 1-41, 227-312; Livingstone in *Comprehensive Inorganic Chemistry* vol. 3, J. C. Bailar Jr. *et al.*, Eds. (Pergamon Press, Oxford, 1973) pp 1163-1189, 1254-1274.

Silver-white, very hard metal; face-centered cubic lattice. mp 2450°; bp ~4500°. d_4^{20} 22.65; highest sp gr of all elements. Specific heat 0.0307 cal/g/°C. Mohs' hardness 6.5. Pure iridium is not attacked by any acids including aqua regia; only slightly by fused (non-oxidizing) alkalies. It is superficially oxidized on heating in the air. Is attacked by fluorine and chlorine at a red heat; attacked by potassium sulfate or by a mixture of potassium hydroxide and nitrate on fusion; attacked by lead, zinc or tin. The powdered metal is oxidized by air or oxygen at a red heat to the dioxide, IrO_2, but on further heating the dioxide dissociates into its constituents.

USE: In manufacturing crucibles; in hardening platinum; in making nibs for fountain-pen points.

5086. Iridium Hexafluoride. [7783-75-7] F_6Ir; mol wt 306.21. F 37.23%, Ir 62.77%. IrF_6. Prepd by direct fluorination of iridium: Ruff, Fischer, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **179**, 161 (1929); Robinson, Westland, *J. Chem. Soc.* **1956**, 4481. Crystal structure: Siegel, Northrop, *Inorg. Chem.* **5**, 2187 (1966).

Golden yellow, cubic crystals. d (calc) 4.82. Very hygroscopic. mp 44.4°. bp 53°. Volatilizes on slow heating. Reduced to IrF_4 by halogens. Decomposes in aqueous soln. Does not react with dry glass below 150°. May be stored in evacuated quartz ampuls.

5087. Iridium Sesquioxide. [1312-46-5] Ir_2O_3; mol wt 432.43. Ir 88.90%, O 11.10%.

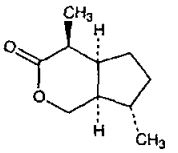
Blue-black powder. Decomposes at about 1000° into metal and oxygen. Insol in water; slowly dissolved by boiling HCl. Oxidized to IrO_2 by HNO_3.

5088. Iridium Trichloride. [10025-83-9] Cl_3Ir; mol wt 298.58. Cl 35.62%, Ir 64.38%. $IrCl_3$. Prepn: Dillamore, Edwards, *J. Inorg. Nucl. Chem.* **31**, 2427 (1969). Several known modifications. Crystal structure: Brodersen *et al.*, *Naturwissenschaften* **52**, 205 (1966); Babel, Deigner, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **339**, 57 (1965).

α-Form. Brown, monoclinic crystals. β-Form; red, orthorhombic crystals. Olive-green modification also prepd: Dillamore, Edwards, *loc. cit.* Decomposes at 763°. Insol in water, acids, alkalies.

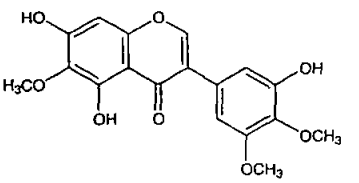
USE: Catalyst for chlorination and polymerization reactions.

5089. Iridomyrmecin. [485-43-8] [4*S*-(4α,4aβ,7β,7aβ)]-Hexahydro-4,7-dimethylcyclopenta[*c*]pyran-3(1*H*)-one; 2-(hydroxymethyl)-α,3-dimethylcyclopentaneacetic acid δ-lactone; iridomyrmexin. $C_{10}H_{16}O_2$; mol wt 168.23. C 71.39%, H 9.59%, O 19.02%. Iridolactone isolated from the Argentine ant *Iridomyrmex humilis* Mayr., *Dolichoderinae*. Exhibits antibacterial and insect antifeedant activity. Isoln: Pavan, *Ric. Sci.* **19**, 1011 (1949); *Chim. Ind. (Milan)* **37**, 625 (1955); Fusco *et al.*, *ibid.* **251**, 958; Cavill *et al.*, *Aust. J. Chem.* **9**, 288 (1956); **10**, 352 (1957). Synthesis: Korte *et al.*, *Tetrahedron* **6**, 201 (1959); Sisido *et al.*, *J. Org. Chem.* **29**, 3361 (1964); R. S. Matthews, J. K. Whitesell, *ibid.* **40**, 3312 (1975); Y. Yamada *et al.*, *Chem. Lett.* **1978**, 1405; P. Callant *et al.*, *Tetrahedron* **37**, 2085 (1981). Stereochemistry: Korte *et al.*, *Ber.* **94**, 1952 (1961); McConnell *et al.*, *Tetrahedron Lett.* **1962**, 445; Büchi, Manning, *Tetrahedron* **18**, 1049 (1962). Activity as bactericide and insecticide: M. Pavan, *Z. Hyg. Infektionskrankh.* **134**, 136 (1952), *C.A.* **46**, 9796f (1952).



Prisms from petr ether. Aromatic odor, resembling catnip. Salty taste. mp 60-61°. $Sublimes_{0.01}$ 50-55°. $bp_{1.5}$ 104-108°. $[\alpha]_D^{20}$ +210° (c = 4 in ethanol); $[\alpha]_D^{17}$ +205° (c = 0.223 in carbon tetrachloride). n_D^{65} 1.4607. Sparingly sol in water: 0.2 g/100 ml H_2O (25°). Sol in fats and fat solvents. Freely sol in ether.

5090. Irigenin. [548-76-5] 5,7-Dihydroxy-3-(3-hydroxy-4,5-dimethoxyphenyl)-6-methoxy-4*H*-1-benzopyran-4-one; 3′,5,7-trihydroxy-4′,5′,6-trimethoxyisoflavone. $C_{18}H_{16}O_8$; mol wt 360.31. C 60.00%, H 4.48%, O 35.52%. From rhizome of *Iris florentina* L., *Iridaceae*: de Laire, Tiemann, *Ber.* **26**, 2010 (1893). Structure: Baker, *J. Chem. Soc.* **1928**, 1022. Synthesis: Baker *et al.*, *Tetrahedron Lett.* no. 5, 6 (1960); Farkas, Várady, *Ber.* **93**, 2685 (1960); Baker *et al.*, *J. Chem. Soc. C* **1970**, 1219.



Yellow plates or needles from dil alc, mp 185°. uv max (abs ethanol): 267 nm. Sol in warm alcohol, benzene, chloroform; practically insol in water, ether, petr ether.

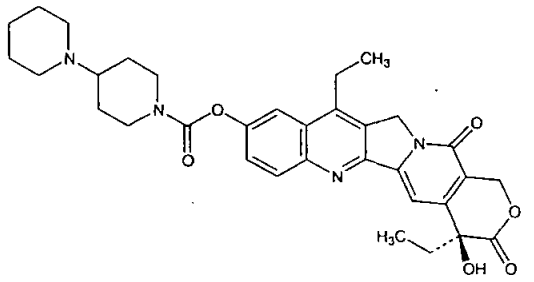
Triacetate. $C_{24}H_{22}O_{11}$. Prisms from dil acetic acid, mp 127-128°.

7-Glucoside. Iridin; 7-(glucosyloxy)-3′,5-dihydroxy-4′,5′,6-trimethoxyisoflavone. $C_{24}H_{26}O_{13}$. Monohydrate, needles from dil alc, mp 208°. When anhydrous, mp 217°. One gram of anhydrous iridin dissolves in 500 ml water, 43 ml acetone. Sol in hot alcohol; practically insol in ether, ethyl acetate, benzene, chloroform.

Note: There also is an oleoresin called *iridin* (Extractum Iridis) from *Iris versicolor* (blue flag) by extraction with 60% alc. Another substance named *iridine* is a protamine from the sperm of rainbow trout: Felix, Mager, *Z. Physiol. Chem.* **249**, 124 (1937).

5091. Irinotecan. [97682-44-5] [1,4′-Bipiperidine]-1′-carboxylic acid (4*S*)-4,11-diethyl-3,4,12,14-tetrahydro-4-hydroxy-3,14-dioxo-1*H*-pyrano[3′,4′:6,7]indolizino[1,2-*b*]quinolin-9-yl ester; 7-ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-piperidino]carbonyloxycamptothecin; (+)-7-ethyl-10-hydroxycamptothecine 10-[1,4′-bipiperidine]-1′-carboxylate; (+)-(4*S*)-4,11-diethyl-4-hydroxy-9-[(4-piperidinopiperidino)carbonyloxy]-1*H*-pyrano[3′,4′:6,7]indolizino[1,2-*b*]quinoline-3,14-(4*H*,12*H*)-dione. $C_{33}H_{38}N_4O_6$; mol wt 586.68. C 67.56%, H 6.53%, N 9.55%, O 16.36%. DNA topoisomerase I inhibitor. Semisynthetic derivative of camptothecin, *q.v.*; de-esterified *in vivo* to the active metabolite, *7-ethyl-10-hydroxy-*

camptothecin (SN-38). Prepn: **JP Kokai 85 19790**; T. Miyasaka *et al.*, US **4604463** (1985, 1986 both to Yakult Honsha); S. Sawada *et al., Chem. Pharm. Bull.* **39,** 1446 (1991). Antitumor activity and toxicity data: T. Kunimoto *et al., Cancer Res.* **47,** 5944 (1987). Mechanism of action study: Y. Kawato *et al., ibid.* **51,** 4187 (1991). Clinical trial in colorectal cancer: J. Y. Douillard *et al., Lancet* **355,** 1041 (2000). Review of pharmacology and clinical experience: N. Masuda *et al., Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **24,** 3-26 (1996); S. O'Reilly, E. K. Rowinsky, *ibid.* 47-70; of clinical toxicity: K. Seiter, *Expert Opin. Drug Safety* **4,** 45-53 (2005).

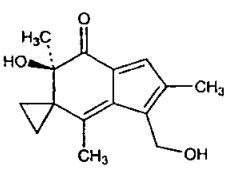


Pale yellow powder, mp 222-223°.

Hydrochloride trihydrate. [136572-09-3]; [100286-90-6] (hydrochloride). CPT-11; DQ-2805; Campto; Camptosar. $C_{33}H_{38}N_4O_6.HCl.3H_2O$; mol wt 677.18. Slightly pale yellow needles or crystalline powder from water, mp 256.5°. $[\alpha]_D^{20}$ +67.7° (c = 1 in water). uv max (ethanol): 221, 254, 359, 372 nm (ε 53800, 36600, 26200, 25300). Slightly sol in water and organic solvents. pH of 2% aqueous soln = 4. LD_{50} in mice (mg/kg): 177.5 i.p.; 765.3 orally (Kunimoto).

THERAP CAT: Antineoplastic.

5092. Irofulven. [158440-71-2] (6′*R*)-6′-Hydroxy-3′-(hydroxymethyl)-2′,4′,6′-trimethylspiro[cyclopropane-1,5′-[5*H*]inden]-7′(6′*H*)-one; (hydroxymethyl)acylfulvene; HMAF; MGI-114; NSC-683863. $C_{15}H_{18}O_3$; mol wt 246.30. C 73.15%, H 7.37%, O 19.49%. Semi-synthetic antitumor agent derived from illudin S, *q.v.* Inhibits DNA synthesis and induces apoptosis in tumor cells. Prepn: M. J. Kelner *et al.*, **US 5523490** (1996 to Univ. California); T. C. McMorris *et al., J. Nat. Prod.* **59,** 896 (1996). Enantioselective synthesis: *idem et al., J. Org. Chem.* **69,** 619 (2004). Effect on DNA integrity and apoptosis: J. M. Woynarowski *et al., Biochem. Pharmacol.* 54, 1181 (1997). Clinical pharmacokinetics and toxicology: J. Alexandre *et al., Clin. Cancer Res.* **10,** 3377 (2004). Clinical evaluation in hormone-refractory prostate cancer: N. Senzer *et al., Am. J. Clin. Oncol.* **28,** 36 (2005). *Review*: M. Baekelandt, *Curr. Opin. Invest. Drugs* **3,** 1517-1526 (2002).



Crystals from ether, mp 127-129°. $[\alpha]_D^{25}$ −639° (c = 0.096 in ethanol). Crystal density: 1.262 g/cm^3. uv max (ethanol): 235, 330 nm (ε 15100, 9200) with tailing to 480 nm.

THERAP CAT: Antineoplastic.

5093. Iron. [7439-89-6] Fe; at. no. 26; at. wt 55.845; valences 2, 3; seldom 1, 4, 6. Group VIII (8). Four naturally occurring isotopes: 54 (5.82%); 56 (91.66%); 57 (2.19%); 58 (0.33%); artificial, radioactive isotopes: 52; 53; 55; 59-61. Second most abundant metal in earth's crust after aluminum: about 5%. The earth's core is believed to consist mainly of iron. Important ores include hematite (Fe_2O_3), magnetite (Fe_3O_4), limonite [$FeO(OH).nH_2O$] and *siderite* ($FeCO_3$). Essential dietary nutrient. Study of iron and its compds by Mössbauer spectroscopy: Danon, "^{57}Fe: Metal, Alloys and Inorganic Compounds" in *Chemical Applications of Mössbauer Spectroscopy*, V. I. Goldanskii, R. H. Herber, Eds. (Academic Press, New York, 1968) p 159-313. Ions involved in oxygen transport, electron transport, nitrogen fixation and a number of other biological processes: Nielands, "Evolution of Biological Iron Binding Centers" in *Struct. Bonding* **11,** 145-170 (1972). Review of biology, pharmacology and toxicity of iron compounds: several authors, *Clin. Toxicol.* **4,** 525-642 (1971); of metabolism and homeostasis: G. Papanikolaou, K. Pantopoulos, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **202,** 199-211 (2005). Comprehensive reviews: Feldmann, Schenck in *Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie* **vol. 6** (München-Berlin, 1955) pp 261-407; Nicholls in *Comprehensive Inorganic Chemistry* **vol. 3,** J. C. Bailar, Jr. *et al.*, Eds. (Pergamon Press, Oxford, 1973) pp 979-1051; W. A. Knepper in *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* **vol. 13** (Wiley-Interscience, New York, 3rd ed., 1981) pp 735-753. Review of use in cereal flour fortification: R. Hurrell *et al., Nutr. Rev.* **60,** 391-406 (2002).

Silvery-white or gray, soft, ductile, malleable, somewhat magnetic metal. Holds magnetism only after hardening (as alloy steel, *e.g.*, Alnico). Supplied as ingots, powder, wire, sheets, etc. Takes a bright polish; can be rolled, hammered, bent, particularly when red hot. Stable in dry air but readily oxidizes in moist air, forming "rust" (chiefly oxide, hydrated). In powder form it is black to gray. Commercial iron usually contains some C, P, Si, S and Mn. d pure 7.86; cast 7.76; wrought 7.25-7.78; steel 7.6-7.78. mp pure 1535°; cast 1000-1300°; wrought 1500°; steel 1300°. bp 3000°. Electrical resistivity (20°): 9.71 microhm-cm. Readily attacked by dil mineral acids and attacked or dissolved by organic acids; not appreciably attacked by cold concd H_2SO_4 or HNO_3, but is attacked by the hot acids.

USE: Alloyed with C, Mn, Cr, Ni, and other elements to form steels. Nutritional supplement in wheat flours, corn meal, grits and other cereal products. ^{55}Fe and ^{59}Fe used in tracer studies: the former in biological studies.

5094. Iron Dextran. [9004-66-4] Dextran iron complex; DexFerrum; Imferon; INFeD. Complex of ferric hydroxide with dextran, *q.q.v.* Prepn: E. London, G. D. Twigg, **US 2820740** (1958 to Benger); **US RE 24642** (1959); J. R. Herb, **US 2885393** (1959 to Laros). Use in treatment of iron-deficiency anemia: I. M. Baird, D. A. Podmore, *Lancet* **264,** 942 (1954). Acute toxicity: R. P. Beliles, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **23,** 537 (1972). Comparison of different formulations: R. Lawrence, *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* **52,** 190 (1998). Mössbauer spectroscopy and *x*-ray diffraction study: B. Knight *et al., J. Inorg. Biochem.* 73, 227 (1999). Use as an iron supplement for anemic piglets: A. K. Egeli, T. Framstad, *Res. Vet. Sci.* **66,** 179 (1999). Clinical evaluation in iron deficiency: J. C. Barton *et al., Am. J. Med.* **109,** 27 (2000). Review of carcinogenicity studies: *IARC Monographs* **2,** 161-178 (1973); of clinical experience: D. L. Burns *et al., Nutrition* **11,** 163-168 (1995); of toxicity profile: D. L. Burns, J. J. Pomposelli, *Kidney Int.* 55, S119-S124 (1999).

Commercial product is a dark brown, slightly viscous soln. Very sol in water, DMSO. Dec in 95% ethanol and acetone. LD_{50} i.v. in mice: 2240 mg Fe/kg (Beliles).

Caution: This substance is reasonably anticipated to be a human carcinogen: *Report on Carcinogens, Eleventh Edition* (PB2005-104914, 2004) p III-155.

THERAP CAT: Hematinic.

THERAP CAT (VET): Nutritional factor (parenteral). Used in iron deficiency anemia, chiefly in pigs.

5095. Irone. [1335-94-0] 6-Methylionone. The fragrant principle of violets, best isolated from the rhizomes of iris or from orris oil: F. Tiemann, P. Kruger, *Ber.* 26, 2675 (1893); Ruzicka *et al., Helv. Chim. Acta* **16,** 1143 (1933); Naves, Mazuyer, *Les Parfums Naturels* (Paris, 1939). Irone, as isolated, is an isomeric mixture of α-, β, and γ-irones, *q.q.v.*, with each having the same molecular formula, $C_{14}H_{22}O$. Synthesis of isomeric mixture: Eschinazi, **US 3019265** (1962 to Givaudan).

Light yellow, slightly viscous liquid. Very stable, does not discolor. In dil alcoholic soln the characteristic odor of violets is best appreciated.

USE: In perfumery for orris and violet compositions.

5096. α-Irone. [79-69-6] 4-(2,5,6,6-Tetramethyl-2-cyclohexen-1-yl)-3-butene-2-one. $C_{14}H_{22}O$; mol wt 206.32. C 81.50%, H 10.75%, O 7.75%. Main perfume ingredient of violets.

110419

AA 8569987

REPUBLICA DE COLOMBIA

NOTARIA TREINTA Y TRES (33) DEL

CIRCULO DE BOGOTA D.C.

ESCRITURA PUBLICA N°. 2182

- - DOS MIL CIENTO OCHENTA Y DOS - -

FECHA DE OTORGAMIENTO: VEINTITRES (23), DE AGOSTO - - - - - - - - - - - -

DEL DOS MIL DOS (2002). -

ACTOS: **PODER GENERAL.** - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

OTORGADO POR: **LAFRANCOL S.A. SOCIEDAD DEBIDAMENTE REPRESENTADA POR JUAN MARIA RENDON GUTIERREZ.** - - - -

A: **TITO NOE PARRA MURILLO.** - - - - - - - - - - - - - - - -

EN LA CIUDAD DE BOGOTA, DISTRITO CAPITAL, DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA, REPUBLICA DE COLOMBIA, ANTE MI, **DIANA BEATRIZ LOPEZ NOTARIA TREINTA Y TRES (33)**, DE ESTE CIRCULO SE OTORGA LA ESCRITURA PUBLICA QUE SE CONSIGNA EN LOS SIGUIENTES TERMINOS.- - - - - -

COMPARECIERON: **JUAN MARIA RENDON GUTIERREZ**, mayor de edad, vecino de Bogotá, identificado con la cédula de ciudadanía número 17.125.100 de Bogotá, y manifestó: -

PRIMERO.- Que obra en su carácter de Representante Legal en nombre y representación de **LAFRANCOL S.A.**, sociedad comercial organizada y existente conforme a las leyes colombianas, con domicilio y sede principal en Cali, constituida mediante escritura pública número mil cuatrocientos treinta y cuatro (1434) de la Notaria Cuarta de Cali del veintinueve (29) de septiembre de mil novecientos cincuenta y ocho (1958), reformada en distintas oportunidades, según consta en el certificado expedido por la Cámara de Comercio de Cali.- - - -

SEGUNDO.- Que en tal carácter, por este público

ESTE PAPEL NO TIENE COSTO AL GUNO PARA EL USUARIO

instrumento, concede **PODER GENERAL**, amplio y suficiente a **TITO NOE PARRA MURILLO**, mayor de edad, soltero, vecino de Bogotá, identificado con la cédula de ciudadanía número 79.579.680 de Bogotá, abogado en ejercicio, portador de la T.P. No. 71168 del C.S.J., domiciliado en Bogotá D.C., República de Colombia, con dirección en Diagonal 107 # 36 - 45 de la misma ciudad, como su representante con poder general amplio y suficiente, para obtener la protección los derechos de propiedad industrial y de libre competencia de **LAFRANCOL S.A.**, a cuyo efecto lo autorizo, para que nos represente ante cualesquiera entidad o persona, ejerza o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contenciosos - administrativo y judicial, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: -

a) En cuanto a marcas, lemas, enseñas comerciales, depósito de nombres comerciales, diseños industriales y modelos de utilidad, patentes de invención y derechos de autor para que solicite su registro o depósito, lleve los procesos respectivos hasta su culminación, haga solicitudes, solicite traspasos, cesiones, modificaciones o correcciones, solicite prórrogas, preste caución, solicite renovaciones, inscriba afectaciones, acuerdo comercialización y licencias de uso, desista de solicitudes, presente derechos de petición, responda cualquier requerimiento o auto, presente recursos, presente demandas, intervenga en procesos administrativos y jurisdiccionales, asista audiencias, presente

AA 8569988

y solicite pruebas, conteste demandas, proteja en general los derechos y prioridades, formule observaciones, presente acciones de oposición, de cancelación, de nulidad, de medidas cautelares, y en general intervenga en procesos civiles, penales, administrativos o contenciosos - administrativos relacionados con estos derechos u otros de similar naturaleza, que promueva **LAFRANCOL S.A.**, o se promuevan contra esta;- - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

b) Para que en todos los asuntos arriba determinados, tanto en los términos señalados por los artículos 42 y complementarios de la Decisión 486 de la Comunidad Andina como del artículo 70 del C.P.C. y normas pertinentes del Código Contencioso Administrativo, pueda sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar y ratificar los actos de agentes oficiosos, de todos los asuntos antes mencionados que se deban tramitar ante la Superintendencia de Industria y Comercio, los Tribunales Contencioso Administrativos, Consejo de Estado y jurisdicción penal, civil o comercial. - - -

NOTA. Manifiesto que de la veracidad de las declaraciones y autenticidad de los documentos anexos en éste instrumento público sólo responde la parte compareciente. - - - - - - - - - - - - - - -

OTORGAMIENTO Y AUTORIZACION: Leído el presente

ESTE PAPEL NO TIENE COSTO ALGUNO PARA EL USUARIO

instrumento Público por el compareciente y advertido de la formalidad de su contenido, dentro del término legal, lo halló conforme con sus intenciones y lo aprobó en todas sus partes y firmó junto con la Suscrita Notaria quien da fe y lo autoriza. - - - - - - - - - - - - - Se utilizaron las hojas de papel Notarial Números. AA 8569987, 8569988.

DERECHOS NOTARIALES: $46.800.oo SEGUN RESOLUCION 4188 DEL 28 DE DICIEMBRE DEL 2001.

JUAN MARIA RENDON GUTIERREZ
C.C. N°.
TEL. N°.
LAFRANCOL S.A.
NIT.-

DIANA BEATRIZ LOPEZ
NOTARIA TREINTA Y TRES (33) DE BOGOTA D.C.

Es copia de su original que se expide conforme al artículo 79 del Decreto 960 de 1976 en 02 hojas útiles con destino a Interesado

DERECHOS: Dcto. 1772/79
Santafé de Bogotá D. C. 20 ENE. 2004

REPUBLICA DE COLOMBIA
33 ☆ ☆ 33
DIANA BEATRIZ LOPEZ
NOTARIA

EN JUNIO DE ESTE AÑO SE ELEGIRÁ JUNTA DIRECTIVA Y REVISOR FISCAL DE LA CAMARA DE COMERCIO. LAS INSCRIPCIONES DE CANDIDATOS DEBEN HACERSE EN LA PRIMERA QUINCENA DE MAYO. PARA INFORMACION DETALLADA DIRIGIRSE A LA SEDE PRINCIPAL O COMUNICARSE AL TELEFONO 8861321.

REPUBLICA DE COLOMBIA

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION
EL SUSCRITO SECRETARIO DE LA CAMARA DE COMERCIO DE CALI

CERTIFICA

NOMBRE:LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S.A.
SIGLA : LAFRANCOL S.A.
DOMICILIO: CALI VALLE
DIRECCION COMERCIAL :---K 1 46 84
DIRECCION NOTIFICACION JUDICIAL:---K 1 46 84
CIUDAD:CALI
MATRICULA MERCANTIL NRO. 5233-4 FECHA MATRICULA : 02 DE OCTUBRE DE 1958
DIRECCION ELECTRONICA : lafrancolsa@lafrancol.co
DIRECCION WEB : www.lafrancol.com
AFILIADO

CERTIFICA

NIT : 890301463-8

CERTIFICA

QUE POR ESCRITURA NRO. 1434 DEL 29 DE SEPTIEMBRE DE 1958 NOTARIA CUARTA DE CALI ,INSCRITA EN LA CAMARA DE COMERCIO EL 02 DE OCTUBRE DE 1958 BAJO EL NRO. 18319 DEL LIBRO IX ,SE CONSTITUYO LA SOCIEDAD DENOMINADA LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S.A.

CERTIFICA

QUE POR ESCRITURA NRO. 3672 DEL 24 DE AGOSTO DE 2009 NOTARIA TERCERA DE CALI ,INSCRITA EN LA CAMARA DE COMERCIO EL 27 DE AGOSTO DE 2009 BAJO EL NRO. 9876 DEL LIBRO IX ,LA SOCIEDAD CAMBIO SU NOMBRE DE LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S.A. . POR EL DE LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S.A. . SIGLA: LAFRANCOL S.A.

CERTIFICA

REFORMAS

DOCUMENTO	FECHA.DOC	ORIGEN	FECHA.INS	NRO.INS	LIBRO
E.P. 1104	30/06/1959	NOTARIA CUARTA DE CALI	07/07/1959	19467	
E.P. 2309	26/12/1959	NOTARIA CUARTA DE CALI	29/12/1959	20089	
E.P. 1725	24/07/1962	NOTARIA CUARTA DE CALI	26/07/1962	24528	
E.P. 1824	31/07/1963	NOTARIA CUARTA DE CALI	14/08/1963	26360	
E.P. 2422	25/10/1963	NOTARIA CUARTA DE CALI	28/10/1963	26717	
E.P. 1720	16/09/1964	NOTARIA CUARTA DE CALI	22/09/1964	28406	
E.P. 101	31/01/1966	NOTARIA CUARTA DE CALI	01/02/1966	31039	
E.P. 552	21/03/1968	NOTARIA CUARTA DE CALI	01/04/1968	35711	
E.P. 4964	12/12/1972	NOTARIA CUARTA DE CALI	16/01/1973	2975	IX
E.P. 1956	30/05/1973	NOTARIA CUARTA DE CALI	13/06/1973	4337	IX
E.P. 4964	12/12/1972	NOTARIA CUARTA DE CALI	28/11/1973	5994	IX
E.P. 5579	12/11/1973	NOTARIA CUARTA DE CALI	28/11/1973	5995	IX
E.P. 4406	30/09/1974	NOTARIA CUARTA DE CALI	28/11/1974	10887	IX
E.P. 192	03/02/1978	NOTARIA CUARTA DE CALI	14/02/1978	25355	IX
E.P. 3479	07/09/1979	NOTARIA CUARTA DE CALI	19/09/1979	34204	IX
E.P. 4274	12/12/1984	NOTARIA NOVENA DE CALI	19/12/1984	73088	IX
E.P. 1155	21/05/1985	NOTARIA SEPTIMA DE CALI	03/06/1985	76917	IX
E.P. 1553	20/06/1986	NOTARIA SEPTIMA DE CALI	08/07/1986	85997	IX
E.P. 1458	09/06/1987	NOTARIA SEPTIMA DE CALI	24/12/1987	3508	IX
E.P. 7222	14/12/1988	NOTARIA TERCERA DE CALI	19/12/1988	13847	IX
E.P. 4530	04/09/1989	NOTARIA TERCERA DE CALI	07/09/1989	21508	IX
E.P. 3865	02/08/1990	NOTARIA TERCERA DE CALI	13/08/1990	31708	IX
E.P. 8305	13/12/1995	NOTARIA TERCERA DE CALI	23/01/1996	557	IX

2655-2
ASSENDA S.A. NIT.890.321.151-0

E.P. 4559	16/11/1999	NOTARIA TERCERA DE CALI	26/11/1999 7911	IX
E.P. 6.004	02/12/2004	NOTARIA TERCERA DE CALI	14/12/2004 13371	IX
E.P. 6241	27/12/2006	NOTARIA TERCERA DE CALI	19/01/2007 625	IX
E.P. 389	07/02/2008	NOTARIA TERCERA DE CALI	19/02/2008 1880	IX
E.P. 1907	11/05/2009	NOTARIA TERCERA DE CALI	26/05/2009 5950	IX
E.P. 3672	24/08/2009	NOTARIA TERCERA DE CALI	27/08/2009 9876	IX

CERTIFICA

VIGENCIA: 29 DE SEPTIEMBRE DEL AÑO 2057

CERTIFICA

OBJETO. LA COMPAÑÍA SE CONSTITUYE CON EL OBJETO DE: A) FABRICACIÓN, DISTRIBUCIÓN Y VENTA EN EL TERRITORIO DE LA REPÚBLICA DE COLOMBIA O EN EL EXTRANJERO DE CUALESQUIERA TIPOS DE VACUNAS, PRODUCTOS QUÍMICOS, FARMACÉUTICOS, ALIMENTICIOS FUNCIONALES, COSMÉTICOS Y FISIOLÓGICOS, REACTIVOS, ANTIBIÓTICOS PARA USO HUMANO Y VETERINARIO, PRODUCTOS DIETÉTICOS, COLORANTES, DE PERFUMERÍA, DISPOSITIVOS MÉDICOS Y AFINES. B) LA REPRESENTACIÓN DE CASAS FABRICANTES NACIONALES O EXTRANJERAS DE ESTOS MISMOS PRODUCTOS. C) FABRICACIÓN, IMPORTACIÓN, DISTRIBUCIÓN Y VENTA DE CUALESQUIERA TIPO DE PRODUCTOS VETERINARIOS. D) LA REALIZACIÓN DE TODOS LOS ACTOS, CONTRATOS, CONVENIOS, DIRECTAMENTE RELACIONADOS CON LOS FINES ANTES INDICADOS. E) IMPORTAR CUALESQUIERA TIPOS DE VACUNAS, PRODUCTOS QUÍMICOS, FARMACÉUTICOS, ALIMENTICIOS FUNCIONALES, COSMÉTICOS Y FISIOLÓGICOS, REACTIVOS, ANTIBIÓTICOS PARA USO HUMANO Y VETERINARIO, PRODUCTOS DIETÉTICOS, COLORANTES, DE PERFUMERÍA, DISPOSITIVOS MÉDICOS Y AFINES Y/O PRODUCTOS INTERMEDIOS O A GRANEL. EN DESARROLLO DE SU OBJETO SOCIAL PODRÁ LA SOCIEDAD ADQUIRIR Y VENDER BIENES RAÍCES Y MUEBLES, DARLOS Y TOMARLOS EN ARRENDAMIENTO, GARANTIZAR CON HIPOTECA SOBRE LOS BIENES RAÍCES O CON PRENDA SOBRE LOS BIENES MUEBLES, OBLIGACIONES A CARGO DE LA SOCIEDAD; DAR Y RECIBIR A MUTUO COMERCIAL DINERO Y CELEBRAR LOS CONTRATOS COMERCIALES DE CAMBIO EN TODAS SUS MANIFESTACIONES, FUNDAR EMPRESAS QUE TENGAN LA MISMA FINALIDAD SOCIAL O ASOCIARSE CON ELLAS.

CERTIFICA

LA SOCIEDAD TIENE LOS SIGUIENTES ÓRGANOS PRINCIPALES 1) ASAMBLEA GENERAL DE ACCIONISTAS. 2) JUNTA DIRECTIVA. 3) REPRESENTANTES LEGALES.

FUNCIONES DE LA ASAMBLEA GENERAL, ENTRE OTRAS: A) DECLARAR ORDINARIA O EXTRAORDINARIAMENTE DISUELTA Y EN ESTADO DE LIQUIDACIÓN A LA SOCIEDAD; B) AUTORIZAR LA VENTA, TRANSFERENCIA, ACTOS DISPOSITIVOS, DE ADMINISTRACIÓN, O ARRIENDO, HIPOTECAR, GRAVAR, TOTAL O PARCIALMENTE LOS BIENES QUE COMPONEN SU PATRIMONIO; C) DECRETAR EL AUMENTO DE CAPITAL AUTORIZADO; D) DECRETAR LA PRÓRROGA DEL TÉRMINO DE DURACIÓN DE LA SOCIEDAD; E) REMOVER EN CUALQUIER MOMENTO AL PRESIDENTE EJECUTIVO, A LOS MIEMBROS DE LA JUNTA DIRECTIVA O AL REVISOR FISCAL, Y SUS RESPECTIVOS SUPLENTES; F) REALIZAR CUALQUIER MODIFICACIÓN ESTATUTARIA; G) DISPONER LA ESCISIÓN, FUSIÓN O TRANSFORMACIÓN DE LA SOCIEDAD; H) NOMBRAR A LOS MIEMBROS DE LA JUNTA DIRECTIVA Y EL REVISOR FISCAL DE LA SOCIEDAD Y SUS RESPECTIVOS SUPLENTES; N) DELEGAR EN LA JUNTA DIRECTIVA, CUANDO LO ESTIME OPORTUNO, ALGUNA O ALGUNAS DE SUS FUNCIONES CUYA DELEGACIÓN NO ESTÉ PROHIBIDA POR LA LEY O POR LOS ESTATUTOS, PERO, NO SON DELEGABLES LAS COMPRENDIDAS EN EL PRIMER LITERAL DE ESTE ARTÍCULO; O) LAS QUE NATURALMENTE LE CORRESPONDAN COMO SUPREMA ENTIDAD DIRECTIVA DE LA SOCIEDAD; S) NOMBRAR Y REMOVER EL LIQUIDADOR DE LA SOCIEDAD Y SU SUPLENTE, FIJAR SU REMUNERACIÓN Y CONSIDERAR, APROBAR O IMPROBAR SUS CUENTAS; T) ADOPTAR TODAS LAS MEDIDAS QUE RECLAMEN EL CUMPLIMIENTO DE LOS ESTATUTOS Y EL INTERÉS DE LOS ACCIONISTAS Y DE LA SOCIEDAD.

LA JUNTA DIRECTIVA SE COMPONE DE TRES (3) MIEMBROS QUE SERÁN ELEGIDOS POR LA ASAMBLEA GENERAL DE ACCIONISTAS. SUS SUPLENTES SERÁN PERSONALES.

FUNCIONES DE LA JUNTA DIRECTIVA, ENTRE OTRAS: B) CREAR LOS CARGOS QUE JUZGUE NECESARIOS PARA LA BUENA MARCHA DE LA EMPRESA, SEÑALAR SUS FUNCIONES, FIJAR SUS ASIGNACIONES O LA FORMA DE RETRIBUCIÓN, NOMBRAR Y REMOVER LIBREMENTE A LOS EMPLEADOS DE LA SOCIEDAD, EXCEPTO AQUÉLLOS CUYO NOMBRAMIENTO O REMOCIÓN CORRESPONDA A LA ASAMBLEA GENERAL DE ACCIONISTA A LAS PERSONAS QUE DEBEN CORRESPONDERLOS O LOS DESEMPEÑEN. C) NOMBRAR, REMOVER Y FIJAR ASIGNACIONES AL PRESIDENTE EJECUTIVO, VICEPRESIDENTES Y ADMINISTRADORES QUE REPORTEN DIRECTAMENTE A LA PRESIDENCIA EJECUTIVA H) AUTORIZAR POR VÍA GENERAL,

2655-2
RSEGNDA S.A. NIT.890.321.151-0

LIBERALIDADES, BENEFICIOS O PRESTACIONES DE CARÁCTER EXTRALEGAL A FAVOR DEL PERSONAL DE LA SOCIEDAD. J) AUTORIZAR AL PRESIDENTE EJECUTIVO, PARA QUE SOLICITE, DE ACUERDO CON LA LEY VIGENTE, LLEGADO EL CASO, QUE SE ADMITA A LA COMPAÑÍA EN LA CELEBRACIÓN DÉ CONCORDATO PREVENTIVO CON SUS ACREEDORES, O REESTRUCTURACIÓN EMPRESARIAL. Q) CREAR LOS COMITÉS QUE ESTIME CONVENIENTES PARA ASESORAR AL PRESIDENTE EJECUTIVO Y REPRESENTANTES LEGALES DE LA SOCIEDAD EN DETERMINADOS ASUNTOS, FIJARLES SUS FUNCIONES Y SEÑALAR LA REMUNERACIÓN DE SUS MIEMBROS; R) AUTORIZAR AL TERCER REPRESENTANTE LEGAL QUE ES EL PRESIDENTE EJECUTIVO, AL CUARTO Y QUINTO REPRESENTANTES LEGALES PARA COMPROMETER A LA SOCIEDAD O A LOS NEGOCIOS SOCIALES EN CUANTÍA SUPERIOR A SEIS MIL SALARIOS MÍNIMOS MENSUALES LEGALES VIGENTES (6,000 SMMLV) PARA CELEBRAR CONTRATOS COMERCIALES DE COMPRAVENTA CON LA NACIÓN (MINISTERIOS Y DEPARTAMENTOS ADMINISTRATIVOS), ENTIDADES DESCENTRALIZADAS (ESTABLECIMIENTOS PÚBLICOS, EMPRESAS INDUSTRIALES Y COMERCIALES DEL ESTADO, SOCIEDADES DE ECONOMÍA MIXTA), EMPRESAS SOCIALES CIVILES Y COMERCIALES, CUALQUIERA QUE SEA SU NATURALEZA CON FACULTADES PARA EXIGIR O SUSCRIBIR LOS DOCUMENTOS Y GARANTÍAS NECESARIOS HASTA LA CUANTÍA ANTES MENCIONADA Y REPRESENTAR A LA COMPAÑÍA EN CUALQUIER TRÁMITE O PROCESO JUDICIAL QUE SE ADELANTE ANTE LAS JURISDICCIONES CIVIL, LABORAL, COMERCIAL, PENAL Y CONTENCIOSO ADMINISTRATIVA EN CALIDAD DE DEMANDANTES O DEMANDADOS Y CUALQUIER OTRO TRÁMITE EN EL QUE SE REQUIERA REPRESENTAR A LA COMPAÑÍA ANTE ENTIDADES Y ORGANISMOS DEL ESTADO DE CUALQUIER ORDEN O ENTIDADES DE NATURALEZA PRIVADA. S) AUTORIZAR AL TERCER Y CUARTO REPRESENTANTE LEGAL PARA ADQUIRIR ACTIVOS FIJOS SUPERIOR A DOSCIENTOS UNO SALARIOS MÍNIMOS MENSUALES LEGALES VIGENTES (201 SMMLV), CRÉDITOS CON ENTIDADES FINANCIERAS SUPERIORES A UN MILLÓN QUINIENTOS MIL DÓLARES AMERICANOS (US$1.500.0000) Y DEFINIR LAS ATRIBUCIONES AL TERCER Y CUARTO REPRESENTANTE LEGAL CORRESPONDIENTE A OTRAS COMPRAS POR CONCEPTO DE ASESORÍAS Y GASTOS DIFERENTES A LOS ANTERIORES. T) AUTORIZAR AL TERCER Y CUARTO REPRESENTANTE LEGAL DE LA COMPAÑÍA PARA QUE CELEBREN CONTRATOS DE SOCIEDAD O PARTICIPEN EN OTRAS COMPAÑÍAS COMERCIALES. U) AUTORIZAR AL TERCER Y CUARTO REPRESENTANTE LEGAL PARA QUE SUSCRIBAN TODA CLASE DE DOCUMENTOS PÚBLICOS O PRIVADOS Y CON EL PROPÓSITO DE INSTRUMENTAR CUALQUIER TIPO DE ACTOS, NEGOCIOS JURÍDICOS, OPERACIONES DE CUALQUIER ÍNDOLE, Y SIEMPRE Y CUANDO SUPERE LA CUANTÍA PREVISTA PARA LA REALIZACIÓN DE ACTOS POR PARTE DEL REPRESENTANTE LEGAL DE LA COMPAÑÍA. W) AUTORIZAR LA CONSTITUCIÓN O SUPRESIÓN DE SUCURSALES O AGENCIAS. BB) AUTORIZAR LA NOVACIÓN O CUALQUIER FORMA EXTINTIVA DE OBLIGACIONES. CC)AUTORIZAR LA ENAJENACIÓN A CUALQUIER TITULO RELACIONADA CON MAQUINARIA INDUSTRIAL, TERRENOS, EDIFICIOS E INTANGIBLES Y APROBAR DONACIONES. IGUALMENTE AUTORIZARÁ LA CONSTITUCIÓN DE GARANTÍAS HIPOTECARIAS, PRENDARIAS O DE CUALQUIER OTRA ÍNDOLE SOBRE DICHOS ACTIVOS.

EL PRESIDENTE EJECUTIVO, TERCER REPRESENTANTE LEGAL DE LA COMPAÑÍA, PRESTARÁ SU ASESORÍA PERMANENTE A LA JUNTA DIRECTIVA CON LAS SIGUIENTES FUNCIONES: A) FIRMAR LAS CONVOCATORIAS DE LA ASAMBLEA GENERAL Y DE LA JUNTA DIRECTIVA. B) VIGILAR LA EJECUCIÓN DE LOS ACUERDOS ADOPTADOS, SIN PERJUICIO DEL CUMPLIMIENTO DE ESTA MISMA FUNCIÓN POR PARTE DEL PRESIDENTE O EL SECRETARIO DE LA JUNTA DIRECTIVA DE LA COMPAÑÍA. C) PROPONER LA CREACIÓN DE LOS ÓRGANOS ASESORES QUE ESTIME OPORTUNOS, INFORMANDO DE ELLO A LA JUNTA DIRECTIVA PARA SU APROBACIÓN POR ÉSTA. D) RENDIR ANUALMENTE INFORME DE SU ACTUACIÓN ANTE LA ASAMBLEA GENERAL Y SOMETER A APROBACIÓN LO CORRESPONDIENTE A LA JUNTA DIRECTIVA.

REPRESENTACIÓN LEGAL

LA ADMINISTRACIÓN DE LA SOCIEDAD ESTA A CARGO DE LOS ACCIONISTAS, QUIENES LA DELEGAN EN EL PRESIDENTE EJECUTIVO, TERCER REPRESENTANTE LEGAL DE LA COMPAÑÍA, ASÍ COMO LA GESTIÓN Y EJECUCIÓN DE LOS NEGOCIOS Y ASUNTOS SOCIALES. EL PRESIDENTE EJECUTIVO DE LA SOCIEDAD, SERÁ DESIGNADO POR LA JUNTA DIRECTIVA PARA PERÍODOS DE UN (1) AÑO, SIN PERJUICIO DE SU LIBRE REMOCIÓN Y REELECCIÓN INDEFINIDA.

EL PRESIDENTE Y VICEPRESIDENTE DE LA JUNTA DIRECTIVA, SERÁN TAMBIÉN REPRESENTANTES LEGALES PRIMERO Y SEGUNDO DE LA SOCIEDAD. LAS ATRIBUCIONES INHERENTES A LA CALIDAD DE REPRESENTANTES LEGALES, Y EN ESPECIAL LAS DISPOSITIVAS, SERÁN EJERCIDAS SIN LIMITACIONES ESTABLECIDAS EN ÉSTOS ESTATUTOS.

EL CUARTO Y QUINTO REPRESENTANTE LEGAL, SERÁN REPRESENTANTES LEGALES DE LA SOCIEDAD QUIENES SON ELEGIDOS POR LA JUNTA DIRECTIVA CON SUS LIMITACIONES EN SUS FUNCIONES.
LAS ATRIBUCIONES INHERENTES A LA CALIDAD DEL CUARTO REPRESENTANTE LEGAL, Y EN ESPECIAL

LAS DISPOSITIVAS, SERÁN EJERCIDAS CON SUJECIÓN A LAS LIMITACIONES ESTABLECIDAS EN ÉSTOS ESTATUTOS PARA EL PRESIDENTE EJECUTIVO QUIEN ES EL TERCER REPRESENTANTE LEGAL. EXISTIRÁ UN QUINTO REPRESENTANTE LEGAL DE LA SOCIEDAD QUÉ TENDRÁ LIMITACIÓN EN SUS FUNCIONES CUANDO SE TRATE DE COMPROMETER A LA SOCIEDAD O A LOS NEGOCIOS SOCIALES EN CUANTÍA NO SUPERIOR A SEIS MIL SALARIOS MÍNIMOS MENSUALES LEGALES VIGENTES (6,000 SMMLV) PARA CELEBRAR CONTRATOS COMERCIALES DE COMPRAVENTA CON LA NACIÓN (MINISTERIOS Y DEPARTAMENTOS ADMINISTRATIVOS), ENTIDADES DESCENTRALIZADAS (ESTABLECIMIENTOS PÚBLICOS, EMPRESAS INDUSTRIALES Y COMERCIALES DEL ESTADO, SOCIEDADES DE ECONOMÍA MIXTA), EMPRESAS SOCIALES CIVILES Y COMERCIALES, CUALQUIERA QUE SEA SU NATURALEZA CON FACULTADES PARA EXIGIR O SUSCRIBIR LOS DOCUMENTOS Y GARANTÍAS NECESARIOS HASTA LA CUANTÍA ANTES MENCIONADA Y REPRESENTAR A LA COMPAÑÍA EN CUALQUIER TRÁMITE O PROCESO JUDICIAL QUE SE ADELANTE ANTE LAS JURISDICCIONES CIVIL, LABORAL, COMERCIAL, PENAL Y CONTENCIOSO ADMINISTRATIVA EN CALIDAD DE DEMANDANTES O DEMANDADOS Y CUALQUIER OTRO TRÁMITE EN EL QUE SE REQUIERA REPRESENTAR A LA COMPAÑÍA ANTE ENTIDADES Y ORGANISMOS DEL ESTADO DE CUALQUIER ORDEN O ENTIDADES DE NATURALEZA PRIVADA.

FUNCIONES DEL PRESIDENTE EJECUTIVO: EL PRESIDENTE EJECUTIVO DE LA SOCIEDAD ES UN MANDATARIO CON REPRESENTACIÓN, INVESTIDO DE FACULTADES EJECUTIVAS Y ADMINISTRATIVAS, Y COMO TAL, TIENE A SU CARGO LA TERCERA REPRESENTACIÓN LEGAL, LA GESTIÓN COMERCIAL Y FINANCIERA, LA RESPONSABILIDAD DE LA ACCIÓN ADMINISTRATIVA, LA COORDINACIÓN Y SUPERVISIÓN GENERAL DE LA EMPRESA, LAS CUALES CUMPLIRÁ CON ARREGLO A LAS NORMAS DE ESTOS ESTATUTOS Y LAS DISPOSICIONES LEGALES, Y CON SUJECIÓN A LAS ORDENES E INSTRUCCIONES DE LA JUNTA DIRECTIVA.

ADEMÁS DE LAS FUNCIONES ANTES INDICADAS, CORRESPONDE AL PRESIDENTE EJECUTIVO DE LA SOCIEDAD: A) COMPROMETER A LA SOCIEDAD O A LOS NEGOCIOS SOCIALES EN CUANTÍA NO SUPERIOR A SEIS MIL SALARIOS MÍNIMOS MENSUALES LEGALES VIGENTES (6,000 SMMLV) PARA CELEBRAR CONTRATOS COMERCIALES DE COMPRAVENTA CON LA NACIÓN (MINISTERIOS Y DEPARTAMENTOS ADMINISTRATIVOS), ENTIDADES DESCENTRALIZADAS (ESTABLECIMIENTOS PÚBLICOS, EMPRESAS INDUSTRIALES Y COMERCIALES DEL ESTADO, SOCIEDADES DE ECONOMÍA MIXTA), EMPRESAS SOCIALES CIVILES Y COMERCIALES, CUALQUIERA QUE SEA SU NATURALEZA CON FACULTADES PARA EXIGIR O SUSCRIBIR LOS DOCUMENTOS Y GARANTÍAS NECESARIOS HASTA LA CUANTÍA ANTES MENCIONADA Y REPRESENTAR A LA COMPAÑÍA EN CUALQUIER TRÁMITE O PROCESO JUDICIAL QUE SE ADELANTE ANTE LAS JURISDICCIONES CIVIL, LABORAL, COMERCIAL, PENAL Y CONTENCIOSO ADMINISTRATIVA EN CALIDAD DE DEMANDANTES O DEMANDADOS Y CUALQUIER OTRO TRÁMITE EN EL QUE SE REQUIERA REPRESENTAR A LA COMPAÑÍA ANTE ENTIDADES Y ORGANISMOS DEL ESTADO DE CUALQUIER ORDEN O ENTIDADES DE NATURALEZA PRIVADA; ADQUISICIÓN DE ACTIVOS FIJOS NO SUPERIOR A DOSCIENTOS UNO SALARIOS MÍNIMOS MENSUALES LEGALES VIGENTES (201 SMMLV); OBTENER CRÉDITOS CON ENTIDADES FINANCIERAS NO SUPERIORES A UN MILLÓN QUINIENTOS MIL DÓLARES AMERICANOS (US$1.500.0000) Y CONTRATAR OTRAS COMPRAS POR CONCEPTO DE ASESORÍAS Y GASTOS DIFERENTES A LOS ANTERIORES PREVIA APROBACIÓN DE LA JUNTA DIRECTIVA. B) CUMPLIR Y HACER CUMPLIR LAS DECISIONES DE LA ASAMBLEA GENERAL DE ACCIONISTAS Y DE LA JUNTA DIRECTIVA Y HACER USO DE LA RAZÓN SOCIAL. C)... D)... E)... F)... G) COMPARECER EN LOS JUICIOS, TRANSIGIR Y COMPROMETER LOS NEGOCIOS SOCIALES DE CUALESQUIERA NATURALEZA QUE FUEREN, INTERPONER TODO GÉNERO DE RECURSOS Y CONSTITUIR APODERADOS QUE LO REPRESENTEN JUDICIAL O EXTRAJUDICIALMENTE. I) HACER DEPÓSITOS EN BANCOS Y AGENCIAS BANCARIAS, FIRMAR CHEQUES, LETRAS, PAGARÉS, GIROS, LIBRANZAS Y CUALQUIER OTRO DOCUMENTO, ASÍ COMO NEGOCIAR ESTOS INSTRUMENTOS, TENERLOS, COBRARLOS Y PAGARLOS, DESCARGARLOS, ETC. J)... K)... L) SUSCRIBIR TODA CLASE DE DOCUMENTOS PÚBLICOS O PRIVADOS, CUANDO LA JUNTA DIRECTIVA LO AUTORICE Y CON EL PROPÓSITO DE INSTRUMENTAR CUALQUIER TIPO DE ACTOS, NEGOCIOS JURÍDICOS, OPERACIONES DE CUALQUIER ÍNDOLE, Y SIEMPRE Y CUANDO NO SUPERE LA CUANTÍA PREVISTA EN ESTOS ESTATUTOS COMO LÍMITE DEL EJERCICIO DE SUS FUNCIONES, Y POR ENCIMA DE LA CUAL REQUIERE AUTORIZACIÓN DE LA JUNTA DIRECTIVA. M) PODRÁ EJERCER LA REPRESENTACIÓN LEGAL, SIN PERJUICIO DE LA MISMA FUNCIÓN ASIGNADA A LOS OTROS REPRESENTANTES LEGALES PARA OTORGAR PODERES A TERCEROS, NOMBRAR ABOGADOS Y PROCURADORES, INTERPONER RECLAMACIONES EN LA VÍA GUBERNATIVA, ANTE TRIBUNALES, JURISDICCIONES ORDINARIAS, LABORALES Y ESPECIALES, REPRESENTAR A LA SOCIEDAD ANTE ADMINISTRACIONES O HACIENDAS PÚBLICAS, PRIVADAS, NACIONALES, INTERNACIONALES Y AUTONÓMICAS, CONCURRIR A TODA CLASE DE SUBASTAS, CONCURSOS O SUMINISTROS OFICIALES O PARTICULARES, PUDIENDO POR TANTO REDACTAR, SUSCRIBIR, PRESENTAR Y, EN SU CASO, MEJORAR EN LICITACIÓN VERBAL O ESCRITA LAS OFERTAS O PROPOSICIONES PERTINENTES, ACEPTAR DONACIONES PARA LA SOCIEDAD Y ACEPTAR CON BENEFICIO DE INVENTARIO, LEGADOS, EJERCITAR ACCIONES O PONER EXCEPCIONES, PARA ACTUAR EN CALIDAD DE DEMANDANTE, DEMANDADO O TERCERO INTERVINIENTE. N) ORDENAR LOS

2655-2
© ASSEDNA S.A. NIT. 890.321.151-0

PAGOS A REALIZAR POR LA SOCIEDAD PARA QUE EL TESORERO O QUIEN HAGA SUS VECES, EXPIDA LAS ÓRDENES DE PAGO USANDO EL MEDIO MÁS EXPEDITO PARA CONTAR CON LA CELERIDAD QUE LOS NEGOCIOS SOCIALES EXIGEN; TODO ELLO DENTRO DE LAS LIMITACIONES ESTABLECIDAS EN ESTOS ESTATUTOS.

LA DESIGNACIÓN DEL REVISOR FISCAL Y SU RESPECTIVO SUPLENTE CORRESPONDE A LA ASAMBLEA GENERAL DE ACCIONISTAS Y SERÁ ELEGIDO POR LA MAYORÍA ABSOLUTA DE LOS ACCIONISTAS PRESENTES.

CERTIFICA

DOCUMENTO: ACTA No. 152 DEL 31 DE AGOSTO DE 2009
ORIGEN: JUNTA DIRECTIVA
INSCRIPCION: 01 DE SEPTIEMBRE DE 2009 No. 10031 DEL LIBRO IX

FUE(RON) NOMBRADO(S):

PRESIDENTE DE LA JUNTA DIRECTIVA Y REPRESENTANTE LEGAL
ESTHER ISABEL VENTURA DE RENDON
C.C.38979831

VICEPRESIDENTE DE LA JUNTA DIRECTIVA Y SEGUNDO REPRESENTANTE LEGAL
JUAN MARIA RENDON GUTIERREZ
C.C.17125100

PRESIDENTE EJECUTIVO - TERCER REPRESENTANTE LEGAL
JUAN CAMILO PALACIO RAMIREZ
C.C.19455622

CUARTO REPRESENTANTE LEGAL
ROBERTO MAURICE VENTURA CRISPINO
C.C.9086003

QUINTO REPRESENTANTE LEGAL
JUAN PABLO REYES VILLAMIZAR
C.C.80419709

CERTIFICA

DOCUMENTO: ACTA No. 115 DEL 31 DE AGOSTO DE 2009
ORIGEN: ASAMBLEA GENERAL
INSCRIPCION: 28 DE SEPTIEMBRE DE 2009 No. 11151 DEL LIBRO IX

FUE(RON) NOMBRADO(S)

JUNTA DIRECTIVA

PRINCIPALES

PRIMER RENGLON
ESTHER ISABEL VENTURA DE RENDON
C.C.38979831

SEGUNDO RENGLON
JUAN MARIA RENDON GUTIERREZ
C.C.17125100

TERCER RENGLON
JUAN PABLO REYES VILLAMIZAR

C.C.80419709

SUPLENTES

PRIMER RENGLON
ADRIANA RENDON DE ANTORCHA
C.C.66901857

SEGUNDO RENGLON
JUAN MANUEL RENDON VENTURA
C.C.79939921

TERCER RENGLON
CARLOS ANTONIO ESPINOSA PEREZ
C.C.16684716

CERTIFICA

DOCUMENTO: ACTA No. 99 DEL 14 DE MARZO DE 2002
ORIGEN: ASAMBLEA GENERAL DE ACCIONISTAS
INSCRIPCION: 09 DE SEPTIEMBRE DE 2002 No. 14675 DEL LIBRO IX

FUE(RON) NOMBRADO(S):

REVISOR FISCAL
ALFREDO LOPEZ & CIA. LTDA
NIT.800026893-5

CERTIFICA

DOCUMENTO: DOCUMENTO PRIVADO DEL 08 DE MAYO DE 2008
ORIGEN: ALFREDO LOPEZ & CIA LTDA
INSCRIPCION: 23 DE MAYO DE 2008 No. 5771 DEL LIBRO IX

FUE(RON) NOMBRADO(S):

REVISOR FISCAL PRINCIPAL
ALFREDO LOPEZ CAMPO
C.C.8241912

REVISOR FISCAL SUPLENTE
ANDERSON DAVID RODRIGUEZ REYES
C.C.16916373

CERTIFICA

CAPITAL AUTORIZADO: $20,000,000,000
NUMERO DE ACCIONES: 2,000,000,000
VALOR NOMINAL: $10
CAPITAL SUSCRITO: $10,000,000,000
NUMERO DE ACCIONES: 1,000,000,000
VALOR NOMINAL: $10
CAPITAL PAGADO: $10,000,000,000
NUMERO DE ACCIONES: 1,000,000,000
VALOR NOMINAL: $10

CERTIFICA

DOCUMENTO: DOCUMENTO PRIVADO DEL 03 DE DICIEMBRE DE 2009

2655-2
RSSENDA S.A. NIT.890.321.151-0

INSCRIPCIÓN: 28 DE DICIEMBRE DE 2009 BAJO EL NRO. 14869 DEL LIBRO IX

CONSTA LA SITUACIÓN DE CONTROL:

CONTROLANTE: DORAL INVESTMENTS INTERNATIONAL INC
DOMICILIO: ISLAS VIRGENES BRITÁNICAS
ACTIVIDAD: OTRAS ACTIVIDADES EMPRESARIALES

CONTROLADA: LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S.A.
NIT: 890301463-8
DOMICILIO: CALI VALLE
NACIONALIDAD: COLOMBIANA
ACTIVIDAD: LA FABRICACIÓN, DISTRIBUCIÓN Y VENTA EN EL TERRITORIO DE LA REPÚBLICA DE COLOMBIA O EN EL EXTRANJERO DE CUALESQUIERA TIPOS DE VACUNAS, PRODUCTOS QUÍMICOS, FARMACÉUTICOS, ALIMENTOS FUNCIONALES, COSMÉTICOS Y FISIOLÓGICOS, REACTIVOS, ANTIBIÓTICOS PARA USO HUMANO Y VETERINARIO, PRODUCTOS DIETETICOS, COLORANTES DE PERFUMERÍA Y AFINES.
PRESUPUESTO DE CONTROL: POSEE PARTICIPACIÓN ACCIONARIA MAYOR AL 50% A PARTIR DEL 10 DE NOVIEMBRE DE 2009.

CERTIFICA

DOCUMENTO: DOCUMENTO PRIVADO DEL 30 DE ABRIL DE 2004
INSCRIPCION: 03 DE MAYO DE 2004 No. 4859 DEL LIBRO IX

DOCUMENTO: DOCUMENTO PRIVADO DEL 29 DE ABRIL DE 2005
INSCRIPCION: 06 DE MAYO DE 2005 No. 4983 DEL LIBRO IX

DOCUMENTO: DOCUMENTO PRIVADO DEL 15 DE JUNIO DE 2006
INSCRIPCION: 21 DE JUNIO DE 2006 No. 7526 DEL LIBRO IX

DOCUMENTO: DOCUMENTO PRIVADO DEL 01 DE NOVIEMBRE DE 2006
INSCRIPCION: 28 DE NOVIEMBRE DE 2006 No. 13380 DEL LIBRO IX

DOCUMENTO: DOCUMENTO PRIVADO DEL 19 DE DICIEMBRE DE 2006
INSCRIPCION: 21 DE DICIEMBRE DE 2006 No. 14301 DEL LIBRO IX

DOCUMENTO: DOCUMENTO PRIVADO DEL 19 DE DICIEMBRE DE 2007
INSCRIPCION: 21 DE DICIEMBRE DE 2007 No. 13604 DEL LIBRO IX

DOCUMENTO: DOCUMENTO PRIVADO DEL 19 DE OCTUBRE DE 2009
INSCRIPCION: 22 DE OCTUBRE DE 2009 No. 12216 DEL LIBRO IX

DOCUMENTO: DOCUMENTO PRIVADO DEL 23 DE FEBRERO DE 2010
INSCRIPCION: 25 DE FEBRERO DE 2010 No. 2203 DEL LIBRO IX

CONSTA EL SIGUIENTE GRUPO EMPRESARIAL:

CONTROLANTE
LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S.A.
NIT. 890301463-8
DOMICILIO:CALI VALLE
NACIONALIDAD:COLOMBIA
ACTIVIDAD:A) LA FABRICACION, DISTRIBUCIÓN Y VENTA EN EL TERRITORIO DE LA REPÚBLICA DE COLOMBIA O EN EL EXTRANJERO DE CUALESQUIERA TIPOS DE VACUNAS, PRODUCTOS QUÍMICOS, FARMACÉUTICOS, ALIMENTOS FUNCIONALES, COSMÉTICOS Y FISIOLÓGICOS, REACTIVOS, ANTIBIÓTICOS PARA USO HUMANO Y VETERINARIO, PRODUCTOS DIETÉTICOS, COLORANTES DE PERFUMERIA Y AFINES. B) LA REPRESENTACIÓN DE CASAS FABRICANTES NACIONALES O EXTRANJERAS DE ESTOS MISMOS PRODUCTOS. C) FABRICACION, IMPORTACIÓN, DISTRIBUCIÓN Y VENTA DE CUALESQUIERA TIPOS DE PRODUCTOS VETERINARIOS. D) LA REALIZACIÓN DE TODOS LOS ACTOS, CONTRATOS, CONVENIOS, DIRECTAMENTE RELACIONADOS CON LOS FINES ANTES INDICADOS. EN DESARROLLO DE SU OBJETO SOCIAL PUEDE LA SOCIEDAD ADQUIRIR Y VENDER BIENES RAÍCES Y MUEBLES, DARLOS Y TOMARLOS EN ARRENDAMIENTO, GARANTIZAR CON HIPOTECA SOBRE LOS BIENES RAÍCES O CON PRENDA SOBRE LOS BIENES MUEBLES, OBLIGACIONES A CARGO DE LA SOCIEDAD, DAR Y RECIBIR A MUTUO COMERCIAL DINERO Y CELEBRAR LOS CONTRATOS COMERCIALES DE CAMBIO EN

2655-2
© ASSENDA S.A. NIT. 890.321.151-0

TODAS SUS MANIFESTACIONES, FUNDAR EMPRESAS QUE TENGAN LA MISMA FINALIDAD SOCIAL O ASOCIARSE CON ELLAS.

SUBORDINADA
AMERICAN GENERICS S A
NIT. 800223214-9
DOMICILIO:CALI VALLE
NACIONALIDAD:COLOMBIA
PRESUPUESTO DE CONTROL:NUMERAL 3, ARTÍCULO 27 DE LA LEY 222.
ACTIVIDAD:DISTRIBUCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS DE USO HUMANO.

SUBORDINADA
LAFRANCOL INTERNACIONAL S.A.
NIT. 815003912
DOMICILIO:PALMIRA VALLE
NACIONALIDAD:COLOMBIA
PRESUPUESTO DE CONTROL:LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S.A. POSEE EL 40% Y LABORATORIOS PAULY PHARMACEUTICAL S.A. POSEE EL 40% Y AMERICAN GENERICS S.A POSEE EL 19.97%
ACTIVIDAD:REALIZACIÓN DE ACTIVIDADES DESDE LA ZONA FRANCA, LAS CUALES CONSISTEN EN LA PRESTACIÓN DE TODO TIPO DE SERVICIOS ASÍ COMO DISTRIBUIR, VENDER, COMPRAR, IMPORTAR, EXPORTAR Y ALMACENAR TODO TIPO DE MATERIAS PRIMAS, PRODUCTOS TERMINADOS Y SEMITERMINADOS RELACIONADOS CON LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS, COSMÉTICA Y FARMACÉUTICA.

SUBORDINADA
LAFRANCOL PERÚ S.A
DOMICILIO:LIMA LIMA
NACIONALIDAD:PERU
PRESUPUESTO DE CONTROL:LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S.A. POSEE EL 93.0%
ACTIVIDAD:DISTRIBUCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE PRODUCTOS FARMACEUTICOS DE USO HUMANO.

SUBORDINADA
LABORATORIOS PAULY PHARMACEUTICAL S A
NIT. 800097402-6
DOMICILIO:CALI VALLE
NACIONALIDAD:COLOMBIA
PRESUPUESTO DE CONTROL:NUMERAL 3, ARTÍCULO 27 DE LA LEY 222.
ACTIVIDAD:DISTRIBUCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS DE USO HUMANO

SUBORDINADA
LAFRANCOL (USA) CORP
DOMICILIO:ESTADOS UNIDOS
NACIONALIDAD:ESTADOS UNIDOS
PRESUPUESTO DE CONTROL:LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S.A. POSEE EL 65.25%
ACTIVIDAD:DISTRIBUCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS DE USO HUMANO.

SUBORDINADA
GAMAR SOCIEDAD LIMITADA
NIT. 890312050-7
DOMICILIO:CALI VALLE
NACIONALIDAD:COLOMBIA
PRESUPUESTO DE CONTROL:NUMERAL E, ARTICULO 27 DE LA LEY 222.
ACTIVIDAD:TODAS LAS ACTIVIDADES RELACIONADAS CON LAS ARTES GRAFICAS.

SUBORDINADA
LAFRANCOL GUATEMALA S.A.
NIT. 4088707
DOMICILIO:GUATEMALA
NACIONALIDAD:GUATEMALA
PRESUPUESTO DE CONTROL:NUMERAL 3, ARTÍCULO 27 DE LA LEY 222
ACTIVIDAD:PRODUCCIÓN, FABRICACIÓN, EXPORTACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS Y/O ALIMENTICIOS Y NATURALES DE CONSUMO HUMANO Y LA COMERCIALIZACIÓN DE TODA CLASE DE MERCANCÍAS POR CUENTA PROPIA O EN NOMBRE DE TERCEROS.

2655-2
© ASSENDA S.A. NIT. 890.321.151-0

SUBORDINADA
DISTRIBUCIONES UQUIFA LTDA
NIT. 800182021-7
DOMICILIO:CALI VALLE
NACIONALIDAD:COLOMBIA
PRESUPUESTO DE CONTROL:NUMERAL 3, ARTÍCULO 27 DE LA LEY 222
ACTIVIDAD:DISTRIBUCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS Y ALIMENTOS FUNCIONALES DE CONSUMO HUMANO

SUBORDINADA
LABORATORIOS NATURMEDIK S A
NIT. 800226363-1
DOMICILIO:CALI VALLE
NACIONALIDAD:COLOMBIA
PRESUPUESTO DE CONTROL:NUMERAL 3, ARTÍCULO 27 DE LA LEY 222.
ACTIVIDAD:DISTRIBUCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS DE CONSUMO HUMANO.

SUBORDINADA
LAFRANCOL DOMINICANA S.A.
DOMICILIO:SANTO DOMINGO REPUBLICA DOMINICANA
NACIONALIDAD:REPUBLICA DOMINICANA
PRESUPUESTO DE CONTROL:NUMERAL 3, ARTÍCULO 27 DE LA LEY 222.
ACTIVIDAD:FABRICACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS.

SUBORDINADA
LABORATORIO FRANCO-COLOMBIANO DEL ECUADOR S.A.
DOMICILIO: GUAYAQUIL, REPUBLICA DEL ECUADOR
NACIONALIDAD: ECUATORIANA
PRESUPUESTO DE CONTROL: LA PARTICIPACION QUE TIENE LAFRANCOL S.A. EN LABORATORIO FRANCO-COLOMBIANO DEL ECUADOR S.A., ES DE 96.8992%, LA FECHA DE LA PRIMERA TRANSACCION COMERCIAL FUE EN JUNIO DE 2009 Y LA CAPITALIZACION SE HIZO EN OCTUBRE DE 2008.
ACTIVIDAD: DEDICARSE A LA FABRICACION, PRODUCCION, EMPAQUE, COMERCIALIZACION, DISTRIBUCION, COMPRAVENTA, IMPORTACION, EXPORTACION Y/O REPRESENTACION DE TODO TIPO DE PRODUCTOS FARMACEUTICOS, HIGIENICOS, COSMETICOS, ALIMENTICIOS, DIETETICOS Y BAJOS EN CALORIAS, VETERINARIOS, APARATOS E INSTRUMENTOS QUIRURGICOS, MEDICOS, DENTALES Y VETERINARIOS. PODRA ADQUIRIR ACCIONES, PARTICIPACIONES O CUOTAS SOCIALES DE CUALQUIER CLASE DE COMPAÑÍA, SEA NACIONAL O EXTRANJERA, PUDIENDO INTERVENIR EN LA FUNDACION O AUMENTO DE CAPITAL DE OTRAS SOCIEDADES QUE TENGAN OBJETOS SOCIALES RELACIONADOS CON EL SUYO. PODRA CONSTRUIR, ADQUIRIR EN PROPIEDAD, ARRENDAMIENTO O EN ASOCIACION TODA CLASE DE PLANTAS INDUSTRIALES PARA PRODUCCION, EMPAQUE, PROCESAMIENTO O CUALQUIER OTRA FORMA PARA LA COMERCIALIZACION EN EL MERCADO INTERNO Y EXTERNO DE PRODUCTOS FARMACEUTICOS YA SEA PARA EL CONSUMO HUMANO, VEGETAL O ANIMAL.

SUBORDINADA
FOCUS PHARMACEUTICAL S.A.
NIT: 900.104.555-8
DOMICILIO: BOGOTA D.C.
NACIONALIDAD: COLOMBIANA
PRESUPUESTO DE CONTROL: LA PARTICIPACION QUE TIENE LAFRANCOL S.A. EN DICHA SOCIEDAD ES DE 39.9%.
ACTIVIDAD: EL OBJETO PRINCIPAL DE LA SOCIEDAD ES EL DESARROLLO, FABRICACION O PRODUCCION, DIRECTAMENTE O A TRAVES DE TERCEROS EN CUALQUIER MODALIDAD NEGOCIAL, LA COMERCIALIZACION Y DISTRIBUCION, NACIONAL O INTERNACIONAL, DE TODA CLASE DE ARTICULOS DE GENERO FARMACEUTICO, ESPECIFICAMENTE DE MEDICAMENTOS ESA ACTIVIDAD PRINCIPAL CONLLEVA LA HABILITACION PARA DESARROLLAR TODA OTRA CONEXA O NECESARIA, INCLUYENDO DE MANERA ESPECIAL PERO NO LIMITATIVA, LA INVESTIGACION FARMACEUTICA, EL DESARROLLO DE PRODUCTOS MEDICOS Y FARMACEUTICOS, EQUIPOS MEDICOS, TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS Y EN GENERAL, TODO AQUELLO VINCULADO A LA PROTECCION DE LA SALUD HUMANA.

PODRA EFECTUAR LA INVERSION EN BIENES INMUEBLES, URBANOS O RURALES Y LA ADQUISICION, ADMINISTRACION, ARRENDAMIENTO, GRAVAMEN Y ENAJENACION DE LOS MISMOS.

2655-2
© ASSENDA S.A. NIT. 890.321.151-0

LA INVERSION DE FONDOS PROPIOS, EN BIENES INMUEBLES, BONOS, VALORES BURSATILES Y PARTES DE INTERES EN SOCIEDADES COMERCIALES, ASI COMO LA NEGOCIACION DE TODA CLASE DE DERECHOS DE CREDITO.

CERTIFICA

QUE A NOMBRE DE LA SOCIEDAD FIGURA MATRICULADO EN LA CAMARA DE COMERCIO BAJO EL NRO.5234-2 ESTABLECIMIENTO DE COMERCIO: LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL
UBICADO EN: ---K 1 46 84 DE CALI
RENOVO : POR EL AÑO 2010

CERTIFICA

QUE A NOMBRE DE LA SOCIEDAD FIGURA MATRICULADO EN LA CAMARA DE COMERCIO BAJO EL NRO.369809-2 ESTABLECIMIENTO DE COMERCIO: LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S A
UBICADO EN: --K 1 46A 70 DE CALI
FECHA MATRICULA : 29 DE ABRIL DE 1994
RENOVO : POR EL AÑO 2010

CERTIFICA

QUE A NOMBRE DE LA SOCIEDAD FIGURA MATRICULADO EN LA CAMARA DE COMERCIO BAJO EL NRO.369810-2 ESTABLECIMIENTO DE COMERCIO: LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S A
UBICADO EN: ---K 1A 46 A 32 DE CALI
FECHA MATRICULA : 29 DE ABRIL DE 1994
RENOVO : POR EL AÑO 2010

CERTIFICA

QUE A NOMBRE DE LA SOCIEDAD FIGURA MATRICULADO EN LA CAMARA DE COMERCIO BAJO EL NRO.734908-2 ESTABLECIMIENTO DE COMERCIO: LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S.A
UBICADO EN: CRA. 1A NRO. 46A 28 DE CALI
FECHA MATRICULA : 28 DE MARZO DE 2008
RENOVO : POR EL AÑO 2010

CERTIFICA

QUE A NOMBRE DE LA SOCIEDAD FIGURA MATRICULADO EN LA CAMARA DE COMERCIO BAJO EL NRO.734911-2 ESTABLECIMIENTO DE COMERCIO: LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S.A
UBICADO EN: CRA. 1B NRO. 46A 121 DE CALI
FECHA MATRICULA : 28 DE MARZO DE 2008
RENOVO : POR EL AÑO 2010

CERTIFICA

QUE A NOMBRE DE LA SOCIEDAD FIGURA MATRICULADO EN LA CAMARA DE COMERCIO BAJO EL NRO.734913-2 ESTABLECIMIENTO DE COMERCIO: LABORATORIO FRANCO COLOMBIANO LAFRANCOL S.A
UBICADO EN: CRA. 3 NRO. 47 25 DE CALI
FECHA MATRICULA : 28 DE MARZO DE 2008
RENOVO : POR EL AÑO 2010

CERTIFICA

QUE LA SOCIEDAD EFECTUO LA RENOVACION DE SU MATRICULA MERCANTIL EL 25 DE MARZO DE 2010

CERTIFICA

QUE NO FIGURAN OTRAS INSCRIPCIONES QUE MODIFIQUEN TOTAL O PARCIALMENTE EL PRESENTE CERTIFICADO.
LOS ACTOS Y DOCUMENTOS REGISTRADOS QUEDAN EN FIRME CINCO (5) DIAS HABILES DESPUES DE LA FECHA DE SU INSCRIPCION, SIEMPRE Y CUANDO DENTRO DE DICHO TERMINO NO SEAN OBJETO DE RECURSOS EN LA VIA GUBERNATIVA.

2655-2
ASSENDA S.A. NIT. 890.321.151-0

DE CONFORMIDAD CON EL DECRETO 2150 DE 1.995 Y LA AUTORIZACION IMPARTIDA POR LA SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO LA FIRMA MECANICA QUE APARECE A CONTINUACION TIENE PLENA VALIDEZ PARA TODOS LOS EFECTOS LEGALES.
DADO EN CALI A LOS 09 DIAS DEL MES DE ABRIL DEL AÑO 2010 HORA: 10:41:55

EL SECRETARIO

CAMARA DE COMERCIO DE CALI

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

2020
Bogotá, D.C.,

Doctor:
Mauricio Jaramillo Campuzano
Apoderado

Oficio N°: 11613

ASUNTO:

Radicación PCT Nº	08-105757
Trámite	011
Evento	379
Actuación	440
Folios	079

Con fundamento en lo previsto por el artículo 43 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica que la oposición presentada por el doctor José Luis Reyes Villamizar, en su calidad de apoderado de Tecnoquímicas S.A., reúne los requisitos formales exigidos por la ley al momento de su presentación.

En cumplimiento de lo dispuesto en la citada norma, se le concede el término de sesenta (60) días hábiles siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, para que haga valer sus argumentaciones y presente pruebas.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única Nº 10 de 2001.

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (C).

El anterior oficio fue notificado por fijación en lista de fecha, 10 SET. 2010

202021

Sede Centro: Carrera 13 No. 27-00 Pisos 2, 5, 7 y 10
Sede CAN: Av. Carrera 50 No. 27-55, Int. 2.
Conmutadores: 5870000 y 5880234
Fax: 5870284 Línea 018000-910165
Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co
Bogotá D.C. - Colombia

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

2020
Bogotá, D.C.,

Doctor:
Mauricio Jaramillo Campuzano
Apoderado

Oficio N°:
11614

ASUNTO:

Radicación PCT N°	08-105757
Trámite	011
Evento	379
Actuación	440
Folios	009

Con fundamento en lo previsto por el artículo 43 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica que la oposición presentada por el doctor Tito Noé Parra Murillo, en su calidad de apoderado de Lafrancol S.A., reúne los requisitos formales exigidos por la ley al momento de su presentación.

En cumplimiento de lo dispuesto en la citada norma, se le concede el término de sesenta (60) días hábiles siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, para que haga valer sus argumentaciones y presente pruebas.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.

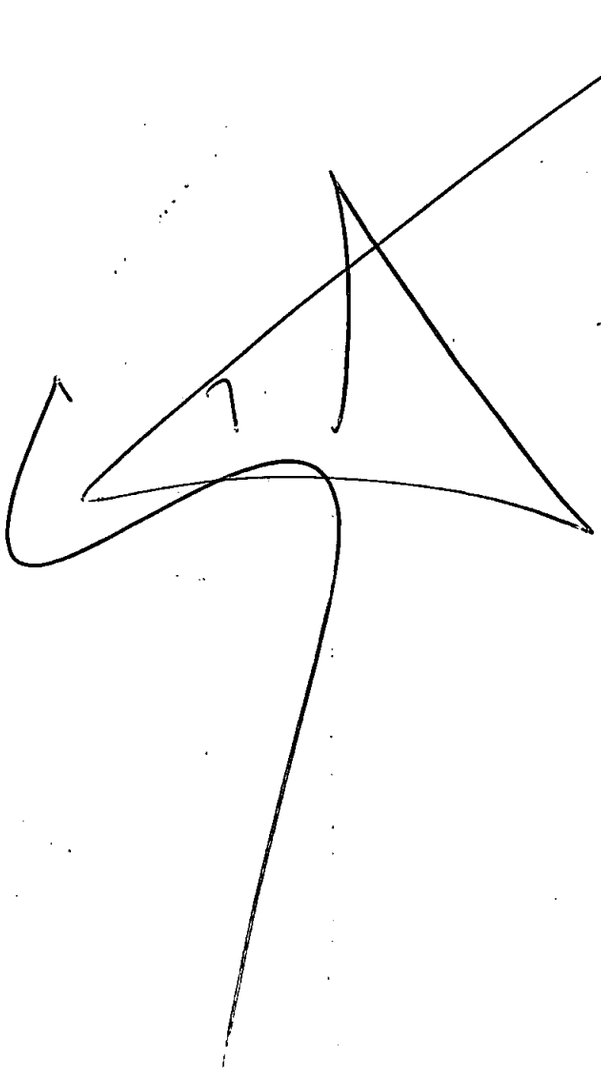
ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (C).

El anterior oficio fue notificado por fijación en lista de fecha, 10 SET. 2010.

202021

Sede Centro: Carrera 13 No. 27-00 Pisos 2, 5, 7 y 10
Sede CAN: Av. Carrera 50 No. 27-55, Int. 2.
Conmutadores: 5870000 y 5880234
Fax: 5870284 Línea 018000-910165
Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co
Bogotá D.C. - Colombia

24



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

En una modalidad preferida, la metodología de cultivo de células se usa para el crecimiento, expansión, 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 transplante directo después de descongelarlas.

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, 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 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.

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 la invención que es un producto totalmente humano, podría no ser necesario el xenotransplante (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 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) colectar 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 (βhCG) 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 transplante a 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,

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

(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:

(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.

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.

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.

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.

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.

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 transplantado.

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 transplantado.

Otro propósito de la presente invención es proporcionar una metodología de cultivo de células que reduzca el riesgo de problemas de antigenicidad o de problemas de rechazo de injerto contra huésped en pacientes en los cuales se transplante 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 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 células hES y/o sus derivados suspendida en una solución biocompatible y contenida en un recipiente para almacenamiento, transporte o transplante directamente a un humano.

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

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

Descripción detallada de la invención

Definiciones

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.

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.

"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.

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. 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.

"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 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 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 componentes tales como células madre embrionarias, células

neuroprogenitoras, células neuronales, progenitores de células madre hematopoyéticas, progenitores de células madre cardiacas 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 "transplantar" y "transplante" 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 cardiaco 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 transplante 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, transplante 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 transplante, 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, didrogesterona, medroxiprogesterona, noretisterona, levonorgestrel, norgesterel, gestodeno y drospirenona. 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 (βhCG) humana" se definen como cualquier βhCG que ocurre naturalmente o sintética o fragmento derivado de la misma que tiene al menos 25% de la actividad de βhCG natural en uno de cualquier ensayo conocido para actividad biológica. Ejemplos de agonistas de βhCG incluyen sin limitación βhCG y aquellos descritos en las patentes de E.U.A. Nos. 6,635,445, 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.

"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.

Retrobulbar significa administración en el espacio retrobulbar.

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

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 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.

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

Inyección "intramuscular" significa administración entre las láminas musculares.

Inyección "intravenosa" significa administración dentro de una vena.

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

"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.

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:

Tipo de célula	**Número de patente**
Células madre derivadas de tejido adiposo	6,777,231
Células madre epiteliales de mama	5,814,511
Células madre endoteliales	6,852,533
Células progenitoras de ganglio de la raíz doral	6,835,567
Células progenitoras hematopoyéticas $CD34^-$, $CD7^+$, Lin^-, Lin^-, $CD45RA^+$,	6,537,807
Células madre hematopoyéticas $Thy\text{-}1^+$	5,061,620
Células madre hematopoyéticas $Thy\text{-}1^+$, $CD34^+$	5,750,397
Células madre hematopoyéticas $CD34^+$, $CD38^-$, $HLA\text{-}DR^+$	5,840,580

Tipo de célula	Número de patente
Células linfoides y dendríticas hematopoyéticas $CD34^+$, $CD45RA^+$, $CD10^+$; Células dendríticas hematopoyéticas $CD34^+$, $CD45RA^+$, $CD10^+$	5,972,627
Células madre hematopoyéticas c-kit^-, $Thy\text{-}1^-$	5,876,956
Células madre hematopoyéticas $CD34^+$	5,681,559
Células madre hematopoyéticas $HCC\text{-}1^+$	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 No expresan OC2	6,129,911 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

Tipo de célula	Número de patente
Células madre mesenquimáticas	5,486,359
Células madre mesenquimáticas	5,827,735
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

Tipo de célula	Número de patente
Células madre neurales del sistema nervioso central	5,968,829
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

Tipo de célula	Número de patente
Células madre renales	6,458,588
Células madre retinales	6,117,675
Células progenitoras esqueléticas	6,517,872
Células madre $FGFR^+$, no células ES	6,767,737
Células madre que dan origen a células hemáticas $CD34^-$, $MHC\text{-}1^-$, $MHYC\text{-}II^-$	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 transplante.

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 βhCG 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 transplante 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 transplantarse 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 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 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 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, intraestratial, intraparenquimal, intratecal, epidural, retrobulbar, subcutánea, oral, intracardíaca, 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 ojos y oídos. En otra modalidad, las células hES y/o sus derivados se administran tópica o intralesionalmente.

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 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

Ruta de administración	**Volumen**	**Número de células**
Epidural	2 ml	6-16 millones
Intratecal	2 ml	6-16 millones
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. 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.

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 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, tetraplejia y cuadriplejia. El transplante 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

transplante 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 inhibidoras 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 transplante 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 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; 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 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 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 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 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 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 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 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 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.

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.

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.

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.

Inyección caudal

De acuerdo con la práctica de la presente invención, una composición farmacéutica de aproximadamente 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 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 transplante continuo de células hES, la 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.

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 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 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.

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.

Protocolo para el tratamiento de SCI Aguda

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

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, 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 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 Imágenesde Resonancia Magnética (MRI), Electromiografía (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 transplante 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 autonómico 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 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 transplante intracraneal. Las células hES y/o sus derivados son células progenitoras predominantemente 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 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 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 100 ml de solución salina normal y se administran mediante infusión intravenosa.

Ejemplo 1

Un paciente diagnosticado con autismo que tiene 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 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 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 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 las células madre progenitoras neuronales. La población de células comprende células hES y varias células madre que son predominantemente células madre progenitoras neuronales.

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 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 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 mejoras.

Ejemplo 2

Un paciente que sufre de un historial de dos años de esclerosis múltiple progresiva repetitiva que toma 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 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.

Tabla 3

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

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 hipotecar 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

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

	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

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

	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

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

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

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

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

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

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

	im	
1/16	iv im	no neuronal
1/17	iv im	no neuronal
1/18	iv	no neuronal
1/19	iv	no neuronal
1/20	infusión iv	no neuronal
1/21	infusión iv	mezclado
1/22	im iv	mezclado
1/23	im iv	mezclado
1/24	iv im	neuronal
1/25	iv im	neuronal
1/26	iv im	neuronal
1/27	infusión iv	mezclado
1/28	infusión iv	mezclado
1/29	iv im	neuronal
1/30	iv im	neuronal

Tratamiento de parálisis 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 parálisis cerebral. El protocolo y la dosificación son la

misma que para el tratamiento de trastornos neurodegenerativos.

Ejemplo 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.

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.

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

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

	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

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	neuroñal
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

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

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

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

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

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 tenia 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.

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

	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

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

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

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 cojeo 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 im	neuronal
11/16	iv im	neuronal
11/18	iv im	no neuronal
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 im	mezclado
12/7	im	mezclado
12/8	im	mezclado
12/9	im	mezclado
12/11	im	mezclado
12/12	im	mezclado
12/14	im iv	mezclado
12/15	im	mezclado
12/16	im	mezclado
12/18	im	mezclado
12/19	im iv	mezclado
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

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.

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.

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
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
8/23	im	neuronal hES

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

dérmicos, incluyendo pero no limitados a ulceras 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 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 pasta y aplicarse a la piel dañada o tejido mucoso para acelerar la curación así como para sanar heridas resistentes a curación, tales como ulceras por decúbito o diabetes. Como alternativa, las células se pueden proporcionar en una suspensión o emulsión. En una modalidad, el vehículo también 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. 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 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 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 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, 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 de un sistema inmune suprimido. Como una alternativa al

tratamiento con inmunosupresores o como un método para pacientes "preinyectados" para transplante de órgano y otra intervención médica, se pueden usar las células hES y sus derivados para permitir aceptación del órgano a través de 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 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, 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 estaban bajo control. Ella ha empezado a caminar por sí

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 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 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 se muestra en la tabla 12.

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

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 transplante 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

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 meses5, 7, 9, 11 y 12 e inyecciones de refuerzo cada 3 meses durante un año. También se suministran infusiones intravenosas cada 15 días.

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.

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

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. También se puede alimentar por sí misma.

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

Tabla 13

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

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

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.

Tabla 14

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

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

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

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

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. 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.

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 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.

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

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

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

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

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%.

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.

Tabla 16

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

	iv	no neuronal
3/1	im iv	neuronal no neuronal
3/2	im iv	neuronal no neuronal
3/3	im iv	neuronal no neuronal
3/4	im iv	neuronal no neuronal
3/5	im iv	neuronal 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 iv	neuronal no neuronal
3/14	im	no neuronal
3/16	im	no neuronal
3/17	im iv	neuronal no neuronal
3/18	im iv	neuronal no neuronal
3/19	im iv	neuronal no neuronal
3/20	im iv	neuronal no neuronal
3/21	im	no neuronal
3/22	im	no neuronal
3/24	im iv	neuronal 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 iv	neuronal no neuronal
4/5	im	no neuronal
4/6	im	no neuronal
4/7	im	no neuronal
4/8	im	no neuronal

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

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

Otro uso del transplante 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

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 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 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 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.

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. Tampoco eran visibles los colores azul oscuro y violeta. La

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

5/2	retrobulbar	no neuronal

Tratamiento de trastornos en hígado y riñón

Aún otro uso de transplante de células hES de 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 transplantación de acuerdo con la práctica de la presente invención. Las rutas de administración son intravenosa, intramuscular y mediante infusión intravenosa.

Ejemplo 19

Un paciente diagnosticado con síndrome nefrótico 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 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 células. Después del tratamiento con células madre, el

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 transplante 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.

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

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.

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

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

		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

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

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.

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. 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.

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

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

		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

1057757-08 495

9/2

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

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

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

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

Ejemplo 22

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.

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

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

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

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.

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	no 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

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

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

Tratamiento de enfermedades y trastornos cardiacos

Otro uso de transplante 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.

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

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

Tratamiento de células cancerígenas y tejidos oncogénicos

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

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 neuronales y células hES a pacientes sometidos a quimioterapia alguna porción de las células inyectadas se diferenciaran en un nuevo sistema inmune, reemplazando los glóbulos blancos, glóbulos rojos, plaquetas y otras células destruidas por la quimioterapia. También, regeneración de 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 desrregulada adicional. Las células hES y/o sus derivados 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.

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 múltiples con apariencia nodular y nodos celiacos y

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

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

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

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.

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.

Tratamiento de trastornos reproductivos

Aún otro uso de transplante 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.

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

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 (neo-vascularización) la cual es efectiva en el tratamiento de enfermedades degenerativas y al tratar úlceras que no cicatrizan.

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 transplantación 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.

Aunque se pueden variar los protocolos de

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

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

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 está más alerta.

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

Tabla 26

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

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.

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 controlados.

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

Tabla 27

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

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

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

Tratamiento de enfermedad pulmonar intersticial

Ejemplo 31

Una mujer de edad mediana vino a la clínica sufriendo de ILD (enfermedad pulmonar intersticial). Ella estaba en etapa terminal con 69% de SPO_2 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. 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.

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

10/28	nebulización iv	neuronal
10/29	nebulización iv	neuronal
10/30	nebulización iv	mezclado
10/31	nebulización iv	mezclado
11/2	nebulización iv	mezclado
11/3	nebulización iv	mezclado
11/4	nebulización iv	mezclado
11/5	nebulización iv	mezclado
11/6	nebulización iv	mezclado
11/7	nebulización iv	mezclado
11/8	nebulización iv	no neuronal
11/9	nebulización iv	mezclado
11/10	nebulización iv	no neuronal
11/11	nebulización iv	mezclado
11/12	nebulización iv	mezclado
11/13	nebulización iv	mezclado
11/14	nebulización iv	mezclado
11/15	nebulización iv	neuronal
11/16	im nebulización iv	neuronal no neuronal
11/17	im nebulización iv	no neuronal
11/18	im nebulización iv	no neuronal
11/19	im nebulización iv	no neuronal
11/20	IM	no neuronal

	nebulización iv	
11/21	im nebulización iv	no neuronal
11/22	im nebulización iv	no neuronal
11/23	nebulización iv	neuronal
11/24	nebulización iv	no neuronal
11/25	nebulización iv	no neuronal
11/26	nebulización iv	no neuronal
11/27	nebulización iv	no neuronal
11/28	im nebulización iv	no neuronal
11/29	im nebulización iv	no neuronal
11/30	im nebulización iv	no neuronal
12/1	nebulización iv	no neuronal
12/2	nebulización iv	no neuronal
12/3	nebulización iv	no neuronal
12/4	nebulización iv	no neuronal
12/5	nebulización iv	no neuronal
12/6	nebulización iv	no neuronal
12/7	nebulización iv	no neuronal
12/8	nebulización iv	no neuronal
12/9	nebulización iv	neuronal
12/10	nebulización iv	neuronal
12/11	nebulización iv	no neuronal

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

	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

	nebulización	
1/20	im nebulización iv	no neuronal
1/21	im nebulización iv	mezclado
1/22	im nebulización iv	mezclado
1/23	im nebulización iv	neuronal mezclado
1/24	im nebulización iv	neuronal mixed
1/25	im nebulización iv	neuronal mezclado
1/26	im nebulización iv	neuronal mezclado
1/27	im nebulización iv	neuronal mezclado
1/28	im nebulización iv	neuronal mezclado
1/29	im nebulización iv	neuronal mezclado
1/30	im nebulización iv	no neuronal
1/31	im nebulización iv	no neuronal

Desarrollo de nuevo fármaco

Otro uso adicional para las células hES es desarrollar y evaluar nuevos fármacos. Por ejemplo, las

células hES se pueden cultivar de acuerdo con la práctica de la presente invención y usarse como un substrato 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

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 transplante de células por sí mismas. Ejemplos no limitativos incluyen cargar células con agentes anti-hipertensos para tratamiento de enfermedades cardiacas, 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 transplante, 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

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.

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 transplantación de células hES de acuerdo con el protocolo descrito en la presente.

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 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 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 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 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.

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 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 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 mediante inyección intravenosa.

El tratamiento directo de SCI de acuerdo con la práctica de la presente invención se llevó a cabo mediante resuspensión de un composición farmacéutica que comprende 750,000 a 80 millones de células hES y sus derivados, en 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 sitio de la lesión sietes 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.

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 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 750,000 a 11 millones de células hES y sus derivados, en

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.

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

Tabla 29

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

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

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	Comporta-miento	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.

Tabla 31

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

Tabla 31 (cont.)

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

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.

Tabla 32

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	++

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, atrófia muscular y asimiento manual como se muestra en la tabla 33.

Tabla 33

Periodo de tiempo	Hombro I D	Muñeca Dedos I D	Reflejo de tendones I D	Fuerza H AN M D	Atrofia H AN M D	Asimiento manual
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

motora total del 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 confinado a la cama permanentemente, tuvo pérdida de vejiga e intestino y fue completamente dependiente del suporte de su familia aunque sus extremidades superiores no fueron afectadas.

La administración de una composición farmacéutica 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 levantar la cadera. La percepción sensorial se reestableció al nivel perineal. El sujeto puede levarse 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 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.

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

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 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 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 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 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 pie y sin caída de muñeca. El tratamiento está en curso de

acuerdo con las mejorías de la condición del sujeto.

Estudio de caso 4

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 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 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

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

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.

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 iv	neuronal - mezclado > hematopoyético
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

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 intratecal	neuronal
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

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

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 tenia 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

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.

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

Tabla 37

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

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

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

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 dificultada para sentarse. Las manos del sujeto tenían muy poca fuerza, con movimiento de dedos muy débil y el sujeto tenía dificultad para respirar.

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,

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

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
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 catéter epidural x 4	neuronal
5/2	im catéter epidural	neuronal
5/10	catéter epidural x 4	neuronal
5/11	catéter epidural x 4	neuronal
5/12	catéter epidural x 4	neuronal

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

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

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

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 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 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 espasticas y el sujeto fue capaz de sentarse sin ayuda. También se 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.

Tabla 40

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	no 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

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 levantase 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.

Tabla 41

Fecha	Ruta de administración	Tipos de células
3/27	dosis de prueba	no neuronal
3/29	im	no neuronal
	iv	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

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

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 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 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 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 pararse con soporte ortopédico completo (cintura a

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

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

	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)

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

	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

	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

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.

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

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

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

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

El paciente es una mujer de 26 años de edad con parapléjia 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

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. La sensación ha mejorado para los niveles de tobillo.

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

Tabla 44

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

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

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 embriónica humana

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.

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 esperma y se cultiva mediante métodos convencionales para obtener embriones. Los embriones extra son incubados durante periodos variables para desarrollo de la línea celular.

El embrión se suspende en una pequeña cantidad de

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 junto con una progestina y un agonista βhCG. En una modalidad, se añaden progesterona (16-64 µl de 250 mg/ml) y βhCG (16-64 µl 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.

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 O_2, por ejemplo, menos de 8%, 6%, 4%, 2% o 1 % de O_2. Se pueden crear condiciones bajas de oxígeno usando incubadores de célula de gas múltiple (CO_2, O_2, N_2) 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 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 CO_2 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 matraz de cultivo celular se mantiene en una posición

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).

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.

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.

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

que comprende progesterona y βhCG, las células se alícuotan y se añade medio fresco adicional sin progesterona y βhCG. 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

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

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 βhCG. 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 βhCG. 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

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 transplante usando los métodos de la presente invención.

Una vez que las células están parcialmente diferenciadas, la células pueden ya sea ser almacenadas para uso futuro al añadir un crioconservador 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 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 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 transplante. En este punto, las células pueden ser transplantadas en paciente o almacenadas a +4°C a -80°C para transplante 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 biocompatible son almacenadas en una forma lista para usarse

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

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.

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 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.

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.

Ejemplos

Ejemplo 1

Para aislamiento embrionario, se recolectaron ovarios con consentimiento de un donador humano quien fue 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 transplantados en el donador. Los embriones extra fueron incubados durante periodos variables para desarrollo de una línea celular.

El embrión, ya sea intacto o en condición rota, se suspendió en medio de cultivo. Además, se añadieron 84 µl de progesterona (250 mg/ml) y 84 µl de βhCG (500 iu/ml). 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 almacenamiento.

Después de un día de incubación, se introdujo 1 ml del medio que contenía la célula embrionaria en un medio de cultivo celular de 40 ml (DMEM o RPMI) en un contenedor de 50 ml junto con progesterona y βhCG. 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 experimentales seguidas por este método.

Tabla 45

S.No.	(a) Etapa Embrional en días	(b) Estado Embrional	(c) Medio Celular	(d) Cantidad de (c)	(e) Adición a Medio	(f) Tiempo de incubación	(g) alícuota de (f)	(h) Medio Celular	(i) Cantidad de (h)	(j) Volumen de contenedor	(k) Temp de incubación grados C	(l) % de CO_2 en ambiente
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	RPM!	2.5ml	A	24 hrs	0.5ml	RPM'	45 ml	50 ml	37	5
4	3	Roto	RPM!	2.5ml	A& B	24 hrs	1.0ml	RPMI	46 ml	50 ml	38	5
5	3	Roto	DMEM	2.5ml	B	24 hrs	0.5m!	DMEM	35 ml	50 ml	37	5

231

Tabla 46

S.No.	(a) Cantidad de cultivo ESC	(b) Medio celular	(c) Cantidad de (b)	(d) Adición a Medio	(e) Volumen de contenedor	(f) Temperatura de incubación	(g) % de CO_2 en ambiente	(h) Tiempo de incubación	(i) Alícuota de (h)	(j) Medio de cultivo	(k) Volumen de contenedor	(l) Temp Almac.
1	0.5 ml	RPMI	35 ml	A	50 ml	36.5	5	24	0.5ml	RPMI	0.5 ml	-72
2	1,0 ml	RPMI	38 ml	B	50 ml	37	5	24	.25 ml	RPMI	0.5 ml	-20
3	1.5 ml	DMEM	45 ml	AB	50 ml	37	5	48	1.0 ml	DMEM	1.5 ml	-20
4	2.0 ml	RPM!	46 ml	A	50 ml	37.2	5	48	1.5 ml	RPMI	1.5 ml	-18
5	2.5 ml	DMEM	45 ml	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

580

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 contendor 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

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 ilustra algunas condiciones experimentales seguidas por expansión de células hES.

Ejemplo 2

El embrión, ya sea intacto o en condición rota, se suspendió en medio de cultivo. Además, se añadieron 84 µl de progesterona y 84 µl de βhCG. 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 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 βhCG. Las células madre fueron 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

S.No.	(a) Etapa embrional en días	(b) Estado Embrional	(c) Medio Celular	(d) Cantidad de (c)	(e) Adición a Medio	(f) Tiempo de incubación	(g) alícuota de (f)	(h) Medio Celular	(i) Cantidad de (h)	(j) Volumen de contenedor	(k) Temp de incubación grados C	(l) % de CO_2 en ambiente
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	RPM'	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

S.No.	(a) Cantidad de cultivo ESC	(b) Medio celular	(c) Cantidad de (b)	(d) Adición a Medio	(e) Volumen de contenedor	(f) Temperatura de incubación	(g) % de CO_2 en ambiente	(h) Tiempo de incubación	(i) Alícuota de (h)	(j) Medio de cultivo	(k) Volumen de contenedor	(l) 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

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.

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 anormalidad 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 tincion BCG (para células progènitoras 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.

Ejemplo 5

Preparación de células hES para transplante

15 ml de suspensión de célula madre fue tomado y centrifugado a 1000 r.p.m. durante 7 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.

Ejemplo 6

Almacenamiento de células hES en forma lista para usarse

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

TABLA 50

Código de Lote	Bilirrubina	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

Líneas celulares

Se repitieron subcultivos más de 100 veces para establecer células hES de la presente invención. Además, los subcultivos fueron evaluados para cualquier 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 por las modalidades y ejemplos específicos, los cuáles 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 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 de patentes y publicaciones citadas en la presente, se incorporan en su totalidad a manera de referencia.

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, 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, factor Steel asociado a membrana o factor Steel soluble o medios 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 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 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

las células madre es de más de 40%.

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

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.

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

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

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.

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

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 cantidad terapéuticamente efectiva de progenitores de células madre hepatocíticas.

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

15. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende una 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 alrededor de 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 alrededor de 750,000 a alrededor de 160

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 alrededor de 750,000 a alrededor de 160 millones de células en alrededor de 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 750,000 a alrededor de 80 millones de células en alrededor de 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 consiste en cáncer, apoplejía, trastornos genéticos, trastornos hepáticos, trastornos de desarrollo, trastornos degenerativos, trastornos hereditarios o trastornos traumáticos del sistema nervioso, trastornos vasculares, enfermedades y trastornos de la piel, trastornos autoinmunes, trastornos oculares, trastornos renales, trastornos cardiacos, trastornos musculoesqueléticos, trastornos reproductivos y de fertilidad, y artritis 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 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, Distrofia Muscular de Duchenne, Enfermedad Renal en Etapa Terminal, Parálisis de Erb, Distrofia Muscular Fascio Escapular, Trastornos de Fertilidad, Ataxia de Friederich, Insuficiencia Cardiaca, Carcinoma Hepatocelular, Enfermedad de Neuronas Espino Motoras Hereditaria, Corea de Huntington, 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, Tumor de la Médula Espinal, 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, 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, factor Steel asociado a membrana y/o factor Steel soluble o medios acondicionados, caracterizada porque las células hES y/o sus derivados son atrapados en una estructura o matriz biocompatible y selectivamente permeable.

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

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

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.

31. Un método para expandir células hES 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, caracterizado porque comprende las etapas de:

(a) introducir células hES en un medio de cultivo de células que consiste en medio esencial mínimo, una progestina y un agonista de gonadotropina coriónica β (βhCG) humana; y

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

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

33. El método para expandir células hES de conformidad con la reivindicación 31, caracterizado porque comprende además:

(c) tomar una alícuota de células madre incubadas de la etapa (b), en donde la alícuota contiene al menos una célula madre,

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

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

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

34. El método para expandir células hES 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 de conformidad con la reivindicación 31, caracterizado porque las células madre en medio de cultivo se incuban en un recipiente biocompatible bajo condiciones sustancialmente anaeróbicas.

36. El método para expandir células hES de conformidad con la reivindicación 35, caracterizado porque las células madre no se diferencian en la proliferación.

37. El método para expandir células hES de conformidad con la reivindicación 31, caracterizado porque

las células hES usadas se aíslan de un embrión de 3 días de edad mediante medios mecánicos.

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

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

40. El método para expandir células hES de conformidad con la reivindicación 31, caracterizado porque la relación de la alícuota de células madre incubadas al medio de células es alrededor de 1:3.5 a alrededor de 1:35.

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

42. El método para expandir células hES 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.

43. Un método para diferenciar parcialmente células hES 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, caracterizado porque comprende las etapas de:

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

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

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

45. El método para diferenciar parcialmente células hES 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.

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

47. El método para diferenciar parcialmente células

hES de conformidad con la reivindicación 46, caracterizado porque las células madre se diferencian en la proliferación.

48. El método para diferenciar parcialmente células hES de conformidad con la reivindicación 43, caracterizado porque comprende además la etapa de probar las células madre expandidas para cualquier contaminación.

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

50. El método para diferenciar parcialmente células hES de conformidad con la reivindicación 43, caracterizado porque la relación de la alícuota de células madre incubadas al medio de células es de alrededor de 1:3.5 a alrededor de 1:35.

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

52. El método para diferenciar parcialmente células hES 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.

53. Un proceso para preparar una preparación lista

para usar de células hES y/o sus derivados para su transplante a humanos, caracterizado porque comprende:

(a) obtener células hES 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,

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

(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 transplante a humanos de conformidad con la reivindicación 53, caracterizado porque comprende además:

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

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

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 transplante

a humanos de conformidad con la reivindicación 53 ó 54, caracterizado porque comprende además probar la preparación para cualquier contaminante antes del transplante.

56. El proceso para preparar una preparación lista para usarse de células hES y/o sus derivados para transplante 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 45.

57. Un método para almacenar una preparación de 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 45,

(b) añadir una agente de crioconservación y

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

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

59. El método para almacenar una preparación de 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 reivindicación 57, caracterizado porque las células se congelan a alrededor de -18 a alrededor de -20°C.

61. Un método para tratar una enfermedad, trastorno, o condición en un sujeto, caracterizado porque comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de células hES y/o sus derivados, las células están libres de productos animales, células alimentadoras, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, factor de crecimiento de fibroblastos o medios acondicionados.

62. El método de conformidad con la reivindicación 61, caracterizado porque las células hES y/o sus derivados se producen mediante el método de conformidad con la reivindicación 31 ó 45.

63. El método de conformidad con la reivindicación 61, caracterizado porque la enfermedad, trastorno o condición se selecciona del grupo que consiste en cáncer, apoplejía, trastornos genéticos, trastornos hepáticos, trastornos de desarrollo, trastornos degenerativos, trastornos hereditarios o trastornos traumáticos del sistema nervioso, trastornos vasculares, enfermedades y trastornos de la piel, trastornos autoinmunes, trastornos oculares, trastornos renales,

trastornos cardiacos, trastornos musculoesqueléticos, trastornos reproductivos y de fertilidad, artritis y trastornos hemáticos.

64. El método de conformidad con la reivindicación 63, caracterizado porque los trastornos del sistema nervioso son trastornos del sistema nervioso en desarrollo seleccionados del grupo que consiste en Autismo, Parálisis Cerebral, Parálisis de Erb, Retraso Mental y Parálisis Supranuclear Progresiva.

65. El método de conformidad con la reivindicación 63, caracterizado porque los trastornos del sistema nervioso son trastornos del sistema nervioso degenerativos seleccionados del grupo que consiste en Enfermedad de Alzhemer, Degeneración Corticobasal, Sordera (Atrofia del Nervio Auditivo), Demencia, Ataxia de Friedereich, Enfermedad de Neuronas Motoras, Esclerosis Múltiple, Atrofia Olivo Ponto Cerebelar, Mal de Parkinson y Ataxia Espino Cerebelar.

66. El método de conformidad con la reivindicación 63, caracterizado porque los trastornos del sistema nervioso son traumatismos del sistema nervioso seleccionados del grupo que consiste en Daño Cerebral, Coma, Encefalopatía Post Choque Eléctrico, Encefalopatía Después de Vacuna contra la Rabia, Daño o Lesión de Médula Espinal y Estado Vegetativo.

67. El método de conformidad con la reivindicación 63, caracterizado porque los trastornos del sistema nervioso

son Accidente Cerebro Vascular o Apoplejía.

68. El método de conformidad con la reivindicación 63, caracterizado porque los trastornos del sistema nervioso son condiciones hereditarios seleccionadas del grupo que consiste en Enfermedad de Neuronas Espino Motoras Hereditaria y Corea de Huntington.

69. El método de conformidad con la reivindicación 63, caracterizado porque los trastornos hepáticos y renales se seleccionan del grupo que consiste en Cirrosis del Hígado, Enfermedad Renal en Etapa Terminal, Síndrome Nefrótico y Enfermedad de Niemann Pick.

70. El método de conformidad con la reivindicación 63, caracterizado porque los trastornos de la piel se seleccionan del grupo que consiste en Artritis, Arterosclerosis, Quemaduras, Ulceras No Sanadoras, Llagas por Presión, Psoriasis, Lupus Eritematoso Sistémico y Sarcoidosis.

71. El método de conformidad con la reivindicación 63, caracterizado porque los trastornos autoinmunes se seleccionan del grupo que consiste en Trombocitopenia, Lupus Eritematoso Sistémico, Sarcoidosis y Colitis Ulcerativa.

72. El método de conformidad con la reivindicación 63, caracterizado porque los trastornos genéticos se seleccionan del grupo que consiste en Síndrome de Down, Espondilitis Anquilosante, Talasemia y Corea de Huntington.

73. El método de conformidad con la reivindicación 63, caracterizado porque los trastornos oculares se seleccionan del grupo que consiste en Atrofia del Nervio Óptico, Ptisis Bulbi, Degeneración Macular, Retinitis Pigmentosa, Abrasión Corneal, Rechazo de Injerto Corneal y Ulceras Corneales.

74. El método de conformidad con la reivindicación 63, caracterizado porque los trastornos musculoesqueléticos se seleccionan del grupo que consiste en Distrofia Muscular de Duchenne, Distrofia Muscular Facio Escapular, Distrofia del Cíngulo de las Extremidades, Atrofia Muscular Espinal y Distrofia Muscular de Becker.

75. El método de conformidad con la reivindicación 63, caracterizado porque los trastornos cardiacos se seleccionan del grupo que consiste en Infarto del Miocardio, Bloqueo de Ramificaciones del Fascículo Derecho, Cardiomiopatía Restrictiva, Insuficiencia Cardiaca, Bradicardia de Seno y Enfermedad de Arteria Coronaria.

76. El método de conformidad con la reivindicación 63, caracterizado porque los estados oncológicos se seleccionan del grupo que consiste en Leucemia Mieloide Aguda, Adenocarcinoma de la Glándula Adrenal, Astrocitoma, Carcinoma Hepatocelular y Tumor de Médula Espinal.

77. El método de conformidad con la reivindicación 63, caracterizado porque la enfermedad es Diabetes Mellitus.

78. Un método para tratar un sujeto con una enfermedad, trastorno, o condición, caracterizado porque comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de células hES y/o sus derivados cultivados en medios libres de productos animales, células alimentadoras, medios acondicionados, factores de crecimiento, factor inhibidor de leucemia, factor de crecimiento de fibroblastos, factor Steel asociado a membrana o factor Steel soluble, mediante inyección intramuscular o inyección intravenosa o inyección epidural o catéter epidural o inyección retrobulbar o inyección subcutánea o inyección intracardiaca o inyección intracística o inyección intratecal o mediante aplicación tópica o aplicación intralesional o infusión intravenosa, o por medio de nebulizador, o por aspersión, o mediante rutas intravaginales, o mediante gotas locales para ojos y oídos.

79. El método de conformidad con la reivindicación 78, caracterizado porque las células hES y/o sus derivados se producen mediante el método de conformidad con la reivindicación 31 ó 45.

80. El método para tratar un sujeto con una enfermedad, trastorno, o condición de conformidad con la reivindicación 78, caracterizado porque la cantidad terapéuticamente efectiva de células hES y/o sus derivados es de alrededor de 750,000 a alrededor de 160 millones de células.

81. El método para tratar un sujeto con una enfermedad, trastorno, o condición de conformidad con la reivindicación 78, caracterizado porque las células hES y/o sus derivados comprenden progenitores de células madre hematopoyéticas, progenitores de células madre neuronales, progenitores de células madre mesenquimáticas, progenitores de células madre epiteliales, progenitores de células madre renales, progenitores de células madre cardiacas o progenitores de células madre hepáticas, o combinaciones de los mismos.

82. El método para tratar un sujeto con una enfermedad, trastorno, o condición de conformidad con la reivindicación 78, caracterizado porque la enfermedad se selecciona del grupo que consiste de cáncer, apoplejía, trastornos genéticos, trastornos hepáticos, trastornos de desarrollo, trastornos degenerativos, trastornos hereditarios o trastornos traumáticos del sistema nervioso, trastornos vasculares, trastornos y enfermedades de la piel, trastornos autoinmunes, trastornos oculares, trastornos renales, trastornos cardiacos, trastornos musculoesqueléticos, trastornos reproductivos y de fertilidad, artritis y trastornos hemáticos.

83. El método para tratar un sujeto con una enfermedad, trastorno, o condición de conformidad con la reivindicación 78, caracterizado porque la enfermedad,

trastorno o condición se selecciona del grupo que 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, Distrofia Muscular de Duchenne, Enfermedad Renal en Etapa Terminal, Parálisis de Erb, Distrofia Muscular Fascio Escapular, Trastornos de Fertilidad, Ataxia de Friederich, Insuficiencia Cardiaca, Carcinoma Hepatocelular, Enfermedad de Neuronas Espino Motoras Hereditaria, Corea de Huntington, 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, Canalopatía e Hipogamaglobulinemia.

84. El método para tratar un sujeto con una enfermedad, trastorno, o condición de conformidad con la reivindicación 78, caracterizado porque la administración de células hES y/o sus derivados no causa tumores, teratomas o cambios cromosómicos.

85. Un método para el tratamiento de Lesión de Médula Espinal (SCI) de un sujeto, caracterizado porque comprende:

(a) administrar alrededor de 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 una cantidad terapéuticamente efectiva de células hES y/o sus derivados mediante inyección intramuscular;

(c) administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de células hES y/o sus derivados, en dónde las

células comprenden progenitores de células madre neuronales y progenitores de células madre hematopoyéticas, mediante inyección o infusión intravenosa;

(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 exámenes clínicos y/o neurológicos;

(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;

(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;

(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

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

en donde las etapas (a) y (b) se llevan a cabo primero y las etapas restantes pueden llevarse a cabo en cualquier orden.

86. El método de conformidad con la reivindicación 85, caracterizado porque comprende además repetir la etapa (f) seguida por la etapa (g), hasta que el sujeto exhiba señales clínicas de recuperación de la SCI.

87. El método de conformidad con la reivindicación 85, caracterizado porque las células hES y/o sus derivados se producen mediante el método de conformidad con la reivindicación 31 ó 45.

88. El método de tratamiento de SCI de conformidad con la reivindicación 85, caracterizado porque alrededor de 750,000 a alrededor de 80 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre hematopoyéticas y progenitores de células madre neuronales, se suspenden en 0.25 a 1.0 ml de una solución biocompatible en la etapa (a) y etapa (b).

89. El método de tratamiento de SCI de conformidad con la reivindicación 85, caracterizado porque alrededor de 750,000 a alrededor de 11 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre hematopoyéticas y progenitores de células madre

neuronales, se suspenden en 2.0 a 4.0 ml de una solución biocompatible en la etapa (f).

90. El método de tratamiento de SCI de conformidad con la reivindicación 85, caracterizado porque alrededor de 750,000 a alrededor de 80 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre hematopoyéticas y progenitores de células madre neuronales, se suspenden en 15 a 40 ml de una solución biocompatible en la etapa (g).

91. El método de conformidad con la reivindicación 85, caracterizado porque el tratamiento de sujetos con SCI da como resultado la reducción de úlceras por decúbito.

92. Un método para el tratamiento de trastornos de desarrollo, degenerativos, hereditarios y traumáticos del sistema nervioso y ataque cerebrovascular, caracterizado porque comprende administrar alrededor de 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/o progenitores de células madre hematopoyéticos, mediante inyección intravenosa, inyección subcutánea, inyección intramuscular, inyección intratecal, infusión por catéter epidural o infusión por catéter de bloque subaracnoide.

93. Un método para el tratamiento de trastornos de la piel, caracterizado porque comprende administrar alrededor

de 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.

94. El método de tratamiento de conformidad con la reivindicación 93, caracterizado porque las células hES y/o progenitores se mezclan en un vehículo biocompatible que se aplicará a la piel dañada.

98. El método de tratamiento de conformidad con la reivindicación 94, caracterizado porque el vehículo biocompatible es un gel, ungüento, pasta o aspersión por aerosol.

95. Un método para el tratamiento de úlceras por decúbito, caracterizado porque comprende administrar alrededor de 750,000 a alrededor de 80 millones de células hES y/o sus derivados mediante aplicación local o tópica y por medio de inyección intramuscular.

96. Un método para el tratamiento de trastornos autoinmunes, caracterizado porque comprende administrar alrededor de 750,000 a alrededor de 160 millones de células hES y/o sus derivados mediante inyección intramuscular, inyección intravenosa, inyección subcutánea, inyección intra-articular o infusión intravenosa o combinaciones de los mismos.

97. Un método para el tratamiento de trastornos

genéticos, caracterizado porque comprende administrar alrededor de 750,000 a alrededor de 160 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprende progenitores de células madre neuronales y/o progenitores de células madre hematopoyéticas, mediante inyección intravenosa, inyección subcutánea, inyección intramuscular, inyección intratecal, infusión por catéter epidural o infusión por catéter de bloque subaracnoide, o combinaciones de los mismos.

98. Un método para el tratamiento de gangrena, caracterizado porque comprende administrar alrededor de 750,000 a alrededor de 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.

99. Un método para el tratamiento de condiciones asociadas con envejecimiento, caracterizado porque comprende administrar alrededor de 750,000 a alrededor de 160 millones de células hES y/o sus derivados mediante inyección intravenosa, inyección subcutánea, inyección intramuscular, aplicación local en suspensión o mezclado con un vehículo biocompatible.

100. El método para tratamiento de conformidad con la reivindicación 102, caracterizado porque el vehículo biocompatible es un gel, ungüento, pasta o rocío de aerosol.

101. Un método para el tratamiento de diabetes mellitus, caracterizado porque comprende la administración de alrededor de 750,000 a alrededor de 160 millones de células progenitoras productoras de insulina embrionarias humanas mediante inyección intravenosa o intramuscular o ambas.

102. Un método para tratar trastornos cardiovasculares, caracterizado porque comprende administrar alrededor de 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 intravenosa, inyección subcutánea, inyección intramuscular, inyección intracardiaca, angiografía o inyección directa, o combinaciones de los mismos.

103. Un método para tratar Trastornos cardiovasculares de conformidad con la reivindicación 103, caracterizado porque la administración es durante angiografía.

104. Un método para el tratamiento de trastornos hepáticos y renales, caracterizado porque comprende administrar alrededor de 750,000 a alrededor de 160 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden 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, o combinaciones de las mismas.

105. Un método para el tratamiento de Fertilidad y Trastornos Reproductivos, caracterizado porque comprende administrar alrededor de 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, o combinaciones de los mismos.

106. Un método para el tratamiento de Trastornos Musculoesqueléticos, caracterizado porque comprende administrar alrededor de 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/o progenitores de células madre hematopoyéticas, mediante inyección intravenosa, inyección subcutánea, inyección intramuscular o infusión por catéter intravenoso, o combinaciones de las mismas.

107. Un método para el tratamiento de trastornos oculares, caracterizado porque comprende administrar alrededor de 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 y/o progenitores de células

madre mesenquimáticas, mediante inyección intravenosa local, inyección subcutánea, inyección intramuscular, inyección retrobulbar, inyección intravítrea o aplicación tópica, o combinaciones de los mismos.

108. El método para el tratamiento de trastornos oculares de conformidad con la reivindicación 107, caracterizado porque alrededor de 750,000 a alrededor de 160 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales, se administran mediante inyección retrobulbar.

109. El método para el tratamiento de trastornos oculares de conformidad con la reivindicación 107, caracterizado porque alrededor de 750,000 a alrededor de 160 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre neuronales, se administran mediante inyección intravítrea.

110. El método para el tratamiento de trastornos oculares de conformidad con la reivindicación 107, caracterizado porque alrededor de 750,000 a alrededor de 160 millones de células hES y/o sus derivados, en donde las células comprenden progenitores de células madre mesenquimáticas, se aplican a lentes de contacto para el tratamiento de abrasión corneal.

111. Un método para el tratamiento de trastornos pulmonares, caracterizado porque comprende administrar

alrededor de 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/o progenitores de células madre hematopoyéticas, mediante inyección intramuscular, inyección intravenosa, aspersión o nebulizador, o combinaciones de los mismos.

112. Un método para el tratamiento de trastornos hormonales, caracterizado porque comprende administrar alrededor de 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/o progenitores de células madre hematopoyéticas, mediante inyección intramuscular o inyección intravenosa, o combinaciones de los mismos.

113. Un método para el tratamiento de Ulceras Aftosas, caracterizado porque comprende administrar alrededor de 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/o progenitores de células madre hematopoyéticas, mediante inyección intramuscular o inyección intravenosa, o combinaciones de las mismas.

114. Un método para el tratamiento de osteoartritis de la rodilla y unión de la cadera, caracterizado porque comprende administrar alrededor de 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/o progenitores de células madre hematopoyéticas, mediante inyección intramuscular, inyección intravenosa o inyección intra-articular, o combinaciones de las mismas.

115. Un método para probar el efecto de un compuesto en células hES y/o sus derivados, caracterizado porque comprende cultivar células hES y/o sus derivados obtenidas mediante el método de conformidad con la reivindicación 31 ó 45 en presencia del compuesto, y determinar el efecto del compuesto en las células.

116. Un método para administrar un fármaco a un sujeto, caracterizado porque comprende cultivar células hES y/o sus derivados obtenidas mediante el método de conformidad con la reivindicación 31 ó 45, en presencia del fármaco, en donde las células absorben el fármaco, y administrar las células a un sitio en el sujeto, en donde el fármaco es suministrado.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende preparaciones de células madre embrionarias humanas (hES) y sus derivados, y a métodos para su transplante en el cuerpo humano, en donde el transplante da como resultado la inversión clínica de síntomas, cura, estabilización o detención de degeneración de una amplia variedad de condiciones, enfermedades y trastornos médicos actualmente incurables y terminales. La invención se refiere además a procesos nuevos para preparar líneas de células madre nuevas que 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, diferenciación, almacenamiento y conservación de estas células madre.

PCT
PETITORIO

El abajo firmante solicita que la presente solicitud Internacional sea procesada de acuerdo al Tratado de

Cooperación en Materia de Patentes

No. de Solicitud Internacional
Fecha de presentación internacional
Nombre de la oficina receptora y "Solicitud Internacional de PCT
Referencia de archivo del solicitante o apoderado *(si se desea) (12 caracteres máximo)* 2515.002PC00

Bloque No. I TITULO DE LA INVENCIÓN
COMPOSICIONES QUE COMPRENDEN CELULAS MADRE EMBRIONARIAS HUMANAS Y SUS DERIVADOS, METODOS DE USO Y METODOS DE PREPARACION

Bloque No. II SOLICITANTE ☒ Esta persona es también inventor

Nombre y dirección: *(Apellido, seguido por nombre propio; para una entidad legal, designación oficial completa. La dirección debe incluir código postal y nombre del país. El país de la dirección indicada en este cuadro es el Estado del solicitante (es decir, país) de residencia si no se indica abajo ningún Estado de residencia.)*

SHROFF, GEETA
487 Hardevpuri, Gautam Nagar
Nueva Deli 115049
India

No. de teléfono:
No. de facsímile:
No. de teleimpresora:
No. de registro del solicitante con la oficina

Estado (esto es, país) de nacionalidad: IN
Estado (esto es, país) de residencia: IN

Esta persona es solicitante para los propósitos de: ☒ todos los países designados ☐ todos los países designados excepto los Estados Unidos de Norteamérica ☐ los Estados Unidos de Norteamérica solamente ☐ los países indicados en el bloque complementario

Bloque No. III SOLICITANTES ADICIONALES Y/O INVENTORES (ADICIONALES)

Nombre y dirección: *(Apellido, seguido por nombre propio; para una entidad legal, designación oficial completa. La dirección debe incluir código postal y nombre del país. El país de la dirección indicada en este cuadro es el Estado del solicitante (es decir, país) de residencia si no se indica abajo ningún Estado de residencia.)*

Esta persona es:
☐ solicitante solamente
☐ solicitante e inventor
☐ inventor solamente (si se marca este bloque, no llenar lo que sigue)

No. de registro del solicitante con la oficina

Estado (esto es, país) de nacionalidad:
Estado (esto es, país) de residencia:

Esta persona es solicitante para los propósitos de: ☐ todos los países designados ☐ todos los países designados excepto los Estados Unidos de Norteamérica ☐ los Estados Unidos de Norteamérica solamente ☐ los países indicados en el bloque complementario

☐ Solicitantes adicionales y/o inventores (adicionales) se indican en una hoja de continuación.

Bloque No. IV APODERADO O REPRESENTANTE COMÚN; O DIRECCIÓN PARA CORRESPONDENCIA

La persona identificada posteriormente es/ha sido citada para actuar en nombre del(los) solicitante(s) ante las Autoridades Internacionales competentes como: ☒ agente ☐ representante común

Nombre y dirección: *(Apellido, seguido por nombre propio; para una entidad legal, designación oficial completa. La dirección debe incluir código postal y nombre del país.)*

Robert W. Esmond
Sterne, Kessler, Goldstein & Fox P.L.L.C.
1100 Nueva York Avenue, N.W.
Washington, DC 2005-3937
Estados Unidos de Norteamérica

No. de teléfono:
(202) 772-8560
No. de facsímil:
(202) 371-2540
No. de teleimpresora:
248636 SSK
No. de registro del apoderado con la Oficina
32,893

☒ **Dirección de correo:** Marque este bloque cuando ningún apoderado o representante común es/haya sido citado y el espacio anterior se usa en su lugar para indicar una dirección especial a la cual se debe enviar la correspondencia.

Bloque Complementario Si no se usa el Bloque Complementario, esta hoja no tiene que ser incluida en el petitorio

1. Si, en cualquiera de los bloques, el espacio es insuficiente para anotar toda la información: en tal caso, escriba "Continuación del Bloque No. ... " [indicar el número del Bloque] y anote la información de la misma manera que la requerida de conformidad con los títulos del Bloque en el cual el espacio fue insuficiente, en particular:

*(i) **si más de dos personas están incluidas como solicitantes y/o inventores** y no está disponible "hoja de continuación": en tal caso, escriba "Continuación del Bloque No. III" e indique para cada persona adicional el mismo tipo de información que la requerida en el Bloque No. III. El país de la dirección indicada en este Bloque es el Estado del solicitante (es decir, país) de residencia si no se indica abajo el Estado de residencia.*

*(ii) si, en el Bloque No. II o en cualquiera de los sub-bloques del Bloque No. III, la indicación "**los Estados indicados en el Bloque Complementario**" está marcada: en tal caso, escriba "Continuación del Bloque No. II" o "Continuación del Bloque No. III" o "Continuación de los Bloques No. II y No. III" (según sea el caso), indique el nombre de(los) solicitante(s) incluidos y, junto a (cada uno)de ese nombre, el (los) Estado(s) (y/o, cuando sea aplicable, patente de ARIPO, Euroasiática, Europea o de OAPI) para los propósitos del cual la persona nombrada sea el solicitante;*

*(iii) si, en el Bloque No. II o en cualquiera de los sub-bloques del Bloque No. III, **el inventor o el inventor/solicitante no es inventor para los propósitos de todos los Estados designados o para los propósitos de los Estados Unidos de Norteamérica**: en tal caso, escriba "Continuación del Bloque II" o "Continuación del Bloque No. III" o "Continuación de los Bloques No. II y No. III" (según sea el caso), indique el nombre de(los) inventor(es) y, junto a (cada) nombre, el (los) Estado(s) (y/o, cuando sea aplicable, patente de ARIPO, Euroasiática, Europea o de OAPI) para los propósitos del cual la persona nombrada sea el inventor;*

*(iv) si, además del(los) apoderado(s) indicados en el Bloque IV, hay **más apoderados**: en tal caso, escriba "Continuación del Bloque IV" e indique para cada apoderado adicional el mismo tipo de información que la requerida en el Bloque No. IV.*

*(v) si, en el Bloque No. VI, hay **más de tres solicitudes posteriores cuya prioridad es reclamada**: en tal caso, escriba "Continuación del Bloque No. VI" e indique para cada solicitud anterior adicional el mismo tipo de información que la requerida en el Bloque No. VI:*

*2. Si el solicitante intenta hacer una indicación del deseo de que la solicitud sea tratada, en ciertos Estados designados, como una solicitud de "patente de adición", "certificado de adición", "certificado de adición del inventor" o certificado de utilidad de adición: en tal caso, escriba el nombre o código de dos letras de cada Estado incluido, y la indicación "**patente de adición**", "**certificado de adición**", "**certificado de adición del inventor**" o "**certificado de utilidad de adición**", el número de solicitud de origen o patente de origen u otra garantía de origen y la fecha de la garantía de la patente de origen u otra garantía de patente o la fecha de presentación de la solicitud de origen (Reglas 4.11 (a)(iii) y 49bis.1(a) o (b)*

*3. Si el solicitante intenta hacer una indicación del deseo de que la solicitud sea tratada, en Estados Unidos de Norteamérica, como una continuación o continuación en parte de una solicitud anterior: en tal caso escriba "Estados Unidos de Norteamérica" o "US" y la indicación "**continuación**" o "**continuación en parte**" y el número y la fecha de presentación de la solicitud de origen (Reglas 4.11 (a)(iv) y 49bis.1(d)).*

Continuación del Bloque No. IV

Agentes adicionales con la misma dirección que el primer agente nombrado:

STERNE, Robert Greene; KESSLER, Edward J.; GOLDSTEIN, Jorge A.; BANOWIT, Donald R.; CAPUANO, Vincent L.; CIMBALA, Michele A.; CORNWELL, David K. S.; COVERT, John M.; DEL BUONO, Brian J.; DURKIN, Tracy-Gene G.; ELLISON, Eldora L.; ESMOND, Robert W.; FEATHERSTONE, Donald J.; HAANES, Elizabeth J.; HELVEY, Jeffrey T.; JACKMAN, Peter A.; KIM, Judith U.; LEE, Michael Q.; MCCABE, Kevin W.; MESSINGER, Michael V.; MILLONIG, Robert C.; RAY, Michael B.; SHEA, Jr., Timothy J.; SOKOHL, Robert E.; SPECHT, Michael D.; STEFFE, Eric K.;

Bloque No. V DESIGNACIONES

Las siguientes designaciones se hacen mediante la presente bajo la regla 4.9(a) (marque los bloques aplicables; se debe marcar por lo menos uno): Sin embargo,

☐ **DE** Alemania **no está designada** para ningún tipo de protección nacional

☐ **JP** Japón **no está designado** para ningún tipo de protección nacional

☐ **KR** Republica de Corea **no está designada** para ningún tipo de protección nacional

☐ **RU** Federación Rusa **no está designada** para ningún tipo de protección nacional

(Los bloques arriba pueden ser usados para excluir (irrevocablemente) las designaciones incluidas para evitar la cesión del efecto, bajo la ley nacional; de una solicitud nacional anterior de la cual se reclame prioridad. Véase las Notes para el Bloque No. V como las consecuencias de dichas provisiones de la ley nacional en estos y ciertos otros Estados).

Bloque No. VI Reclamo de prioridad

Se reclama en la presente la prioridad de las siguientes solicitudes anteriores

Fecha de presentación de la solicitud anterior *(día/mes/año)*	Número de la solicitud anterior	Solicitud anterior: País	Solicitud regional:* Oficina regional	Solicitud internacional: Oficina receptora
Ítem (1) 7 marzo 2006	582/DEL/2006	IN		
Ítem (2) 26 junio 2006	1500/DEL/2006	IN		
Ítem (3) 14 septiembre 2006	60/844,350	US		

☐ Reivindicaciones de prioridad adicionales se indican en el bloque complementario

☐ La Oficina receptora es notificada mediante la presente que prepare y transmita a la Oficina Internacional una copia certificada de la solicitud anterior(X) *(sólo si la solicitud anterior fue presentada en la Oficina que para los propósitos de la presente solicitud internacional es la Oficina receptora)* identificada anteriormente como

☐ todos los ítems ☐ ítem (1) ☐ ítem (2) ☐ ítem (3) ☐ otro, ver Bloque Complementario

** Cuando la solicitud anterior sea una solicitud de ARIPO, es obligatorio indicar en el Bloque Complementario por lo menos un país miembro de la Convención de París para la Protección de la Propiedad Industrial para el cual la solicitud anterior fue presentada (Regla 4.10(b)(ii). Véase Bloque Complementario.*

Bloque No. VII AUTORIDAD DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Elección de la Autoridad de Búsqueda Internacional (ISA) (Si dos o más Autoridades de Búsqueda Internacional son competentes para llevar a cabo la búsqueda internacional, indique la Autoridad escogida; se puede utilizar el código de dos letras:) **ISA/EP**

Solicitud para usar los resultados de la búsqueda anterior; referencia a esa búsqueda *(si se ha llevado a cabo una búsqueda anterior por o solicitada por la Autoridad de Búsqueda Internacional):*

Fecha *(día/mes/año)*: Número . País (u Oficina regional)

Bloque No. VIII DECLARACIONES

Las siguientes **declaraciones** contenidas en los Bloques Nos. VIII (i) a (v) *(marcar los bloques de Verificación abajo e indicar en la columnaa derecha el número de cada tipo de declaración):*		Número de declaraciones
☐ Bloque No. VIII (i)	Declaración de la identidad del inventor	:
☐ Bloque No. VIII (ii)	Declaración del derecho del solicitante, a partir de la fecha de presentación internacional, a solicitar y a que le sea concedida una patente	:
☐ Bloque No. VIII (iii)	Declaración del derecho del solicitante, a partir de la fecha de presentación internacional, a reclamar la prioridad de la solicitud anterior	:
☐ Bloque No. VIII (iv)	Declaración de inventoría (sólo para propósitos de la designación de los Estados Unidos de América)	:
☐ Bloque No. VIII (v)	Declaración en cuanto a descripciones no perjudiciales o excepciones a falta de novedad	:

627

Bloque No. IX LISTA DE VERIFICACIÓN: LENGUAJE DE PRESENTACIÓN

Esta solicitud internacional **contiene:**

(a) el siguiente número de hojas **en papel:**

petitorio (incluyendo hojas de declaración)	:	**4**
descripción (excluyendo la parte del listado de secuencias y/o tablas relacionadas a la misma)	:	**164**
reivindicaciones	:	**18**
extracto	:	**1**
dibujos	:	**0**
Número subtotal de hojas	:	**187**
parte de listado de secuencias	:	
tablas realacionadas a la misma	:	**0**
(para ambos, *número real de hojas si se presentan en impresas, ya sea que se hayan presentado también o no en forma electrónica; (c) abajo)*		
Número total de hojas	:	**187**

(b) ☐ **sólo en forma electrónica** (Sección 801(a)(i))
- (i) ☐ listado de secuencias
- (ii) ☐ tablas relacionadas a las mismas

(c) ☐ **también en forma electrónica** (Sección 801(a)(i))
- (i) ☐ listado de secuencias
- (ii) ☐ tablas relacionadas a las mismas

Tipo y número de portadores (diskette, CD-ROM, CD-R u otro) en el cual esté contenida:

☐ listados de secuencias
☐ tablas relacionadas a las mismas
(las copias adicionales a ser indicadas en el ítem 9(ii) y/o 10(ii), en la columna derecha

Esta solicitud internacional está **acompañada por** los siguientes ítems *(marcar los bloques aplicables abajo e indicar en la columna derecha el número de cada ítem)*: — Número de ítems

1. ☒	hoja de cálculo de tarifa	: **1**
2. ☐	poder del apoderado separado original	:
3. ☐	poder general del apoderado original	:
4. ☐	copia del poder general del apoderado; número de referencia, si lo hay: No. **22.363**	:
5. ☐	declaración que explique la falta de firma	:
6. ☐	documento(s) de prioridad identificados en el bloque No. VI como item(s):	:
7. ☐	traducción de la solicitud internacional al *(idioma)*: **Inglés**	:
8. ☐	indicaciones separadas concernientes a los microorganismos depositados u otro material Biológico.	:
9. ☐	listado de secuencias en forma legible por computadora (indicar el tipo y número de Vehículos (diskette, CD-ROM, CD-R u otro))	:
(i) ☐	copia presentada con el propósito de búsqueda internacional conforme a la Regla 13*ter* Únicamente /y no como parte de la solicitud internacional)	:
(ii) ☐	*(sólo cuando se marque el bloque (b)(i) o (ii) en la columna derecha)* copias Adicionales que incluyen, cuando se aplicable, la copia para los propósitos de Búsqueda internacional conforme a la Regla 13*ter*	:
(iii) ☐	junto con declaración relevante en cuanto a la identidad de la copia o copias con la Parte de listado de secuencias mencionada en la columna izquierda	:
10. ☐	tablas en forma legible por computadora para listados de secuencias (indicar el tipo y número de vehículos)	:
(i) ☐	copia presentada con el propósito de búsqueda internacional conforme a la Sección 802 (b-quater) Únicamente (y no como parte de la solicitud internacional)	:
(ii) ☐	*(sólo cuando se marque el bloque (b)(i) o (ii) en la columna derecha)* copias Adicionales que incluyen, cuando se aplicable, la copia para los propósitos de Búsqueda internacional conforme a la Sección 802 (b-quater)	:
(iii) ☐	junto con declaración relevante en cuanto a la identidad de la copia o copias con la Parte de listado de secuencias mencionada en la columna izquierda	:
11. ☒	otro *(especifique)*: **Carta de transmisión; postal**	: **2**

Figura de los dibujos que debe acompañar al resumen: **ninguna**

Idioma de presentación de la solicitud internacional: **Inglés**

Bloque No. X FIRMA DEL SOLICITANTE O APODERADO

Enseguida de cada firma, indique el nombre de la persona que firma y la capacidad en la cual la persona firma (si tal capacidad no es obvia de la lectura del petitorio).

SHROFF GREETA
Solicitante e inventor

Para uso de la Oficina receptora solamente

1. Fecha del recibo real de la solicitud internacional reclamada:	2. Dibujos
3. Fecha corregida del vencimiento del recibo real a los documentos o dibujos recibidos posteriormente pero a tiempo que complementan la solicitud internacional reclamada:	☐ recibidos:
4. Fecha del recibo a tiempo de las correcciones requeridas bajo el artículo 11(2) del PCT:	☐ no recibidos:
5. Autoridad de Búsqueda Internacional especificada por la solicitante: **ISA/**	6. ☐ Transmisión de copia de búsqueda retardada hasta que la cuota de búsqueda sea pagada

Para uso de la Oficina Internacional solamente

Fecha del recibo de la copia de registro por la Oficina Internacional:

ANEXO 2

DOCUMENTACIÓN EN EL IDIOMA ORIGINAL DE TRÁMITE (INGLÉS)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION AUTHORITY (IPEA/IB)
UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY

In re application of: Geeta Shroff

International Application Number: PCT/IB2007/002292

International Filing Date: 6 March 2007 (06.03.2007)

Agent's Reference: 2515.002PC01

Title: **Compositions Comprising Human Embryonic Stem Cells and Their Derivatives, Methods of Use and Methods of Preparation**

Amendment Under PCT Article 19

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20
Switzerland

Sir:

Applicant requests that the following amendment be entered in the captioned application.

Amendment

Please enter the following amendment:

In the Claims:

Please replace pages 168, 170, and 172 through 182 with substitute sheets 168, 170, and 172 through 182 attached hereto.

Explanation of Amendment

Claims 22, 28, 42, 61-115 and 117 have been amended. No new matter has been added by way of the present amendment.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION A
UNDER THE PATENT COOPERATION

In re application of: Geeta Shroff

International Application Number: PCT/IB2007/002292

International Filing Date: 6 March 2007 (06.03.2007)

Agent's Reference: 2515.002PC01

Title: **Compositions Comprising Human Embryonic Stem
Derivatives, Methods of Use and Methods of Preparation**

Amendment Under PCT Article

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20
Switzerland

Sir:

Applicant requests that the following amendment be ente
application.

Amendment

Please enter the following amendment:

In the Claims:

Please replace pages 168, 170, and 172 through 182 with s
170, and 172 through 182 attached hereto.

Explanation of Amendment

Claims 22, 28, 42, 61-115 and 117 have been amended. No
added by way of the present amendment.

Claim 22 has been rewritten as a product-by-process claim. This is to make clear that the hES cells are free from animal products then combined with a biocompatible, selectively permeable structure or matrix which may contain animal products.

Claim 28 has been amended to specify that the embryo is collected in a medium *consisting of* minimal essential medium. Thus, the medium cannot contain animal products. Support for this amendment may be found in paragraph 331 which describes isolating hES cells in only minimal essential medium, i.e. in a medium consisting of minimal essential medium.

Claim 42 has been made dependent on claim 41 rather than claim 31.

Claims 61-115 and 117 have been rewritten as "Swiss-style" claims.

In addition, the numbering of the claims on sheets 179-182 has been revised to take into account the presence of two claims numbered 98 on sheet 179 in the as-filed application.

Summary

No new matter has been added to the application by way of the amendments presented herein. Applicant respectfully requests that the replacement pages provided herewith be introduced into the captioned application as directed above.

Respectfully submitted,

Geeta Shroff

Date:

824972_1.DOC

membrane associated steel factor and/ or soluble steel factor or conditioned media, obtained by entrapping said hES cells and/or their derivatives in a biocompatible, selectively permeable structure or matrix.

23. A composition of matter of claim 22 wherein the hES cells and/or their derivatives comprise hematopoietic stem cell progenitors.

24. A composition of matter of claim 22 wherein the hES cells and/or their derivatives comprise neuronal stem cell progenitors.

25. A composition of matter of claim 22 wherein the hES cells and/or their derivatives comprise a combination of hematopoietic stem cells and neuronal stem cell progenitors.

26. A composition of matter of claim 22 wherein the biocompatible, selectively permeable structure or matrix is selected from the group consisting of biopolymers, polypeptides, proteins, polysaccharides, fibronectin, collagen, laminin, keratin, fibrin, fibrinogen, hyaluronic acid, heparin sulfate, chondroitin sulfate, agarose, and gelatin.

27. A composition of matter of claim 22 wherein the hES cells and/or their derivatives are entrapped in a mixture of agarose and collagen or a mixture of agarose and gelatin.

28. A method for isolating hES cells, comprising:

(a) collecting a 2 to 7 day old embryo in a medium consisting of minimal essential medium,

(b) isolating hES cells from the embryo by mechanical means.

29. A method of claim 28, wherein said embryo is a 2 day old embryo.

30. A method of claim 28, wherein said mechanical means is shaking.

31. A method of expanding hES cells free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor,

membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media, comprising the steps of:

(a) introducing hES cells in a cell culture medium consisting of minimal essential medium, a progestin and a β-human chorionic gonadotropin (βhCG) agonist; and

(b) incubating the stem cells at a temperature of about 34°C to about 38°C in an environment of about 3.5% to about 6% carbon dioxide for about 12 hours to about 48 hours.

32. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein said cell culture medium is RPMI.

33. A method of expanding hES cells of claim 31 further comprising:

(c) taking an aliquot of incubated stem cells of step (b) wherein said aliquot contains at least one stem cell,

(d) resuspending the cells in cell culture medium along with progesterone and βhCG to the aliquot,

(e) diluting the cells in cell culture medium without progestin and βhCG agonist, and

(f) incubating the cells at a temperature of about 34°C to about 38°C in an environment of about 3.5% to about 6% carbon dioxide for about 12 hours to about 48 hours.

34. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein said incubation is carried out in a water jacketed cell culture incubator.

35. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein said stem cells in culture medium are incubated in a biocompatible container under substantially anaerobic conditions.

36. A method of expanding hES cells of claim 35 wherein said stem cells do not differentiate on proliferation.

37. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein the hES cells used are isolated from a 3 day old embryo via mechanical means.

38. A method of expanding hES cells of claim 31 further comprising the step of testing the expanded stem cells for any contamination.

39. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein said culture process is carried out in biocompatible containers.

40. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein the ratio of the aliquot of incubated stem cells to the cell medium is about 1:3.5 to about 1:35.

41. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein said incubation is carried out in substantially anaerobic environment.

42. A method of expanding hES cells of claim 41 wherein said incubation is carried out in biocompatible container where the volume is almost completely occupied by the medium and the container is kept in a vertical position.

43. A method of partially differentiating hES cells free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media, comprising the steps of:

(a) introducing hES cells in a cell culture medium consisting of minimal essential medium; and

(b) incubating the stem cells at a temperature of about 34°C to about 38°C in an environment of about 3.5% to about 6% carbon dioxide for about 12 hours to about 48 hours.

44. A method of partially differentiating hES cells of claim 43 wherein said cell culture medium is RPMI or DMEM.

45. A method of partially differentiating hES cells of claim 43 wherein said incubation is carried out in a water jacketed cell culture incubator.

46. A method of partially differentiating hES cells of claim 43 wherein said stem cells in culture medium are incubated in a biocompatible container under substantially aerobic conditions.

47. A method of partially differentiating hES cells of claim 46 wherein said stem cells differentiate on proliferation.

48. A method of partially differentiating hES cells of claim 43 further comprising the step of testing the expanded stem cells for any contamination.

49. A method of partially differentiating hES cells of claim 43 wherein said culture process is carried out in biocompatible containers.

50. A method of partially differentiating hES cells of claim 43 wherein the ratio of the aliquot of incubated stem cells to the cell medium is about 1:3.5 to about 1:35.

51. A method of partially differentiating hES cells of claim 43 wherein said incubation is carried out in substantially aerobic environment.

52. A method of partially differentiating hES cells of claim 51 wherein said incubation is carried out in biocompatible container and the container is kept in a horizontal position.

53. A process of preparing a ready to use preparation of hES cells and/or their derivatives for human transplantation comprising:

(a) obtaining hES cells free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media,

(b) centrifuging said stem cells to obtain a pellet, and

(c) suspending the pellet in a biocompatible solution.

54. A process of preparing a ready to use preparation of hES cells and/or their derivatives for human transplantation of claim 53 further comprising:

(d) storing the preparation at about -15°C to about -72°C, and

(e) thawing the stored preparation naturally before transplantation,

wherein the viability of the cells is at least 40% on thawing.

55. A process of preparing a ready to use preparation of hES cells and/or their derivatives for human transplantation of claim 53 or 54 further comprising testing the preparation for any contamination prior to transplantation.

56. A process of preparing a ready to use preparation of hES cells and/or their derivatives for human transplantation of claim 53 wherein the hES cells and/or their derivatives obtained in (a) are produced by the methods of claims 31 or 45.

57. A method of storing a preparation of hES cells and/or their derivatives in a viable condition comprising

(a) taking preparation of hES cells and/or their derivatives prepared by the method of claim 31 or 45,

(b) adding a cryopreservation agent, and

(c) freezing the cells at about -15 to about -72°C.

58. A method of storing a preparation of hES cells and/or their derivatives of claim 57 wherein the ratio of the amount of said cryopreservation agent to that of culture medium is from about 1:500 to about 16:1000.

59. A method of storing a preparation of hES cells and/or their derivatives of claim 57 wherein said storage is in a biocompatible container.

60. A method of storing a preparation of hES cells and/or their derivatives of claim 57 wherein the cells are frozen at about -18 to about -20°C.

61. The use of a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, said cells being free from animal products, feeder

cells, growth factors, leukaemia inhibiting factor, fibroblast growth factor, or conditioned media for preparing a medicament for the treatment of a disease, disorder or condition in a subject.

62. A use of claim 61 wherein the hES cells and/or their derivatives are produced by the method of claim 31 or 45.

63. A use of claim 61 wherein the disease, disorder or condition is selected from the group consisting of cancer, stroke, genetic disorders, liver disorders, developmental disorders, degenerative disorders, familial disorders or traumatic disorders of the nervous system, vascular disorders, skin diseases and disorders, auto immune disorders, eye disorders, kidney disorders, cardiac disorders, musculoskeletal disorders, reproductive and fertility disorders, arthritis and blood disorders.

64. A use of claim 63 wherein the nervous system disorders are developmental nervous system disorders selected from the group consisting of Autism, Cerebral Palsy, Erb's Palsy Mental Retardation and Progressive Supranuclear Palsy.

65. A use of claim 63 wherein the nervous system disorders are degenerative nervous system disorders selected from the group consisting of Alzheimer's Disease, Corticobasal Degeneration, Deafness (Auditory Nerve Atrophy), Dementia, Friedereich's Ataxia, Motor Neuron Disease, Multiple Sclerosis, Olivo Ponto Cerebellar Atrophy, Parkinson's Disease and Spino Cerebellar Ataxia.

66. A use of claim 63 wherein the nervous system disorders are traumas of the nervous system selected from the group consisting of Brain Damage, Coma, Post Electric Shock Encephalopathy, Post Rabies Vaccine Encephalopathy, Spinal Cord Damage or Injury and Vegetative State.

67. A use of claim 63, wherein the nervous system disorders are Cerebro Vascular Accident or Stroke.

68. A use of claim 63 wherein the nervous system disorders are familial conditions selected from the group consisting of Hereditary Spino Motor Neuron Disease and Huntington's Chorea.

69. A use of claim 63 wherein the liver and kidney disorders are selected from the group consisting of Cirrhosis of the Liver, End Stage Renal Disease, Nephrotic Syndrome and Niemann Pick disease.

70. A use of claim 63 wherein the skin disorders are selected from the group consisting of Arthritis, Artherosclerosis, Burns, Non-Healing Ulcers, Pressure Sores, Psoriasis, Systemic Lupus Erythematosus and Sarcoidosis.

71. A use of claim 63 wherein the auto immune disorders are selected from the group consisting of Thrombocytopenia, Systemic Lupus Erythematosus, Sarcoidosis and Ulcerative Colitis.

72. A use of claim 63 wherein the genetic disorders are selected from the group consisting of Down's syndrome, Ankylosing Spondylitis, Thalassemia and Huntington's Chorea.

73. A use of claim 63 wherein the eye disorders are selected from the group consisting of Optic Nerve Atrophy, Pthysis Bulbi, Macular Degeneration, Retinitis Pigmentosa, Corneal Abrasion, Corneal Graft Rejection and Corneal Ulcers.

74. A use of claim 63 wherein the musculoskeletal disorders are selected from the group consisting of Duchenne's Muscular, Dystrophy, Fascio Scapular Muscular Dystrophy, Limb Girdle Dystrophy, Spinal Muscular Atrophy, and Becker's Muscular Dystrophy.

75. A use of claim 63 wherein the cardiac disorders are selected from the group consisting of Myocardial Infarction, Right Bundle Branch Block, Restrictive Cardiomyopathy, Heart failure, Sinus Bradycardia and Coronary Artery disease.

76. A use of claim 63 wherein the oncologic states are selected from the group consisting of Acute Myeloid Leukaemia, Adenocarcinoma of the Adrenal Gland, Astrocytoma, Hepatocellular Carcinoma and Spinal Cord Tumour.

77. A use of claim 63, wherein the disease is Diabetes Mellitus.

78. Use of a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives cultured in media free of animal products, feeder cells, conditioned media, growth factors, leukaemia inhibiting factor, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor or soluble steel factor, for the preparation of a medicament for administration via intramuscular injection or intravenous injection or epidural injection or epidural catheter or retrobulbar injection or subcutaneous injection or intracardiac injection or intracystic injection or intrathecal injection or by topical application or intralesional application or intravenous infusion, or via nebulizer, or via spray, or via intravaginal routes, or via local eye and ear drops.

79. A use of claim 78 wherein the hES cells and/or their derivatives are produced by the method of claim 31 or 45.

80. A use of claim 78 wherein the therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives is about 750,000 to about 160 million cells.

81. A use of claim 78 wherein the hES cells and/or their derivatives comprise hematopoietic stem cell progenitors, neuronal stem cell progenitors, mesenchymal stem cell progenitors, epithelial stem cell progenitors, renal stem cell progenitors, cardiac stem cell progenitors, or hepatic stem cell progenitors, or combinations thereof.

82. A use of claim 78 wherein the disease is selected from the group consisting of cancer, stroke, genetic disorders, liver disorders, developmental disorders, degenerative disorders, familial disorders or traumatic disorders of the nervous system, vascular disorders, skin diseases and disorders, auto immune disorders, eye disorders, kidney disorders, cardiac disorders, musculoskeletal disorders, reproductive and fertility disorders, arthritis and blood disorders.

83. A use of claim 78 wherein the disease, disorder, or condition is selected from the group consisting of Acute Myeloid Leukaemia, Adenocarcinoma, Arthritis, Astrocytoma, Auditory Nerve Atrophy, Autism, Auto Immune Disorders, Alzheimer's disease, Ankylosing Spondylitis, Becker's Muscular Dystrophy, Brain Damage, Burns, Cerebro Vascular Accident, Cerebral Palsy, Coma, Corneal Ulcers, Corneal Graft Rejection, Cortico-Basal Degeneration of the Nervous System, Coronary Artery Disease, Diabetes, Dementia, Downs Syndrome, Duchenne's Muscular Dystrophy, End-Stage Renal Disease, Erb's Palsy, Fascio Scapular Muscular Dystrophy, Fertility Disorders, Friedereich's Ataxia, Heart Failure, Hepato Cellular Carcinoma, Hereditary Spino Motor Neuron Disease, Huntington's Chorea, Krabbe's Disease, Limb Girdle Dystrophy, Liver Cirrhosis, Macular Degeneration, Mental Retardation, Multiple Sclerosis, Motor Neuron Disease, Myocardial Infarction, Nephrotic Syndrome, Niemann Pick Disease, Non-Healing Ulceration of the Skin, Olivo-Ponto Cerebellar Atrophy, Optic Nerve Atrophy, Parkinson's Disease, Post Electric Shock Encephalopathy, Post-Rabies Vaccine Encephalopathy, Pressure Sores, Progressive Supranuclear Palsy, Psoriasis, Pthysis Bulbi, Restrictive Cardiomyopathy, Retinitis Pigmentosa, Right Bundle Branch Block, Sarcoidosis, Sinus Bradycardia, Spinal Cord Tumour, Spinal Muscular Dystrophy, Spino Cerebellar Ataxia, Steven Johnson's Syndrome, Systemic Lupus Erythematosus, Thrombocytopenia, Thalassemia, Ulcerative Colitis, Vegetative State, Cystic Fibrosis, Interstitial Lung Disease, Azoospermia, Primary Ovarian Failure, Aphthous Ulcers, Hormone Imbalance, Osteo-Arthritis, Horner's Syndrome and Osteogenic Imperfecta, Channelopathy, and Hypogammaglobulinemia.

84. A use of claim 78 wherein the administration of hES cells and/or their derivatives does not cause tumours, teratomas, or chromosomal changes.

85. Use of hES cells and/or their derivatives for the preparation of a medicament for the treatment of Spinal Cord Injury (SCI) of a subject by a method comprising:

(a) administering about 750,000 to about 80 million hES cells and/or their derivatives via sub-cutaneous injection;

(b) repeating step (a) after a pre-determined period and thereafter administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives via intramuscular injection;

(c) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and hematopoietic stem cell progenitors, via intravenous injection or infusion;

(d) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, via epidural injection and repeating said dose after a pre-determined period depending upon the condition of the subject as assessed by clinical and/or neurological examination;

(e) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, via caudal injection;

(f) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors via intrathecal injection or sub arachnoid block catheter;

(g) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors via epidural injection or epidural catheter;

(h) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives via deep spinal injection on either side of the spine; and

(i) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives via intravenous infusion;

(j) wherein steps (a) and (b) are carried out first and the remaining steps may be carried out in any order.

86. A use of claim 85 further comprising repeating step (f) followed by step (g), until the subject exhibits clinical signs of recovery from said SCI.

87. A use of claim 85 wherein the hES cells and/or their derivatives are produced by the method of claim 31 or 45.

88. A use of claim 85 wherein about 750,000 to about 80 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors and neuronal stem cell progenitors, are suspended in 0.25 to 1.0 ml of a biocompatible solution in step (a) and step (b).

89. A use of claim 85 wherein about 750,000 to about 11 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors and neuronal stem cell progenitors, are suspended in 2.0 to 4.0 ml of a biocompatible solution in step (f).

90. A use of claim 85 wherein about 750,000 to about 80 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors and neuronal stem cell progenitors, are suspended in 15 to 40 ml of a biocompatible solution in step (g).

91. A use of claim 85 wherein said treatment of subjects with SCI results in the amelioration of bed sores.

92. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for administration via intravenous injection, subcutaneous injection,

intramuscular injection, intrathecal injection, epidural catheter infusion or sub arachnoid block catheter infusion for the treatment of developmental, degenerative, familial and traumatic nervous system disorders and cerebrovascular attach.

93. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of skin disorders via subcutaneous or intravenous injection.

94. A use of claim 93 wherein said hES cells and/or progenitors are mixed in a biocompatible carrier to be applied to the damaged skin.

95. A use of claim 94 wherein said biocompatible carrier is a gel, ointment, paste or aerosol spray.

96. Use of about 750,000 to about 80 million hES cells and/or their derivatives for the preparation of a medicament for the treatment of bed sores via local or topical application and via intramuscular injection.

97. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives for the prepearation of a medicament for the treatment of auto immune disorders via intramuscular injection, intravenous injection, subcutaneous injection, intra-articular injection or intravenous infusion or combinations thereof.

98. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of genetic disorders via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, intrathecal injection, epidural catheter infusion or sub arachnoid block catheter infusion or combinations thereof.

99. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives for the preparation of a medicament for the treatment of gangrene via intravenous injection, intramuscular injection, or local application at the junction of viable and dead tissue or combinations thereof.

100. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives for the preparation of a medicament for the treatment of conditions associated with ageing via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, local application in suspension or mixed in a biocompatible carrier.

101. A use of claim 100 wherein said biocompatible carrier is a gel, ointment, paste or aerosol spray.

102. Use of about 750,000 to about 160 million human embryonic insulin producing progenitor cells for the preparation of a medicament for the treatement of Diabetes Mellitus via intravenous or intramuscular injection or both.

103. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for treating Cardiovascular Disorders via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, intracardiac injection, angiography, or direct injection, or combinations thereof.

104. Use of claim 102 wherein said administration is during angiography.

105. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors, albumin producing stem cell progenitors and bilirubin producing stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of Liver and Kidney Disorders via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, intravenous infusion, or local injection, or combinations thereof.

106. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of Fertility and Reproductive Disorders via local intramuscular injection, intratesticular injection, or through subcutaneous skin injection near the epididymis, or combinations thereof.

107. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of Musculoskeletal Disorders via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, or intravenous catheter infusion, or combinations thereof.

108. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, hematopoietic stem cell progenitors and/or mesenchymal stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of Eye Disorders via local intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, retrobulbar injection, intravitreous injection or topical application, or combinations thereof.

109. Use of claim 108 wherein about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors are administered via retrobulbar injection.

110. Use of claim 108 wherein about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors are administered via intravitreous injection.

111. Use of claim 108 wherein about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise mesenchymal stem cell progenitors are applied to contact lenses for the treatment of corneal abrasion.

112. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of Lung Disorders via intramuscular injection, intravenous injection, spray, or nebulizer, or combinations thereof.

113. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of Hormone Disorders via intramuscular injection or intravenous injection, or combinations thereof.

114. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of Aphthous Ulcers via intramuscular injection or intravenous injection, or combinations thereof.

115. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of Osteo-arthritis of the knee and hip joint via intramuscular injection, intravenous injection, or intra-articular injection, or combinations thereof.

116. A method for testing the effect of a compound on hES cells and/or their derivatives, comprising culturing hES cells and/or their derivatives obtained by the method of claim 31 or 45 in the presence of the compound and determining the effect of the compound on the cells.

117. Use of hES cells and/or their derivatives obtained by the method of claim 31 or 45, in the preparation of a medicament for the delivery of a drug to a subject, wherein the cells take up the drug in the presence of the drug, and wherein the cells are administered to a site in the subject, the drug is delivered.

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
13 December 2007 (13.12.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/141657 A3

(51) International Patent Classification:
A61K 35/48 (2006.01) *C12N 5/06* (2006.01)
A61K 35/12 (2006.01) *A61P 25/00* (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/IB2007/002292

(22) International Filing Date: 6 March 2007 (06.03.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

582/DEL/2006	7 March 2006 (07.03.2006)	IN
1500/DEL/2006	26 June 2006 (26.06.2006)	IN
60/844,350	14 September 2006 (14.09.2006)	US

(71) Applicant and
(72) Inventor: **SHROFF, Geeta** [IN/IN]; 487 Hardevpuri, Gautam Nagar, New Delhi 115049 (IN).

(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— *with international search report*
— *with amended claims*

(88) Date of publication of the international search report:
24 April 2008

Date of publication of the amended claims: 31 July 2008

(54) Title: COMPOSITIONS COMPRISING HUMAN EMBRYONIC STEM CELLS AND THEIR DERIVATIVES, METHODS OF USE, AND METHODS OF PREPARATION

(57) Abstract: The present invention relates to a pharmaceutical composition comprising of preparations of human embryonic stem (hES) cells and their derivatives and methods for their transplantation into the human body, wherein transplantation results in the clinical reversal of symptoms, cure, stabilization or arrest of degeneration of a wide variety of presently incurable and terminal medical conditions, diseases and disorders. The invention further relates to novel processes of preparing novel stem cell lines which are free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media. This invention further relates to the isolation, culture, maintenance, expansion, differentiation, storage, and preservation of such stem cells.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2007/002292

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K35/48 A61K35/12 C12N5/06 A61P25/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, EMBASE, BIOSIS, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WANG W-H ET AL: "Human embryonic stem cell lines are contaminated: What should we do?" HUMAN REPRODUCTION 2005 UNITED KINGDOM, vol. 20, no. 11, 2005, pages 2987-2989, XP002466325 ISSN: 0268-1161 1460-2350	28,29
Y	the whole document page 2988, left-hand column, last paragraph	21-27, 30, 61-84, 92-116

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
4 February 2008	18/02/2008

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	MATEO ROSELL, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2007/002292

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02/18549 A (MARIA BIOTECH CO LTD [KR]) 7 March 2002 (2002-03-07)	28,29
Y	abstract page 10, line 23 - page 12, line 5 page 14, line 28 - page 15, line 1 page 17, line 21 - page 19, line 31; example 7	21-27, 30; 61-84, 92-116
Y	AMIT M ET AL: "Feeder Layer- and Serum-Free Culture of Human Embryonic Stem Cells" BIOLOGY OF REPRODUCTION 2004 UNITED STATES, vol. 70, no. 3, 2004, pages 837-845, XP002466324 ISSN: 0006-3363 abstract page 837, left-hand column, paragraph 1 - page 838, left-hand column, paragraph 1 page 842, left-hand column, paragraph 2 - page 844, right-hand column, last paragraph	21-27, 61-84, 92-116
Y	KLIMANSKAYA I ET AL: "Human embryonic stem cells derived without feeder cells" LANCET THE, LANCET LIMITED. LONDON, GB, vol. 365, no. 9471, 7 May 2005 (2005-05-07), pages 1636-1641, XP004882308 ISSN: 0140-6736 abstract page 1636, left-hand column, paragraph 1 - page 1638, right-hand column, last paragraph page 1640, right-hand column, paragraph 2 - page 1641, left-hand column, paragraph 2	21-27, 61-84, 92-116
Y	STOJKOVIC P ET AL: "HUMAN-SERUM MATRIX SUPPORTS UNDIFFERENTIATED GROWTH OF HUMAN EMBRYONIC STEM CELLS" STEM CELLS, ALPHAMED PRESS, DAYTON, OH, US, vol. 23, no. 7, August 2005 (2005-08), pages 895-902, XP009065121 ISSN: 1066-5099 abstract page 895, left-hand column, paragraph 1 - page 896, right-hand column, paragraph 1 page 900, left-hand column, paragraph 1 - page 901, right-hand column, paragraph 1	21-27, 61-84, 92-116

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2007/002292

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EZASHI T ET AL: "Low O2 tensions and the prevention of differentiation of hES cells" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 29 MAR 2005 UNITED STATES, vol. 102, no. 13, 29 March 2005 (2005-03-29), pages 4783-4788, XP002466326 ISSN: 0027-8424 abstract page 4783, left-hand column, paragraph 2 - right-hand column, paragraph 2; figure 1 page 4787, right-hand column, paragraph 3 - page 4788, right-hand column, paragraph 2	21-27, 61-84, 92-116
Y	WO 2004/007696 A (NISTOR GABRIEL I [US]; KEIRSTEAD HANS S [US]; UNIV CALIFORNIA [US]) 22 January 2004 (2004-01-22) abstract page 3, lines 15-25 page 10, line 34 - page 20, line 2; examples 1-5	21-27, 61-84, 92-116
Y	WO 2004/081172 A (RELIANCE LIFE SCIENCES PVT LTD [IN]; TOTEY SATISH MAHADEORAO [IN]; RAV) 23 September 2004 (2004-09-23) abstract page 7, paragraph 18 page 8, paragraph 20 - page 11, paragraph 29 page 35, paragraph 94 - page 46, paragraph 129	21-27, 61-84, 92-116
Y	ZHANG S-C ET AL: "In vitro differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells" NATURE BIOTECHNOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP, NEW YORK, NY, US, vol. 19, no. 12, December 2001 (2001-12), pages 1129-1133, XP002268706 ISSN: 1087-0156 abstract page 1130, right-hand column, paragraph 2 - page 1131, left-hand column, paragraph 2 page 1132, right-hand column, paragraph 2 - page 1133, right-hand column, paragraph 2	21-27, 61-84, 92-116

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2007/002292

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	REUBINOFF B E ET AL: "Neural progenitors from human embryonic stem cells" NATURE BIOTECHNOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP, NEW YORK, NY, US, vol. 19, no. 12, December 2001 (2001-12), pages 1134-1140, XP002971362 ISSN: 1087-0156 abstract page 1138, right-hand column, paragraph 1 - page 1139, left-hand column, paragraph 2	21-27, 61-84, 92-116
Y	MCDONALD J W ET AL: "TRANSPLANTED EMBRYONIC STEM CELLS SURVIVE, DIFFERENTIATE AND PROMOTE RECOVERY IN INJURED RAT SPINAL CORD" NATURE MEDICINE, NATURE AMERICA, NEW YORK, US, vol. 5, no. 12, December 1999 (1999-12), pages 1410-1412, XP002933176 ISSN: 1078-8956 cited in the application abstract page 1411, left-hand column, paragraph 4 - page 1412, right-hand column, paragraph 4	21-27, 61-84, 92-116
Y	HARPER J M ET AL: "Axonal growth of embryonic stem cell-derived motoneurons in vitro and in motoneuron-injured adult rats" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 04 MAY 2004 UNITED STATES, vol. 101, no. 18, 4 May 2004 (2004-05-04), pages 7123-7128, XP002466977 ISSN: 0027-8424 cited in the application abstract page 7123, left-hand column, paragraph 1 - right-hand column, paragraph 2; figures 1-3 page 7127, right-hand column, paragraph 2 - page 7128, right-hand column, paragraph 2	21-27, 61-84, 92-116

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2007/002292

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KERR D A ET AL: "Human embryonic germ cell derivatives facilitate motor recovery of rats with diffuse motor neuron injury" JOURNAL OF NEUROSCIENCE 15 JUN 2003 UNITED STATES, vol. 23, no. 12, 15 June 2003 (2003-06-15), pages 5131-5140, XP002466978 ISSN: 0270-6474 cited in the application abstract page 5138, right-hand column, paragraph 3 - page 5139, right-hand column, paragraph 1	21-27, 61-84, 92-116
Y	US 2002/019046 A1 (CARPENTER MELISSA K [US] ET AL) 14 February 2002 (2002-02-14) page 2, paragraph 23 - page 3, paragraph 30 page 6, paragraph 73 - page 11, paragraph 119; examples 1-5	21-27, 61-84, 92-116
Y	WO 2005/099758 A (STANDARD OIL CO [US]; KOFIDIS THEODOROS [DE] TRUSTEES THE LELAND STAND) 27 October 2005 (2005-10-27) abstract page 1, lines 5-10 page 7, line 6 - page 10, line 20; examples I-V	21-27, 61-84, 92-116
Y	GERECHT-NIR S ET AL: "The promise of human embryonic stem cells" BAILLIERE'S BEST PRACTICE AND RESEARCH. CLINICAL OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY, BAILLIERE TINDALL, LONDON, GB, vol. 18, no. 6, December 2004 (2004-12), pages 843-852, XP004664903 ISSN: 1521-6934 the whole document	21-27, 61-84, 92-116
Y	SCHULDINER MAYA ET AL: "Effects of eight growth factors on the differentiation of cells derived from human embryonic stem cells" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, DC, US, vol. 97, no. 21, 10 October 2000 (2000-10-10), pages 11307-11312, XP002184277 ISSN: 0027-8424 the whole document	21-27, 61-84, 92-116

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2007/002292

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	RICHARDS M ET AL: "An efficient and safe Xeno-Free Cryopreservation method for the storage of human embryonic stem cells" STEM CELLS, ALPHAMED PRESS, DAYTON, OH, US, vol. 22, no. 5, 2004, pages 779-789, XP002376917 ISSN: 1066-5099 the whole document	21-27, 61-84, 92-116
A	HONG S H ET AL: "Expression of estrogen receptor-[alpha] and -[beta], glucocorticoid receptor, and progesterone receptor genes in human embryonic stem cells and embryoid bodies" MOLECULES AND CELLS 31 DEC 2004 GERMANY, vol. 18, no. 3, 31 December 2004 (2004-12-31), pages 320-325, XP002466327 ISSN: 1016-8478 the whole document	31-52
A	SHI Q J ET AL: "Novel role of human chorionic gonadotropin in differentiation of human cytotrophoblasts" ENDOCRINOLOGY 1993 UNITED STATES, vol. 132, no. 3, 1993, pages 1387-1395, XP002466328 ISSN: 0013-7227 the whole document	31-52
A	GERAMI-NAINI BEHZAD ET AL: "Trophoblast differentiation in embryoid bodies derived from human embryonic stem cells." ENDOCRINOLOGY APR 2004, vol. 145, no. 4, April 2004 (2004-04), pages 1517-1524, XP002466329 ISSN: 0013-7227 the whole document	31-52
T	G.S. MUDUR: "BIG WONDER CELLS MESS - Medical research guidelines in India leave doctors free to do what they wish" INTERNET CITATION, [Online] 20 November 2005 (2005-11-20), XP002466330 Retrieved from the Internet: URL:http://www.telegraphindia.com/1051120/asp/opinion/story_5496960.asp> the whole document	

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2007/002292

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
T	"The Stem Cell 'Miracles'" INTERNET CITATION, [Online] 23 May 2006 (2006-05-23), pages 1-5, XP002466331 Retrieved from the Internet: URL:http://sci.rutgers.edu/forum/showthread.php?t=57401> the whole document	
T	MANNELLO F ET AL: "Concise review: No breakthroughs for human mesenchymal and embryonic stem cell culture: Conditioned medium, feeder layer, or feeder-free; medium with fetal calf serum, human serum, or enriched plasma; serum-free, serum replacement nonconditioned medium, or ad hoc formula? All that glitters is not go" STEM CELLS 2007 UNITED STATES, vol. 25, no. 7, 2007, pages 1603-1609, XP002466979 ISSN: 1066-5099 the whole document	
T	SKOTTMAN HELI ET AL: "Culture conditions for human embryonic stem cells" REPRODUCTION (CAMBRIDGE), vol. 132, no. 5, November 2006 (2006-11), pages 691-698, XP002466980 ISSN: 1470-1626 the whole document	
T	DE SOUSA PAUL A ET AL: "The road to providing human embryo stem cells for therapeutic use: the UK experience" REPRODUCTION (CAMBRIDGE), vol. 132, no. 5, November 2006 (2006-11), pages 681-689, XP002466981 ISSN: 1470-1626 the whole document	
T	GRUEN LORI ET AL: "Concise review: Scientific and ethical roadblocks to human embryonic stem cell therapy" STEM CELLS (MIAMISBURG), vol. 24, no. 10, October 2006 (2006-10), pages 2162-2169, XP002466982 ISSN: 1066-5099 the whole document	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IB2007/002292

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. [X] Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 61-114 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

2. [ ] Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International search can be carried out, specifically:

3. [ ] Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. [ ] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers allsearchable claims.

2. [ ] As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. [ ] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search reportcovers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. [ ] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

[ ] No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/IB2007/002292

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0218549 A	07-03-2002	AU 785428 B2	17-05-2007
		AU 6556501 A	07-03-2002
		CN 1350059 A	22-05-2002
		US 2002045259 A1	18-04-2002
WO 2004007696 A	22-01-2004	AU 2003250477 A1	02-02-2004
		CA 2489203 A1	22-01-2004
		EP 1523549 A2	20-04-2005
		GB 2407822 A	11-05-2005
		JP 2005532079 T	27-10-2005
		US 2004009593 A1	15-01-2004
		US 2005101014 A1	12-05-2005
WO 2004081172 A	23-09-2004	AU 2004219851 A1	23-09-2004
		BR PI0408733 A	07-03-2006
		CA 2518577 A1	23-09-2004
		EP 1613726 A2	11-01-2006
		JP 2006521807 T	28-09-2006
		KR 20060010725 A	02-02-2006
		US 2006211109 A1	21-09-2006
US 2002019046 A1	14-02-2002	NONE	
WO 2005099758 A	27-10-2005	NONE	

AMENDED CLAIMS
Received by the International Bureau on 11 April 2008 (11.04.08)

membrane associated steel factor and/ or soluble steel factor or conditioned media, obtained by entrapping said hES cells and/or their derivatives in a biocompatible, selectively permeable structure or matrix.

23. A composition of matter of claim 22 wherein the hES cells and/or their derivatives comprise hematopoietic stem cell progenitors.

24. A composition of matter of claim 22 wherein the hES cells and/or their derivatives comprise neuronal stem cell progenitors.

25. A composition of matter of claim 22 wherein the hES cells and/or their derivatives comprise a combination of hematopoietic stem cells and neuronal stem cell progenitors.

26. A composition of matter of claim 22 wherein the biocompatible, selectively permeable structure or matrix is selected from the group consisting of biopolymers, polypeptides, proteins, polysaccharides, fibronectin, collagen, laminin, keratin, fibrin, fibrinogen, hyaluronic acid, heparin sulfate, chondroitin sulfate, agarose, and gelatin.

27. A composition of matter of claim 22 wherein the hES cells and/or their derivatives are entrapped in a mixture of agarose and collagen or a mixture of agarose and gelatin.

28. A method for isolating hES cells, comprising:

(a) collecting a 2 to 7 day old embryo in a medium consisting of minimal essential medium,

(b) isolating hES cells from the embryo by mechanical means.

29. A method of claim 28, wherein said embryo is a 2 day old embryo.

30. A method of claim 28, wherein said mechanical means is shaking.

31. A method of expanding hES cells free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor,

37. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein the hES cells used are isolated from a 3 day old embryo via mechanical means.

38. A method of expanding hES cells of claim 31 further comprising the step of testing the expanded stem cells for any contamination.

39. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein said culture process is carried out in biocompatible containers.

40. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein the ratio of the aliquot of incubated stem cells to the cell medium is about 1:3.5 to about 1:35.

41. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein said incubation is carried out in substantially anaerobic environment.

42. A method of expanding hES cells of claim 41 wherein said incubation is carried out in biocompatible container where the volume is almost completely occupied by the medium and the container is kept in a vertical position.

43. A method of partially differentiating hES cells free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media, comprising the steps of:

(a) introducing hES cells in a cell culture medium consisting of minimal essential medium; and

(b) incubating the stem cells at a temperature of about 34°C to about 38°C in an environment of about 3.5% to about 6% carbon dioxide for about 12 hours to about 48 hours.

44. A method of partially differentiating hES cells of claim 43 wherein said cell culture medium is RPMI or DMEM.

45. A method of partially differentiating hES cells of claim 43 wherein said incubation is carried out in a water jacketed cell culture incubator.

(d) storing the preparation at about -15°C to about -72°C, and

(e) thawing the stored preparation naturally before transplantation,

wherein the viability of the cells is at least 40% on thawing.

55. A process of preparing a ready to use preparation of hES cells and/or their derivatives for human transplantation of claim 53 or 54 further comprising testing the preparation for any contamination prior to transplantation.

56. A process of preparing a ready to use preparation of hES cells and/or their derivatives for human transplantation of claim 53 wherein the hES cells and/or their derivatives obtained in (a) are produced by the methods of claims 31 or 45.

57. A method of storing a preparation of hES cells and/or their derivatives in a viable condition comprising

(a) taking preparation of hES cells and/or their derivatives prepared by the method of claim 31 or 45,

(b) adding a cryopreservation agent, and

(c) freezing the cells at about -15 to about -72°C.

58. A method of storing a preparation of hES cells and/or their derivatives of claim 57 wherein the ratio of the amount of said cryopreservation agent to that of culture medium is from about 1:500 to about 16:1000.

59. A method of storing a preparation of hES cells and/or their derivatives of claim 57 wherein said storage is in a biocompatible container.

60. A method of storing a preparation of hES cells and/or their derivatives of claim 57 wherein the cells are frozen at about -18 to about -20°C.

61. The use of a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, said cells being free from animal products, feeder

cells, growth factors, leukaemia inhibiting factor, fibroblast growth factor, or conditioned media for preparing a medicament for the treatment of a disease, disorder or condition in a subject.

62. A use of claim 61 wherein the hES cells and/or their derivatives are produced by the method of claim 31 or 45.

63. A use of claim 61 wherein the disease, disorder or condition is selected from the group consisting of cancer, stroke, genetic disorders, liver disorders, developmental disorders, degenerative disorders, familial disorders or traumatic disorders of the nervous system, vascular disorders, skin diseases and disorders, auto immune disorders, eye disorders, kidney disorders, cardiac disorders, musculoskeletal disorders, reproductive and fertility disorders, arthritis and blood disorders.

64. A use of claim 63 wherein the nervous system disorders are developmental nervous system disorders selected from the group consisting of Autism, Cerebral Palsy, Erb's Palsy Mental Retardation and Progressive Supranuclear Palsy.

65. A use of claim 63 wherein the nervous system disorders are degenerative nervous system disorders selected from the group consisting of Alzheimer's Disease, Corticobasal Degeneration, Deafness (Auditory Nerve Atrophy), Dementia, Friedereich's Ataxia, Motor Neuron Disease, Multiple Sclerosis, Olivo Ponto Cerebellar Atrophy, Parkinson's Disease and Spino Cerebellar Ataxia.

66. A use of claim 63 wherein the nervous system disorders are traumas of the nervous system selected from the group consisting of Brain Damage, Coma, Post Electric Shock Encephalopathy, Post Rabies Vaccine Encephalopathy, Spinal Cord Damage or Injury and Vegetative State.

67. A use of claim 63, wherein the nervous system disorders are Cerebro Vascular Accident or Stroke.

68. A use of claim 63 wherein the nervous system disorders are familial conditions selected from the group consisting of Hereditary Spino Motor Neuron Disease and Huntington's Chorea.

69. A use of claim 63 wherein the liver and kidney disorders are selected from the group consisting of Cirrhosis of the Liver, End Stage Renal Disease, Nephrotic Syndrome and Niemann Pick disease.

70. A use of claim 63 wherein the skin disorders are selected from the group consisting of Arthritis, Artherosclerosis, Burns, Non-Healing Ulcers, Pressure Sores, Psoriasis, Systemic Lupus Erythematosus and Sarcoidosis.

71. A use of claim 63 wherein the auto immune disorders are selected from the group consisting of Thrombocytopenia, Systemic Lupus Erythematosus, Sarcoidosis and Ulcerative Colitis.

72. A use of claim 63 wherein the genetic disorders are selected from the group consisting of Down's syndrome, Ankylosing Spondylitis, Thalassemia and Huntington's Chorea.

73. A use of claim 63 wherein the eye disorders are selected from the group consisting of Optic Nerve Atrophy, Pthysis Bulbi, Macular Degeneration, Retinitis Pigmentosa, Corneal Abrasion, Corneal Graft Rejection and Corneal Ulcers.

74. A use of claim 63 wherein the musculoskeletal disorders are selected from the group consisting of Duchenne's Muscular, Dystrophy, Fascio Scapular Muscular Dystrophy, Limb Girdle Dystrophy, Spinal Muscular Atrophy, and Becker's Muscular Dystrophy.

75. A use of claim 63 wherein the cardiac disorders are selected from the group consisting of Myocardial Infarction, Right Bundle Branch Block, Restrictive Cardiomyopathy, Heart failure, Sinus Bradycardia and Coronary Artery disease.

76. A use of claim 63 wherein the oncologic states are selected from the group consisting of Acute Myeloid Leukaemia, Adenocarcinoma of the Adrenal Gland, Astrocytoma, Hepatocellular Carcinoma and Spinal Cord Tumour.

77. A use of claim 63, wherein the disease is Diabetes Mellitus.

78. Use of a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives cultured in media free of animal products, feeder cells, conditioned media, growth factors, leukaemia inhibiting factor, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor or soluble steel factor, for the preparation of a medicament for administration via intramuscular injection or intravenous injection or epidural injection or epidural catheter or retrobulbar injection or subcutaneous injection or intracardiac injection or intracystic injection or intrathecal injection or by topical application or intralesional application or intravenous infusion, or via nebulizer, or via spray, or via intravaginal routes, or via local eye and ear drops.

79. A use of claim 78 wherein the hES cells and/or their derivatives are produced by the method of claim 31 or 45.

80. A use of claim 78 wherein the therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives is about 750,000 to about 160 million cells.

81. A use of claim 78 wherein the hES cells and/or their derivatives comprise hematopoietic stem cell progenitors, neuronal stem cell progenitors, mesenchymal stem cell progenitors, epithelial stem cell progenitors, renal stem cell progenitors, cardiac stem cell progenitors, or hepatic stem cell progenitors, or combinations thereof.

82. A use of claim 78 wherein the disease is selected from the group consisting of cancer, stroke, genetic disorders, liver disorders, developmental disorders, degenerative disorders, familial disorders or traumatic disorders of the nervous system, vascular disorders, skin diseases and disorders, auto immune disorders, eye disorders, kidney disorders, cardiac disorders, musculoskeletal disorders, reproductive and fertility disorders, arthritis and blood disorders.

83. A use of claim 78 wherein the disease, disorder, or condition is selected from the group consisting of Acute Myeloid Leukaemia, Adenocarcinoma, Arthritis, Astrocytoma, Auditory Nerve Atrophy, Autism, Auto Immune Disorders, Alzheimer's disease, Ankylosing Spondylitis, Becker's Muscular Dystrophy, Brain Damage, Burns, Cerebro Vascular Accident, Cerebral Palsy, Coma, Corneal Ulcers, Corneal Graft Rejection, Cortico-Basal Degeneration of the Nervous System, Coronary Artery Disease, Diabetes, Dementia, Downs Syndrome, Duchenne's Muscular Dystrophy, End-Stage Renal Disease, Erb's Palsy, Fascio Scapular Muscular Dystrophy, Fertility Disorders, Friedereich's Ataxia, Heart Failure, Hepato Cellular Carcinoma, Hereditary Spino Motor Neuron Disease, Huntington's Chorea, Krabbe's Disease, Limb Girdle Dystrophy, Liver Cirrhosis, Macular Degeneration, Mental Retardation, Multiple Sclerosis, Motor Neuron Disease, Myocardial Infarction, Nephrotic Syndrome, Niemann Pick Disease, Non-Healing Ulceration of the Skin, Olivo-Ponto Cerebellar Atrophy, Optic Nerve Atrophy, Parkinson's Disease, Post Electric Shock Encephalopathy, Post-Rabies Vaccine Encephalopathy, Pressure Sores, Progressive Supranuclear Palsy, Psoriasis, Pthysis Bulbi, Restrictive Cardiomyopathy, Retinitis Pigmentosa, Right Bundle Branch Block, Sarcoidosis, Sinus Bradycardia, Spinal Cord Tumour, Spinal Muscular Dystrophy, Spino Cerebellar Ataxia, Steven Johnson's Syndrome, Systemic Lupus Erythematosus, Thrombocytopenia, Thalassemia, Ulcerative Colitis, Vegetative State, Cystic Fibrosis, Interstitial Lung Disease, Azoospermia, Primary Ovarian Failure, Aphthous Ulcers, Hormone Imbalance, Osteo-Arthritis, Horner's Syndrome and Osteogenic Imperfecta, Channelopathy, and Hypogammaglobulinemia.

84. A use of claim 78 wherein the administration of hES cells and/or their derivatives does not cause tumours, teratomas, or chromosomal changes.

85. Use of hES cells and/or their derivatives for the preparation of a medicament for the treatment of Spinal Cord Injury (SCI) of a subject by a method comprising:

(a) administering about 750,000 to about 80 million hES cells and/or their derivatives via sub-cutaneous injection;

(b) repeating step (a) after a pre-determined period and thereafter administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives via intramuscular injection;

(c) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and hematopoietic stem cell progenitors, via intravenous injection or infusion;

(d) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, via epidural injection and repeating said dose after a pre-determined period depending upon the condition of the subject as assessed by clinical and/or neurological examination;

(e) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, via caudal injection;

(f) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors via intrathecal injection or sub arachnoid block catheter;

(g) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors via epidural injection or epidural catheter;

(h) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives via deep spinal injection on either side of the spine; and

(i) administering a therapeutically effective amount of hBS cells and/or their derivatives via intravenous infusion;

(j) wherein steps (a) and (b) are carried out first and the remaining steps may be carried out in any order.

86. A use of claim 85 further comprising repeating step (f) followed by step (g), until the subject exhibits clinical signs of recovery from said SCI.

87. A use of claim 85 wherein the hES cells and/or their derivatives are produced by the method of claim 31 or 45.

88. A use of claim 85 wherein about 750,000 to about 80 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors and neuronal stem cell progenitors, are suspended in 0.25 to 1.0 ml of a biocompatible solution in step (a) and step (b).

89. A use of claim 85 wherein about 750,000 to about 11 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors and neuronal stem cell progenitors, are suspended in 2.0 to 4.0 ml of a biocompatible solution in step (f).

90. A use of claim 85 wherein about 750,000 to about 80 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors and neuronal stem cell progenitors, are suspended in 15 to 40 ml of a biocompatible solution in step (g).

91. A use of claim 85 wherein said treatment of subjects with SCI results in the amelioration of bed sores.

92. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for administration via intravenous injection, subcutaneous injection,

intramuscular injection, intrathecal injection, epidural catheter infusion or sub arachnoid block catheter infusion for the treatment of developmental, degenerative, familial and traumatic nervous system disorders and cerebrovascular attach.

93. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of skin disorders via subcutaneous or intravenous injection.

94. A use of claim 93 wherein said hES cells and/or progenitors are mixed in a biocompatible carrier to be applied to the damaged skin.

95. A use of claim 94 wherein said biocompatible carrier is a gel, ointment, paste or aerosol spray.

96. Use of about 750,000 to about 80 million hES cells and/or their derivatives for the preparation of a medicament for the treatment of bed sores via local or topical application and via intramuscular injection.

97. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives for the prepearation of a medicament for the treatment of auto immune disorders via intramuscular injection, intravenous injection, subcutaneous injection, intra-articular injection or intravenous infusion or combinations thereof.

98. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of genetic disorders via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, intrathecal injection, epidural catheter infusion or sub arachnoid block catheter infusion or combinations thereof.

99. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives for the preparation of a medicament for the treatment of gangrene via intravenous injection, intramuscular injection, or local application at the junction of viable and dead tissue or combinations thereof.

100. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives for the preparation of a medicament for the treatment of conditions associated with ageing via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, local application in suspension or mixed in a biocompatible carrier.

101. A use of claim 100 wherein said biocompatible carrier is a gel, ointment, paste or aerosol spray.

102. Use of about 750,000 to about 160 million human embryonic insulin producing progenitor cells for the preparation of a medicament for the treatement of Diabetes Mellitus via intravenous or intramuscular injection or both.

103. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for treating Cardiovascular Disorders via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, intracardiac injection, angiography, or direct injection, or combinations thereof.

104. Use of claim 102 wherein said administration is during angiography.

105. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors, albumin producing stem cell progenitors and bilirubin producing stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of Liver and Kidney Disorders via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, intravenous infusion, or local injection, or combinations thereof.

106. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of Fertility and Reproductive Disorders via local intramuscular injection, intratesticular injection, or through subcutaneous skin injection near the epididymis, or combinations thereof.

107. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of Musculoskeletal Disorders via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, or intravenous catheter infusion, or combinations thereof.

108. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, hematopoietic stem cell progenitors and/or mesenchymal stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of Eye Disorders via local intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, retrobulbar injection, intravitreous injection or topical application, or combinations thereof.

109. Use of claim 108 wherein about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors are administered via retrobulbar injection.

110. Use of claim 108 wherein about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors are administered via intravitreous injection.

111. Use of claim 108 wherein about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise mesenchymal stem cell progenitors are applied to contact lenses for the treatment of corneal abrasion.

112. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of Lung Disorders via intramuscular injection, intravenous injection, spray, or nebulizer, or combinations thereof.

113. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of Hormone Disorders via intramuscular injection or intravenous injection, or combinations thereof.

114. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of Aphthous Ulcers via intramuscular injection or intravenous injection, or combinations thereof.

115. Use of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, for the preparation of a medicament for the treatment of Osteo-arthritis of the knee and hip joint via intramuscular injection, intravenous injection, or intra-articular injection, or combinations thereof.

116. A method for testing the effect of a compound on hES cells and/or their derivatives, comprising culturing hES cells and/or their derivatives obtained by the method of claim 31 or 45 in the presence of the compound and determining the effect of the compound on the cells.

117. Use of hES cells and/or their derivatives obtained by the method of claim 31 or 45, in the preparation of a medicament for the delivery of a drug to a subject, wherein the cells take up the drug in the presence of the drug, and wherein the cells are administered to a site in the subject, the drug is delivered.

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
13 December 2007 (13.12.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/141657 A3

(51) International Patent Classification:
A61K 35/48 (2006.01) *C12N 5/06* (2006.01)
A61K 35/12 (2006.01) *A61P 25/00* (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/IB2007/002292

(22) International Filing Date: 6 March 2007 (06.03.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

582/DEL/2006	7 March 2006 (07.03.2006)	IN
1500/DEL/2006	26 June 2006 (26.06.2006)	IN
60/844,350	14 September 2006 (14.09.2006)	US

(71) Applicant and
(72) Inventor: **SHROFF, Geeta** [IN/IN]; 487 Hardevpuri, Gautam Nagar, New Delhi 115049 (IN).

(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM); European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— *with international search report*
— *before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments*

(88) Date of publication of the international search report:
24 April 2008

WO 2007/141657 A3

(54) Title: COMPOSITIONS COMPRISING HUMAN EMBRYONIC STEM CELLS AND THEIR DERIVATIVES, METHODS OF USE, AND METHODS OF PREPARATION

(57) Abstract: The present invention relates to a pharmaceutical composition comprising of preparations of human embryonic stem (hES) cells and their derivatives and methods for their transplantation into the human body, wherein transplantation results in the clinical reversal of symptoms, cure, stabilization or arrest of degeneration of a wide variety of presently incurable and terminal medical conditions, diseases and disorders. The invention further relates to novel processes of preparing novel stem cell lines which are free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media. This invention further relates to the isolation, culture, maintenance, expansion, differentiation, storage, and preservation of such stem cells.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2007/002292

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K35/48 A61K35/12 C12N5/06 A61P25/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, EMBASE, BIOSIS, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WANG W-H ET AL: "Human embryonic stem cell lines are contaminated: What should we do?" HUMAN REPRODUCTION 2005 UNITED KINGDOM, vol. 20, no. 11, 2005, pages 2987-2989, XP002466325 ISSN: 0268-1161 1460-2350	28,29
Y	the whole document page 2988, left-hand column, last paragraph --- -/--	21-27, 30, 61-84, 92-116

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
4 February 2008	18/02/2008

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	MATEO ROSELL, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2007/002292

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02/18549 A (MARIA BIOTECH CO LTD [KR]) 7 March 2002 (2002-03-07)	28,29
Y	abstract page 10, line 23 - page 12, line 5 page 14, line 28 - page 15, line 1 page 17, line 21 - page 19, line 31; example 7	21-27, 30, 61-84, 92-116
Y	AMIT M ET AL: "Feeder Layer- and Serum-Free Culture of Human Embryonic Stem Cells" BIOLOGY OF REPRODUCTION 2004 UNITED STATES, vol. 70, no. 3, 2004, pages 837-845, XP002466324 ISSN: 0006-3363 abstract page 837, left-hand column, paragraph 1 - page 838, left-hand column, paragraph 1 page 842, left-hand column, paragraph 2 - page 844, right-hand column, last paragraph	21-27, 61-84, 92-116
Y	KLIMANSKAYA I ET AL: "Human embryonic stem cells derived without feeder cells" LANCET THE, LANCET LIMITED. LONDON, GB, vol. 365, no. 9471, 7 May 2005 (2005-05-07), pages 1636-1641, XP004882308 ISSN: 0140-6736 abstract page 1636, left-hand column, paragraph 1 - page 1638, right-hand column, last paragraph page 1640, right-hand column, paragraph 2 - page 1641, left-hand column, paragraph 2	21-27, 61-84, 92-116
Y	STOJKOVIC P ET AL: "HUMAN-SERUM MATRIX SUPPORTS UNDIFFERENTIATED GROWTH OF HUMAN EMBRYONIC STEM CELLS" STEM CELLS, ALPHAMED PRESS, DAYTON, OH, US, vol. 23, no. 7, August 2005 (2005-08), pages 895-902, XP009065121 ISSN: 1066-5099 abstract page 895, left-hand column, paragraph 1 - page 896, right-hand column, paragraph 1 page 900, left-hand column, paragraph 1 - page 901, right-hand column, paragraph 1	21-27, 61-84, 92-116

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2007/002292

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EZASHI T ET AL: "Low O2 tensions and the prevention of differentiation of hES cells" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 29 MAR 2005 UNITED STATES, vol. 102, no. 13, 29 March 2005 (2005-03-29), pages 4783-4788, XP002466326 ISSN: 0027-8424 abstract page 4783, left-hand column, paragraph 2 - right-hand column, paragraph 2; figure 1 page 4787, right-hand column, paragraph 3 - page 4788, right-hand column, paragraph 2	21-27, 61-84, 92-116
Y	WO 2004/007696 A (NISTOR GABRIEL I [US]; KEIRSTEAD HANS S [US]; UNIV CALIFORNIA [US]) 22 January 2004 (2004-01-22) abstract page 3, lines 15-25 page 10, line 34 - page 20, line 2; examples 1-5	21-27, 61-84, 92-116
Y	WO 2004/081172 A (RELIANCE LIFE SCIENCES PVT LTD [IN]; TOTEY SATISH MAHADEORAO [IN]; RAV) 23 September 2004 (2004-09-23) abstract page 7, paragraph 18 page 8, paragraph 20 - page 11, paragraph 29 page 35, paragraph 94 - page 46, paragraph 129	21-27, 61-84, 92-116
Y	ZHANG S-C ET AL: "In vitro differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells" NATURE BIOTECHNOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP, NEW YORK, NY, US, vol. 19, no. 12, December 2001 (2001-12), pages 1129-1133, XP002268706 ISSN: 1087-0156 abstract page 1130, right-hand column, paragraph 2 - page 1131, left-hand column, paragraph 2 page 1132, right-hand column, paragraph 2 - page 1133, right-hand column, paragraph 2	21-27, 61-84, 92-116

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2007/002292

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	REUBINOFF B E ET AL: "Neural progenitors from human embryonic stem cells" NATURE BIOTECHNOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP, NEW YORK, NY, US, vol. 19, no. 12, December 2001 (2001-12), pages 1134-1140, XP002971362 ISSN: 1087-0156 abstract page 1138, right-hand column, paragraph 1 - page 1139, left-hand column, paragraph 2	21-27, 61-84, 92-116
Y	MCDONALD J W ET AL: "TRANSPLANTED EMBRYONIC STEM CELLS SURVIVE, DIFFERENTIATE AND PROMOTE RECOVERY IN INJURED RAT SPINAL CORD" NATURE MEDICINE, NATURE AMERICA, NEW YORK, US, vol. 5, no. 12, December 1999 (1999-12), pages 1410-1412, XP002933176 ISSN: 1078-8956 cited in the application abstract page 1411, left-hand column, paragraph 4 - page 1412, right-hand column, paragraph 4	21-27, 61-84, 92-116
Y	HARPER J M ET AL: "Axonal growth of embryonic stem cell-derived motoneurons in vitro and in motoneuron-injured adult rats" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 04 MAY 2004 UNITED STATES, vol. 101, no. 18, 4 May 2004 (2004-05-04), pages 7123-7128, XP002466977 ISSN: 0027-8424 cited in the application abstract page 7123, left-hand column, paragraph 1 - right-hand column, paragraph 2; figures 1-3 page 7127, right-hand column, paragraph 2 - page 7128, right-hand column, paragraph 2	21-27, 61-84, 92-116

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2007/002292

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KERR D A ET AL: "Human embryonic germ cell derivatives facilitate motor recovery of rats with diffuse motor neuron injury" JOURNAL OF NEUROSCIENCE 15 JUN 2003 UNITED STATES, vol. 23, no. 12, 15 June 2003 (2003-06-15), pages 5131-5140, XP002466978 ISSN: 0270-6474 cited in the application abstract page 5138, right-hand column, paragraph 3 - page 5139, right-hand column, paragraph 1	21-27, 61-84, 92-116
Y	US 2002/019046 A1 (CARPENTER MELISSA K [US] ET AL) 14 February 2002 (2002-02-14) page 2, paragraph 23 - page 3, paragraph 30 page 6, paragraph 73 - page 11, paragraph 119; examples 1-5	21-27, 61-84, 92-116
Y	WO 2005/099758 A (STANDARD OIL CO [US]; KOFIDIS THEODOROS [DE] TRUSTEES THE LELAND STAND) 27 October 2005 (2005-10-27) abstract page 1, lines 5-10 page 7, line 6 - page 10, line 20; examples I-V	21-27, 61-84, 92-116
Y	GERECHT-NIR S ET AL: "The promise of human embryonic stem cells" BAILLIERE'S BEST PRACTICE AND RESEARCH. CLINICAL OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY, BAILLIERE TINDALL, LONDON, GB, vol. 18, no. 6, December 2004 (2004-12), pages 843-852, XP004664903 ISSN: 1521-6934 the whole document	21-27, 61-84, 92-116
Y	SCHULDINER MAYA ET AL: "Effects of eight growth factors on the differentiation of cells derived from human embryonic stem cells" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, DC, US, vol. 97, no. 21, 10 October 2000 (2000-10-10), pages 11307-11312, XP002184277 ISSN: 0027-8424 the whole document	21-27, 61-84, 92-116

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2007/002292

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	RICHARDS M ET AL: "An efficient and safe Xeno-Free Cryopreservation method for the storage of human embryonic stem cells" STEM CELLS, ALPHAMED PRESS, DAYTON, OH, US, vol. 22, no. 5, 2004, pages 779-789, XP002376917 ISSN: 1066-5099 the whole document	21-27, 61-84, 92-116
A	HONG S H ET AL: "Expression of estrogen receptor-[alpha] and -[beta], glucocorticoid receptor, and progesterone receptor genes in human embryonic stem cells and embryoid bodies" MOLECULES AND CELLS 31 DEC 2004 GERMANY, vol. 18, no. 3, 31 December 2004 (2004-12-31), pages 320-325, XP002466327 ISSN: 1016-8478 the whole document	31-52
A	SHI Q J ET AL: "Novel role of human chorionic gonadotropin in differentiation of human cytotrophoblasts" ENDOCRINOLOGY 1993 UNITED STATES, vol. 132, no. 3, 1993, pages 1387-1395, XP002466328 ISSN: 0013-7227 the whole document	31-52
A	GERAMI-NAINI BEHZAD ET AL: "Trophoblast differentiation in embryoid bodies derived from human embryonic stem cells." ENDOCRINOLOGY APR 2004, vol. 145, no. 4, April 2004 (2004-04), pages 1517-1524, XP002466329 ISSN: 0013-7227 the whole document	31-52
T	G.S. MUDUR: "BIG WONDER CELLS MESS - Medical research guidelines in India leave doctors free to do what they wish" INTERNET CITATION, [Online] 20 November 2005 (2005-11-20), XP002466330 Retrieved from the Internet: URL:http://www.telegraphindia.com/1051120/asp/opinion/story_5496960.asp> the whole document	

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2007/002292

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
T	"The Stem Cell 'Miracles'" INTERNET CITATION, [Online] 23 May 2006 (2006-05-23), pages 1-5, XP002466331 Retrieved from the Internet: URL:http://sci.rutgers.edu/forum/showthread.php?t=57401> the whole document	
T	MANNELLO F ET AL: "Concise review: No breakthroughs for human mesenchymal and embryonic stem cell culture: Conditioned medium, feeder layer, or feeder-free; medium with fetal calf serum, human serum, or enriched plasma; serum-free, serum replacement nonconditioned medium, or ad hoc formula? All that glitters is not go" STEM CELLS 2007 UNITED STATES, vol. 25, no. 7, 2007, pages 1603-1609, XP002466979 ISSN: 1066-5099 the whole document	
T	SKOTTMAN HELI ET AL: "Culture conditions for human embryonic stem cells" REPRODUCTION (CAMBRIDGE), vol. 132, no. 5, November 2006 (2006-11), pages 691-698, XP002466980 ISSN: 1470-1626 the whole document	
T	DE SOUSA PAUL A ET AL: "The road to providing human embryo stem cells for therapeutic use: the UK experience" REPRODUCTION (CAMBRIDGE), vol. 132, no. 5, November 2006 (2006-11), pages 681-689, XP002466981 ISSN: 1470-1626 the whole document	
T	GRUEN LORI ET AL: "Concise review: Scientific and ethical roadblocks to human embryonic stem cell therapy" STEM CELLS (MIAMISBURG), vol. 24, no. 10, October 2006 (2006-10), pages 2162-2169, XP002466982 ISSN: 1066-5099 the whole document	

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search reportcovers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IB2007/002292

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. [X] Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 61-114 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

2. [ ] Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International search can be carried out, specifically:

3. [ ] Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. [ ] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers allsearchable claims.

2. [ ] As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. [ ] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International search reportcovers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. [ ] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

[ ] No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/IB2007/002292

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0218549 A	07-03-2002	AU 785428 B2	17-05-2007
		AU 6556501 A	07-03-2002
		CN 1350059 A	22-05-2002
		US 2002045259 A1	18-04-2002
WO 2004007696 A	22-01-2004	AU 2003250477 A1	02-02-2004
		CA 2489203 A1	22-01-2004
		EP 1523549 A2	20-04-2005
		GB 2407822 A	11-05-2005
		JP 2005532079 T	27-10-2005
		US 2004009593 A1	15-01-2004
		US 2005101014 A1	12-05-2005
WO 2004081172 A	23-09-2004	AU 2004219851 A1	23-09-2004
		BR PI0408733 A	07-03-2006
		CA 2518577 A1	23-09-2004
		EP 1613726 A2	11-01-2006
		JP 2006521807 T	28-09-2006
		KR 20060010725 A	02-02-2006
		US 2006211109 A1	21-09-2006
US 2002019046 A1	14-02-2002	NONE	
WO 2005099758 A	27-10-2005	NONE	

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
13 December 2007 (13.12.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/141657 A2

(51) International Patent Classification: Not classified

(21) International Application Number:
PCT/IB2007/002292

(22) International Filing Date: 6 March 2007 (06.03.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

582/DEL/2006	7 March 2006 (07.03.2006)	IN
1500/DEL/2006	26 June 2006 (26.06.2006)	IN
60/844,350	14 September 2006 (14.09.2006)	US

(71) Applicant and
(72) Inventor: SHROFF, Geeta [IN/IN]; 487 Hardevpuri, Gautam Nagar, New Delhi 115049 (IN).

(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— *without international search report and to be republished upon receipt of that report*

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 2007/141657 A2

(54) Title: COMPOSITIONS COMPRISING HUMAN EMBRYONIC STEM CELLS AND THEIR DERIVATIVES, METHODS OF USE, AND METHODS OF PREPARATION

(57) Abstract: The present invention relates to a pharmaceutical composition comprising of preparations of human embryonic stem (hES) cells and their derivatives and methods for their transplantation into the human body, wherein transplantation results in the clinical reversal of symptoms, cure, stabilization or arrest of degeneration of a wide variety of presently incurable and terminal medical conditions, diseases and disorders. The invention further relates to novel processes of preparing novel stem cell lines which are free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media. This invention further relates to the isolation, culture, maintenance, expansion, differentiation, storage, and preservation of such stem cells.

COMPOSITIONS COMPRISING HUMAN EMBRYONIC STEM CELLS AND THEIR DERIVATIVES, METHODS OF USE, AND METHODS OF PREPARATION

Inventor: Geeta Shroff

BACKGROUND OF THE INVENTION

Field of the Invention

[0001] This present invention relates to pharmaceutical compositions comprising human embryonic stem (hES) cells or their derivatives, said stem cells being free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media, for use in the treatment of presently incurable, terminal and medical diseases, conditions or disorders. More particularly, the invention relates to methods of treatment of clinical disorders and terminal or presently incurable conditions using hES cells via a transplantation protocol. The invention further relates to novel processes of preparing novel stem cell lines which are free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media. This invention further relates to the isolation, culture, maintenance, expansion, differentiation, storage, and preservation of such stem cells.

Background Art

[0002] A large number of human medical disorders, conditions and diseases are either presently incurable through existing drug therapies, surgery or transplantation methods or they are terminal.

[0003] Stem cells have the capacity to divide to generate "daughter" cells that retain the properties of the stem cell, or to produce daughters that begin to differentiate into a more specialized cell type, or to produce one daughter cell of each type. Stem cells are thus central to normal human growth and development, and by their intrinsic characteristics are also potential sources of new cells for the regeneration of diseased or damaged tissue. Stem cells are present at all stages of development, and in many, (possibly most) tissues of the adult. Stem cells from different tissues, and from different stages of development, vary in terms of the number and types of cells to which they normally give rise. The major classes of stem cells according to this classification are embryonic stem cells, somatic stem cells and embryonic germ cells.

[0004] At the earliest stages after fertilization (up to the eight cell stage), all cells of the embryo are totipotent (i.e., they have the capacity to develop into every type of cell needed for full development, including extra-embryonic tissues such as the placenta and the umbilical cord). After about two to five days the blastocyst stage is reached. Within this ball of 50-100 cells lies the inner cell mass, which will develop into the embryo proper. The inner cell mass comprises about a quarter of all cells at this stage of development and a unique class of stem cells; the embryonic stem cells. Embryonic stem cells have the innate capacity or potential to differentiate into each of the 200 or so cell types of the body and are described as pluripotent. The capacity of hES cells to contribute to all tissue types in development has not yet been fully established, but they can be grown over long periods of time in culture and expanded in number without changing their cellular genotypes or phenotypes, and maintain their pluripotent state under these conditions.

[0005] Beyond the blastocyst stage, stem cells comprise a decreasing proportion of cells in the embryo, fetus and adult body. Many if not most tissues in the fetus and adult contain stem cells, which, in their normal location, have the potential to differentiate into a limited number of specific cell types in order to regenerate the tissue in which they normally reside. These stem cells (somatic stem cells) are multipotent and may have a more restricted potential than embryonic stem cells in that they normally give rise to

some but not all of the cell types of the human body. The main sources of somatic stem cells are the fetus and adult bone marrow and cord blood.

[0006] Embryonic stem cells serve as an excellent *in vitro* system for studying cellular differentiation events, drug screening, and as a primary source of specialized differentiated cells for future regenerative therapeutic applications.

[0007] The embryonic stem cells, being pluripotent, have the developmental potential to give rise to any differentiated cell type. Thus, a disease that results from the failure or deregulation, either genetic or acquired, of specific cell types is potentially treatable by transplantation of hES cells or their derivatives by replacement of the defective cells and regeneration of the affected organ or tissue and also by stimulating the dormant and the dying tissue.

[0008] The transplantation of hES cells or their derivatives into the human body has been suggested to have the potential as a means for addressing unmet medical needs.

[0009] It has widely been considered that the transplantation of hES cells will revolutionize the treatment of a wide variety of diseases, conditions and disorders but, to date, studies have been restricted to preclinical studies in mice and primates. It is questionable whether the results observed in animal models are truly representative of the events that would occur upon transplantation of such cells into the human. Furthermore, without clinical usage of the concept, the pharmaceutical compositions, protocols, routes of administration and dosages for administration of the stem cells remain undefined and untested. Furthermore, although human stem cells derived from sources other than an embryo or xenotransplantation of cells, tissues and organs from other species have been used in the clinic; these attempts have been largely unsuccessful or present a variety of debilitating side effects.

[0010] The present invention provides for the transplantation of a pharmaceutical composition comprising hES cells and/or their derivatives into humans suffering from a variety of presently incurable or terminal conditions, diseases or disorders.

[0011] US Patent No. 5,453,457 discloses a composition comprising non-murine mammalian pluripotent cells derived from a primordial germ cell and

including basic fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and leukaemia inhibitory factor.

[0012] US Patent No. 6,800,480 claims a composition comprising undifferentiated hES cells proliferating on an extra-cellular matrix.

[0013] US Patent Application No. 2003/0017587 discloses in vitro expansion of undifferentiated embryonic stem cells obtained from an aborted fetus or fresh or frozen cleavage stage blastocysts using a culture medium that does not require feeder cells. Once isolated, the embryonic stem cells are introduced into a cell culture medium supplemented with growth factors, fetal bovine serum, neuronal growth factor, leukaemia inhibitory factor, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor or conditioned media which are not desirable in view of potential side effects upon transplantation into a patient. Also, the said patent application is silent on the protocol to be used for the treatment of genetic or clinical disorders except that the patient requires one dose of each type of cell.

[0014] US Patent Application No. 2004/0071665 provides for a therapeutic method employing mammalian stem cells for treatment of cardiopathology. The example provides for embryonic stem cells differentiated to form a cardiomyogenic cluster, cultured on feeder cells and then injected at three sites of the heart of a mouse having myocardial infarction.

[0015] US Patent Application No. 2004/0107453 discloses a method for obtaining, maintaining and differentiating adult stem cells and their use in therapeutic treatment.

[0016] US Patent Application No. 2005/0124003 discloses a method for obtaining, maintaining and differentiating fetal stem cells and their use in therapeutic treatment.

[0017] In particular, and of particular relevance to the present invention, transplantation of embryonic stem cells in mouse models of spinal cord injury (SCI) have clearly demonstrated their future potential as a first line of treatment of acute SCI (McDonald et al., (1999) Nature Med. 5:1410; Kerr et al., (2003) J. Neurosci. 23:5131; Roy et al., (2004) Nature Biotechnology, 22:297; Hori et al., (2003) Stem Cells, 21:405; Harper, (2004) Proc. Natl. Acad. Sci. 101:7123). Despite demonstrated efficacy in animal models, skepticism regarding graft versus host rejection problems, the potential need

for lifetime administration of immunosuppressors and tumour and teratoma formation have delayed authorizations to reproduce preclinical safety and efficacy in experimental human trials. A further problem facing the design of clinical studies and of particular relevance to the present invention is that, as yet, there are no established protocols or schedules of administration, there are no studies of what would be a therapeutically effective dose, or active pharmaceutical composition, or what cell types or cell combinations should be used.

[0018] It is therefore an object of the present invention to develop pharmaceutical compositions which comprise hES cells and their derivatives which are free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media suspended in a biocompatible solution, carrier or matrix, thus suitable for human use.

[0019] Yet another object of the present invention is to develop a protocol for the treatment of presently incurable or terminal disorders.

[0020] Still a further object of the present invention is to develop a protocol for the treatment of SCI (Spinal Cord Injury).

[0021] The compositions of the present invention are simple to prepare, safe, cost effective, efficient, easily transportable, scalable, have a good shelf life, and are free from side effects such as antibody-antigen reactions, aberrant innervations, tumorigenicity, teratoma formation or graft host rejection. Also, the present invention requires only one embryo and hence the continuous supply of human embryos is not required. Also, the protocol for treatment according to the present invention does not require the use of immunosuppressors, and is not dependent upon HLA typing, is not dependent upon race, gender or age of the treated subject for the effective treatment of the diseases, conditions or disorders, is without regression and is without the need for prior training in the art of administration. Treatment of subjects with the pharmaceutical compositions according to the practice of the present invention is therefore possible at any suitably equipped clinical facility worldwide.

[0022] In order to transplant human embryonic stem cells into humans for therapeutic purposes it is important that such cells are free from contamination such as bacteria, viruses, prions or viroids. The adoption of standard operational laboratory practices such as good manufacturing and good clinical practices reduce the risk of such contaminations to an acceptable level.

[0023] Risks to the patient exist, however, through existing cell culture methodologies.

[0024] A major risk is that components of the cell culture medium, retained in the pharmaceutical product for administration to human subjects are administered and therefore represent a risk to the patient through as yet unanticipated side effects that could not have been anticipated through "safety" studies in animal testing.

[0025] Elimination of such risk is therefore desirable.

[0026] The characteristics of an embryonic stem cell culture source for administration to human subjects has been identified as having the following design: it is capable of proliferation for an extended period of time without differentiation, maintains a karyotype in which all of the characteristics of the donor are retained faithfully during culture, maintains the potential to differentiate into derivatives of the endoderm, mesoderm and ectoderm throughout the culture, will not differentiate when cultured in the absence of exogenous factors, will not give rise to teratomas, will not be immunogenic, will not form aberrant connections and ectopic tissue, will act on the damaged tissue and not divide continuously *in vivo* but as they are programmed to do in a natural life cycle. There should be no contaminant present in the culture methodology and the cell line disclosed in the invention.

[0027] The major thrust of research until now has been to develop culture conditions that meet these requirements, but to date, no such conditions have been forthcoming or validated through clinical trials. In particular, the research to date has been focused on elimination of the requirement for mouse feeder cells as a matrix for the growth and de-differentiation of a human embryonic stem cell culture. The partial remedy of providing unknown growth factors through the removal of feeder cells and the supplementation of "conditioned media" has also revealed an unacceptable risk in the ideal culture medium. Human embryonic stem cells cultured in the presence of feeder

conditioned media still retain an inherent risk of contamination and therefore an unacceptable risk during transplantation into humans.

[0028] An additional factor in the design of culture conditions of human embryonic stem cells destined for administration to humans is the question of residual exogenous supplements in the media which may be present in the pharmaceutical composition administered but that are essential during the phase of cellular expansion.

[0029] These include basic fibroblast growth factor, leukemia inhibitory factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor, serum, albumins or albumin supplements, amino acid supplements, vitamin supplements, transferrins or transferrin supplements, antioxidants, insulin or insulin substitutes, collagen precursors or collagen precursor substitutes, trace elements, residues of "conditioned media", animal products, feeder cells, growth factors, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, and vitamin supplements.

[0030] Residues of such additional supplements are viewed as unnecessary risks to the safety of patients during the transplantation of human embryonic stem cells into such subjects. In addition, the supplementation of such factors into the culture medium adds to the risk of contamination from the environment and adds to the future cost of stem cell therapy and therefore limits its applicability in a wide range of medical diseases, conditions or disorders.

[0031] A number of approaches have been adopted to reduce these risks including: US Patent and Application 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 and 2002/076747.

[0032] However, none of these approaches offer a system for the production of a pharmaceutical product containing human embryonic stem cells and their derivatives which is free of potentially contaminating factors that could affect the efficacy and safety of human embryonic stem cells and their derivatives upon administration to humans.

[0033] It is therefore another objective of the invention to develop a simplified cell culture system for the expansion of hES cells and their derivatives in a

substantially undifferentiated state in order to produce a pharmaceutical product that is ready to use in a wide variety of medical disorders.

[0034] More particularly, it is an objective of the invention to provide a culture technique which produces a stem cell line free from animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media.

SUMMARY OF THE INVENTION

[0035] The present invention provides pharmaceutical compositions comprising hES cells and/or their derivatives, and for the use of hES cells and their derivatives in treating a wide variety of conditions, diseases and disorders wherein the stem cells are introduced into the human body by a variety of routes of administration, topical applications or intralesional insertion.

[0036] The present invention further provides a method for treating a subject suffering from a terminal or presently incurable disease, disorder or condition comprising a schedule of administration of a therapeutically effective amount of hES cells or their derivatives via intramuscular, intravenous, caudal, intravitreous, intrastriatal, intraparenchymal, intrathecal, epidural, retrobulbar, subcutaneous, intracardiac, intracystic, intra-articular or intrathecal injection, epidural catheter infusion, sub arachnoid block catheter infusion, intravenous infusion, via nebulizer, via spray, via intravaginal routes, via local eye and ear drops, and a schedule for administration of the hES cells and their derivatives topically or intralesionally.

[0037] It is preferable to use hES cells or their derivatives which are free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, vitamin supplements, amino acid supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media, to avoid any chances of contamination and possibilities of negative side-effects. The hES cells and their derivatives can be obtained through any known and approved cell culture methodology, which is feeder cell free, and free from contamination from any

source and safe for human transplantation. hES derivatives include further differentiated cells from the human body.

[0038] The present invention further provides pharmaceutical compositions for the treatment of terminal or presently incurable diseases, disorders, or conditions comprising a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said hES cells or their derivatives are free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media, suspended in a pharmaceutically acceptable biocompatible solution or any other carrier vehicle.

[0039] The present invention also includes hES cells and/or their derivatives free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media, entrapped in a biocompatible material or matrix. The biocompatible material or matrix may be selected from biopolymers, including polypeptides or proteins, polysaccharides, including fibronectin, various types of collagen, laminin, keratin, fibrin, fibrinogen, hyaluronic acid, heparin sulfate, chondroitin sulfate, agarose or gelatin.

[0040] The compositions of the present invention may be in a ready-to–use drug form in which the stem cells have adequate viability, *i.e.*, they have a viability high enough to be useful in one or more methods of the present invention. In one embodiment, the stem cells have a viability of greater than about 40%, *e.g.*, greater than about 50%, 60%, 70%, or 80%. The compositions may further include an antimicrobial agent, antibacterial agent, hormonal product or other pharmaceutical agent.

[0041] In order to prepare the compositions, about 750,000 to about 160 million hES cells and/or one or more of their derivatives such as hematopoietic stem cell progenitors, neuronal stem cell progenitors, mesenchymal stem cell progenitors, insulin producing stem cell progenitors, hepatocyte stem cell progenitors, cardiac stem cell progenitors, epithelial stem cell progenitors or mixtures thereof are suspended in about 0.25 ml to about

100 ml of a carrier vehicle. In one embodiment, about 750,000 to about 80 million hES cells are suspended in about 0.25 ml to about 10 ml of the carrier vehicle. Enrichment for specific differentiated stem cell progenitor types in a population is a priority, although a proportion of undifferentiated stem cells will remain in the composition. In one embodiment, the portion of undifferentiated stem cells will be no more than about 80% of the total population of cells. In another embodiment, the portion of undifferentiated stem cells will be no more than about 40% of the total population of cells.

[0042] Terminal diseases and other disorders or conditions that may be treated or ameliorated according to the present invention include, without limitation, cancer, liver and kidney disorders, nervous system disorders, skin disorders, autoimmune disorders, genetic disorders, eye disorders, musculoskeletal disorders, fertility and reproductive disorders and cardiovascular disorders and without limitation include Acute Myeloid Leukaemia, Adenocarcinoma, Arthritis, Astrocytoma, Auditory Nerve Atrophy, Autism, Auto Immune Disorders, Alzheimer's disease, Ankylosing Spondylitis, Becker's Muscular Dystrophy, Brain Damage, Burns, Cerebrovascular Insult, Cerebral Palsy, Coma, Corneal Ulcers, Corneal Graft Rejection, Cortico-Basal Degeneration of the Nervous System, Coronary Artery Disease, Diabetes, Dementia, Downs Syndrome, Duchenne's Muscular Dystrophy, End-Stage Renal Disease, Erb's Palsy, Fascio Scapular Muscular Dystrophy, Fertility Disorders, Friedereich's Ataxia, Heart Failure, Hepatocellular Carcinoma, Hereditary Spino Motor Neuron Disease, Huntington's Chorea, Krabbe's Disease, Limb Girdle Dystrophy, Liver Cirrhosis, Macular Degeneration, Mental Retardation, Multiple Sclerosis, Motor Neuron Disease, Myocardial Infarction, Nephrotic Syndrome, Niemann Pick Disease, Non-Healing Ulceration of the Skin, Olivo-Ponto Cerebellar Atrophy, Optic Nerve Atrophy, Parkinson's Disease, Post Electric Shock Encephalopathy, Post-Rabies Vaccine Encephalopathy, Pressure Sores, Progressive Supranuclear Palsy, Psoriasis, Pthysis Bulbi, Restrictive Cardiomyopathy, Retinitis Pigmentosa, Right Bundle Branch Block, Sarcoidosis, Sinus Bradycardia, Spinal Muscular Dystrophy, Spino Cerebellar Ataxia, Steven Johnson's Syndrome, Systemic Lupus Erythematosus, Thrombocytopenia, Thalassemia, Ulcerative Colitis, Vegetative State, Cystic Fibrosis, Interstitial Lung Disease, Azoospermia,

Primary Ovarian Failure, Aphthous Ulcers, Hormone Imbalance, Osteo-Arthritis, Horner's Syndrome and Osteogenic Imperfecta, along with Channelopathy and Hypogammaglobulinemia.

[0043] More specifically, the present invention provides a method of treatment of SCI of a subject comprising:

a) administering about 750,000 to about 80 million hES cells and/or their derivatives via sub-cutaneous injection;

b) repeating step (a) after a pre-determined period and thereafter administering hES cells and/or their derivatives via intramuscular injection;

c) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and hematopoietic stem cell progenitors, via intravenous injection or infusion;

d) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, via epidural injection and repeating said dose after a pre-determined period depending upon the condition of the subject as assessed by clinical and/or neurological examination;

e) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, via caudal injection;

f) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, via intrathecal injection or sub arachnoid block catheter;

g) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, via epidural injection or epidural catheter;

h) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives via deep spinal injection on either side of the spine; and

i) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives via intravenous infusion;

wherein steps (a) and (b) are carried out first and the remaining steps may be carried out in any order. In one embodiment, step (f) is repeated followed by step (g), at least once, until the subject exhibits clinical signs of recovery from said SCI.

[0044] The invention also provides for a method for treating a subject with a disease, disorder or condition comprising administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives cultured in media free of animal products, feeder cells, conditioned media, growth factors, leukaemia inhibiting factor, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor or soluble steel factor, via intramuscular injection or intravenous injection or epidural injection or epidural catheter or retrobulbar injection or subcutaneous injection or intracardiac injection or intracystic injection or intrathecal injection or by topical application or intralesional application. In one embodiment, the disease, disorder or condition is a terminal or currently incurable disease, disorder or condition.

[0045] The invention also provides for a method for treatment of developmental, degenerative, familial and traumatic nervous system disorders and cerebrovascular attack comprising administration of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and hematopoietic stem cell progenitors alone or in combination, via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, intrathecal injection, epidural catheter infusion and sub arachnoid block catheter infusion.

[0046] The invention also provides for a method for treatment of skin disorders comprising administration of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors, via subcutaneous or intravenous injection.

[0047] The invention also provides for a method of treatment of bed sores comprising administration of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives via local or topical application and via intramuscular injection.

[0048] The invention also provides for a method for treatment of auto immune disorders comprising administration of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors, via intramuscular injection, or intravenous injection, or subcutaneous injection, or intra-articular injection or intravenous infusion or combinations thereof.

[0049] The invention also provides for a method for treatment of genetic disorders comprising administration of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and hematopoietic stem cell progenitors alone or in combination, via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, intrathecal injection, epidural catheter infusion or sub arachnoid block catheter infusion or combinations thereof.

[0050] The invention also provides for a method for treatment of gangrene comprising administration of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives via intravenous injection, intramuscular injection, or local application at the junction of viable and dead tissue or combinations thereof.

[0051] The invention also provides for a method for treatment of conditions associated with ageing comprising administration of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, or local application in suspension or mixed in a biocompatible carrier such as gel, ointment, matrix, paste or aerosol spray.

[0052] The invention also provides for a method for treatment of Diabetes Mellitus comprising administration of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise insulin producing progenitor cells, via intravenous or intramuscular injection or combinations thereof.

[0053] The invention also provides for a method for treating Cardiovascular Disorders comprising administration of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors, via intravenous injection, subcutaneous injection,

intramuscular injection, intracardiac injection, angiography or direct injection during surgery.

[0054] The invention also provides for a method for treatment of Liver and Kidney Disorders comprising administration of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors, albumin producing stem cell progenitors and bilirubin producing stem cell progenitors, via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, intravenous infusion, or local injection.

[0055] The invention also provides for a method for the treatment of Fertility and Reproductive Disorders comprising administration of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors, via local intramuscular injection, intratesticular injection or through subcutaneous skin injection near the epididymis.

[0056] The invention also provides for a method for the treatment of Musculoskeletal Disorders comprising administration of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and hematopoietic stem cell progenitors alone or in combination, via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection or intravenous catheter infusion.

[0057] The invention also provides for a method for the treatment of Eye Disorders comprising administration of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, hematopoietic stem cell progenitors and mesenchymal stem cell progenitors alone or in combination, via local intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, retrobulbar injection, intravitreous injection or topical application. In one embodiment, about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives comprising neuronal stem cell progenitors are administered via retrobulbar injection. In another embodiment, about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives comprising neuronal stem cell progenitors are administered via intravitreous injection. In another embodiment, about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives comprising mesenchymal stem

cell progenitors are applied to contact lenses for placement on the eye for the treatment of corneal abrasion (*e.g.*, the contact lens is cultured with the hES cells and/or their derivatives to coat the contact lens with cells and the lens is then placed on the eye for about 24 hours).

[0058] The invention also provides a method for treatment of Lung Disorders comprising the administration of 750,000 to 160 million hES cells and/or their derivatives wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors alone or in combination with neuronal stem cell progenitors via intramuscular injection, intravenous injection, spray, or nebulizer. In one embodiment 750,000 to 160 million hematopoietic stem cell progenitors are administered via nebulizer in which 2 ml of normal saline is added. In another embodiment 750,000 to 160 million hematopoietic stem cell progenitors are administered via spray (puff).

[0059] The invention also provides a method for the treatment of Hormone Disorders comprising the administration of 750,000 to 160 million hES cells and/or their derivatives wherein said cells comprise hematopoietic and neuronal stem cells via intramuscular and intravenous routes.

[0060] The invention also provides a method for the treatment of Aphthous Ulcers and other ulcers comprising the administration of 750,000 to 160 million hES cells and/or their derivatives wherein said cells comprise hematopoietic and neuronal stem cells in combination or alone via intramuscular and intravenous routes.

[0061] The invention also provides a method for the treatment of Osteo-arthritis of the knee and hip joint comprising the administration of 750,000 to 160 million hES cells and/or their derivatives via intramuscular, intravenous or intra-articular injection. In one embodiment 750,000 to 160 million hematopoietic stem cell progenitors are administered intra-articularly.

[0062] The present invention provides a cell culture methodology that is applicable to the culture of hES cells and their derivatives that can be used for transplantation in humans without any side effects such as teratoma formation, tumor formation, antigenicity problems or graft-versus-host rejection.

[0063] The design of the culture methodology is specifically for the production of hES cells and their derivatives of sufficient viability and of

appropriate characteristics for therapeutically optimal activity after transplantation in humans.

[0064] In a preferred embodiment, the cell culture methodology is used for the growth, expansion, differentiation and storage of hES cells. In addition, the invention relates to ready to inject compositions comprising hES cells and/or their derivatives that are stored in conditions of storage that are suitable for direct transplantation on thawing.

[0065] In contrast to existing cell culture methodologies for the maintenance of hES cells in a substantially undifferentiated state, the culture medium does not contain supplements such as basic fibroblast growth factor, leukemia inhibitory factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor, serum, albumins or albumin supplements, amino acid supplements, vitamin supplements, transferrins or transferrin supplements, antioxidants, insulin or insulin substitutes, collagen precursors or collagen precursor substitutes, trace elements, residues of "conditioned media", animal products, feeder cells, growth factors, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, and vitamin supplements.

[0066] In further contrast to other cell culture methodologies for the expansion of hES cells, the practice of the present invention does not lead to the formation of embryoid bodies, thereby avoiding the need for surgical dissection. It is worth noting at this point that the product of the invention being a totally human product, xenotransplantation (*e.g.*, animal testing) may not be necessary. The instance of the first *in vitro* fertilization (IVF) gestation is a corollary example.

[0067] Unlike other cell culture methodologies, the cell culture techniques of the present invention allow for nearly unlimited expansion of hES cells without significant differentiation. A major advantage of the present invention is that a single embryo is sufficient to provide therapeutically effective amounts of hES cells and/or their derivatives to treat multitudes of patients. Thus, there is no need for repeated procurement of human embryos, and many of the ethical questions associated with the use of human embryos may be avoided.

[0068] A further advantage of the methods of the present invention is that the hES cells and their derivatives are universally acceptable products in

immunological terms, so no cross-matching of patients and cells is required and no immunosuppression is needed.

[0069] One aspect of the invention relates to methods for isolating hES cells, comprising:

(a) collecting a 2 to 7 day old embryo in minimal essential medium,

(b) isolating hES cells from the embryo by mechanical means.

[0070] One aspect of the invention relates to a method of expanding human embryonic stem cells free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media, comprising the steps of:

(a) introducing human embryonic stem cells in a cell medium consisting of minimal essential medium, a progestin and a β-human chorionic gonadotropin (βhCG) agonist; and

(b) incubating the stem cells at a temperature of about 34°C to about 38°C in an environment of about 3.5% to about 6% carbon dioxide for about 12 hours to about 48 hours.

[0071] Another aspect of the invention relates to methods of growing hES cells such that they are at a stage prior to the partially differentiated stage and are free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media, comprising the steps of:

(a) introducing hES cells in a cell culture medium consisting of minimal essential medium; and

(b) incubating the stem cells at a temperature of about 34°C to about 38°C in an environment of about 3.5% to about 6% carbon dioxide for about 12 hours to about 48 hours.

[0072] Another aspect of the invention relates to a process of preparing a ready to use human embryonic stem cell preparation for human transplantation comprising:

(a) obtaining human embryonic stem cells free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral

combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media,

(b) centrifuging said stem cells to obtain a pellet, and

(c) suspending the pellet in a biocompatible solution.

[0073] Another aspect of the invention relates to a method of storing a human embryonic stem cell in a viable condition comprising

(a) taking stem cells prepared by the methods of the present invention,

(b) adding a cryopreservation agent, and

(c) freezing the cells at -4 to -80°C.

[0074] The purpose of growing hES cells according to the practice of the present invention in the absence of such supplements is to reduce the risk of introducing bacterial, fungal, viral or other contaminations into the culture. This reduces the risk of infection and variability in the characteristics of the cells.

[0075] A further purpose of the present invention is to provide simple, cost effective, scaleable methods for the production and expansion of hES cells and their derivatives in a form that is free from any contaminating residues and is safe for use in humans.

[0076] The purpose of this invention is therefore to provide pharmaceutical products in which the risk of administration of all co-contamination is reduced, and in which residual contamination of supplementary factors is eliminated.

[0077] A further purpose of the present invention is to provide a cell culture methodology that reduces the risk of chromosomal aberrations or genetic instability.

[0078] A further purpose of the present invention is to provide a cell culture methodology that reduces the risk of teratoma formation in patients in which said culture is transplanted.

[0079] A further purpose of the present invention is to provide a cell culture methodology that reduces the risk of tumour formation in patients in which said culture is transplanted.

[0080] A further purpose of the present invention is to provide a cell culture methodology that reduces the risk of antigenicity problems or graft versus host rejection problems in patients in which said culture is transplanted.

[0081] The present invention specifically provides compositions comprising hES cells and their derivatives and a biocompatible medium that are in a form that is in compliance with international regulatory standards of safety and quality, and therefore in a form that is ready for injection into human patients for therapeutic purposes.

[0082] The present invention also provides a product of manufacture comprising a suspension of hES cells and/or their derivatives suspended in a biocompatible solution and contained in a container for storage, transport or transplantation directly into a human.

[0083] The present invention also provides a method for the expansion of hES cells and their derivatives.

[0084] The present invention also provides a method for the expansion of hES cells and their derivatives and inhibition of their differentiation.

[0085] The present invention also provides a method for the growth of hES cells and their derivatives that renders them therapeutically effective upon transplantation into a human that is suffering from a disease, condition or disorder.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

Definitions

[0086] In the description and examples that follow, a number of terms are used herein. In order to provide a clear and consistent understanding of the specification and claims, including the scope to be given such terms, the following definitions are provided.

[0087] It may be noted that the terms used to generally describe the present invention are used in a manner in keeping with their common meaning as understood by one of ordinary skill in the art.

[0088] "Embryonic stem cell" refers to pluripotent cells of humans (*i.e.*, hES cells). In one embodiment, the hES cells are isolated from a pre-blastocyst stage embryo. In another embodiment, the hES cells are prepared by

dedifferentiation of at least partially differentiated cells (*e.g.*, multipotent cells) and are totipotent in practice. Methods of preparing hES cells are well known and taught, for example, in U.S. Patent Nos. 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, and 5,914,268, U.S. Published Application No. 2005/0176707 and International Application No. WO2001085917.

[0089] "Fetal stem cells" refers to the stem cells derived from the fetal tissue, *i.e.*, tissues of a developing human after implantation of the embryo in the uterus.

[0090] "Multipotent" refers to stem cells that can produce only cells of a closely related family of cells.

[0091] "Pluripotent" refers to stem cells that are the descendants of totipotent cells and can grow into any cell type except for totipotent stem cells.

[0092] "Totipotent" refers to stem cells that are produced from the fusion of an egg and sperm cell. Cells produced by the first few divisions of the fertilized egg cell are also totipotent. These cells can grow into any type of cell without exception.

[0093] "Therapeutically effective amount" is used in the specification to describe concentrations or amounts of components such as embryonic stem cells, neuroprogenitor cells, neuronal cells, hematopoietic stem cell progenitors, cardiac stem cell progenitors, or any other derivative of stem cells, or other agents and mixtures thereof which are effective for producing an intended result within the context of practicing one or more aspects of the present invention.

[0094] The terms "transplanting" and "transplantation" are used throughout the specification synonymously to describe the process by which embryonic stem cells and/or their derivatives according to the present invention are delivered to the site within the human body where the cells are intended to exhibit a favorable effect in connection with the treatment or amelioration of a disease, disorder or condition described herein including, without limitation, for repairing damage to a subject's central nervous system, treating a neurodegenerative disease or treating the effects of nerve damage caused by stroke, cardiovascular disease, a heart attack or physical injury or trauma or genetic damage or environmental insult to the brain and/or spinal cord or other

organs, caused by, for example, an accident or other activity, liver damage, autoimmune disorder, sexual or reproductive dysfunction, degeneration of various parts of the eye, kidney damage, *etc.*

[0095] "Biocompatible solution" is used in the specification to refer to solutions in which the hES cells and/or their derivatives are suspended for use in the protocol for transplantation or for any other subsequent uses. Such biocompatible solutions include saline and may further comprise other ingredients such as preservatives, antimicrobials, and the like and other pharmaceutical agents.

[0096] "Biocompatible carrier" is used in the specification to refer to solid carriers, solutions and mixtures in which the hES cells and/or their derivatives are suspended for use in the protocol for topical treatment, transplantation or for any other subsequent uses. Such biocompatible carriers include gels, ointments, pastes, and aerosol sprays.

[0097] "Biocompatible container" is used in the specification to refer to containers (*e.g.*, cell culture or storage containers) in which the hES cells and/or their derivatives are placed and which do not prevent the cells from being used in transplantation, *i.e.*, do not contaminate the cells with compounds which cannot be administered to subjects. Examples of biocompatible container materials include without limitation glass, stainless steel, and polystyrene.

[0098] A "progestin" is any natural or synthetic hormone having progesterone-like activity, *i.e.*, having at least 25% of the activity of progesterone in one of any known assay for biological activity. Examples include without limitation progesterone, dydrogesterone, medroxyprogesterone, norethisterone, levonorgestrel, norgesterel, gestodene, and drospirenone. Examples of other progestins are disclosed in U.S. Patent 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, and 6,028,064.

[0099] "β-human chorionic gonadotrophin (βhCG) agonists" are defined as any naturally occurring or synthetic βhCG or fragment or derivative thereof having at least 25% of the activity of natural βhCG in one of any known assay for biological activity. Examples of βhCG agonists include without limitation

βhCG and those disclosed in U.S. Patent Nos. 6,635,445, 6,585,982, 6,583,109, 6,469,139, and 5,997,871.

[0100] "Minimal essential medium" is used in the specification to refer to a cell culture medium comprising amino acids, salts, glucose and vitamins. Examples include RPMI, DMEM, EMEM, and GMEM.

[0101] "Nebulization" means the administration of a drug or substance into the lungs via the nebulizer.

[0102] Intra-articular means administration into the intra-articular space.

[0103] Retrobulbar means administration into the retrobulbar space.

[0104] Intravenous infusion means administration into the vein by using an iv fluid comprising the product or drug.

[0105] "Epidural" injection or catheter infusion means administration into the region outside the dura mater of the meninges.

[0106] "Intrathecal" injection or catheter infusion means administration into the innermost layer of the meninges, that is, the arachnoid matter into the cerebro spinal fluid, which is in continuum with the brain.

[0107] "Caudal" injection means administration through the sacral membrane, which is approximately three centimeters above the tip of the coccyx which is in continuum with the epidural space.

[0108] "Deep Spinal Injection" means injection into the erector spinal muscles on either side of the spine.

[0109] "Intramuscular" injection means administration in between the muscle sheets.

[0110] "Intravenous" injection means administration inside a vein.

[0111] "Acute SCI" means up to three months after the date of the SCI.

[0112] "Sub Acute SCI" means from three months after the date of SCI to up to nine months after the date of the injury.

[0113] "Chronic SCI" more than nine months after the date of the SCI.

[0114] "Derivatives" of hES cells include multipotent stem cells, pluripotent stem cells, adult stem cells and tissue specific stem cells and do not include fully differentiated cells. Examples of tissue specific stem cells may be found in the following table.

Cell Type	Patent Number
Adipose-derived stem cell	6,777,231
Breast epithelial stem cells	5,814,511
Endothelial stem cells	6,852,533
Dorsal root ganglion progenitor cells	6,835,567
Hematopoietic progenitor cells $CD34^-$, $CD7^+$, Lin^-, Lin^-, $CD45RA^+$,	6,537,807
Hematopoietic stem cells Thy-1^+	5,061,620
Hematopoietic stem cells Thy-1^+, $CD34^+$	5,750,397
Hematopoietic stem cells $CD34^+$, $CD38^-$, HLA-DR^+	5,840,580
Hematopoietic lymphoid and dendritic cells $CD34^+$, $CD45RA^+$, $CD10^+$; Hematopoietic dendritic cells $CD34^+$, $CD45RA^+$, $CD10^+$,	5,972,627
Hematopoietic stem cells c-kit^-, Thy-1^-	5,876,956
Hematopoietic stem cells $CD34^+$	5,681,559
Hematopoietic stem cells HCC-1^+	5,677,136
Hematopoietic progenitor cells $CD34^+$, galactose-specific $lectin^+$	5,858,782
Hematopoietic stem cells (quiescent) $CD34^+$	5,807,686
Keratinocyte stem cells	6,485,971
Liver stem cells Do not express OC2	6,129,911 6,872,389
Lymphohematopoietic progenitor stem cells	5,256,560

$My10^-$	
Lymphoid progenitor cells	6,908,763
Mesencephalon neural progenitor cells	6,913,925
Mesenchymal stem cells $CD45^+$	6,387,367
Mesenchymal stem cells	5,486,359
Mesenchymal stem cells	5,827,735
Mesenchymal stem cells	5,908,782
Mesenchymal stem cells	6,936,281
Mesenchymal stem cells	6,908,764
Mullerian duct-derived pluripotent epithelial cells	6,416,999
Myeloid progenitor cells c-kit^{hi}, IL-7Rα^-	6,465,247
Myeloid progenitor cells Thy-1^-, IL-7Rα^-	6,761,883
Neural progenitor cells	5,753,505
Neural stem cells	5,851,832
Neuronal progenitor cells	6,251,669
Neuronal stem cells	6,969,608
Neuronal progenitor cells that do not express a Hu protein	6,852,532
Lineage-restricted neuronal precursor cells E-$NCAM^+$	6,734,015
Neuroepithelial stem cells	7,037,702
Central nervous system neural stem cells	5,968,829
Neuronal progenitor cells	6,812,027
Neural progenitor cells	6,913,925
Central nervous system neuron-restricted precursor cells	6,787,353
Ventral mesencephalon neuron progenitor cells	5,411,883

Neural crest stem cells	5,589,376
Neural crest multipotent cells containing RET protein	6,890,724
Neutrophil precursor cells	5,955,357
Pancreatic progenitor cells	6,436,704
Pancreatic islet progenitor cells Express ErbB2	6,753,153
Pluripotent cells	5,914,268
Pluripotent cells transformed with a HOX11 gene	5,874,301
Peripheral blood progenitor cells	5,541,103
Renal stem cells	6,410,320
Renal stem cells	6,458,588
Retinal stem cells	6,117,675
Skeletal progenitor cells	6,517,872
Stem cells $FGFR^+$, not ES cells	6,767,737
Stem cells which give rise to blood cells $CD34^-$, MHC-I^-, MHC-II^-	5,744,347
T lineage progenitor cells $CD8^{int}$, $CD4^{int}$, c-kit^{hi}, high bcl-2; $CD8^{lo}$, $CD4^{lo}$, c-kit^{hi}, high bcl-2	5,821,108
T lymphocyte precursor cells $CD34^+$, $CD7^+$, Leu 8^+	5,622,853

[0115] This present invention relates to pharmaceutical compositions comprising hES cells and/or their derivatives, said stem cells being free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media, for use in the clinical treatment of presently incurable or terminal diseases, conditions or disorders. In another embodiment, the invention relates to a method of treatment of presently

incurable or terminal conditions using hES cells and/or their derivatives via a transplantation protocol.

[0116] The phrase "free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media" does not exclude the trace amounts of progestin and βhCG agonist that may be present in the pharmaceutical composition as a result of the culturing methods of the present invention. The term "animal products" refers to any non-human product.

[0117] In another embodiment, the process of this invention provides a simple, safe, broadly applicable, reproducible and efficient method for transplantation of a pharmaceutical composition comprising hES cells and/or their derivatives in a ready to use form and being free of feeder cells and any other contamination. These cells may be derived from any culture methodology and transplanted into the human body irrespective of the patient's genetic background, age, race and gender and without antibody-antigen reaction or graft-host rejection, without the formation of teratomas or tumors, or other debilitating side effects, without the result of aberrant innervations and without the need for administration of immunosuppressors for the treatment of a variety of diseases, conditions and disorders.

[0118] In contrast to other known methods, the hES cells used in the preparation of the pharmaceutical compositions of the present invention are grown in a culture medium which is free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media, and therefore do not have any sort of contamination which may interfere with the safety or efficacy of the intended clinical use.

[0119] According to the practice of the invention, hES cells and/or their derivatives are introduced into the human body by intramuscular, intravenous, caudal, intravitreous, intrastriatal, intraparenchymal, intrathecal, epidural, retrobulbar, subcutaneous, oral, intracardiac, intracystic, intra-articular or intrathecal injection or epidural catheter, sub arachnoid block catheter,

intravenous infusion, via nebulizer, via spray, via intravaginal routes, and/or via local eye and ear drops. In another embodiment, the hES cells and/or their derivatives are administered topically or intralesionally.

[0120] Each route of administration uses a particular volume for injection and therefore a specific range of cells from the stock solutions of hES cells and/or their derivatives as indicated in Table 1. Where cell types are indicated (*e.g.*, in the injection schedule tables below), the indicated cell type is the type that is predominantly present in the cell population.

TABLE 1

Route of administration	Volume	Cell number
intramuscular	0.25 ml	750,000-1.5 million
intravenous	0.25 ml	750,000-1.5 million
subcutaneous	0.25 ml	750,000-1.5 million
caudal	2 ml	6-16 million
epidural	2 ml	6-16 million
intrathecal	2 ml	6-16 million
intra-articular	2 ml	6-16 million
retrobulbar	2 ml	6-16 million
epidural catheter	4-5 ml	12-40 million
intravenous infusion	0.75 ml	2.25-4.5 million
nebulizer	2 ml	6-16 million
intravaginal	2 ml	6-16 million

[0121] In between the laboratory and the ultimate point of use, whether it be a clinic or elsewhere, the pharmaceutical compositions must be kept in cold storage. In one embodiment, the pharmaceutical compositions are stored at about +4 to about -160°C. In another embodiment, the pharmaceutical compositions are stored at about -15 to about -72°C, *e.g.*, about -20 to about -40°C.

[0122] In one embodiment, the hES cells used in the present invention are isolated from a spare embryo, discarded from a natural *in vitro* fertilization

cycle and donated through informed consent. In an alternate embodiment, pluripotent fetal stem cells, such as those described in U.S. Published Application No. 2005/0124003 isolated from chorionic villus, amniotic fluid and/or placenta, are used in the present invention.

[0123] This invention provides a method for treatment of a variety of diseases, conditions and disorders including but not limited to cancer, stroke, genetic disorders, liver disorders, nervous system disorders, vascular disorders, skin diseases and disorders, autoimmune disorders, eye disorders, kidney disorders, cardiac disorders, musculoskeletal disorders, reproductive and fertility disorders, and arthritis using hES cells and/or their derivatives.

[0124] Non-limiting examples of cancers which may be treated according to the present invention include spinal cord tumor, breast cancer, prostate cancer, lymphoma, skin cancer, pancreatic cancer, colon cancer, melanoma, malignant melanoma, ovarian cancer, brain cancer, primary brain carcinoma, head–neck cancer, glioma, glioblastoma, liver cancer, bladder cancer, non-small cell lung cancer, head or neck carcinoma, breast carcinoma, ovarian carcinoma, cervical cancer, metastatic lesions, lung carcinoma, small-cell lung carcinoma, Wilms' tumor, cervical carcinoma, testicular carcinoma, bladder carcinoma, pancreatic carcinoma, stomach carcinoma, colon carcinoma, prostatic carcinoma, genitourinary carcinoma, thyroid carcinoma, esophageal carcinoma, myeloma, multiple myeloma, adrenal carcinoma, renal cell carcinoma, endometrial carcinoma, adrenal cortex carcinoma, malignant pancreatic insulinoma, malignant carcinoid carcinoma, choriocarcinoma, malignant hypercalcemia, cervical hyperplasia, leukemia, acute lymphocytic leukemia, chronic lymphocytic leukemia, acute myelogenous leukemia, chronic myelogenous leukemia, chronic granulocytic leukemia, acute granulocytic leukemia, hairy cell leukemia, neuroblastoma, rhabdomyosarcoma, Kaposi's sarcoma, polycythemia vera, essential thrombocytosis, Hodgkin's disease, non-Hodgkin's lymphoma, soft-tissue sarcoma, osteogenic sarcoma, primary macroglobulinemia, and retinoblastoma.

[0125] In one embodiment, the hES cells are not treated with a differentiating agent since, being embryonic, the cells are programmed, and once administered to the subject, the cells migrate to the site of the lesion. At that site, the cells differentiate in response to *in vivo* differentiation signals. At the

site of the lesion, the hES cells and their derivatives do not proliferate indefinitely, thereby necessitating a schedule of repeated injections. The fact that the hES cells and their derivatives do not proliferate indefinitely eliminates the possibility of tumorigenicity and teratoma formation.

[0126] After treatment with hES cells and/or their derivatives according to the practice of the present invention, the patient should take rest and adopt a strict regimen of abstinence from the intake of any substance such as alcohol or tobacco that may impair cellular function and impede the regeneration processes triggered by migration of the hES cells and their derivatives to the site of the lesion. The patient should also avoid taking any medications that are known to be harmful during pregnancy, as the medications may have adverse effects on the transplanted cells.

Use of hES cells and their derivatives in the treatment of SCI

[0127] At present there are no effective cures for the treatment of SCI including Acute Spinal Cord Damage, Subacute Spinal Cord Damage or Chronic Spinal Cord Damage, which frequently results in paraplegia, tetraplegia and quadriplegia. The transplantation of hES cells for the treatment of SCI presents a unique opportunity to address an unmet medical need and dramatically improve the lives of the millions of people worldwide who suffer the consequences of SCI. Regaining lost functions of the central and autonomic nervous systems through the transplantation of hES cells and their derivatives in a substantially progenitor state will allow recovery of parasympathetic, sympathetic, motor, autonomic and sensory pathways through the replacement of lost cell function, regeneration of lost neural cells, removal of physical barriers such as scar tissue, blocking of inhibitory signaling pathways and the release of neurotrophic factors from the transplanted hES cell progenitors.

[0128] Amongst the benefits of restoration of neurological function through the transplantation of hES cells according to the practice of the present invention are: an improvement in motor and sensory function, the general quality of life, reduction in the support system generally provided by relatives, decrease in dependency upon other pharmaceutical compositions, and other medical devices and aids, improvement in the mental and psychological status

and also in economic independence. There is a reduction in costs of medical equipment and disability aids and medication dependence through a recovery of the parasympathetic, sympathetic, sensory, and motor functions. There is an enhancement in self-sufficiency, improvement in social status, marital status and ability to exercise reproductive rights, with only a limited number of clinic visits per annum for treatment. Treatment by the administration of hES cells and their derivatives according to the present invention does not lead to problems of antigenicity, tumour formation, teratoma formation or aberrant neural connections.

[0129] Also, administration of hES cells and their derivatives especially for SCI subjects results in the cure of bed sores, reduction in their need for hypertensives or anti-depressants, restoration of bladder sensation and control, restoration of bowel sensation and sensation of pain and touch; restoration of lost reflexes; reduction in symptoms of cold sweats; reduction in the sensation of giddiness; normalization of blood pressure and normalization of breathing with full diaphragmatic involvement.

[0130] A procedure for the administration of hES cells to patients suffering Sub-acute Spinal Cord Damage, or Chronic Spinal Cord Damage and for whom natural recovery mechanisms have failed is given in detail below. A different procedure for the treatment of Acute SCI as a first line of treatment within three months of the injury according to the practice of the present invention is also provided in detail below.

[0131] The therapeutically effective dosage, the schedule of administration and route of administration of hES cells to be administered primarily depends upon three factors; namely type of disorder, clinical status of the patient and the severity of the symptoms present During the practice of the present invention it has been found that therapeutically effective dosages and schedules are not dependent upon age, gender, body weight or race. The protocol for each patient is individually established based on an ongoing process of evaluation of the patient.

[0132] In one embodiment of the practice of the present invention, a pharmaceutical composition containing hES cells and/or their derivatives is administered to a subject that is suffering from a presently incurable disorder

or terminal condition or other clinical disorder as referred to above through a series of injections in order to treat the disorder.

[0133] Various embodiments for the treatment of clinical disorders and terminal conditions according to the present invention will now be described with reference to the following examples.

Treatment, dosage, schedule, routes of administration, evaluation and follow up of patients suffering from SCI

[0134] In one embodiment, hES cells and/or their derivatives are administered to a subject that has suffered from a SCI for more than three months (Sub Acute and Chronic SCI) through a series of injections in order to treat the disorder. In another embodiment, the hES derivatives are hematopoietic progenitor stem cells. In another embodiment, the hES derivatives are neuronal progenitor stem cells.

Test dose

[0135] In one embodiment, about 750,000 to about 80 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic progenitor stem cells and neuronal progenitor stem cells, diluted in sterile normal saline to a final volume of about 0.25 to about 1.0 ml are tested for contamination and viability and for count using standard protocols and thereafter are administered by subcutaneous injection as a test dose in the forearm. Observations are made to check for anaphylactic shock, pain or inflammation at the site of the injection, generalized itching, flushing or fever after five minutes, ten minutes, fifteen minutes, thirty minutes, one hour and twenty four hours. In one embodiment, the proportion of hES cells to hematopoietic progenitor stem cells and neuronal progenitor stem cells ranges from about 4:1 to about 1:4. In another embodiment, the proportion is about 1:1.

Priming dose

[0136] The protocol entails the administration of a subcutaneous, intramuscular and/or intravenous priming injection of a pharmaceutical composition containing about 750,000 to about 80 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic progenitor stem

cells and neuronal progenitor stem cells, resuspended in a volume of about 0.25 ml to about 1.0 ml of sterile normal saline. The priming injection is administered through an injection of a pharmaceutical composition containing the same number of hES cells and their derivatives daily for one week to 10 days.

Epidural injection and epidural catheter

[0137] About 750,000 to 80 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal progenitor stem cells, suspended in a volume of 2 ml of sterile normal saline and further diluted to 5 ml to 40 ml of sterile normal saline is administered by epidural injection or epidural catheter above or below the site of the lesion twice daily over a period of three consecutive days, seven to ten days after the first priming injection. Administration by epidural injection/epidural catheter is repeated above or below the site of the lesion according to the clinical progress in the improvement of symptoms presented by the patient and the opinion of the physician. It has also been observed that if the patient is made to lie on his/her back after the epidural injection, sensory improvement is substantial and if he/she is made to lie in the face-down position, the motor improvement is substantial. In both cases, the patient has to have the legs kept in an elevated position.

Intrathecal

[0138] About 750,000 to 11 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, suspended in 2 ml of sterile normal saline and further diluted by 2 ml of sterile normal saline to a total volume of 4 ml are administered by intrathecal injection above or below the site of lesion at periods of two, five, eight, twelve, seventeen and twenty two months after the start of the priming injections.

[0139] In one embodiment, the SCI treatment is continued by administering cells by epidural injection via catheter above or below the site of the lesion, *e.g.*, fifteen days after the injury. In one embodiment, a suspension of about 750,000 to 80 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, in a volume of 2 ml of sterile normal

saline and then further diluted into 15 ml to 40 ml of sterile normal saline is injected. This treatment may be repeated one and a half months later.

Deep spinal injection

[0140] According to the observed progress in symptom reversal, additional booster injections of the pharmaceutical composition may be administered comprising about 750,000 to about 80 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise both hematopoietic stem cells and neuronal progenitor stem cells, suspended in a volume of 0.25 ml to 1.0 ml of sterile normal saline. In one embodiment, the pharmaceutical composition is administered by deep spinal injection at the back of the spine weekly or every other week. This treatment will strengthen the back muscles and enhance physical rehabilitation once the patient has regained mobility.

Caudal injection

[0141] According to the practice of the present invention, a pharmaceutical composition of about 750,000 to about 80 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, resuspended in 2 ml of saline and diluted into 10 ml alone or in combination with up to 20 ml of DEPOMEDROL (methylprednisolone acetate) are administered by caudal injection. This treatment will strengthen the muscles of the lumbar region and allow for regaining of sensory and motor power in the lumbar and sacral areas.

[0142] In addition to ongoing transplantation of hES cells, the recovery of the patient is aided by daily physiotherapy and a re-education in their use of lost motor function and instruction on maintaining a healthy lifestyle that promotes cellular function and cellular regeneration processes.

Local administration

[0143] In addition to the direct treatment of SCI using hES cells and/or their derivatives according to practice of the present invention, bed sores arising as a result of long term immobilization of the patient may be treated rapidly and effectively through the topical application of a pharmaceutical composition containing hES cells and/or their derivatives.

[0144] Treatment of bed sores may be achieved by topical application of a pharmaceutical composition containing about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic progenitor cells. Loading or priming doses are given by intravenous and intramuscular injection to allow for internal healing as well as to promote neo-vascularisation. Alternatively, the hES cells and their derivatives are resuspended in 2 ml saline, diluted with 2 to 4 ml of saline and applied intralesionally.

Intravenous infusion

[0145] According to the practice of the present invention, a pharmaceutical composition comprising 750,000 to 80 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic and neuronal progenitor cells, are resuspended in 100 ml of normal saline and administered by the intravenous route. This treatment insures a continuous flow of stem cells into the body and can be especially useful if the other direct routes are not accessible due to any reason, e.g., a bed sore at the site, patient too debilitated, etc.

Protocol for treatment of Acute SCI

[0146] Rapid intervention in the treatment of Acute SCI greatly enhances the chances of survival of the patient. Furthermore, rapid intervention in the treatment of any incurable disease, condition or disorder through practice of the present invention increases the chances of recovery. In a further embodiment of the present invention, patients suffering from Acute SCI for less than three months after spinal injury can also be treated successfully as described in detail below. A pharmaceutical composition of hES cells and/or their derivatives along with an effective physiotherapy, rehabilitation and re-education program according to the practice of the present invention is an effective first line of treatment for Acute SCI.

[0147] Treatment of Acute SCI comprises all of the steps used for treatment of Sub Acute and Chronic SCI plus two additional steps. During the initial intervention for the SCI immediately after the injury occurs (*e.g.*, surgery), hES cells and/or their derivatives are administered directly to the site of the

injury. Follow-up treatment comprises two intrathecal injections and one epidural injection within three months of the injury.

Clinical evaluation and observations

[0148] For patients that have lost motor function in their legs for an extended period of time, while being treated according to the present invention, programs for their re-education in walking and other physical therapy should be implemented as motor function returns to their legs. As a first step in such programs, the use of walking frames and calipers has proven effective in re-education. An additional program of muscularisation of the arms and upper body should be implemented in order for the patient to be able to support their body weight unaided in the walking. The re-education programs may be reduced as the treatment continues and the condition of the patient improves.

[0149] In addition to the reduction in the need for medical device support and physical therapy, because of improvements in the sympathetic and parasympathetic symptoms of the patient, through treatment according to the practice of the present invention, there is a reduction in the requirement for medications, including blood pressure fluctuation medication, depression medication, bed-sore medication, medication and medical devices for bowel and bladder complications, anti-spasticity medications and pumps.

[0150] In addition to a reduction in the need for medications for the treatment of symptoms directly or indirectly associated with the SCI, it is observed that diabetics with SCI and treated according to the present invention show a reduction in the need for their anti-diabetic medications.

[0151] Clinical evaluation of the progression in improvement of the symptoms presented by the patient suffering from SCI and treated according to the present invention is monitored regularly during the course of the treatment and after remission. A number of physiological, sympathetic, parasympathetic, motor, autonomic and psychological parameters are assessed in order to evaluate the efficacy of the technique in reversing the symptoms of SCI and these are described in detail below.

[0152] An examination of the referring clinician's records, including symptom description, site of lesion categorization, symptom progression, clinical intervention, treatments and general history of the injury is made. Based on

this examination and a thorough examination of the patient, including a Magnetic Resonance Imaging (MRI), Electromyography (EMG), Nerve Conduction Velocity (NCV) scan and other neurological examinations and investigations including a neurological examination to assess the extent of the damage and to obtain a record of the lesion prior to treatment, methodologies for the semi-quantitative description of improvement after transplantation according to the practices of the present invention are made and are described in detail below.

[0153] Sympathetic parameters and neurological well being including the mental state of the patient, whether depressed or otherwise, behavioral characteristics, cranial nerve function and general demeanor as part of a psychological evaluation are noted.

[0154] An evaluation of signs and symptoms linked to the neurological damage at the site of the lesion and functioning of the autonomic nervous system is made. This includes a neurological examination, testing the ability to sense deep pressure, sense of touch, sensation, balance, ability to sense pain, ability to sense change in temperature, involuntary movements, presence of cold sweats, giddiness, blood pressure, breathing difficulty, abnormal posture whilst lying down and ability to sit unaided.

[0155] An evaluation of bladder and bowel function is made. This includes bladder control, bladder stream and sensation of fullness in the bladder, bowel control, time for evacuation of the bowel and sensation in the bowel.

[0156] An evaluation of the motor function of the upper body is made in order to assess the extent of damage to the central nervous system. This includes shoulder movement, wrist and finger movement, tendon reflexes, and strength of limb movement, muscular atrophy and hand grasp.

[0157] An evaluation of the motor function of the lower body is made in order to assess the extent of damage to the central nervous system. This includes hip movement, knee movement, toe movement, tendon reflexes, and strength of the limb, muscular atrophy and plantar response. A detailed neurological examination is also conducted at regular intervals during the treatment in order to monitor the progress of limb innervation.

[0158] To aid recovery of the patient during the course of clinic visits, standard physical therapy techniques are used in order to tone the patient as

motor function returns, so that they may recover use of their limbs and joints and become more mobile.

[0159] Proof of neural regeneration is demonstrated by restoration of neurological function and neurological evaluation. Examples for the treatment protocol for SCI have been provided as case studies in the present application.

Treatment of Developmental Disorders of the Nervous System

[0160] hES cells and/or their derivatives according to the practice of the present invention are administered in an amount of about 750,000 to about 160 million cells for the treatment of developmental disorders such as Autism and Mental Retardation. In another embodiment, about 750,000 to about 80 million cells are administered via intramuscular or intravenous routes after a test dose. The intrathecal route can also be used. In a further embodiment, intracranial transplantation can also be used. The hES cells and/or their derivatives are predominantly neuronal progenitor cells. In another embodiment, hematopoietic and neuronal progenitor cells are administered via intramuscular or intravenous routes. This treatment continues over a period of a year beginning with daily injections via intramuscular or intravenous routes for a period of 3 months. Then the same injections continue once a week for the next 3-6 months and then once a fortnight for the next 3 months and then once a month according to the physician's observations. The intrathecal injection is included in the protocol only 6-8 months after the start of the treatment and then also only if the patient is showing no response to the intramuscular and intravenous injections. In another embodiment of the present invention, 750,000 to 80 million hES cells and/or their derivatives are resuspended in 100 ml of normal saline and administered via intravenous infusion

EXAMPLE 1:

[0161] A patient diagnosed with Autism with flapping tremors, hyperactive state, no social skills, no eye contact, pin rolling movements, inability to follow instructions, not willing to learn, showed improvement after the administration of a pharmaceutical composition comprising hES cells and their derivatives including neuronal stem cell progenitors and hematopoietic stem cell progenitors.

[0162] The schedule of injections for this patient is shown in Table 2. For this table and all of the ensuing tables regarding injection schedules, the cell type indicator "neuronal" refers to a cell population of hES cells that have been partially differentiated in a medium (*e.g.*, DMEM) that promotes differentiation to neural progenitor stem cells. The cell population comprises hES cells and stem cells that are predominantly neuronal progenitor stem cells. The indicator "non-neuronal" refers to a cell population of hES cells that have been partially differentiated in a medium (*e.g.*, RPMI) that promotes differentiation to progenitor stem cells other than neuronal progenitor stem cells. The cell population comprises hES cells and various stem cells that are predominantly not neuronal progenitor stem cells.

TABLE 2

Date	Route of administration	Cell types
3/13	test dose	non-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	non-neuronal
3/24	im	neuronal
3/27	im	neuronal
3/28	im	non-neuronal
3/29	im	non-neuronal
3/30	im	non-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	non-neuronal
6/5	im	neuronal
6/7	iv	neuronal
6/9	iv	non-neuronal
6/12	iv	neuronal
6/14	iv infusion	neuronal
6/16	im	neuronal
6/19	im	non-neuronal
6/21	im	neuronal
6/23	iv	neuronal
7/3	iv	neuronal
7/5	iv infusion	neuronal
7/7	im	non-neuronal
7/10	im	non-neuronal
7/12	im	neuronal
7/14	im	neuronal
7/17	iv infusion x 2	neuronal
7/18	im	non-neuronal
7/20	im	non-neuronal
7/24	im	non-neuronal
7/28	im	non-neuronal
7/31	im	non-neuronal
8/2	im	non-neuronal
8/4	im	non-neuronal
8/7	im	non-neuronal
8/10	im	non-neuronal
8/11	im	non-neuronal
8/14	im	non-neuronal
8/18	im	non-neuronal
8/21	im	neuronal
8/23	im	non-neuronal
8/28	im	non-neuronal
8/30	im	non-neuronal
9/1	im	non-neuronal
9/4	im	non-neuronal

Treatment of Degenerative Nervous System Disorders

[0163] hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and hematopoietic stem cell progenitors according to the practice of the present invention, are administered in an amount of about 750,000 to about 160 million cells for the treatment of Degenerative Nervous System Disorders including but not limited to Cortico-Basal Degeneration, Olivo Ponto Cerebellar Atrophy, Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, Multiple Sclerosis, Dementia, Auditory Nerve Atrophy and Motor Neuron Disease. In another embodiment, about 750,000 to about 80 million cells are administered.

[0164] While administration protocols may be varied to suit the particular patient, a typical protocol for the treatment of degenerative nervous system disorders in children comprises daily intramuscular and intravenous injections in the first month, injections three times a week during months 2-4, weekly injections in months 5 and 6 and weekly booster shots in months 9-12. For adults, a typical protocol involves daily intramuscular and intravenous injections along with administration by epidural catheter, lumbar puncture, intrathecal, or caudal routes. This is followed by two intravenous infusions with a minimum gap of at least 7 days. Finally, booster injections are administered once a month for 6 months and then once every 2 months for at least 6 months. Treatment may be continued for longer periods and may even be life long as the diseases are progressive.

[0165] In the case of progressive and degenerative disorders, stemming or stabilizing the disease progression through rapid intervention according to the practice of the present invention permits an increased self dependence of the patient. It is only after the stabilizing effect that some improvements can be seen.

EXAMPLE 2:

[0166] A patient suffered from a two-year history of repetitive progressive multiple sclerosis taking SOLUMEDROL (methylprednisolone) daily was unable to walk, had no bladder or bowel control, and suffered frequently from respiratory disorders.

[0167] Pursuant to the treatment according to the present invention, the subject's condition improved, the patient was able to walk and there was a restoration of bladder and bowel control and the use of SOLUMEDROL was reduced. The MRI has shown a 50% improvement.

[0168] The schedule of injections for this patient is shown in Table 3.

TABLE 3

Date	Route of administration	Cell types
7/15	test dose	neuronal
7/25	im	neuronal
7/26	im	neuronal
7/27	im	non-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	neuronal and non-neuronal mixture
9/19	iv	neuronal
9/22	im	neuronal
9/26	im	neuronal and non-neuronal mixture
9/29	im	neuronal and non-neuronal mixture
10/3	im	neuronal and non-neuronal mixture
10/6	im	non-neuronal
10/13	iv	neuronal and non-neuronal mixture
10/17	im	neuronal and non-neuronal mixture
10/20	iv	neuronal
10/24	iv	neuronal and non-neuronal mixture
10/31	iv	neuronal and non-neuronal mixture
11/3	iv im	neuronal and non-neuronal mixture
11/7	im	non-neuronal

11/21	iv	non-neuronal
11/24	im	non-neuronal
1/19	im x 2	non-neuronal neuronal
1/25	im x 2	neuronal
2/2	im iv	non-neuronal neuronal
2/15	im x 2 iv	neuronal non-neuronal
2/23	im x 2 iv	neuronal non-neuronal
3/2	im x 2 iv	neuronal non-neuronal
3/8	im x 2 iv	non-neuronal
3/16	im x 2 iv	neuronal non-neuronal
5/2	im x 2	non-neuronal
5/12	im x 2 iv	neuronal non-neuronal
6/8	im x 2 iv	neuronal non-neuronal
6/16	im x 2 iv	neuronal non-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 non-neuronal
7/22	im x 2 iv	neuronal non-neuronal
7/24	im x 2 iv	neuronal non-neuronal
8/1	im x 2 iv	non-neuronal
8/4	im x 2 iv	non-neuronal
8/7	im x 2 iv	non-neuronal
8/24	im x 2 iv	non-neuronal
8/28	im x 2 iv	non-neuronal
9/2	im x 2 iv	non-neuronal
9/6	im x 2 iv	non-neuronal

9/9	im x 2 iv	non-neuronal

EXAMPLE 3:

[0169] A 60 year old man presented with ALS (motor neuron disease) two years ago with fast deterioration in his arms and hands. There was continuous twitching and fasciculations in his arms, hands and tongue. He could not supinate and pronate his left arm, or lift it above his head. His right arm could be lifted up with a jerk and he had skeletal hands.

[0170] 1½ years after treatment, his hands have recovered from the skeletal frame with regeneration of hypothenar and thenar muscles of both hands. Supination and pronation is possible with both arms. He found the same difficulty in swallowing, which has not worsened since. There is no deterioration with his legs, breathing and speech.

[0171] The schedule of injections for this patient is shown in Table 4.

TABLE 4

Date	Route of administration	Cell types
8/2	im	neuronal (test dose)
8/4	im	neuronal non 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	non-neuronal
8/25	im x 3	non-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

	iv	mixed
9/12	im iv	neuronal non neuronal
9/13	im iv	neuronal non neuronal
9/16	im	mixed
9/19	im iv	neuronal mixed
9/22	iv	neuronal
9/23	im iv	neuronal non neuronal
9/26	im	mixed
9/27	im	mixed
9/28	im iv	neuronal non neuronal
9/30	im iv	mixed non neuronal
10/3	iv	mixed
10/7	im	non neuronal
10/10	iv	neuronal
10/12	iv	mixed
10/17	im iv	neuronal mixed
10/20	epidural	neuronal
10/21	iv	neuronal
10/24	iv	mixed
10/27	iv	neuronal
10/28	iv	mixed
10/31	iv	mixed
11/2	iv	mixed
11/3	epidural	neuronal
11/4	iv	mixed
11/7	im	non neuronal
11/9	im	non neuronal
11/11	im	neuronal
11/14	im	neuronal
11/17	im	non neuronal
11/21	im	non neuronal
11/23	im	non neuronal
12/13	im	non 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	non neuronal
1/16	iv	neuronal

1/19	im iv	neuronal non neuronal
1/23	epidural	neuronal
1/27	im iv	neuronal non neuronal
1/29	im iv	neuronal non neuronal
2/1	iv	neuronal
2/3	im iv	neuronal non neuronal
2/6	im iv	neuronal non neuronal
2/8	iv	non neuronal
2/10	iv	non neuronal
2/13	iv	non neuronal
2/15	iv	non neuronal
2/17	im iv	neuronal non neuronal
2/20	im iv	neuronal non neuronal
2/22	im iv	neuronal non neuronal
2/24	im iv	neuronal non neuronal
2/27	iv oral spray	neuronal non neuronal
3/1	im iv	neuronal non neuronal
3/6	iv	non neuronal
3/8	epidural	neuronal
3/9	epidural	neuronal
3/10	epidural	neuronal
3/11	iv	neuronal
3/22	im	non neuronal
3/24	im	non neuronal
3/27	iv	non neuronal
3/29	im iv	non neuronal
3/31	im oral spray	neuronal non neuronal
4/3	im iv	neuronal non neuronal
4/5	im iv	neuronal non neuronal
4/7	im iv	neuronal non neuronal
4/10	im iv	neuronal non neuronal
4/12	im	neuronal

	iv	non neuronal
4/19	epidural	neuronal
4/24	iv	neuronal
4/26	iv	non neuronal
4/28	im iv	neuronal non neuronal
5/2	im	non neuronal
5/3	im	neuronal
5/5	im iv	neuronal non neuronal
5/8	iv	non neuronal
5/11	intravenous infusion	neuronal
5/12	im	non neuronal
5/14	im iv	neuronal non neuronal
5/15	im iv	neuronal non neuronal
5/16	im iv	neuronal non neuronal
5/17	im iv	neuronal non neuronal
5/19	im iv	neuronal non neuronal
5/22	im iv	neuronal non neuronal
5/24	im iv	neuronal non neuronal
5/26	im iv	neuronal non neuronal
5/29	im iv	neuronal non neuronal
6/1	im iv	neuronal non neuronal
6/2	im iv	neuronal non neuronal
6/5	epidural catheter	neuronal
6/6	epidural catheter	neuronal
6/7	epidural catheter	neuronal
6/12	im	neuronal non neuronal
6/14	im iv	neuronal non neuronal
6/16	intravenous infusion	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

7/12	iv	neuronal
7/14	iv	neuronal
7/17	iv	non neuronal
7/20	iv	non neuronal
7/24	iv	non neuronal
7/25	epidural (intrathecal)	non neuronal
7/31	iv	neuronal
8/2	iv	neuronal
8/3	iv	non neuronal
8/8	iv	non neuronal
8/11	iv	non neuronal
8/16	iv	neuronal
8/23	iv	neuronal
8/28	iv	non neuronal
8/29	iv	non neuronal
9/5	iv	non neuronal
9/6	iv	non neuronal
9/8	iv	non neuronal
9/13	iv	non neuronal
9/15	im iv	non neuronal
9/18	im iv	non neuronal
9/19	intravenous infusion	neuronal
9/20	intravenous infusion	non neuronal
9/22	im iv	non neuronal
9/25	im iv	non neuronal
9/27	im iv	non neuronal
9/29	im iv	non neuronal
10/2	im iv	non neuronal
10/4	im iv	non neuronal
10/9	im iv	non neuronal
10/13	im iv	non neuronal
10/16	im iv	non neuronal
10/18	im iv	non neuronal
10/20	im iv	non neuronal
10/23	im iv	non neuronal

10/25	iv infusion	mixed
10/27	iv infusion	non neuronal
11/1	im iv	non neuronal
11/6	im iv	non neuronal
11/8	im iv	non neuronal
11/10	intrathecal	neuronal
11/13	im iv	non neuronal
11/15	im iv	non neuronal
11/17	im iv	neuronal non neuronal
11/20	im iv	non neuronal
11/22	im iv	non neuronal
11/24	iv	neuronal
11/27	im iv	mixed
12/1	im iv	mixed
12/4	iv infusion	mixed
12/6	im iv	non neuronal
12/8	iv	neuronal
12/11	im iv	non neuronal
12/14	iv infusion	non neuronal
12/15	iv infusion	non neuronal
12/18	im iv	non neuronal
12/20	iv	neuronal
12/27	im iv	neuronal
12/29	im iv	neuronal
1/4	im iv	non neuronal
1/8	iv infusion	mixed
1/9	iv infusion	mixed
1/10	iv infusion	mixed
1/12	im iv	non neuronal
1/16	im iv	non neuronal
1/19	im	non neuronal

	iv	
1/22	im iv	mixed

EXAMPLE 4:

[0172] Patient was diagnosed to be suffering from Parkinson's disease. Patient did not respond to the standard treatment and his condition became worse as time progressed. He had a typical shuffling gait. Unilateral tremors were present in the right arm and he was physiologically very much depressed. He couldn't open his eyes. Since treatment began, the patient has shown improvement gradually and after one year of hES cell treatment the patient is markedly improved. The gait is normal, the tremors in the hand are minimal and psychologically he is upbeat. He opens his eyes fully. He can sign and write now, which was impossible at the start of the treatment. He is less dependent on others now.

[0173] The schedule of injections for this patient is shown in Table 5.

TABLE 5

Date	Route of administration	Cell types
1/30	im iv	neuronal (test dose)
1/31	im	neuronal
2/1	iv	neuronal
2/2	iv im	non neuronal neuronal
2/3	iv im	neuronal
2/4	iv im	neuronal
2/5	iv im	neuronal
2/6	iv im	non neuronal neuronal
2/8	iv im	non neuronal neuronal
2/9	iv im	non neuronal neuronal
2/10	iv im	non neuronal neuronal
2/11	iv im	non neuronal
2/12	iv im	neuronal non neuronal

2/13	iv im	neuronal non neuronal
2/14	iv	neuronal
2/15	iv im	neuronal non neuronal
2/16	iv im	neuronal non neuronal
2/17	iv im	neuronal non neuronal
2/18	iv im	neuronal non neuronal
2/19	iv im	neuronal non neuronal
2/20	iv im	neuronal non neuronal
2/21	iv im	neuronal non neuronal
2/23	iv im	neuronal non neuronal
2/25	iv im	neuronal non neuronal
2/26	iv im	neuronal non neuronal
2/27	iv im	neuronal non neuronal
2/28	iv	neuronal
3/1	iv im	neuronal non neuronal
3/2	iv im	neuronal non neuronal
3/3	iv	neuronal
3/4	im	neuronal
3/5	iv	neuronal
3/7	im	neuronal
3/9	iv	non neuronal
3/10	iv im	neuronal non neuronal
3/11	iv im	neuronal non neuronal
3/12	iv im	neuronal non neuronal
3/13	iv im	neuronal non neuronal
3/28	iv	neuronal
3/29	iv im iv im	neuronal non neuronal
3/30	iv im im	neuronal non neuronal
3/31	iv	neuronal

	im	non neuronal
4/1	iv im	neuronal non neuronal
4/2	iv im	neuronal non neuronal
4/3	iv im	neuronal non neuronal
4/4	iv im im	neuronal non neuronal
4/5	iv im	neuronal non neuronal
4/6	iv im	neuronal non neuronal
4/7	iv im im	neuronal non neuronal
4/8	iv im	neuronal non neuronal
4/9	iv im	neuronal non neuronal
4/10	iv im	neuronal non neuronal
4/11	iv im	neuronal non neuronal
4/12	iv im	neuronal non neuronal
4/13	iv im	neuronal non neuronal
4/14	iv im	neuronal non neuronal
4/15	iv im	neuronal non neuronal
4/16	iv im	neuronal non neuronal
5/20	iv im	neuronal non neuronal
5/21	infusion	non neuronal
7/10	iv im	neuronal non neuronal
7/11	iv im	neuronal non neuronal
7/12	iv im	neuronal non neuronal
7/13	iv im	neuronal non neuronal
7/14	iv im	neuronal non neuronal
7/15	iv infusion	non neuronal
7/16	iv infusion	non neuronal
7/17	iv	neuronal

	im	non neuronal
7/18	iv im	neuronal non neuronal
7/19	iv im	neuronal non neuronal
7/20	iv im	neuronal non neuronal
7/21	iv im	neuronal non neuronal
7/22	iv infusion	neuronal
7/23	iv infusion	neuronal
7/24	iv infusion	non neuronal
7/25	iv im	neuronal non neuronal
7/26	iv im	neuronal non neuronal
7/27	iv im	neuronal non neuronal
7/28	iv im	non neuronal
7/29	iv infusion	neuronal
7/30	im	neuronal non neuronal
9/9	im iv	non neuronal
9/12	im iv	non neuronal
9/13	iv im	non neuronal
9/14	im iv	non neuronal
9/15	im iv	non neuronal
9/16	im iv	non neuronal
9/17	iv infusion	neuronal
9/18	iv infusion	neuronal
9/19	iv	neuronal
9/20	im iv	non neuronal
9/21	im iv	non neuronal
9/22	im iv	non neuronal
9/23	iv infusion	non neuronal
9/24	iv infusion	non neuronal
9/25	iv im	non neuronal
9/26	iv	non neuronal

	im	
9/27	iv im	non neuronal
9/28	iv im	non neuronal
9/29	iv iv infusion	neuronal
9/30	iv im	non neuronal
11/9	iv im	non neuronal
11/10	iv im	non neuronal
11/11	iv im	non neuronal
11/12	iv im	non neuronal
11/14	iv infusion	mixed
11/16	iv im	non neuronal
11/17	iv im	non neuronal
11/18	iv infusion	neuronal
11/19	iv infusion	neuronal
11/20	iv im	non neuronal
11/21	iv im	non neuronal
11/22	iv im	non neuronal
11/23	iv im	non neuronal
11/24	iv infusion	neuronal
11/25	iv infusion	neuronal
11/26	im iv	mixed
11/29	iv im	non neuronal
1/9	iv im	non neuronal
1/10	iv im	non neuronal
1/11	iv im	non neuronal
1/12	iv im	non neuronal
1/13	iv infusion	mixed
1/14	iv infusion	mixed
1/15	iv	non neuronal

	im	
1/16	iv im	non neuronal
1/17	iv im	non neuronal
1/18	iv	non neuronal
1/19	iv	non neuronal
1/20	iv infusion	non neuronal
1/21	iv infusion	mixed
1/22	im iv	mixed
1/23	im iv	mixed
1/24	iv im	neuronal
1/25	iv im	neuronal
1/26	iv im	neuronal
1/27	iv infusion	mixed
1/28	iv infusion	mixed
1/29	iv im	neuronal
1/30	iv im	neuronal

Treatment of Cerebral Palsy

[0174] hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and hematopoietic stem cell progenitors according to the practice of the present invention, are administered in an amount of about 750,000 to about 160 million cells for the treatment of Cerebral Palsy. The protocol and the dosage are the same as that for the treatment of neurodegenerative disorders.

EXAMPLE 5:

[0175] A 48 years old male diagnosed at AIIMS as CP at birth had slurred speech, shuffling gait, difficulty in swallowing, and left sided hemiparesis. The charting of muscle tone, reflex, and power was done to confirm the same.

[0176] Six months after treatment he has clearer speech, no difficulty in swallowing, is able to use the left side of his body and his gait has improved.

He is able to shave with his left hand and also use his left hand to pick up cups, etc. His balancing is better and he is able to go on long walks.

[0177] The schedule of injections for this patient is shown in Table 6.

TABLE 6

Date	Route of administration	Cell types
3/8	test dose	non-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 non-neuronal
4/10	iv x 3 im x 3	neuronal non-neuronal
5/10	iv im	neuronal non-neuronal
5/11	im x 2 iv	neuronal
5/12	iv infusion x 2	neuronal
5/13	iv infusion	non-neuronal
5/14	iv infusion iv im	neuronal non-neuronal
5/15	iv infusion	non-neuronal
7/19	iv im	neuronal non-neuronal
7/20	iv infusion	non-neuronal
7/21	iv infusion x 2	non-neuronal
7/22	iv im	neuronal non-neuronal
7/24	iv im	neuronal non-neuronal
7/25	deep spinal	neuronal
7/26	iv im	neuronal non-neuronal
7/27	iv im	neuronal non-neuronal
7/28	iv im	non-neuronal
7/31	iv im	neuronal non-neuronal
8/1	iv im	non-neuronal
8/2	iv	non-neuronal

	im	
8/3	iv im	non-neuronal
8/4	iv infusion x 2	non-neuronal
8/5	iv infusion	non-neuronal
8/7	iv im	non-neuronal
8/8	iv im	non-neuronal
8/9	iv im	non-neuronal
8/10	iv im	non-neuronal
8/11	iv im	non-neuronal
8/12	iv im	non-neuronal
8/14	deep spinal	neuronal
8/16	iv infusion	neuronal
8/17	iv infusion	neuronal
8/18	iv im	neuronal
8/19	deep spinal	neuronal
8/20	iv im	non-neuronal
8/21	iv im	non-neuronal
8/22	iv im	non-neuronal
8/24	iv infusion	non-neuronal
8/25	iv infusion	non-neuronal
8/26	iv im	non-neuronal

EXAMPLE 6:

[0178] A 3 year old baby girl was brought into the clinic with CP and looked and behaved like a month old baby with no neck control, weak cry, no response and inability to suck through the bottle. She was absolutely floppy.

[0179] After a year and a half of treatment she has grown and looks like a 2 year old baby. She has neck control, recognizes her parents, crawls on the bed, eats normal food, smiles on recognition, and sits with support, and has taken a few steps with her mother holding her. Her gait is a scissor gait and she has also started calling out to her parents.

[0180] The schedule of injections for this patient is shown in Table 7.

TABLE 7

Date	Route of administration	Cell types
8/4	im	neuronal (test dose)
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	non neuronal
8/22	im	mixed
8/23	im	mixed
8/25	im	mixed
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	non neuronal
9/6	im	neuronal
9/7	im	neuronal
9/8	im	neuronal
9/12	im	mixed
9/14	im	non neuronal
9/16	im	mixed
9/19	im	neuronal
9/23	im	neuronal

9/26	im	mixed
9/28	im	mixed
9/30	im	mixed
10/3	im	mixed
10/5	im	neuronal
10/10	im	non neuronal
10/17	im	mixed
10/19	im	non neuronal
10/21	im	neuronal
10/24	im	mixed
10/28	im	mixed
10/31	im	mixed
11/4	im	mixed
11/7	im	non neuronal
11/9	im	non neuronal
11/11	im	neuronal
11/14	im	neuronal
11/15	im	non neuronal
11/16	im	non neuronal
11/18	im	non neuronal
11/22	im	non neuronal
11/23	im	non neuronal
11/25	m	non neuronal
11/28	im	mixed
11/29	im	mixed
12/2	im	mixed
12/7	im	non neuronal
12/9	m	non neuronal
12/12	im	non neuronal
12/14	m	neuronal
12/16	im	neuronal
12/19	im	non neuronal

12/21	m	neuronal
12/23	im	neuronal
12/26	m	non 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	non 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	non neuronal
3/8	im	non neuronal
3/22	im	non neuronal
3/24	im	neuronal
3/27	im	non neuronal
3/29	im	neuronal

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	non 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

7/31	im	non neuronal
8/2	im	non neuronal
8/4	im	non neuronal
8/7	im	non neuronal
8/9	im	non neuronal
8/11	im	non neuronal
8/14	im	non neuronal
8/16	im	non neuronal
8/18	im	non neuronal
8/21	im	non neuronal
8/23	im	non neuronal
8/25	im	non neuronal
8/28	im	non neuronal
8/30	im	non neuronal
9/1	im	non neuronal
9/4	im	non neuronal
9/11	im	non neuronal
9/13	im	non neuronal
9/15	im	non neuronal
9/20	im	non neuronal
9/25	im	non neuronal
9/27	im	non neuronal
10/3	im	non neuronal
10/4	im	non neuronal
10/13	im	non neuronal
10/16	im	non neuronal
10/18	im	non neuronal
10/19	im	non neuronal
10/23	im	non neuronal
10/25	im	non neuronal
10/27	im	non neuronal
10/30	im	non neuronal

10/31	im	non neuronal
11/3	im	non neuronal
11/6	im	non neuronal
11/8	im	non neuronal
11/10	im	non neuronal
11/13	im	non neuronal
11/15	im	non neuronal
11/17	im	non neuronal
11/20	im	non neuronal
11/22	im	non neuronal
11/24	im	non neuronal
11/27	im	non neuronal
11/29	im	non neuronal
12/1	im	non neuronal
12/8	im	non neuronal
12/11	im	non neuronal
12/15	im	non neuronal
12/26	im	neuronal
12/27	im	neuronal
1/3	im	non neuronal
1/7	im	non neuronal
1/15	im	neuronal
1/24	im	neuronal
1/25	im	neuronal
1/29	im	neuronal

EXAMPLE 8:

[0181] An 8 year old child was diagnosed with cerebral palsy and with severe mental retardation and was unable to walk on her own. She could not identify objects and had a very low attention span. There was a lot of drooling and she kept her mouth open.

[0182] Following treatment, she is not drooling, her attention span has improved and she is looking more alert. She is walking with minimal support.

[0183] The schedule of injections for this patient is shown in Table 8.

TABLE 8

Date	Route of administration	Cell types
10/9	im	non neuronal (test dose)
10/10	im	non neuronal
10/11	im	non neuronal x 2
10/12	im	non neuronal
10/13	im	non neuronal
12/5	im	non neuronal
12/6	im iv	non neuronal
12/7	im x 3	non neuronal
12/8	im iv	non neuronal
12/9	im iv	non neuronal
12/10	im x 3	non neuronal
12/11	im iv	non neuronal
12/12	im x 3	non neuronal
12/13	im iv	non neuronal
12/14	im	non neuronal
12/15	im iv	non neuronal
12/16	im x 3	non neuronal
12/17	im iv	non neuronal
12/18	im	non neuronal
12/19	im iv	non neuronal
12/20	im x 3	non neuronal
12/21	im iv	non neuronal
12/22	im iv	non neuronal
12/23	im iv	non neuronal
12/24	im iv	non neuronal neuronal
12/25	im iv	neuronal
12/26	im iv	neuronal mixed
12/27	im x 3	neuronal
12/28	im	neuronal

	iv	
12/29	im x 3	neuronal
12/30	im iv	neuronal
12/31	im x 3	neuronal
1/1	im iv	mixed
1/9	iv infusion	mixed
1/10	iv infusion	mixed
1/11	im iv	non neuronal
1/12	im iv	non neuronal
1/13	im iv	non neuronal
1/14	im iv	non neuronal
1/15	im x 3	non neuronal
1/16	im iv	non neuronal
1/17	im x 3	non neuronal
1/18	im	non neuronal
1/19	im	non neuronal
1/20	im	non neuronal
1/21	im	mixed
1/22	im	mixed
1/23	im	mixed
1/24	im	neuronal
1/25	im	neuronal
1/26	im	mixed
1/27	im	mixed
1/28	im iv	neuronal
1/29	im iv	neuronal
1/30	im iv	neuronal
1/31	im	non neuronal
1/2	iv	non neuronal
2/2	im	non neuronal

Treatment of Nervous System Trauma

[0184] hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and hematopoietic stem cell progenitors according to the practice of the present invention, are administered in an amount of about 750,000 to about 160 million cells for the treatment of Nervous System

Trauma, including but not limited to Brain Damage, Coma and Vegetative State. In another embodiment, about 750,000 to about 80 million cells are administered.

[0185] While administration protocols may be varied to suit the particular patient, a typical protocol for the treatment of nervous system trauma comprises daily intramuscular and intravenous injections for the first 2 months along with intrathecal and epidural injections.

Treatment of Cerebro-Vascular Accident or Stroke

[0186] hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and hematopoietic stem cell progenitors according to the practice of the present invention, are administered in an amount of about 750,000 to about 160 million cells for treating cerebro-vascular accident or stroke. In another embodiment, about 750,000 to about 80 million cells are administered.

[0187] While administration protocols may be varied to suit the particular patient, a typical protocol for the treatment of cerebro-vascular accident comprises daily intramuscular and intravenous injections for two weeks and intravenous infusion for 3 days thereafter during the first month, intravenous infusion for 2 days every 15 days during months 2 and 3, intravenous infusion for 2 days and an intrathecal injection during month 5, and intravenous infusion for 4 days followed by intramuscular injection for 4 days during months 8, 10, and 12.

EXAMPLE 9:

[0188] A patient diagnosed with Cerebro-Vascular Accident or Stroke suffered from right-sided hemiparesis with drooling, difficulty in swallowing, and inability to talk or walk. In addition, the patient had cancer of the colon. After the treatment according to the present invention, the patient showed signs of improvement as the speech and motor activities improved, the spine straightened, and hemiparesis was cured.

[0189] The schedule of injections for this patient is shown in Table 9.

TABLE 9

Date	Route of administration	Cell types
8/17	test dose	non-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	non-neuronal
9/6	iv	neuronal
9/7	im	neuronal
9/8	iv	neuronal
9/9	iv	neuronal
9/12	im	neuronal and non-neuronal mixture
9/13	iv	neuronal
9/14	im	non-neuronal
9/19	iv	neuronal
9/22	iv	neuronal
9/26	im	neuronal and non-neuronal mixture
9/29	iv	neuronal
10/3	im	neuronal and non-neuronal mixture
10/6	im	non-neuronal
10/10	iv	neuronal
10/13	iv	neuronal
10/17	iv	neuronal and non-neuronal mixture
10/20	iv	non-neuronal
10/24	iv	neuronal and non-neuronal mixture
10/27	iv	neuronal
10/31	iv	neuronal and non-neuronal mixture
11/3	iv	neuronal and non-neuronal mixture
11/7	im	non-neuronal
11/10	iv	non-neuronal
11/14	im	neuronal
11/17	im	non-neuronal
11/21	im	non-neuronal
11/24	im	non-neuronal
12/4	iv	neuronal and non-neuronal mixture
12/12	iv	non-neuronal
12/19	iv	neuronal
12/26	iv	non-neuronal
1/4	iv	neuronal
1/11	iv infusion	neuronal
8/18	iv im	neuronal

8/21	iv im	non-neuronal
8/22	iv im	non-neuronal
8/24	im iv	non-neuronal
9/1	iv infusion	non-neuronal
9/2	iv infusion	non-neuronal

EXAMPLE 9:

[0190] An 82 year old man suffered from a cerebral stroke 5 years ago and presented with right sided hemiparesis, with facial asymmetry and slurred speech. He walked with a stick and a huge limp and was not able eat with his right hand due to difficulty in co-ordination. He could not sit or get up on his own and dragged his feet on walking. There was drooling of saliva and he also could not swallow well.

[0191] Two months after treatment he is able to walk without support, sits and stands on his own, eats with his right hand, has no slurring speech and no facial asymmetry. He is able to get up from a chair. He is bending the affected knee on walking while maintaining balance.

[0192] The schedule of injections for this patient is shown in Table 10.

TABLE 10

Date	Route of administration	Cell types
11/4	im	non neuronal (test dose)
11/6	im	non neuronal
11/7	im	neuronal
11/8	im	non neuronal
11/9	im	neuronal
11/10	im	neuronal
11/11	im	non neuronal
11/13	im	non neuronal
11/14	im	non neuronal
11/15	iv im	neuronal
11/16	iv im	neuronal
11/18	iv im	non neuronal
11/22	iv infusion	neuronal
11/23	iv infusion	neuronal
11/24	im	neuronal

11/27	im	neuronal
11/28	im	non neuronal
11/29	im	neuronal
11/30	im	neuronal
12/2	im	non neuronal
12/4	im	non neuronal
12/5	iv infusion	neuronal
12/6	iv infusion im	mixed
12/7	im	mixed
12/8	im	mixed
12/9	im	mixed
12/11	im	mixed
12/12	im	mixed
12/14	im iv	mixed
12/15	im	mixed
12/16	im	mixed
12/18	im	mixed
12/19	im iv	mixed
12/20	im	mixed
12/21	im	mixed
12/22	im	mixed
12/23	im	mixed
12/25	im	neuronal
12/26	im	neuronal
12/27	iv	mixed
12/28	im	neuronal
12/29	im	neuronal
12/30	im	neuronal
1/1	im	mixed
1/2	im	mixed
1/3	iv	non neuronal
1/4	im	non neuronal

Treatment of Familial Nervous System Disorders

[0193] hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and hematopoietic stem cell progenitors according to the practice of the present invention, are administered in an amount of about 750,000 to about 160 million cells to subjects for the treatment of Familial Nervous System Disorders, including but not limited to Olivo Ponto Cerebral Atrophy and Huntington's Chorea. In another embodiment, about 750,000 to about 80 million cells are administered. The routes of administration are

intramuscular and intravenous along with intrathecal, epidural catheter and intravenous infusion. This would most likely continue for the person's lifetime but the first year would be an intensive program as follows- daily intramuscular and intravenous injections for at least three months during which time intrathecal, epidural catheter and intravenous infusion are also administered. The same set of injections are administered after a gap of one and a half months over a period of 21 days. The daily intramuscular and intravenous injections are continued and then reduced to thrice a week, twice a week, once a week, once a fortnight and then monthly depending on the patients condition. The intrathecal injection can be repeated at a 4-6 monthly gap as can the epidural catheter. Intravenous infusions can be given every two weeks, every month or every two months.

EXAMPLE 10:

[0194] A patient diagnosed with Sporadic Spino Cerebellar Ataxia with inability to turn on the bed, walk, or shift his position whilst sitting, had difficulty in speech, had tremors and inability to pick up his neck.

[0195] After the stem cell treatment according to the practice of the present invention, improvements in all of the symptoms were noted and the patient was able to balance himself and walk a few steps. The speech became coherent.

[0196] The schedule of injections for this patient is shown in Table 11.

TABLE 11

Date	Route of administration	Cell types
8/8	test dose	non-neuronal
8/9	im	neuronal
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	non-neuronal
8/18	im deep spinal	neuronal
8/19	im	hES
8/23	im	neuronal hES

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	non-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	non-neuronal neuronal and non-neuronal mixture
10/5	iv	neuronal
10/13	im	neuronal
10/14	intra-articular	neuronal
10/17	iv	neuronal
11/15	iv	neuronal
11/18	im	non-neuronal
11/21	iv	non-neuronal
11/23	im	non-neuronal
12/1	im iv	neuronal and non-neuronal mixture
12/6	im	neuronal and non-neuronal mixture
12/8	im	non-neuronal
12/13	im	non-neuronal neuronal
12/15	epidural	neuronal
12/16	im	neuronal
12/21	im	neuronal
12/22	im iv	neuronal
12/25	im iv	non-neuronal
3/5	spinal	non-neuronal

EXAMPLE 11:

[0197] A patient with familial Olivo Ponto Cerebral Atrophy was diagnosed at John Hopkins University. Her father, twin sister, and brother were afflicted by the same disease. She could only talk on expiration, was wheelchair bound with continuous dribbling of urine and had to do manual evacuation of feces.

She had tremors all over the body and could not balance herself even while sitting down. There would be severe postural hypotension.

[0198] After 2 years of treatment the patient goes to the toilet for her bodily functions, talks well, has no tremors and is able to walk with support. There has been no deterioration since even though her twin sister is bedridden with the same disease. There is no postural hypotension and she has definitely not deteriorated.

Treatment of Skin Disorders

[0199] hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors according to the practice of the present invention, are administered via subcutaneous or intravenous injection or via local or topical application in an amount of about 750,000 to about 160 million cells for the treatment of Skin disorders, including but not limited to Non-Healing Ulcers, Psoriasis, Pressure Sores, and Sarcoidosis. In the case of skin disorders, hES cells may also be used topically to treat the skin disorder or damage. In another embodiment, about 750,000 to about 80 million cells are administered.

[0200] In one embodiment, the hES cells or differentiated skin cells and embryonal extract may be mixed with a biocompatible carrier, such as a gel, ointment or paste, and applied to damaged skin or mucosal tissue to accelerate healing as well as to heal wounds resistant to healing, such as diabetic or decubitus ulcers. Alternatively, the cells may be provided in a suspension or emulsion. In one embodiment, the carrier also contains antimicrobial agents, analgesics, or other pharmaceutical agents.

[0201] Alternatively, in a different embodiment, hES cells are grown on a sterile artificial porous substrate such as muslin and applied directly to the wound. After 12-24 hours the muslin is removed and the stem cells continue growing, healing the wound. Applied intralesionally, the hES cells differentiate and eventually replace the damaged cells.

EXAMPLE 12:

[0202] A 70 year old lady suffered a burn injury on her left ankle which did not heal despite conventional therapy. After application of hES cells on the

burn site, her wound started healing and three years later the skin is absolutely alright.

Treatment of Auto Immune Disorders

[0203] hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors according to the practice of the present invention, are administered via intramuscular injection, intravenous injection, subcutaneous injection, intra-articular injection or intravenous infusion or combinations thereof in an amount of about 750,000 to about 160 million cells for the treatment of Auto-Immune Disorders including but not limited to Systemic Lupus Erythematosus, Ankylosing Spondylitis, Cardiomyopathy, Sarcoidosis, Arthritis, and Ulcerative Colitis. In another embodiment, about 750,000 to about 80 million cells are administered. The administration of the hES cells is highly effective not only in the treatment of autoimmune disorders but also in the restoration of a suppressed immune system. As an alternative to treatment with immunosuppressors or as a method for "priming" patients for organ transplant or other medical intervention, hES cells and their derivatives may be used to allow acceptance of the organ through reduction in host-graft rejection processes.

[0204] While administration protocols may be varied to suit the particular patient, a typical protocol for the treatment of autoimmune disorders comprises daily injections for the first 2 months, alternate day injections along with an intravenous infusion during month 3, weekly injections along with a 2 day continuous intravenous infusion every 15 days during months 5-7 and 10-12, and booster injections every 3 months for a year and then every 6 months for a year.

EXAMPLE 13:

[0205] A patient suffering from psoriasis for the past 26 years was wheelchair bound with hypertension, diabetes mellitus and psoriatic arthritis with huge ulcers on her leg which were non healing and not amenable to skin grafting.

[0206] After receiving therapy for 6 months she has no ulcers and no arthritis. Her diabetes and hypertension were under control. She has started walking on

her own and has started all activities and is receiving booster shots for the past 1 year. She claims that she has walked for the first time in the past 26 years and is able to do all her household chores on her own.

[0207] Stem cell treatment was made locally to the sores and the sores healed. Also after the treatment no further sores were detected. The scaliness and itchiness of the skin and the swelling of the legs also was reduced. The diabetic condition was also cured with controlled blood pressure that led to a reduction in medication..

[0208] The schedule of injections for this patient is shown in Table 12.

TABLE 12

Date	Route of administration	Cell types
12/27	test dose	non-neuronal
1/22	im	non-neuronal
2/20	im	neuronal
2/23	im	neuronal
2/28	m	neuronal
4/1	im	neuronal
4/7	im	neuronal and non-neuronal mixture
4/10	im	neuronal and non-neuronal mixture
4/21	m	neuronal and non-neuronal mixture
6/29	im	non-neuronal
7/6	m	non-neuronal
7/29	im	non-neuronal
10/17	im spray	non-neuronal
11/1	im spray	neuronal and non-neuronal mixture
11/2	im spray	neuronal and non-neuronal mixture
11/3	im spray	neuronal and non-neuronal mixture
11/4	im x 2	neuronal
11/5	iv spray	non-neuronal
11/6	im spray	non-neuronal
11/7	im spray	non-neuronal
11/11	iv spray	neuronal
11/14	iv spray	neuronal
11/15	im	non-neuronal

	spray	
11/16	im	non-neuronal
11/21	iv	non-neuronal
11/23	im	non-neuronal
11/29	im	neuronal and non-neuronal mixture
1/4	im	non-neuronal
3/28	im	non-neuronal

Treatment of Blood Disorders

[0209] Yet another embodiment of method according to the practice of the present invention is in the treatment of Blood Disorders such as Thrombocytopenia, Thalassemia, Acute Myeloid Leukaemia by intravenous injection of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitor cells. Cells are administered for 10 days to 14 days and then repeated as a weekly shot for benign conditions. For malignant conditions the injections are given daily for 40 days and then repeated if there is a relapse.

Treatment of Genetic Disorders

[0210] Another embodiment of hES cell transplantation methods according to the practice of the present invention is in the treatment of Genetic Disorders including but not limited to Down's Syndrome, Friedereich's Ataxia, Huntington's Chorea, Asperger's Syndrome and Spinomuscular Atrophy

[0211] The symptoms of genetic disorders are manifested by mental retardation, musculoskeletal dysfunction and organ failure in combination or alone and result in serious incurable debilitation and reduced life expectancy. In the case of patients suffering from a genetic disorder, hES cells are administered to the patient according to the practice of the present invention and, once administered, differentiate to provide the patient with a population of cells expressing the missing or compromised gene product with an ensuing restoration of intracellular homeostasis.

[0212] While administration protocols may be varied to suit the particular patient, a typical protocol for the treatment of Genetic Disorders comprises daily intramuscular and intravenous injections for the first month, alternate day injections during month 2, injections twice a week during month 3, once a

week injections during months 5, 7, 9, 11; and 12, and booster injections every 3 months for a year. Also intravenous infusions are given every 15 days

EXAMPLE 14:

[0213] A patient with Down's syndrome showed no response to verbal commands, was not able to go up and down stairs and had low body weight as a result of eating difficulties. The patient was unable to eat, displayed a typical wide stance, and suffered from frequent coughs and colds. The eyes were mongoloid.

[0214] Pursuant to the treatment according to the present invention, the patient is able to understand and carry out verbal commands, started speaking, and started walking up and down the stairs. DQ testing has shown the mental age to be 1 year behind her chronological age as against 2 years 6 months behind within a span of less than a year. Socially, she goes to school and plays with other children. She also feeds herself.

[0215] The schedule of injections for this patient is shown in Table 13.

TABLE 13

Date	Route of administration	Cell types
7/8	test dose	non-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	non-neuronal
9/13	im	non-neuronal
9/19	im	neuronal and non-neuronal mixture
9/22	im	non-neuronal

9/30	im	non-neuronal
10/3	im	neuronal and non-neuronal mixture
10/10	im	non-neuronal
10/18	im	non-neuronal
10/27	im	neuronal
11/7	im	non-neuronal
11/8	im	non-neuronal
11/9	im	non-neuronal
11/10	im	non-neuronal
11/11	im	neuronal
11/14	im	neuronal
11/17	im	non-neuronal
11/18	im	non-neuronal
11/21	im	non-neuronal
11/22	im	non-neuronal
11/23	im	non-neuronal
11/25	im	non-neuronal
11/28	im	neuronal and non-neuronal mixture
12/4	im	neuronal and non-neuronal mixture
12/8	im	non-neuronal
12/12	im	non-neuronal
12/15	im	neuronal
12/19	im	neuronal
12/27	iv	neuronal
1/4	im iv	non-neuronal
1/11	im	non-neuronal neuronal
1/19	im	neuronal
1/20	im	non-neuronal
1/23	im	non-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

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	non-neuronal
7/31	im	neuronal
8/2	im	non-neuronal
8/21	im	non-neuronal
8/23	im	non-neuronal
8/28	im	non-neuronal
8/30	im	non-neuronal

EXAMPLE 15:

[0216] A 3 year old girl was diagnosed with Down's syndrome. She was not able to talk, comprehend, or walk up and down the stairs. She did not eat on her own and her single word limited speech was very unclear.

[0217] After 8 months of treatment she understands everything, speaks three word sentences, and recognizes colors, shapes and sizes. She is able to go up and down the stairs on her own and has started eating on her own.

[0218] The schedule of injections for this patient is shown in Table 14.

TABLE 14

Date	Route of administration	Cell types
1/30	im	neuronal (test dose)
2/6	im	neuronal
2/7	im	neuronal
2/8	im	neuronal
2/9	im	neuronal
2/10	im	non-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	non-neuronal
2/27	im	neuronal
3/1	im	neuronal
3/3	im	non-neuronal
3/6	im	non-neuronal
3/13	im	neuronal

3/15	im	neuronal
3/22	im	neuronal
3/24	im	neuronal
3/26	im	neuronal
3/27	im	non-neuronal
3/29	im	neuronal
4/3	im	neuronal
4/5	im	neuronal
4/7	im	neuronal
4/10	im	neuronal
4/12	im	non-neuronal
4/14	im	non-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	non-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	non-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	non-neuronal
8/1	im	non-neuronal
8/3	im	non-neuronal
8/5	im	non-neuronal
8/7	im	non-neuronal
8/19	im	non-neuronal
8/24	im	non-neuronal

8/26	im	neuronal
8/28	im	non-neuronal
8/31	im	non-neuronal
9/2	im	non-neuronal
9/7	im	non-neuronal
9/9	im	non-neuronal
9/11	im	non-neuronal
9/14	im	non-neuronal
9/21	im	non-neuronal
9/23	im	non-neuronal
9/25	im	non-neuronal
9/28	im	non-neuronal
9/29	im	non-neuronal
10/4	im	non-neuronal
10/7	im	non-neuronal
10/10	im	non-neuronal
10/14	im	non-neuronal
10/16	im	non-neuronal
10/18	im	non-neuronal
10/22	im	non-neuronal
10/26	im	non-neuronal
10/28	im	non-neuronal
11/1	im	non-neuronal
11/4	im	non-neuronal
11/7	im	non-neuronal
11/9	im	non-neuronal
11/13	im	non-neuronal
11/16	im	non-neuronal
11/17	im	non-neuronal
11/20	im	non-neuronal
11/23	im	non-neuronal
11/27	im	non-neuronal
11/30	im	non-neuronal
12/3	im	non-neuronal
12/4	im x 2	non-neuronal
12/7	im	non-neuronal
12/9	im	non-neuronal
12/11	im	non-neuronal
12/14	im x 2	non-neuronal
12/16	im	non-neuronal
12/21	im	non-neuronal
12/24	im	non-neuronal
12/27	im	neuronal
1/1	im	mixed
1/3	im	non neuronal
1/6	im	non neuronal
1/9	im	non neuronal
1/12	im	non neuronal

1/15	im	non neuronal
1/18	im	non neuronal
1/22	im	mixed
1/25	im	neuronal
1/28	im	neuronal

EXAMPLE 16:

[0219] A 13 year old boy suffered from a genetic defect with lack of concentration, frequent fits and sight impairment. He had total tunnel vision. He had difficulty sitting in class and seeing the blackboard even though he was sitting in the front row. He had delayed milestones and if he read something he would have to read it thrice to remember what he read. He also had difficulty in locating items in a room.

[0220] Since starting hES cells his sight has improved and he sits two rows back in the classroom and can see the black board much better . He is able to remember much more and his response time to verbal commands has improved. He does not have fits as much as before and his medication has been reduced. Reports from the ophthalmologist show that the deadened areas in the periphery have been restored.

[0221] The schedule of injections for this patient is shown in Table 15.

TABLE 15

Date	Route of administration	Cell types
6/8	im	neuronal (test dose)
6/9	im	neuronal
6/12	im	neuronal
6/13	im	neuronal
6/14	im	non neuronal
6/15	im	non neuronal
6/16	im	neuronal
6/20	im	neuronal
6/21	im	non neuronal
6/22	im	neuronal
6/23	iv	non neuronal
6/27	im	neuronal
6/28	im	neuronal
6/29	im	neuronal
7/3	im	non neuronal
7/4	im	neuronal
7/5	im	neuronal
7/6	im	neuronal

7/7	im	neuronal
7/10	im	neuronal
7/11	im	neuronal
7/12	im	neuronal
7/13	im	non neuronal
7/14	im	neuronal
7/17	im	neuronal
7/18	im	neuronal
7/20	im	neuronal
7/21	iv infusion	neuronal
7/22	iv infusion	neuronal
7/24	im	neuronal
7/25	im	neuronal
7/26	im	neuronal
7/27	im	neuronal
7/28	im	non neuronal
7/31	im	non neuronal
8/2	im	non neuronal
8/3	im	non neuronal
8/4	im	non neuronal
8/7	im	non neuronal
8/8	im	non neuronal
8/9	im	non neuronal
8/10	im x 2	non neuronal
8/11	iv infusion	non neuronal
8/12	iv infusion	non neuronal
8/13	im	non neuronal
8/14	im	non neuronal
8/17	im x 2	non neuronal
8/18	im	non neuronal
8/21	im	non neuronal
8/22	im	non neuronal
8/23	im	non neuronal
8/24	im	non neuronal
8/25	im	non neuronal
8/2/	im	non neuronal
8/29	im	non neuronal
8/30	im	non neuronal
9/2	iv infusion	non neuronal
9/3	iv infusion	non neuronal
9/4	im x 3	non neuronal
9/5	im	non neuronal
9/6	im	non neuronal
9/7	im	non neuronal
9/8	im	non neuronal
9/11	im	non neuronal
9/13	im	non neuronal
9/14	im	non neuronal

9/16	im	non neuronal
9/18	im	non neuronal
9/19	im	non neuronal
9/21	im x 2	non neuronal
9/22	iv infusion	non neuronal
9/23	iv infusion	non neuronal
10/3	im	non neuronal
10/4	im	non neuronal
10/5	im	non neuronal
10/6	im	non neuronal
10/9	im	non neuronal
10/10	im	non neuronal
10/11	im	non neuronal
10/12	im	non neuronal
10/13	retroorbital	neuronal
10/16	im	non neuronal
10/17	im	non neuronal
10/18	im	non neuronal
10/20	im	non neuronal
10/23	im	non neuronal
10/24	im	non neuronal
10/25	im	non neuronal
10/26	im	non neuronal
10/27	iv infusion	non neuronal
10/28	iv infusion x 3	non neuronal
10/31	im x 2	non neuronal
11/2	im x 2	non neuronal
11/3	im x 2	non neuronal
11/6	im x 2	non neuronal
11/8	im	non neuronal
11/9	im	non neuronal
11/10	im	non neuronal
11/13	im	non neuronal
11/14	retroorbital	neuronal
11/15	im	non neuronal
11/16	im	non neuronal
11/17	im	non neuronal
11/20	im	non neuronal
11/21	im	non neuronal
11/23	im	non neuronal
11/24	im	non neuronal
11/29	im	non neuronal
11/30	iv	mixed
12/1	iv infusion	mixed
12/4	im	non neuronal
12/5	iv	mixed
12/6	im	non neuronal
12/7	im	non neuronal

12/8	im	non neuronal
12/11	im	non neuronal
12/12	im	non neuronal
12/13	im	non neuronal
12/14	im	non neuronal
12/18	im	non neuronal
12/19	iv	non neuronal
12/21	im	non neuronal
12/22	retroorbital	neuronal
12/29	im	neuronal
2/2	im	non neuronal

EXAMPLE 17:

[0222] The patient is a 32 year male suffering from Fredrick's ataxia and whose sister died of the disease. He could not stand, had fading speech, difficulty in swallowing, was wheelchair bound, and needed assistance in going to the toilet. He was previously treated in Germany and the U.S. with no results. His heart was dilating and functioning at 15 to 20%.

[0223] Since starting hES cells, he has shown improvement. He is able to speak much clearer and has no difficulty in swallowing. His heart has improved with all the dimensions coming back to normal and the functioning capacity up to 58 to 60%. There has been no deterioration.

[0224] The schedule of injections for this patient is shown in Table 16.

TABLE 16

Date	Route of administration	Cell types
2/17	im	non neuronal (test dose)
2/20	im iv	neuronal non neuronal
2/21	im iv	neuronal non neuronal
2/22	im iv	neuronal non neuronal
2/23	im iv	neuronal non neuronal
2/24	im iv	neuronal non neuronal
2/25	im iv	neuronal non neuronal
2/26	im iv	neuronal non neuronal
2/27	epidural	neuronal
2/28	im	neuronal

	iv	non neuronal
3/1	im	neuronal
	iv	non neuronal
3/2	im	neuronal
	iv	non neuronal
3/3	im	neuronal
	iv	non neuronal
3/4	im	neuronal
	iv	Non neuronal
3/5	im	neuronal
	iv	non neuronal
3/6	im	neuronal
		non neuronal
3/7	epidural (catheter)	neuronal
3/8	epidural (catheter)	neuronal
3/9	epidural (catheter)	neuronal
3/10	epidural (catheter)	neuronal
3/13	im	neuronal
	iv	non neuronal
3/14	im	non neuronal
3/16	im	non neuronal
3/17	im	neuronal
	iv	non neuronal
3/18	im	neuronal
	iv	non neuronal
3/19	im	neuronal
	iv	non neuronal
3/20	im	neuronal
	iv	non neuronal
3/21	im	non neuronal
3/22	im	non neuronal
3/24	im	neuronal
	iv	non neuronal
3/25	im	non neuronal
3/26	im	non neuronal
3/27	im	neuronal
3/28	im	non neuronal
3/29	im	non neuronal
3/30	im	non neuronal
3/31	im	non neuronal
4/1	im	non neuronal
4/2	im	non neuronal
4/3	im	non neuronal
4/4	im	neuronal
	iv	non neuronal
4/5	im	non neuronal
4/6	im	non neuronal
4/7	im	non neuronal
4/8	im	non neuronal

4/9	im iv	neuronal non neuronal
4/10	im iv	neuronal non neuronal
4/11	im	non neuronal
4/15	im	non neuronal
4/16	im	non neuronal
4/18	im iv	neuronal non neuronal
4/19	im iv	neuronal non neuronal
4/20	im iv	neuronal non neuronal
4/21	im	non neuronal
4/22	im	non neuronal
4/24	im	non neuronal
4/25	im	non neuronal
4/26	iv im	neuronal non neuronal
4/27	iv im	neuronal non neuronal
4/29	iv	neuronal
4/30	iv im	neuronal non neuronal
502	im	non neuronal
5/3	iv	neuronal
5/5	iv epidural	neuronal
5/7	iv im	neuronal non neuronal
5/9	iv im	neuronal non neuronal
5/10	iv im	neuronal non neuronal
5/12	iv im	neuronal non neuronal
5/13	iv im	neuronal non neuronal
5/14	iv im	neuronal non neuronal
5/16	epidural (intrathecal)	neuronal
5/18	iv im	neuronal non neuronal
8/26	im iv	non neuronal
8/27	im iv	non neuronal
8/28	iv iv infusion	non neuronal

8/29	iv iv infusion	non neuronal
8/30	im iv	non neuronal
8/31	im iv	non neuronal
9/4	im iv	non neuronal
9/6	im iv	non neuronal
9/7	im iv	non neuronal
9/9	im iv	non neuronal
9/10	epidural (intrathecal)	neuronal
9/12	im iv	non neuronal
9/14	im iv	non neuronal
9/15	epidural (catheter)	neuronal,
9/16	epidural (catheter)	neuronal,
9/17	epidural (catheter)	neuronal
9/18	im iv	non neuronal
9/19	im iv	non neuronal
9/20	iv iv infusion	non neuronal
9/21	iv iv infusion	non neuronal

Treatment of Eye Disorders

[0225] Another use of hES Cell transplantation according to the practice of the present invention is in the treatment of Eye Disorders including but not limited to Optical Nerve Atrophy, Macular Degeneration, Eye Damage, Corneal Graft Rejection and Retinitis Pigmentosa through direct injection of neuronal progenitors and hES cells according to the practice of the present invention to the retrobulbar portion of the eye, superficial area of the eye and the internal chamber of the eye.

[0226] While administration protocols may be varied to suit the particular patient, a typical protocol for the treatment of Eye Disorders comprises 10 days of intramuscular and intravenous injections followed by a retrobulbar or

intravitreous injection, 15 days of intramuscular and intravenous injections followed by a retrobulbar injection, 2 intravenous infusions, and a retrobulbar injection after 2 months. A total of 4 retrobulbar injections is given over a period of 8 months to one year before results are seen but in some cases the results are seen earlier. Intravitreous routes can be used. Also the cornea can be repaired via usage of contact lenses on which the stem cells have been grown. Also eye drops comprising stem cells can be used.

EXAMPLE 18:

[0227] A patient diagnosed for Optical Nerve Atrophy had conditions which included difficulty in reading small letters and not being able to see objects placed far away. Also dark blue and violet colours were not visible. Vision was nil with perception of light and now is 6/24.

[0228] Pursuant to the stem cell therapy according to the present invention, *i.e.*, hES cells and their derivatives including neuronal stem cell progenitors administered by retrobulbar injection and hES cells and their derivatives including neuronal stem cell progenitors and hematopoietic stem cell progenitors according to the practice of the present invention is administered via local intravenous injection, or subcutaneous injection or intramuscular injection, intravitreous injection or topical application in an amount of about 750,000 to about 160 million cells, the patient showed significant improvements. He is able to read time and can see billboards as well as watch television from a distance.

[0229] The schedule of injections for this patient is shown in Table 17.

TABLE 17

Date	Route of administration	Cell types
2/14	im	neuronal
2/15	iv	neuronal non-neuronal
3/20	iv x 2 im	neuronal
3/21	iv retrobulbar	neuronal
4/30	iv	non-neuronal
5/1	iv im	neuronal

5/2	retrobulbar	non-neuronal

Treatment of Liver and Kidney Disorders

[0230] Yet another use of hES cell transplantation according to the practice of the present invention is in the treatment of Liver Disorders and Kidney Disorders including but not limited to End Stage Renal Nephrosis and Nephrotic Syndrome through transplantation according to the practice of the present invention. The routes of administration are intravenous, intramuscular and via intravenous infusion.

EXAMPLE 19:

[0231] A patient diagnosed for nephrotic syndrome exhibited elevated urea, creatine and P protein levels. The corticomedullary differentiation was not maintained and the body was swollen. hES cells and their derivatives including hematopoietic stem cell progenitors, albumin producing stem cell progenitors and bilirubin producing stem cell progenitors according to the practice of the present invention were administered via intravenous injection, or subcutaneous injection, or intramuscular injection, or intravenous infusion in an amount of about 750,000 to about 160 million cells. After the treatment with stem cells, the body was less swollen and the corticomedullary differentiation was restored. The urea, creatine and P protein levels also normalized.

[0232] The schedule of injections for this patient is shown in Table 18.

TABLE 18

Date	Route of administration	Cell types
8/10	test dose	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	non-neuronal
9/12	im	neuronal and non-neuronal mixture
9/19	im	neuronal and non-neuronal mixture
10/3	im	neuronal and non-neuronal mixture
10/10	im	neuronal and non-neuronal mixture
10/11	iv	neuronal and non-neuronal mixture
10/31	iv	non-neuronal
11/10	im	non-neuronal
11/21	im	non-neuronal
12/8	im	non-neuronal
12/23	iv	non-neuronal
2/7	im	non-neuronal
8/24	im	non-neuronal
8/25	im	non-neuronal
9/9	im	non-neuronal

Treatment of Musculo-Skeletal Disorders

[0233] Another use of hES cell transplantation according to the practice of the present invention is in the treatment of Musculo-Skeletal Disorders including but not limited to Arthritis, Duchenne's Muscular Dystrophy, Limb Girdle Dystrophy, Spinal Muscular Atrophy and Becker's Muscular Atrophy.

[0234] While administration protocols may be varied to suit the particular patient, a typical protocol for the treatment of Musculo-Skeletal Disorders comprises daily intramuscular or intravenous injections during the first month, injections twice a week during months 3, 5, 6, and 7, weekly injections during months 9-12 and booster injections every 3 months. Intravenous infusions are given every 10 to 15 days and deep spinal muscular injections are given every 15 to 30 days.

EXAMPLE 20:

[0235] The case history of a patient diagnosed with Duchenne's Muscular Dystrophy showed symptoms such as listlessness, swollen thighs and face, and positive Gower's sign, with high levels of creatine phosphokinase (CPK) at 10,000 units.

[0236] After the treatment of the patient with hES cells and their derivatives including neuronal stem cell progenitors and hematopoietic stem cell progenitors alone or in combination via intravenous injection, or subcutaneous injection, or intramuscular injection,, or intravenous catheter infusion, or

epidural catheter infusion or sub arachnoid block catheter infusion for a predetermined period, CPK levels fell drastically to 1198 units and Gower's sign was negative.

[0237] The schedule of injections for this patient is shown in Table 19.

TABLE 19

Date	Route of administration	Cell types
3/18	test dose	non-neuronal
3/19	im	neuronal
3/20	im x 2	neuronal
3/25	im x 2	non-neuronal
3/26	im x 2	non-neuronal
3/27	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
3/28	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
3/29	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
3/30	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
3/31	im x 4	neuronal non-neuronal x 3
4/1	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
4/2	im x 3	neuronal non-neuronal x 2
4/3	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
4/4	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
4/5	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
4/6	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
4/7	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
4/8	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
4/9	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
4/10	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
4/11	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
4/12	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2

4/13	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
4/14	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
4/15	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
4/16	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
4/17	im x 5	neuronal x 3 non-neuronal x 2
4/18	im x 3	neuronal non-neuronal x 2
4/19	im x 3	neuronal x 2 non-neuronal
4/20	im x 3	neuronal non-neuronal x 2
4/21	im x 3	neuronal non-neuronal x 2
4/22	im x 3	neuronal non-neuronal x 2
4/23	im x 3	neuronal x 2 non-neuronal
4/24	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
4/25	im x 3	neuronal non-neuronal x 2
4/26	im x 2	neuronal non-neuronal
7/1	im x 2	neuronal non-neuronal
7/2	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
7/3	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
7/4	im x 2	neuronal non-neuronal
7/5	iv infusion x 2	neuronal
7/6	iv infusion x 2	neuronal
7/7	im x 2	neuronal
7/8	im x 2	neuronal
7/9	im x 2	neuronal non-neuronal
7/10	im x 2	neuronal non-neuronal
7/11	im x 2	neuronal non-neuronal
7/12	im x 2	neuronal non-neuronal
7/13	im x 2	neuronal

		non-neuronal
7/14	im x 2	neuronal non-neuronal
7/15	im x 2	neuronal non-neuronal
7/16	im x 3	neuronal
7/17	iv infusion im x 2	neuronal non-neuronal
7/18	iv infusion im x 2	neuronal non-neuronal
7/19	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
7/20	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
7/21	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
7/22	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
7/23	iv x 2 im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 4
7/24	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
7/25	iv im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 4
7/26	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
7/27	iv im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 4
7/28	im x 4	neuronal non-neuronal x 3
7/29	iv im x 4	non-neuronal
7/30	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
7/31	iv im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 3
8/1	im x 4	neuronal x 2 non-neuronal x 2
8/2	im x 4	non-neuronal
8/3	iv infusion x 2	non-neuronal
8/4	iv infusion x 2	non-neuronal
8/5	im x 4	non-neuronal
8/6	im x 4	non-neuronal
8/7	iv infusion im x 2	non-neuronal
8/8	iv infusion im x 2	non-neuronal
8/9	iv infusion x 2 im x 2	non-neuronal

8/10	im x 4	non-neuronal
8/11	im x 4	non-neuronal
8/12	iv infusion im x 2	neuronal

EXAMPLE 21:

[0238] A 14 year old boy diagnosed with a case of DMD was bedridden with no power in both hands and legs and with muscular atrophy. He also had scoliosis.

[0239] After 8 months of therapy he has developed muscles in the biceps, triceps and brachio-radials and is able to lift his arms up to the elbow level. He has put on weight and is growing taller without any associated spinal scoliosis. His CPK levels, which indicate the rate of muscle breakdown, have been reduced.

[0240] The schedule of injections for this patient is shown in Table 20.

TABLE 20

Date	Route of administration	Cell types
4/13	im	non neuronal (test dose)
4/14	im	non neuronal
4/15	im	neuronal
4/16	im	neuronal
4/17	im	neuronal non neuronal
4/18	im	non neuronal
4/19	im	neuronal non neuronal
4/20	im	neuronal non neuronal
4/21	im	neuronal non neuronal
4/22	im	neuronal non neuronal
4/23	im	neuronal non neuronal
4/24	im	neuronal non neuronal
4/25	im	neuronal non neuronal
4/26	im	non neuronal
4/27	im	non neuronal
4/28	im	neuronal non neuronal

4/29	im	neuronal non neuronal
4/30	im	neuronal non neuronal
5/1	im	non neuronal
5/2	im	non neuronal
5/3	im	neuronal non neuronal
5/4	im	non neuronal
5/5	im	neuronal non neuronal
5/6	im	neuronal
5/7	im	neuronal non neuronal
5/8	im	neuronal non neuronal
5/9	iv infusion im	neuronal
5/13	im	neuronal non neuronal
5/15	im	non neuronal
5/16	im	non neuronal
5/17	im	neuronal non neuronal
5/18	im	neuronal non neuronal
5/19	im	neuronal non neuronal
5/20	im	neuronal non neuronal
5/21	im	neuronal non neuronal
5/22	im	neuronal non neuronal
5/23	im	neuronal non neuronal
5/24	im	neuronal non neuronal
5/26	im	neuronal non neuronal
5/27	im	neuronal non neuronal
5/28	im	neuronal non neuronal
5/29	im	neuronal non neuronal
5/30	im	neuronal non neuronal
6/1	im	neuronal

		non neuronal
6/2	im	neuronal non neuronal
6/3	im	neuronal non neuronal
6/4	im	neuronal non neuronal
6/5	im	neuronal non neuronal
6/6	im	neuronal non neuronal
6/7	im	neuronal non neuronal
6/8	im	neuronal non neuronal
6/9	im	neuronal non neuronal
6/10	im	neuronal non neuronal
6/11	im	neuronal non neuronal
6/12	im	non neuronal
6/13	im	neuronal non neuronal
6/14	im	neuronal non neuronal
6/15	im	neuronal non neuronal
6/16	im	neuronal non neuronal
6/17	im	neuronal non neuronal
6/18	im	neuronal non neuronal
6/19	im	neuronal x 2
6/20	im	neuronal non neuronal
6/22	im	neuronal x 2
6/23	iv	non neuronal x 2
6/24	iv	non neuronal x 2
6/25	iv	non neuronal x 2
6/27	im	neuronal non neuronal
6/28	im	neuronal non neuronal
6/29	im	neuronal non neuronal
6/30	im	neuronal non neuronal

7/1	im	neuronal non neuronal
7/2	im	neuronal non neuronal
7/3	im	neuronal non neuronal
7/4	im	neuronal non neuronal
7/5	im	neuronal x 2
7/6	im	neuronal x 2
7/7	im	neuronal x 2
7/8	im	neuronal non neuronal
7/9	im	neuronal non neuronal
7/10	im	neuronal non neuronal
7/11	im	neuronal non neuronal
7/12	im	neuronal non neuronal
7/13	im	neuronal non neuronal
7/14	im	neuronal non neuronal
7/15	im	neuronal non neuronal
8/18	im	non neuronal x 3
8/19	im	non neuronal x 2
8/20	im	non neuronal x 3
8/21	im	non neuronal x 3
8/22	im	non neuronal x 3
8/23	im	non neuronal x 3
8/24	im	non neuronal x 3
8/25	im	neuronal non neuronal x 2
8/26	im	neuronal x 3
8/27	im	non neuronal x 3
8/28	iv	non neuronal 7
8/29	iv	non neuronal 7x 2
8/30	im	non neuronal x 2
8/31	im	non neuronal x 3
9/1	iv infusion	non neuronal
9/2	iv infusion	non neuronal
9/3	im	non neuronal x 3
9/4	im	non neuronal x 3
9/5	im	non neuronal x 3
9/6	im	non neuronal x 3
9/7	im	non neuronal x 3

9/8	im	non neuronal x 3
9/9	im	non neuronal x 3
9/10	im	non neuronal x 3
9/11	im	non neuronal x 3
9/12	im	non neuronal x 3
9/13	im	non neuronal x 3
9/14	im	non neuronal x 3
9/15	im	non neuronal x 3
9/16	im	non neuronal x 3
9/17	im	non neuronal x 3
9/18	im	non neuronal x 3
9/19	im	non neuronal x 3
9/20	im	non neuronal x 3
9/21	im	non neuronal x 3
9/22	iv infusion	non neuronal
9/23	iv infusion	non neuronal
9/24	im	non neuronal x 3
9/25	im	non neuronal x 3
9/26	im	non neuronal x 3
9/27	im	non neuronal x 3
9/28	im	non neuronal x 3
9/29	im	non neuronal x 3
9/30	im	non neuronal x 3
10/1	im	non neuronal x 3
10/2	im	non neuronal x 3
10/3	im	non neuronal x 3
10/4	im	non neuronal x 3
10/5	im	non neuronal x 3
10/6	im	non neuronal x 3
10/7	im	non neuronal x 3
10/8	im	non neuronal x 3
10/9	im	non neuronal x 3
10/11	im	non neuronal x 3
10/12	im	non neuronal x 3
10/13	im	non neuronal x 3
10/14	im	non neuronal x 3
10/15	im	non neuronal x 3
10/16	im	non neuronal x 3
10/17	im	non neuronal x 3
10/18	im	non neuronal x 3
10/19	im	non neuronal x 3
10/20	im	non neuronal x 3
10/21	im	non neuronal x 3
10/23	im	non neuronal x 3
10/24	im	non neuronal x 3
10/25	im	non neuronal x 3
10/26	im	non neuronal x 3
10/27	im	non neuronal x 3

10/28	im	non neuronal x 3
10/29	im	non neuronal x 3
10/30	im	non neuronal x 3
10/31	im	non neuronal x 5
11/2	im	non neuronal x 4
11/3	im	non neuronal x 3
11/4	im	non neuronal x 3
11/5	im	non neuronal x 3
11/7	im	non neuronal x 3
11/8	im	non neuronal x 2
11/9	im	non neuronal
11/10	im	non neuronal x 3
11/11	im	non neuronal x 3
11/12	im	non neuronal x 3
11/13	im	non neuronal x 3
11/14	im	non neuronal x 3
11/15	im	non neuronal x 3
11/30	im	mixed x 3
12/1	im	non neuronal x 3
12/2	im	non neuronal x 3
12/3	im	non neuronal x 3
12/4	im	non neuronal x 3
12/5	im	non neuronal x 3
12/6	im	non neuronal x 3
12/7	im	non neuronal x 3
12/8	im	non neuronal x 3
12/9	im	non neuronal x 3
12/10	im	non neuronal x 3
12/12	im	non neuronal x 3
12/13	im	non neuronal x 3
12/14	im	non neuronal x 3
12/15	im	non neuronal x 3
12/16	iv infusion	non neuronal
12/17	iv infusion im	non neuronal x 3
12/18	im	non neuronal
12/19	iv im	non neuronal
12/20	im	non neuronal x 3
12/21	iv im	non neuronal x 3
12/22	iv	non neuronal x 3
12/23	im	non neuronal x 3
12/24	im	non neuronal x 3
12/25	im	mixed x 3
12/26	iv im	non neuronal x 3
12/27	iv	mixed

12/28	im	non neuronal x 3
12/29	im	non neuronal x 3
12/30	im	non neuronal
12/31	im	non neuronal x 3
1/1	im	mixed x 3
1/2	im	mixed x 3
1/3	im	non neuronal x 3
1/4	im	non neuronal x 3
1/5	iv infusion	non neuronal
1/6	iv infusion	non neuronal
1/7	im	non neuronal x 3
1/8	im	non neuronal x 3
1/9	im	non neuronal x 3
1/10	im	non neuronal x 3
1/11	im	non neuronal x 3
1/12	im	non neuronal x 3
1/13	im	non neuronal x 3
1/14	im	non neuronal x 3
1/15	im	non neuronal x 3
1/16	iv infusion	mixed
1/17	iv infusion	mixed
1/18	im	non neuronal
1/19	im	non neuronal
1/20	im	non neuronal
1/21	iv infusion	mixed
1/22	im	mixed
1/23	im	mixed
1/24	im	neuronal
1/25	im	neuronal
1/26	im	mixed
1/27	im	mixed
1/28	im	neuronal x 3
1/29	iv infusion	mixed
1/30	iv infusion	non neuronal

EXAMPLE 22:

[0241] An 8 year old boy wheelchair bound due to DMD was not able to walk or stand. After 6 months of treatment his CPK level was reduced. He has not deteriorated and is able to move his arms. He has started walking with minimal support.

[0242] The schedule of injections for this patient is shown in Table 21.

TABLE 21

Date	Route of administration	Cell types

4/29	im	neuronal non neuronal
4/30	im	non neuronal
5/1	im	neuronal non neuronal
5/3	im	neuronal
5/4	im	neuronal non neuronal
5/5	im	neuronal non neuronal
5/6	im	neuronal non neuronal
5/7	im	non neuronal
5/8	im	neuronal non neuronal
5/9	im	neuronal non neuronal
5/10	im	neuronal non neuronal
5/11	im	neuronal non neuronal
5/12	im	neuronal non neuronal
5/13	im	neuronal non neuronal
5/14	im	neuronal non neuronal
5/15	im	neuronal non neuronal
5/16	im	neuronal non neuronal
5/17	im	neuronal non neuronal
5/18	im	neuronal non neuronal
5/19	im	neuronal non neuronal
5/20	im	neuronal non neuronal
5/21	im	neuronal non neuronal
5/22	im	neuronal non neuronal
5/23	im	neuronal non neuronal
5/24	im	neuronal non neuronal
5/25	im	neuronal non neuronal

5/26	im	neuronal non neuronal
5/27	im	neuronal non neuronal
5/28	im	neuronal non neuronal
5/29	im	neuronal non neuronal
5/30	im	neuronal non neuronal
6/1	im	neuronal non neuronal
6/2	im	neuronal non neuronal
6/3	im	neuronal non neuronal
6/4	im	neuronal non neuronal
6/5	im	neuronal non neuronal
6/6	im	neuronal non neuronal
6/7	im	neuronal non neuronal
6/8	im	neuronal non neuronal
6/9	im	neuronal non neuronal
11/15	im	non neuronal
11/16	intravenous infusion	neuronal
11/17	intravenous infusion	neuronal
11/18	im	non neuronal
11/19	im	non neuronal
11/20	im	non neuronal
11/21	intravenous infusion	mixed
11/22	intravenous infusion	mixed
11/23	im	non neuronal
11/25	im	mixed
11/26	im	mixed
11/27	im	mixed
11/29	im	non neuronal
12/1	im	non neuronal
12/2	im	non neuronal
12/3	im	non neuronal
12/5	im	non neuronal
12/6	im	non neuronal
12/7	im	non neuronal
12/8	intravenous infusion	mixed
12/9	intravenous infusion	non neuronal

12/10	im	non neuronal
12/11	im	non neuronal
12/12	im	non neuronal
12/15	im	non neuronal
12/16	intravenous infusion	non neuronal
12/17	intravenous infusion	non neuronal
12/18	im	non neuronal
12/19	im iv	non neuronal
12/20	im	non neuronal
12/21	im	non neuronal
12/22	im	non neuronal
12/23	im	non neuronal
12/24	im	non neuronal
12/25	im	neuronal
12/26	im	neuronal
12/27	iv	mixed
12/28	im	neuronal
12/29	im	neuronal
12/30	im	neuronal
12/31	im	neuronal
1/1	im	neuronal
1/2	im	mixed
1/4	im	non neuronal
1/5	iv	non neuronal
1/6	intravenous infusion	non neuronal
1/7	im	non neuronal
1/8	im	non neuronal

EXAMPLE 23:

[0243] A 10 year old boy diagnosed with DMD who was able to take a few steps with support was brought for therapy. He was not able to turn on his own on the bed or sit on his own. He could lift his arms up to 30^0 till elbow level. Following a few months of treatment, his CPK level has started falling and he is able to turn on his own and can lift a mug of water above his head to bathe. He has not lost weight.

[0244] The schedule of injections for this patient is shown in Table 22.

TABLE 22

Date	Route of administration	Cell types
1/20	im	non neuronal (test dose)
1/23	im	non neuronal
1/24	im	non neuronal

	iv	
1/25	im	non neuronal
1/26	im	neuronal non neuronal
1/27	im	non neuronal
2/1	im	non neuronal
2/2	im	neuronal non neuronal
2/3	im	non neuronal
2/4	im	neuronal non neuronal
2/5	im	neuronal
2/6	im	non neuronal
2/7	im	non neuronal
2/8	im	neuronal non neuronal
2/10	im	neuronal non neuronal
2/11	im	neuronal non neuronal
2/12	im	neuronal non neuronal
2/14	im iv	neuronal non neuronal
2/15	im	neuronal non neuronal
2/16	im	neuronal non neuronal
2/17	im	neuronal non neuronal
2/18	im	neuronal non neuronal
2/21	im	neuronal non neuronal
2/22	im	neuronal non neuronal
2/23	im	neuronal non neuronal
2/24	im	non neuronal
2/25	im	neuronal
2/26	im	neuronal non neuronal
2/27	im	neuronal non neuronal
2/28	im	neuronal non neuronal
3/28	im	neuronal non neuronal
3/29	im	neuronal

3/30	im	neuronal non neuronal
4/4	im	neuronal
4/5	im	neuronal non neuronal
4/6	im	neuronal non neuronal
4/7	im	neuronal non neuronal
4/8	im	neuronal non neuronal
4/9	im	neuronal non neuronal
5/16	im	neuronal non neuronal
5/17	im	neuronal non neuronal
5/18	im	neuronal non neuronal
5/19	iv infusion	non neuronal
5/20	iv infusion	non neuronal
5/21	im	neuronal non neuronal
5/22	im	neuronal non neuronal
5/23	im	neuronal non neuronal
7/27	iv infusion	neuronal
7/28	iv infusion im	neuronal non neuronal
7/29	im	neuronal non neuronal
7/30	im	neuronal non neuronal
7/31	im	non neuronal
8/1	im	non neuronal
8/24	im	neuronal non neuronal
8/25	im	neuronal non neuronal
8/26	iv infusion m	non neuronal
8/27	iv infusion im	non neuronal
8/28	iv	neuronal non neuronal
8/29	iv infusion im	non neuronal
8/30	im	non neuronal

8/31	im	non neuronal
9/1	im	non neuronal
9/2	iv infusion im	non neuronal
9/3	iv infusion im	non neuronal
9/4	im	non neuronal
9/5	im	non neuronal
11/17	iv im	mixed non neuronal
11/18	iv infusion im	neuronal non neuronal
11/19	iv infusion im	neuronal non neuronal
11/20	im	non neuronal
11/22	iv infusion	neuronal
11/23	iv im	mixed non neuronal
11/24	iv im	mixed non neuronal
11/25	im iv	mixed
11/26	im iv	mixed
11/27	iv im	non neuronal
11/28	iv	mixed
11/29	iv	mixed
11/30	im	mixed
12/1	iv im	non neuronal
12/2	iv im	non neuronal
12/3	iv im	non neuronal
12/4	iv	mixed
12/5	im iv	non neuronal
1/2	im	mixed
1/3	im	non neuronal
1/4	im	non neuronal
1/5	iv infusion im	non neuronal
1/6	iv infusion im	mixed non neuronal
1/7	iv infusion	mixed
1/8	iv infusion im	mixed non neuronal
1/9	im	non neuronal

Treatment of Cardiac Diseases and Disorders

[0245] Another use of hES cell transplantation according to the practice of the present invention is in the treatment of Cardiac Diseases and Disorders including but not limited to Restrictive Cardiomyopathy, Heart Failure, Sinus Bradycardia and Coronary Artery Disease. Some portion of the differentiated cells are incorporated into the patient's cardiac tissue, reproducing and repairing the damaged muscle.

[0246] While administration protocols may be varied to suit the particular patient, a typical protocol for the treatment of Cardiac Diseases and Disorders comprises intramuscular and intravenous injections every other day for 2 weeks and then every 3 days for the next 2 weeks, and intramuscular injections once a month along with intravenous infusions during months 3, 6, 10, and 12. Intracardiac injections around the damaged area may be given during bypass surgery.

EXAMPLE 23:

[0247] A patient diagnosed with Sinus Corda Syndrome with Sinus Bradycardia was advised to have a pace-maker implanted. The patient was treated according to the practice of the present invention wherein the hES cells and their derivatives including hematopoietic stem cell progenitors via intravenous injection, or subcutaneous injection, or intramuscular injection or intracardiac injection or during angiography were administered in an amount of about 750,000 to about 160 million cells. The patient showed signs of improvement after undergoing the treatment with hES cells and the need for a pace-maker was eliminated.

[0248] The schedule of injections for this patient is shown in Table 22.

TABLE 22

Date	Route of administration	Cell types
7/6	test dose	non-neuronal
7/19	im x 2	neuronal
7/21	im x 2	neuronal
7/26	im x 2	neuronal

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	neuronal and non-neuronal mixture
9/22	iv im	neuronal non-neuronal
9/28	caudal	neuronal
10/13	iv x 2	neuronal and non-neuronal mixture
10/27	im x 2	neuronal and non-neuronal mixture neuronal
11/8	im x 2	non-neuronal
3/23	intra-articular in knee joint	neuronal
4/14	intra-articular in knee joint	neuronal
5/18	intra-articular in knee joint	neuronal
6/14	caudal	neuronal

Treatment of Cancerous Cells and Oncogenic Tissues

[0249] Alternatively, hES cells may be administered according to the practice of the present invention to supplement conventional chemotherapy treatment of cancer patients. In conventional chemotherapy, cytotoxic agents are administered to destroy cancer cells. However, cytotoxic agents do not distinguish between normal cells and cancer cells, and may destroy the patient's non-cancer cells, including the cells of the patient's immune system. As a consequence, while undergoing chemotherapy, and for some period after the chemotherapy stops, cancer patients are susceptible to infection due to their compromised immune system. By administering hematopoietic stem cells, neuronal stem cells and hES cells to patients undergoing chemotherapy some portion of the injected cells will differentiate into a new immune system, replacing white blood cells, red blood cells, platelets and other cells destroyed by chemotherapy. Also, regeneration of aplastic bone marrow as a result of radiotherapy and chemotherapy, through regulation of the mechanics of mitosis, and restoration of normal cellular communication pathways boosts the immune system and halts further deregulated mitosis. The hES cells and/or their derivatives may be administered via intravenous or intramuscular

injection or direct administration into the growth. These cells also act on the aberrant hedgehog pathway and control it so as to allow the stopping of the excessive multiplication.

EXAMPLE 24:

[0250] A patient reporting with grade III adeno-carcinoma underwent chemotherapy treatment and surgery without success. Because of the onset of multiple hepatic metastases with nodular appearance and celiac and retropancreatic nodes, the patient needed supportive care.

[0251] hES cells and their derivatives according to the practice of the present invention were administered in an amount of about 750,000 to about 160 million cells to the patient which resulted in remarkable improvements including restoration of a uniformly heterogeneous liver that was formerly nodular and an increased ecogenic area in the lymph nodes.

[0252] The schedule of injections for this patient is shown in Table 23.

TABLE 23

Date	Route of administration	Cell types
3/23	test dose	non-neuronal
3/24	im	non-neuronal
3/25	im	non-neuronal
3/26	im	non-neuronal
3/27	im	non-neuronal
3/28	iv	non-neuronal
3/29	iv	non-neuronal
3/30	iv	non-neuronal
3/31	iv	neuronal
4/1	iv	non-neuronal
4/2	im	non-neuronal
4/3	iv	non-neuronal
4/4	iv	non-neuronal
4/5	iv im x 2	neuronal non-neuronal
4/6	iv im	non-neuronal neuronal
4/7	iv	non-neuronal
4/8	iv	non-neuronal
4/9	iv	non-neuronal
4/10	iv	non-neuronal
4/11	iv im	non-neuronal neuronal

4/12	iv im	non-neuronal neuronal
4/13	iv im	neuronal non-neuronal
4/14	iv	neuronal
4/15	iv im	non-neuronal neuronal
4/16	iv im	non-neuronal neuronal
4/17	iv	non-neuronal
4/19	iv im	non-neuronal neuronal
4/20	iv im	non-neuronal neuronal
4/21	iv im	non-neuronal neuronal
4/23	iv infusion	neuronal
4/24	iv	non-neuronal
4/25	im	non-neuronal
4/26	iv	non-neuronal
4/27	im	non-neuronal
5/2	iv	non-neuronal
5/3	iv	non-neuronal
5/6	im iv	neuronal non-neuronal
5/7	im	neuronal non-neuronal
5/8	iv	non-neuronal
5/12	iv	non-neuronal
5/16	im iv	neuronal non-neuronal
5/18	iv infusion	non-neuronal
5/19	iv	non-neuronal
5/20	im iv	neuronal non-neuronal
5/22	iv infusion iv x 2	non-neuronal
5/23	iv infusion iv x 2	non-neuronal

Treatment of Aphthous Ulcers/Lichen Planus

[0253] Yet another use of hES cells and/or their derivatives is in the treatment of any ulcer in the mucosal areas of the body, such as an aphthous ulcer of the mouth. The cells are administered intravenously, intramuscularly and locally. Daily injections are given intramuscularly or intravenously for the first 4

months and intravenous infusion every 15-30 days. Local application directly or via mixing with a gel is also done.

EXAMPLE 25:

[0254] A 65 year old lady came with a tongue full of necrotic tissue and aphthous ulcers which were painful. She had difficulty in eating and swallowing and in speaking. On receiving hES cells she is better; finding it easier to swallow and speak and opening her mouth better. She also shows recovery with the ulcers and the necrotic tissue.

Treatment of Osteoarthritis, Arthritis, Ankylosing Joints

[0255] Yet another use of hES cells and/or their derivatives is in the treatment of Osteoarthritis, Arthritis and Ankylosing Joints. Daily intramuscular injections are given for priming x 10 days. Intra-articular injection of 750,000 to 80 million hES cells mixed with salumedrol is given and repeated 1½ to 3 months later.

Treatment of Brachial Plexus Injury

[0256] Yet another use of hES cells and/or their derivatives is in the treatment of Brachial Plexus Injuries wherein the affected arm is paralyzed. The cells are administered intramuscularly, intravenously and into the brachial plexus and repeated every 1½ months for a year or until the arm is better. Intravenous infusions are also used.

EXAMPLE 26:

[0257] The patient is a 26 year old male who suffered from a Brachial Plexus Injury (Lt.) hand and had lost the function of it for the last 7-8 years. With stem cell treatment his left hand has become much better with more motor power up to the elbow and wrists. He is able to move his wrist and the hand is not as flaccid as before. He is also able to move his arm upwards.

Treatment of Reproductive Disorders

[0258] Another use of hES cell transplantation according to the practice of the present invention is the treatment of Reproductive Disorders, through the restoration of fertility of patients suffering from testicular atrophy, ovarian failure and azoospermia.

EXAMPLE 27:

[0259] Treatment of an azoospermatic patient with hES cells and their derivatives including hematopoietic stem cell progenitors via local intramuscular injection according to the practice of the present invention resulted in the production of spermatozoa. Also, intravenous and intramuscular injections were used as well as direct injections into the testes and also subcutaneous injection near the epididymis were used.

[0260] The schedule of injections for this patient is shown in Table 24.

TABLE 24

Date	Route of administration	Cell types
2/1	test dose	non-neuronal
8/4	im	non-neuronal
2/5	im	non-neuronal
8/7	im	non-neuronal
2/2	im	neuronal and non-neuronal mixture
7/27	im	neuronal
3/6	im	non-neuronal
9/1	im	neuronal
9/2	im	neuronal
9/6	im	neuronal
9/7	im	neuronal
9/12	im	neuronal
9/13	im	neuronal and non-neuronal mixture
1/17	iv	non-neuronal
3/27	im	non-neuronal
4/26	im	neuronal
5/8	im	non-neuronal
5/25	im	non-neuronal
8/11	im	non-neuronal
8/17	im	non-neuronal
9/7	im	non-neuronal

Tissue Regeneration

[0261] hES cells may be administered according to the practice of the present invention for the induction of tissue regeneration, including but not limited to muscle regeneration, the treatment of liver cirrhosis, and in the formation of new blood vessels (neo-vascularisation) which is effective in the treatment of degenerative diseases and in treating non healing ulcers.

Treatment of Diabetes

[0262] Another embodiment for the invention is the use of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise insulin producing progenitor cells, in the treatment of Diabetes. Diabetic patients are at four times higher risk of suffering a heart attack or stroke and also have an increased risk of multi organ degeneration and failure, including the kidneys, eyes, nervous system and general immunity. By treatment of diabetes through the transplantation of insulin producing hES cells, and restoration of insulin production in the body, there is a reduction in the need for insulin and a reduction in the debilitating side effects.

[0263] While administration protocols may be varied to suit the particular patient, a typical protocol for the treatment of Diabetes comprises intramuscular and intravenous injections twice a week during the first month and injections once a week during months 3, 6, 11, and 12. Intravenous infusions may also be given during month 6.

EXAMPLE 28:

[0264] The patient is a 70 year old man with diabetes and who had suffered hyperketoacidosis and was on 52 units of insulin and an oral hypoglycemic. Within 6 months of therapy he was off all medications and insulin and is now currently able to maintain his blood sugar on a normal diet for the past 1½ years. He receives booster shots.

[0265] The schedule of injections for this patient is shown in Table 25.

TABLE 25

Date	Route of administration	Cell types
9/5	test dose	non-neuronal

9/6	im	neuronal
9/7	im	neuronal
9/8	im	non-neuronal
9/9	im	non-neuronal
9/12	iv	neuronal
9/13	im	non-neuronal
9/19	im	neuronal and non-neuronal mixture
9/22	iv	non-neuronal
9/26	im	neuronal and non-neuronal mixture
9/29	im	neuronal and non-neuronal mixture
10/3	im	neuronal and non-neuronal mixture
10/5	im	non-neuronal
10/10	im	non-neuronal
10/13	iv	non-neuronal
10/17	im	neuronal and non-neuronal mixture
10/20	iv	non-neuronal
10/24	iv	neuronal and non-neuronal mixture
10/31	iv	neuronal and non-neuronal mixture
11/3	iv	neuronal and non-neuronal mixture
11/7	im	non-neuronal
11/10	im	non-neuronal
11/14	iv	neuronal
11/17	im	non-neuronal
11/21	im	non-neuronal
12/12	iv	non-neuronal
12/19	iv	neuronal
12/26	iv	non-neuronal
1/4	im	non-neuronal
8/18	im	non-neuronal
8/21	im	non-neuronal
8/22	im	non-neuronal
8/24	im	non-neuronal
8/26	im	non-neuronal

EXAMPLE 29:

[0266] A 54 year old man presented with uncontrolled diabetes mellitus for the past three years and was taking insulin 42 units along with an oral hypoglycemic. His fasting blood sugar was 200 mg/dl and his post prandial sugar was 280 mg/dl with all the medications.

[0267] After taking hES cells for three weeks he has stopped taking insulin and is on a reduced dose of hypoglycemic drugs. He is feeling much better and is more alert.

[0268] The schedule of injections for this patient is shown in Table 26.

TABLE 26

Date	Route of administration	Cell types
1/18	im	neuronal (test dose)
1/19	im	non neuronal
1/20	im	non neuronal
1/21	im	mixed
1/22	im	mixed
1/23	im	mixed
1/24	im	neuronal
1/25	im	neuronal
1/26	im	non neuronal
1/27	im	non neuronal
1/28	im	neuronal
1/29	im	neuronal
1/30	im	neuronal
1/31	im	mixed

EXAMPLE 30:

[0269] A 45 year old man had angina and was diabetic. He was on insulin and an oral hypoglycemic and had undergone angioplasty.

[0270] Three months later after receiving hES cell treatment he has stopped insulin and is on a reduced dose of oral hypoglycemic. His records of blood sugar and medication are showing well controlled blood sugar levels.

[0271] The schedule of injections for this patient is shown in Table 27.

TABLE 27

Date	Route of administration	Cell types
8/21	im	non neuronal (test dose)
8/22	im	non neuronal
8/23	im	non neuronal
8/24	im	non neuronal
8/25	im	non neuronal

8/28	im	non neuronal
8/30	im	non neuronal
9/1	im	non neuronal
9/4	im	non neuronal
9/6	iv	non neuronal
9/8	im	non neuronal
9/11	im	non neuronal
9/13	im	non neuronal
9/18	im	non neuronal
9/20	im	non neuronal
9/25	im	non neuronal
9/28	im	non neuronal
9/29	im	non neuronal
9/30	im	non neuronal
10/9	im	non neuronal
10/11	im	non neuronal
10/18	im	non neuronal
10/23	im	non neuronal
10/25	im	non neuronal
10/31	im	non neuronal
11/2	im	non neuronal
11/08	im	non neuronal
11/11	iv infusion	mixed
11/12	iv infusion	mixed
11/13	im	non neuronal
11/15	im	non neuronal
11/17	im	non neuronal
11/18	iv infusion	neuronal
11/19	iv infusion	neuronal
11/20	im	non neuronal
11/22	im	non neuronal
11/25	iv infusion	neuronal
11/26	iv infusion	neuronal
11/27	im	non neuronal
11/29	iv im	neuronal non neuronal
11/30	iv infusion	neuronal
12/1	iv infusion	neuronal
12/10	iv infusion	mixed
12/11	im	non neuronal
12/13	im	non neuronal
12/16	iv infusion	neuronal
12/17	iv infusion	neuronal
12/18	im	non neuronal
12/20	im	neuronal
12/21	im	neuronal
12/22	iv	neuronal
1/5	im	non neuronal

1/6	im iv	non neuronal
1/8	im	non neuronal

Treatment of Interstitial Lung Disease

EXAMPLE 31:

[0272] A middle aged lady came to the clinic suffering from ILD (interstitial lung disease). She was in a terminal stage with SPO_2 69% at rest. As of now with hES cell treatment her disease has stopped progressing. The patient is feeling much better overall and even her breathing has improved. The treatment is continuing. There are breath sounds that can be heard on auscultation and her overall pulmonary function tests show some improvement.

[0273] The schedule of injections for this patient is shown in Table 28.

TABLE 28

Date	Route of administration	Cell types
10/16	im	non neuronal (test dose)
10/17	im	non neuronal
10/18	im	non neuronal
10/19	iv epidural nebulisation	neuronal non neuronal
10/20	iv nebulisation	neuronal
10/21	iv nebulisation	neuronal
10/22	im iv nebulisation	neuronal non neuronal
10/23	iv nebulisation	neuronal
10/24	im nebulisation	non neuronal
10/25	im iv nebulisation	mixed
10/26	iv nebulisation	mixed
10/27	iv nebulisation	mixed

10/28	iv nebulisation	neuronal
10/29	iv nebulisation	neuronal
10/30	iv nebulisation	mixed
10/31	iv nebulisation	mixed
11/2	iv nebulisation	mixed
11/3	iv nebulisation	mixed
11/4	iv nebulisation	mixed
11/5	iv nebulisation	mixed
11/6	iv nebulisation	mixed
11/7	iv nebulisation	mixed
11/8	iv nebulisation	non neuronal
11/9	iv nebulisation	mixed
11/10	iv nebulisation	non neuronal
11/11	iv nebulisation	mixed
11/12	iv nebulisation	mixed
11/13	iv nebulisation	mixed
11/14	iv nebulisation	mixed
11/15	iv nebulisation	neuronal
11/16	im iv nebulisation	neuronal non neuronal
11/17	im iv nebulisation	non neuronal
11/18	im iv nebulisation	non neuronal
11/19	im iv nebulisation	non neuronal
11/20	IM	non neuronal

	IV Nebulisation	
11/21	im iv nebulisation	non neuronal
11/22	im iv nebulisation	non neuronal
11/23	iv nebulisation	neuronal
11/24	iv nebulisation	non neuronal
11/25	iv nebulisation	non neuronal
11/26	iv nebulisation	non neuronal
11/27	iv nebulisation	non neuronal
11/28	im iv nebulisation	non neuronal
11/29	im iv nebulisation	non neuronal
11/30	im iv nebulisation	non neuronal
12/1	iv nebulisation	non neuronal
12/2	iv nebulisation	non neuronal
12/3	iv nebulisation	non neuronal
12/4	iv nebulisation	non neuronal
12/5	iv nebulisation	non neuronal
12/6	iv nebulisation	non neuronal
12/7	iv nebulisation	non neuronal
12/8	iv nebulisation	non neuronal
12/9	iv nebulisation	neuronal
12/10	iv nebulisation	neuronal
12/11	iv nebulisation	non neuronal

12/12	iv nebulisation	non neuronal
12/13	iv nebulisation	non neuronal
12/14	iv nebulisation	non neuronal
12/15	iv nebulisation	non neuronal
12/16	iv nebulisation	non neuronal
12/17	iv nebulisation	non neuronal
12/18	iv Nebulisation	non neuronal
12/19	IV nebulisation	non neuronal
12/20	iv nebulisation	non neuronal
12/21	iv nebulisation	non neuronal
12/22	iv nebulisation	neuronal non neuronal
12/23	im iv nebulisation	neuronal non neuronal
12/24	im iv nebulisation	neuronal non neuronal
12/25	im iv	mixed
12/26	iv nebulisation	mixed
12/27	iv nebulisation	mixed
12/28	iv nebulisation	mixed
12/29	im iv	neuronal mixed
12/30	im iv nebulisation	neuronal
12/31	im iv nebulisation	neuronal mixed
1/1	im iv nebulisation	mixed
1/2	im iv	mixed

	nebulisation	
1/3	im iv nebulisation	non neuronal
1/4	im iv nebulisation	non neuronal
1/5	im iv nebulisation	neuronal non neuronal
1/6	im iv nebulisation	mixed non neuronal
1/7	im iv nebulisation	mixed non neuronal
1/8	im iv nebulisation	mixed non neuronal
1/9	im iv nebulisation	mixed non neuronal
1/10	im iv nebulisation	mixed non neuronal
1/11	im iv nebulisation	mixed non neuronal
1/12	im iv nebulisation	mixed non neuronal
1/13	iv	mixed
1/14	im iv nebulisation	mixed non neuronal
1/15	im iv nebulisation	neuronal non neuronal
1/16	im iv nebulisation	mixed non neuronal
1/17	im iv Nebulisation	mixed non neuronal
1/18	IM IV nebulisation	mixed non neuronal
1/19	im iv	mixed non neuronal

	nebulisation	
1/20	im iv nebulisation	non neuronal
1/21	im iv nebulisation	mixed
1/22	im iv nebulisation	mixed
1/23	im iv nebulisation	neuronal mixed
1/24	im iv nebulisation	neuronal mixed
1/25	im iv nebulisation	neuronal mixed
1/26	im iv nebulisation	neuronal mixed
1/27	im iv nebulisation	neuronal mixed
1/28	im iv nebulisation	neuronal mixed
1/29	im iv nebulisation	neuronal mixed
1/30	im iv nebulisation	non neuronal
1/31	im iv nebulisation	non neuronal

New Drug Development

[0274] Still another use for hES cells is for developing and testing new drugs. For example, hES cells may be cultured according to the practice of the present invention and used as a substrate for testing the targets, mode of action, uptake, metabolism, excretion, toxicity and safety of new chemical entities, drug candidates and new pharmaceuticals during pharmaceutical research and development. In one embodiment, the present invention relates

to methods for testing the effect of a compound on hES cells and/or their derivatives, comprising culturing hES cells and/or their derivatives obtained by the methods of the present invention in the presence of the compound and determining the effect of the compound on the cells.

EXAMPLE 32:

[0275] The effects of the antibiotics tetracycline and ceftriaxone on cultured hES cells was analyzed along with the patient's serum. These drugs were introduced separately as well as together in different concentrations and the effects studied on the stem cells. Finally the dose of the medication and the efficacy of the drugs were determined.

Drug Delivery

[0276] Another use for hES cells and/or their derivatives is to carry drugs to the site of an injury or disease for localized delivery. hES cells and/or their derivatives may be incubated in the presence of a drug so that the cells take up the drug. The loaded cells can then be delivered locally to the treatment site where the drug will diffuse out of the cells and treatment of the injury or disease will ensue. In another embodiment, the loaded cells can be delivered to a site other than the damaged or diseased area if the damaged or diseased area is unsuitable for direct application of the drug (*e.g.*, the area is too damaged for direct injection of the drug). This method of drug delivery allows for the use of drugs that would be toxic if administered systematically to a subject. The method also allows higher concentrations of the drug to be administered to the site than may be possible by other routes of administration. In a further embodiment, hES cells and/or their derivatives can be loaded with one or more drugs that will enhance the treatment produced by the transplantation of the cells themselves. Non-limiting examples include loading cells with antihypertensive agents for treatment of cardiac disease, loading cells with chemotherapeutic agents for treatment of cancer patients, and loading cells with neurotrophic factors for treatment of SCI. In one embodiment, the present invention relates to methods for delivering a drug to a subject comprising culturing hES cells and/or their derivatives obtained by

the methods of the present invention in the presence of the drug, wherein the cells take up the drug, and administering the cells to a site in the subject, wherein the drug is delivered.

[0277] In one aspect of the invention, the culture methodologies of the present invention allow the exposure of the hES cells and/or their derivatives to drugs and other active agents *in vitro* prior to transplantation, as compared to administering the drugs or active agents directly to patients. Exposure of the cells *in vitro* advantageously provides the positive effects of the drugs (*e.g.*, the neurotrophic effects of valproic acid) while avoiding the toxicity of systemic administration of the drug.

Spinal Cord Injury Treatment: Case Studies

[0278] Clinical treatments using hES cells and their derivatives for SCI have shown remarkable results. Given the nature of the practice of the present invention, and that the patients were incurable volunteers, and that their condition was ASIA A chronic SCI, and therefore beyond the stage at which natural neural regeneration processes are possible, double-blind or placebo controlled trials have not been carried out, in respect of the Doctors oath. The results of the protocol are demonstrated through the detailed examples provided as case studies below.

CASE STUDY 1

[0279] The practice of the present invention resulted in the reversal of the symptoms of SCI in a subject suffering from SCI by transplantation of hES cells according to the protocol described herein.

[0280] ReRo 1.3.4./000/220905/α, a 29 year old subject with a C6-C7 fracture and dislocation was declared untreatable by different medical practices. The subject had no sensation from the inter mammary area downwards, and was unable to sit on his own, had no bladder or bowel control, was not able to move his arms and fingers and had no power or tone in his legs. The subject had developed non-healing bilateral bedsores during a period of three years. Administration of hES cells and their derivatives according to the practices of the present invention was initiated under these conditions as follows.

[0281] A pharmaceutical composition containing approximately about 750,000 to about 80 million hES cells and their derivatives including hematopoietic stem cell progenitors and neuronal stem cell progenitors was diluted in sterile normal saline to a final volume of 0.25 to 1.0 ml, karyotyped, tested for contamination, viability and count using standard protocols and then administered by subcutaneous injection in the forearm. The subject was observed for anaphylactic shock, pain or inflammation at the site of the injection, generalised itching, flushing or fever after five minutes, ten minutes, fifteen minutes, thirty minutes, one hour and twenty four hours.

[0282] Treatment of the subject was by administration of a subcutaneous priming injection of a pharmaceutical composition containing 750,000 to 80 million hES cells and their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors and neuronal stem cell progenitors, resuspended in a volume of 0.25 ml to 1.0 ml of sterile normal saline. A further priming injection carrying the same number of hematopoietic stem cells and neuronal stem cells resuspended in 0.25 ml to 1.0 ml of sterile normal saline was administered by intramuscular injection. A final priming injection of 750,000 to 80 million neuronal stem cell progenitors resuspended in a volume of 0.25 ml to 1.0 ml of sterile normal saline was administered by intravenous injection.

[0283] Direct treatment of the SCI according to the practice of the present invention was performed by resuspension of a pharmaceutical composition comprising 750,000 to 80 million hES cells and their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, resuspended in a volume of 2 ml of sterile normal saline and further diluted to 15 ml to 40 ml of sterile normal saline and administered by epidural injection at the site, below the site, and above the site of the lesion seven days after the first priming injection. Treatment by administration of epidural injection was repeated after one and a half months of priming, four months after priming, and six months after priming.

[0284] In addition to the epidural administration, the subject was treated by intrathecal injection of a pharmaceutical composition comprising 750,000 to 11 million hES cells and their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors and neuronal stem cell progenitors

resuspended in 2 ml of sterile normal saline two and five months after the start of the treatment.

[0285] In addition, the subject was treated with an epidural injection of a pharmaceutical composition comprising 750,000 to 80 million hES cells and their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, resuspended in 2 ml of sterile normal saline and further diluted to a final volume of 4 ml, twice daily for three consecutive days.

[0286] The schedule of injections for this patient is shown in Table 29.

TABLE 29

Date	Route of administration	Cell types
8/24	test dose	non-neuronal
8/25	im x 3	hES
8/27	im x 2	neuronal
8/28	spray for bed sore	neuronal
8/29	im x 4	neuronal
9/6	im x 2	neuronal
9/8	epidural	neuronal
9/9	iv	neuronal
9/10	im	non-neuronal
9/14	im	neuronal and non-neuronal mixture
10/4	im intrathecal	non-neuronal
10/7	im deep spinal	non-neuronal
10/15	im	neuronal
10/21	im	non-neuronal
10/26	iv	neuronal
11/7	im	non-neuronal
3/1	im deep spinal 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	epidural catheter	neuronal
3/10	epidural catheter	neuronal
3/11	epidural catheter	neuronal
3/12	deep spinal	neuronal
3/13	deep spinal	neuronal

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	epidural catheter	neuronal
5/4	epidural catheter	neuronal
5/5	epidural catheter	neuronal
5/6	im	neuronal
5/8	im	non-neuronal
5/12	im	neuronal

[0287] The neurological well-being of the subject was evaluated at regular intervals after the start of treatment, and a marked improvement of the mental state and general hygiene of the subject was observed after two weeks as shown in TABLE 30.

TABLE 30

Time Period	**Mental State**	**Hygiene**	**Behavior**	**Cranial Nerves**
0 day	Depressed	Poor	Polite	Normal
3 days	Depressed	Poor	Polite	Normal
15 days	Hopeful	Average	Polite	Normal
2 months	Happy	Average	Polite	Normal
3 months	Hopeful	Average	Polite	Normal
10 months	Very Happy and looks forward to life	Average	Polite	Normal

[0288] Signs and symptoms typical of damage to the autonomous nervous system as a result of a C6-C7 fracture were evaluated during the course of the treatment. A marked and progressive improvement in all parameters tested, including the ability to sense deep pressure, sense of touch, sensation, balance, ability to sense pain, ability to sense change in temperature, involuntary movements, presence of cold sweats, giddiness, blood pressure, breathing difficulty, abnormal posture whilst lying down and ability to sit unaided, was observed as shown in TABLE 31.

TABLE 31

Time Period	Deep Pressure	Touch	Sensation	Balance	Pain	Temp.
0 days	Inter-mammary	Lower border of clavicle	Lower border of clavicle	Not sitting	Upper border of clavicle	Upper border of clavicle
3 days	Umbilicus	Arm Inter-mammary	Arm Inter-mammary forearm	Not sitting	Inter-mammary	Inter-mammary
15 days	Below umbilicus	Xiphi-sternum	Xiphi-sternum and inner arm	Sitting	Xiphi-sternum and inner arm	Xiphi-sternum and inner arm
2 months	Ischial spine	Ischial spine	Xiphi-sternum and inner arm	Sitting very well	Ischial spine	Ischial spine
3 months	Upper border of thigh	Ischial spine	Xiphi-sternum and inner arm	Sitting	Ischial spine	Ischial spine
10 months	"	Perineal	Umbilicus	Sitting well	Perineal	Perineal
05.06	Perineal	Half way Down thighs	Umbilicus	Sitting well	Perineal	Perineal

TABLE 31 (cont'd)

Time Period	Cold Sweats	Giddiness	BP	Respiration	Abnormal Posture While lying Down
0 days	++++	++++	Fluctuating	Diaphragmatic breathing	Unable to sit
3 days	+++	+++	Fluctuating	Diaphragmatic breathing	Unable to sit

15 days	++	+	Stable	normal	Sitting stable
2 months	nil	+ on sitting	Stable	normal	Sitting very Well
3 months	nil	+ on sitting	Stable	normal	Sitting very Well
10 months	nil	+ on standing	Stable	normal	Standing with calipers and walking frame
05.06	nil	nil	Stable	normal	Standing with calipers and walking frame and takes a step forward

[0289] Bladder and bowel dysfunction is commonly associated with neurological damage as a result of SCI. This damage results in impaired bladder control, bladder stream and sensation of fullness in the bladder, bowel control, time for evacuation of the bowel and sensation in the bowel. During the course of the treatment, marked and progressive improvements in all parameters tested were observed as a result of the treatment as shown in TABLE 32.

TABLE 32

Time period	Involuntary Movements	Bladder Control	Bladder Stream	Sensation (bladder)	Bowel Control	Time Of Evacuation	Sensation (bowel)
0 day	Nil	Nil	Nil	Nil	Nil	3 hours	Nil
3 days	Nil	Nil	Nil	Nil	Nil	3 hours	Nil
15 days	Nil	Nil	Nil	Nil	Nil	2.5 hours	Nil
2 months	Nil	Nil	Nil	Nil	Nil	2 hours	+
3 months	Nil	Nil	Nil	Started	+	0.5 hours	++

[0290] Changes in the motor function of the upper body, as evidence for neural regeneration at the site of the C6-C7 lesion were evaluated during the course of the treatment. Marked and progressive improvements in shoulder movement, wrist and finger movement, power in the fingers, tendon reflexes, strength of limb movement, muscular atrophy and hand grasp were observed as shown in TABLE 33.

TABLE 33

Time Period	Shoulder L R	Wrist Fingers L R	Reflex of Tendons L R	Power S FA W F	Atrophy S FA W F	Hand Grasp
0 day	Shrugging +	Wrist drop Wasted finger No movement	Biceps Brisk Bilateral	4 2 3 0	0 3+ 4+ 4+	Nil B/L
3 days	Shrugging +	Wrist drop Wasted finger No movement	Biceps Brisk Bilateral	4 2 3 0	0 3+ 4+ 4+	Nil B/L
15 days	Shrugging +	Wrist drop Better Can grasp Can move wrist	Brisk	4 3 4 3	0 3 4 4+	Present Can hold Glass
2 months	+	"	Equivocal	4 4 4 4	0 2+ 3+ 3+	Can put food in mouth
3 months	+	Movement much better	Equivocal	4 4 4 4	0 2+ 3+ 3+	

S = Shoulder; FA = Forearm; W = Wrist; F = Fingers; L = Left; R = Right

Power: 0 is poor, 4 is good

Atrophy: 0 is good, 4 is poor

[0291] Changes in the motor function of the lower body, as evidence for neural regeneration at the site of the C6-C7 lesion, were evaluated during the course of the treatment, including hip movement, knee movement, toe movement, tendon reflexes, strength of the limb, muscular atrophy and plantar response. Although there was no improvement in any of the parameters tested during the course of the study, after three months of treatment, the subject was able to stand with the aid of a walking frame as shown in TABLE 34.

TABLE 34

Time Period	Hip L R	Knee L R	Toe L R	Reflex L R	Power L R	Atrophy L R	Plantar L R
0 day	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	4+ 4+	equivocal
3 days	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	4+ 4+	equivocal
15 days	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	4+ 4+	equivocal
2 months	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	4+ 4+	equivocal
3 months	STOOD UP WITH WALKER FOR 10 MINUTES						equivocal

CASE STUDY 2

[0292] ReRo 1.3.4./001/051004/α001, a twenty two year old subject suffered with post traumatic paraplegia SCI as a result of a D6-D7 fracture after a fall from a second floor roof top. The subject went into a coma for two days after the fall and regained consciousness, but developed bilateral paralysis with total sensory and motor loss of the lower half of the body from the inter mammary region to the feet, and was unable to lift his feet or legs and was unable to sit unaided or get up into a sitting position. The subject was permanently bed ridden, had lost bladder and bowel control and was totally dependent upon the support of his family although his upper limbs were unaffected.

[0293] Administration of a pharmaceutical composition comprising hES cells and their derivatives according to the practice of the present invention was initiated after five months of the injury. In five months time, the subject regained bladder and bowel control, and ability to sit without support, and slide up and down by lifting the hip. Sensory perception restored to the perineal level. The subject can lift himself into a walking frame unaided, and can stand with ease in the frame without the need for knee support. The treatment resulted in the ability of the subject to walk using the walking frame with the support of a knee brace and return to work, *i.e.*, he has regained a regular life style.

[0294] The schedule of injections for this patient is shown in Table 35.

TABLE 35

Date	Route of administration	Cell types
10/5	test dose	neuronal
8/17	im x 3	neuronal
8/18	im	neuronal
8/19	im	neuronal
9/5	im	non-neuronal
9/6	im x 2	neuronal
9/7	im	neuronal
9/8	im	neuronal
9/10	im	non-neuronal
9/13	im	neuronal and non-neuronal mixture
9/14	im	neuronal and non-neuronal mixture

9/15	im	non-neuronal
11/6	epidural catheter	neuronal
11/7	epidural catheter x 3	neuronal
11/8	epidural catheter x 3	neuronal
11/9	epidural catheter x 3	neuronal
11/10	epidural catheter 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	non-neuronal
11/18	im	non-neuronal
1/12	im	neuronal
2/14	im	non-neuronal
2/15	im	neuronal
2/16	im	non-neuronal
2/17	im	non-neuronal
2/18	im	neuronal
3/26	im	neuronal
3/27	epidural catheter x 3	neuronal
3/28	epidural catheter x 4	neuronal
3/29	epidural catheter x 2	neuronal
3/30	epidural catheter x 2	neuronal
3/31	iv	neuronal
5/21	im	neuronal
5/24	intrathecal	neuronal
5/26	im	neuronal
7/14	im	neuronal
7/15	im	neuronal
7/16	im	neuronal
7/17	im	neuronal
7/18	intrathecal	neuronal
7/19	im	neuronal
7/21	im	neuronal
7/22	im	neuronal
7/24	caudal	neuronal

CASE STUDY 3

[0295] ReRo 1.3.4./002/040205/α, a forty-year-old subject suffered from quadriplegic SCI as a result of a C5-C6 injury and stiffness and pain in the neck. The subject underwent surgery after six months and was quadriplegic since then. The subject suffered from a feeling of sinking and dizziness if made to sit with support, and had sensation from the upper border of the

scapula upwards, with total loss of power in all four limbs and loss of bowel and bladder function immediately after surgery.

[0296] Administration of a pharmaceutical composition comprising hES cells and their derivatives according to the practice of the present invention was initiated nine months after surgery. As a result of the hES cell treatment, the subject is able to sit comfortably without the need for support, and is able to move and bend to the side whilst sitting in a chair with his legs hanging down comfortably. The subject regained a marked improvement of his control of his upper body. The subject received substantial improvement in his general psychological well being through the increased mobility and independence and activities. He is able to stand with support with strength in lower limbs, control of toe movement, and no wrist drop. Treatment is ongoing according to the improvements of the subject's condition.

CASE STUDY 4

[0297] ReRo 1.3.4./003/260902/β, a thirty seven year old subject who suffered spinal injury with brain damage seventeen years ago after a road traffic accident and was confined to a wheelchair. Subject also suffered with right-sided hemiplegia, inability to talk, facial paralysis, a total loss of memory and no bladder control.

[0298] The subject was administered pharmaceutical composition comprising hES cells and their derivatives according to the practice of the present invention for one year and two months which resulted in the ability to walk with the aid of a walking frame, speaking of a few words, straightened neck, removal of facial paralysis and improving of memory.

CASE STUDY 5

[0299] ReRo 1.3.4./004/030505/α, a fifty six year old subject who suffered from post-traumatic fracture at C5-C8 with retrovulsion of the fractured vertebrae causing cord contusion and associated anterior epidural hemorrhage and was paraplegic. The subject was unable to move both lower limbs and suffered acute pain in his back.

[0300] The administration of a pharmaceutical composition comprising hES cells and their derivatives according to the practice of the present invention

was carried out for a period of one year which resulted in regaining of some strength in both legs, sensory perception such as vibration in the legs, and ability to stand with the aid of a walker without back pain. The subject can walk with the aid of a walking frame, regained bladder control and sensation, and overcame bouts of cold sweats and giddiness.

[0301] The schedule of injections for this patient is shown in Table 36.

TABLE 36

Date	Route of administration	Cell types
5/25	test dose	non-neuronal
5/27	im	mixed - neuronal > hematopoietic
6/3	im	mixed - neuronal > hematopoietic
6/6	im	mixed - neuronal > hematopoietic
6/20	im	mixed - neuronal > hematopoietic
6/22	im	mixed - neuronal > hematopoietic
6/24	im	mixed - neuronal > hematopoietic
6/27	im	mixed - neuronal > hematopoietic
6/29	iv	mixed - neuronal > hematopoietic
6/30	im iv	mixed - neuronal > hematopoietic
7/1	iv	mixed - neuronal > hematopoietic
7/4	im	mixed - neuronal > hematopoietic
7/5	iv	mixed - neuronal > hematopoietic
7/6	im	mixed - neuronal > hematopoietic
7/7	iv	mixed - neuronal > hematopoietic
7/11	im	non-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

9/6	intrathecal	mixed - neuronal > hematopoietic
9/7	im	neuronal
9/13	im	neuronal and non-neuronal mixture
9/14	im	neuronal and non-neuronal mixture
9/15	im	neuronal and non-neuronal mixture
9/19	im x 2	neuronal neuronal and non-neuronal mixture
10/4	im	neuronal
10/5	im intrathecal	neuronal
10/11	deep spinal	neuronal
10/13	epidural	neuronal
10/17	side of the spine	neuronal
11/5	intrathecal	neuronal
11/7	im	non-neuronal
11/8	im	non-neuronal
11/9	deep spinal	neuronal
11/17	im x 2	non-neuronal
patient in hospital until January		
1/12	im	non-neuronal
1/25	im	neuronal
2/8	im	neuronal
3/2	im x 3	neuronal (2) non-neuronal
3/8	im	non-neuronal
3/9	im	non-neuronal
3/10	im	non-neuronal
3/13	epidural catheter x 4	neuronal
3/14	epidural catheter x 4	neuronal
3/15	epidural catheter x 4	neuronal
3/16	epidural catheter x 2	neuronal
3/20	im	neuronal
3/22	im	neuronal
3/28	im	non-neuronal
3/29	im	non-neuronal
4/3	im	non-neuronal
4/4	im	non-neuronal
4/7	im x 2	neuronal
4/14	im	neuronal
4-20	epidural catheter x 5	neuronal
4/21	epidural catheter x 3	neuronal
4/24	im	neuronal
5/19	im x 2	neuronal non-neuronal
5/25	caudal	neuronal
6/5	iv infusion x 2	neuronal
6/6	iv infusion x 2	neuronal

6/9	intrathecal	neuronal
6/10	iv infusion	non-neuronal
6/11	iv infusion	non-neuronal
6/12	iv	non-neuronal
6/13	im	non-neuronal
6/21	im	neuronal
7/4	im	neuronal
7/10	intrathecal	neuronal
7/11	iv infusion x 2	neuronal
7/12	iv infusion x 2	neuronal
7/13	caudal	neuronal
7/14	iv	non-neuronal

CASE STUDY 6

[0302] ReRo 1.3.4./005/130705/β, a twenty five year old subject who was diagnosed with Potts Spine disorder at the D6 level with lower limb paraplegia, underwent surgery three times with an anterior decompression of the spinal cord. The subject was wheelchair bound, could not sit without support, with flaccid paralysis of the legs, had no bowel control and evacuated whilst lying and had no bladder sensation.

[0303] The subject was administered a pharmaceutical composition comprising hES cells and their derivatives according to the practice of the present invention, eleven years and six months after the injury. The treatment protocol followed during the first year resulted in strengthening the back, ability to sit without support, and sensation of heaviness in the legs. The subject also regained backache during menstruation and menstrual pain. Sensations in the thighs, legs and recovery of bladder sensation and control were observed. The subject is able to walk with the aid of a walking frame with good restoration of movement in both the legs. Treatment is ongoing.

[0304] The schedule of injections for this patient is shown in Table 37.

TABLE 37

Date	Route of administration	Cell types
7/13	test dose	non-neuronal
7/27	im	neuronal
7/28	im	non-neuronal
7/29	im	neuronal
8/3	im x 2	neuronal

8/4	im x 2	non-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	neuronal and non-neuronal mixture
9/22	iv	neuronal
9/27	im	neuronal and non-neuronal mixture
9/29	im	neuronal and non-neuronal mixture
9/30	im	neuronal
10/4	im	neuronal and non-neuronal mixture
10/6	epidural x 2 vials	neuronal
10/10	im	neuronal
10/19	im	non-neuronal
10/21	im	neuronal
10/24	epidural	neuronal
11/7	epidural	neuronal
11/14	iv	neuronal
11/15	im	non-neuronal
11/18	im	non-neuronal
12/1	intrathecal	neuronal and non-neuronal mixture
12/7	deep spinal	non-neuronal
12/23	im	neuronal
12/26	im	non-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	non-neuronal
2/15	im	non-neuronal
2/22	im	neuronal
3/1	im	non-neuronal
3/9	im	non-neuronal
3/21	im	neuronal
3/28	im	neuronal
4/13	epidural catheter	neuronal
4/26	im	neuronal
5/2	im	non-neuronal

5/4	epidural catheter	neuronal
5/5	epidural catheter	neuronal
5/6	epidural catheter	neuronal
5/7	im	neuronal
5/21	im	neuronal
6/5	im	neuronal
6/12	im	neuronal
6/26	iv x 2	non-neuronal
7/8	im	neuronal

CASE STUDY 7

[0305] ReRo 1.3.4./006/220805/α, a thirty year old subject suffering from a C6-C7 paraplegic SCI was unable to move lower limbs and had no bowel control or bowel sensation. The subject had fine and deep pressure sensation only from the inter mammary region upwards. Thus, the subject had difficulty in sitting. The hands of the subject had very little strength, with very weak finger movement and the subject had difficulty in breathing.

[0306] The subject was treated according to the practice of the present invention by administration of a pharmaceutical composition comprising hES cells and their derivatives about three months after the injury. The subject regained ability to sit without support, suffers no giddiness, can sense pressure in the groin, has sensation in the medial side of the elbow and feels pain in the legs if the patient attempted to move. The subject breathes easily, has sensation in bladder and bowel, has sensation in legs and can now stand for a few minutes with support. The subject also has increased strength and movement in fingers. Treatment is ongoing.

[0307] The schedule of injections for this patient is shown in Table 38.

TABLE 38

Date	Route of administration	Cell types
2/22	test dose	non-neuronal
2/23	im	neuronal
2/24	im	neuronal
2/27	im	non-neuronal
2/28	im	non-neuronal
3/2	im	neuronal
3/3	im	neuronal
3/8	epidural catheter	neuronal

3/9	epidural catheter x 2	neuronal
3/10	epidural catheter x 2	neuronal
3/11	iv	neuronal
3/20	im	neuronal
3/22	im	neuronal
3/23	im x 2	neuronal
3/24	im	non-neuronal
3/27	im	non-neuronal
4/5	intrathecal	neuronal
4/12	im	neuronal
5/1	im epidural catheter x 4	neuronal
5/2	im epidural catheter	neuronal
5/10	epidural catheter x 4	neuronal
5/11	epidural catheter x 4	neuronal
5/12	epidural catheter x 4	neuronal

CASE STUDY 8

[0308] ReRo 1.3.4./007/221005/β, a twenty six year old subject, paraplegic as a result of SCI at D6, was unable to move both lower limbs, although able to sit without support. The subject had no bladder or bowel control, and had sensation only from the inter mammary area upwards.

[0309] The subject was administered a pharmaceutical composition comprising hES cells and their derivatives according to the practice of the present invention about ten months after the injury. The subject regained sensation in the lateral side of the body and up to the unbilious region bilaterally from the axillary area to the hipbone. The subject can walk with the aid of a walking frame and a caliper with motor power in the legs.

[0310] The schedule of injections for this patient is shown in Table 39.

TABLE 39

Date	Route of administration	Cell types
9/26	test dose im	neuronal
9/27	im	neuronal and non-neuronal mixture
9/28	im	neuronal and non-neuronal mixture
9/29	im	neuronal
9/30	im	neuronal and non-neuronal mixture
10/1	im	neuronal and non-neuronal mixture
10/3	im	neuronal and non-neuronal mixture

10/4	im intrathecal	non-neuronal
10/5	m	neuronal
10/6	epidural	neuronal
10/8	m	non-neuronal
10/10	im	neuronal
10/12	im deep spinal	neuronal
10/15	iv	neuronal
10/19	im	non-neuronal
10/24	im	neuronal and non-neuronal mixture
10/25	epidural	neuronal
12/8	deep spinal	non-neuronal
12/10	intrathecal	non-neuronal
12/11	im	non-neuronal
12/12	deep spinal	non-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	non-neuronal neuronal
5/26	im iv x 2	neuronal non-neuronal, neuronal
5/27	im x 2 iv x 2	non-neuronal neuronal
5/28	im	neuronal, non-neuronal
5/29	im	neuronal, non-neuronal
5/30	epidural infusion	neuronal
5/31	im	neuronal

CASE STUDY 9

[0311] ReRo 1.3.4./008/151005/β, a twenty seven year old subject suffered with traumatic quadriplegia and had great difficulty talking and breathing, with rigid neck. The legs of the subject were paralysed and the subject had no finger movement and no sensation in the rest of the body.

[0312] The treatment via administration of a pharmaceutical composition comprising hES cells and their derivatives according to the practice of the present invention was started about two years after the injury. The subject

experienced an improvement in neck movement, ease in speech, and improvement in control of voice tone. The subject found breathing to be less cumbersome and motor function returned with some finger movement. The legs became less spastic and the subject was able to sit unaided. Toe movements also resumed and the subject can move the shoulders.

[0313] The schedule of injections for this patient is shown in Table 40.

TABLE 40

Date	Route of administration	Cell types
5/26	test dose	non-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 non-neuronal
6/9	im	neuronal
6/10	im x 2	neuronal non-neuronal
6/11	im x 2	neuronal non-neuronal
6/12	im x 2	neuronal non-neuronal
6/13	im x 2	neuronal non-neuronal
6/14	intrathecal	neuronal
6/15	im x 2	neuronal non-neuronal
6/16	im x 2	neuronal non-neuronal
6/17	im x 2	neuronal non-neuronal
6/18	im	non-neuronal
6/19	im x 2	neuronal non-neuronal
6/20	im x 2	neuronal
6/21	im x 2	neuronal non-neuronal
6/22	im x 2	neuronal
6/23	iv x 2	non-neuronal
6/24	iv x 2	non-neuronal
6/25	iv x 2	non-neuronal

6/26	epidural catheter x 2	neuronal
6/27	epidural catheter x 2	neuronal
6/28	epidural catheter x 3	neuronal
7/21	im iv	neuronal non-neuronal
7/22	im x 2	neuronal non-neuronal
7/23	im x 2	neuronal
8/22	intrathecal	neuronal

CASE STUDY 10

[0314] ReRo 1.3.4./009/300106/α, a twenty five year old subject had a road accident and lost the ability to sit without support, the spine was prone to buckling, the subject lost bladder and bowel control and the subject suffered a total loss of power in the legs.

[0315] The subject was treated by administration of a pharmaceutical composition comprising hES cells and their derivatives according to the practice of the present invention about two years after the injury. The subject showed rapid improvement and can sit without support. The subject suffers no giddiness, has movement in both feet, regained sensation in the finger tips and can experience chill flowing through the spine.

CASE STUDY 11

[0316] ReRo 1.3.4./010/020206/β, a twenty six year old subject with a SCI at D12-L1 as a result of a road traffic accident was unable to stand with the knees being contracted. The subject was able to sit without support and had normal sensations in the limbs. The subject had no bladder or bowel control and had increased spasticity.

[0317] The subject was treated about twelve years after the injury by administration of a pharmaceutical composition comprising hES cells and their derivatives according to the practice of the present invention. The subject experienced remarkable recovery in leg motor function with decreased spasticity, exhibited a fully extendable right leg and a return of strength to the left leg. The subject regained the ability to stand and walk with the aid of calipers and a walking frame. Bladder and bowel sensations also returned in the subject.

[0318] The schedule of injections for this patient is shown in Table 41.

TABLE 41

Date	Route of administration	Cell types
3/27	test dose	non-neuronal
3/29	im iv	non-neuronal neuronal
3/30	im	neuronal
3/31	im	neuronal
4/1	im	neuronal
4/2	im	non-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	non-neuronal
4/22	im	neuronal
4/23	im	neuronal
4/24	epidural catheter	neuronal
4/25	epidural catheter	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	non-neuronal
5/3	im	neuronal
5/4	im	neuronal
5/5	im	neuronal
5/7	im	neuronal
5/8	im	non-neuronal
5/9	im	non-neuronal
5/10	im	neuronal
5/11	caudal	neuronal
5/12	im	neuronal
5/13	im	neuronal
5/14	im	neuronal
5/16	im	non-neuronal
5/17	im	neuronal

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

CASE STUDY 12

[0319] The patient was a 26 year old male with paraplegia after an injury between D6-D8. He suffered a traumatic road accident in September 2004. He was totally bedridden with no feeling below the chest, no bladder or bowel control, and no sensation or motor power from chest downwards. He had a very deep bed sore in the lower back in which his sacrum could be seen.

[0320] The patient started hES cells on April 27, 2006. Because of the bedsore he could not undergo any O/T procedures and was given daily dosages of cells intravenously and intramuscularly, and eventually had hES cells applied directly to his bedsore. He was also given intravenous infusions.

[0321] On his 11th day of treatment he could stand with full calipers (waist to ankle) and a walker and took 2 steps. As time continued his muscle power increased and after 4 months he could take up to 100 steps and could stand for up to 20 mins. He is able to feel his legs and move them too. He is also able to feel bladder and bowel fullness and is able to walk now with just a knee brace and the walker for support. His bed sore has healed and he has resumed his studies.

[0322] The schedule of injections for this patient is shown in Table 42.

TABLE 42

Date	Route of administration	Cell types
4/28	im iv	neuronal (test dose)
4/29	iv im	neuronal non neuronal
4/30	iv im	neuronal non neuronal
5/1	iv im	neuronal non neuronal
5/2	iv im	neuronal non neuronal

5/3	iv infusion im	neuronal non neuronal
5/4	iv infusion im	neuronal non neuronal
5/5	iv im	neuronal non neuronal
5/6	iv im	neuronal non neuronal
5/8	iv infusion im	neuronal
5/9	iv infusion im	neuronal non neuronal
5/10	iv infusion im	neuronal non neuronal
5/11	iv im	neuronal
5/12	iv im	neuronal non neuronal
5/13	iv im	neuronal
5/14	iv im	neuronal non neuronal
5/15	iv infusion im	non neuronal
5/16	iv infusion im	non neuronal
5/17	iv im	neuronal non neuronal
5/18	iv im	neuronal non neuronal
5/19	iv im	neuronal non neuronal
5/20	iv im	neuronal non neuronal
5/21	iv im	neuronal non neuronal
5/22	iv infusion im	non neuronal
5/23	iv infusion im	non neuronal
5/24	iv im	neuronal non neuronal
5/25	iv im	neuronal non neuronal
5/26	iv im	neuronal non neuronal
5/27	iv im	neuronal non neuronal
5/28	iv	neuronal

	im	non neuronal
5/29	iv infusion im	neuronal non neuronal
5/30	iv infusion im	neuronal non neuronal
5/31	iv im	neuronal non neuronal
6/1	iv im	neuronal non neuronal
6/2	iv im	neuronal non neuronal
6/3	iv im	neuronal non neuronal
6/4	iv im	neuronal non neuronal
6/5	iv infusion im	neuronal non neuronal
6/6	iv infusion im	neuronal non neuronal
6/7	iv im	neuronal non neuronal
6/8	im iv	neuronal non neuronal
6/9	im iv	neuronal non neuronal
6/10	im iv	neuronal non neuronal
6/11	im iv	neuronal non neuronal
6/12	iv infusion	neuronal
6/13	iv infusion im	non neuronal
6/14	iv im	neuronal non neuronal
6/15	iv im	neuronal non neuronal
6/16	iv im	neuronal non neuronal
6/17	iv im	neuronal non neuronal
6/18	iv im	neuronal non neuronal
6/20	iv iv infusion im	neuronal
6/21	iv	neuronal non neuronal
6/22	iv im	non neuronal (2)

6/23	iv	non neuronal (2)
6/24	iv	non neuronal (2)
6/25	iv	non neuronal (2)
6/26	iv iv infusion	non neuronal
6/27	iv iv infusion im	non neuronal
6/28	iv im	neuronal
6/29	iv im	neuronal non neuronal x 2
6/30	iv im	neuronal non neuronal x 2
7/1	iv im	neuronal non neuronal x 2
7/2	iv im	neuronal non neuronal x 2
7/3	iv iv infusion im	neuronal non neuronal x 2
7/4	iv iv infusion im	neuronal non 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 non neuronal x 2
7/9	iv im	neuronal non neuronal
7/11	iv iv infusion im	neuronal non neuronal
7/12	iv iv infusion	neuronal
7/17	im dressing	neuronal non neuronal
7/18	iv infusion dressing	non neuronal
7/19	iv infusion im	non neuronal
7/20	iv im dressing	neuronal non neuronal
7/21	iv	neuronal

	im dressing	non neuronal
7/22	iv im dressing	neuronal non neuronal
7/23	iv im	neuronal non neuronal
7/24	iv im	neuronal non neuronal
7/25	im dressing	neuronal non neuronal x 2
7/26	m dressing	neuronal non neuronal x 2
7/27	im	neuronal non neuronal
7/28	im dressing	non neuronal
7/29	im dressing	neuronal non neuronal
7/30	im	neuronal non neuronal
7/31	im dressing	non neuronal
8/1	im dressing	non neuronal x 2
8/2	im dressing	non neuronal x 2
8/3	im	non neuronal x 2
8/4	im	non neuronal x 2
8/5	im dressing	non neuronal x 2
8/6	im	non neuronal x 2
8/7	im dressing	non neuronal x 2
8/8	im	non neuronal x 2
8/9	im dressing	non neuronal x 2
8/10	im	non neuronal x 2
8/11	im	non neuronal x 2
8/12	im dressing	non neuronal x 2
8/13	im	non neuronal x 2
8/14	im dressing	non neuronal x 2
8/15	im dressing	non neuronal x 2
8/16	im	non neuronal x 2
8/17	im	non neuronal x 2
8/18	iv infusion	neuronal x 3

	im	
8/19	im dressing	neuronal x 3
12/5	im	non neuronal
12/6	iv infusion	non neuronal
12/7	iv infusion im dressing	non neuronal
12/8	epidural (intrathecal)	neuronal
12/9	im dressing	non neuronal x 2
12/10	im dressing	non neuronal x 2
12/11	im dressing	non neuronal x 2
12/12	epidural (catheter)	neuronal x 2
12/13	epidural (catheter)	neuronal x 2
12/14	epidural (catheter)	neuronal x 2
12/15	iv infusion im	neuronal, non neuronal
12/16	iv infusion	neuronal, non neuronal

CASE STUDY 13

[0323] The patient is a 22 year old male who suffered a horse riding accident in June, 2006 and is a paraplegic at T-12, L-1. He had no power below the waist, no bowel or bladder control, and no sensation below waist.

[0324] The patient started treatment in September 2006 admitted for 6 weeks. He responded to hES cells and within a week he was able to stand and walk a few steps with full calipers (waist to ankle) and walker. He has progressed and is on the knee brace with which he can stand for up to 30 mins with a walker. He now has full sensation and bowel and bladder control. He also has good balance with the stick and also the crutches. He is able to go up and down the stairs with the caliper and the crutches.

[0325] The schedule of injections for this patient is shown in Table 43.

TABLE 43

Date	Route of administration	Cell types
10/4	im	non neuronal (test dose)
10/5	im	non neuronal
10/6	im	non neuronal
10/7	im	non neuronal
10/8	im	non neuronal

10/9	iv infusion	neuronal
10/10	iv infusion	neuronal
10/11	im	non neuronal
10/12	im	non neuronal
10/13	im	non neuronal
10/14	im	non neuronal
10/15	im	non neuronal
10/16	caudal	neuronal
10/17	im	non neuronal
10/18	im	non neuronal
10/19	iv infusion im	non neuronal
10/20	iv infusion im	non neuronal
10/21	im	non neuronal
10/22	im	non neuronal
10/23	lumbar	neuronal
10/27	im	non neuronal
10/25	im	non neuronal
10/26	im	non neuronal
10/27	im	non neuronal
10/28	im	non neuronal
10/29	im	non neuronal
10/30	epidural catheter	neuronal
10/31	epidural catheter	neuronal
11/1	epidural catheter	neuronal
11/2	im	non neuronal
11/3	im	non neuronal
11/4	im	non neuronal
11/5	im	non neuronal
11/6	im	non neuronal
11/7	im	non neuronal
11/8	im	non neuronal
11/9	caudal	neuronal
11/10	im	non neuronal
11/11	im	non neuronal
11/12	im	non neuronal
11/13	iv infusion im	mixed non neuronal
11/14	im iv infusion	non neuronal
11/15	im	non neuronal
12/31	iv	mixed
1/10	im	non neuronal
1/11	iv infusion	mixed
1/12	iv infusion	mixed
1/13	im	non neuronal
1/14	im	non neuronal
1/15	caudal	neuronal

1/16	im	non neuronal
1/17	im	non neuronal
1/18	im	non neuronal
1/19	lumbar	neuronal
1/20	im	non neuronal mixed
1/21	im	mixed
1/22	im	mixed
1/23	epidural catheter	neuronal
1/24	im iv	neuronal
1/25	im	neuronal
1/26	infusion im	mixed neuronal
1/27	infusion im	mixed neuronal

CASE STUDY 14

[0326] The patient is a 26 year old female traumatic paraplegic at T-12, L-1 who suffered a road traffic accident in September 2004. She had no feeling below the chest and she had no bowel or bladder control. There was no motor power in either leg and she was wheel chair bound.

[0327] The patient started hES cells in March 2006. She was able to stand and walk a few steps with full calipers (waist to ankle) and walker after 9 days and continued to progress. Her current status is that she can walk continuously with caliper and walker and also stand using the knee brace. Bowel and bladder sensations have been restored with control and without the usage of any catheterization or suppository. Sensation has improved to the ankle levels.

[0328] The schedule of injections for this patient is shown in Table 44.

TABLE 44

Date	Route of administration	Cell types
3/27	im	non neuronal (test dose)
3/29	iv im	neuronal non neuronal
3/30	im	neuronal
3/31	im	neuronal
4/1	im	neuronal
4/3	im	neuronal
4/4	im	neuronal

4/5	Epidural (caudal)	neuronal x 2
4/7	Epidural (intrathecal)	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	non neuronal
4/20	im	neuronal
4/21	im	neuronal
4/22	im	neuronal
4/24	Epidural (catheter)	neuronal x 4
4/25	Epidural (catheter)	neuronal x 4
4/26	iv (catheter)	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	non neuronal
5/3	im	neuronal
5/4	im	neuronal
5/5	im	neuronal
5/7	im	neuronal
5/8	im	non neuronal
5/10	im	neuronal
5/11	EPI (caudal)	neuronal
5/13	IM	neuronal
5/14	IM	neuronal
5/16	IM	non neuronal
5/17	IM	neuronal
5/18	EPI (catheter)	neuronal x 2
5/19	EPI (catheter)	neuronal x 2
5/20	EPI (catheter)	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	non neuronal mixed
10/26	im iv infusion	non neuronal mixed
10/27	im	non neuronal
10/28	im	non neuronal

10/29	..im	non neuronal
10/30	caudal	neuronal
10/31	im	non neuronal
11/1	im	non neuronal x 2
11/2	im	non neuronal x 2
11/3	lumbar	neuronal
11/4	infusion	neuronal
11/5	im	non neuronal x 2
11/6	im	non neuronal x 2
11/7	im	non neuronal x 2
11/8	epidural catheter	neuronal
11/9	epidural catheter	neuronal
11/10	epidural catheter	neuronal
11/11	im	non neuronal x 2
11/12	im infusion	non neuronal mixed
11/13	caudal infusion	neuronal mixed
11/14	im	neuronal

Human embryonic stem cell culture methodology

[0329] The hES cells used as the starting material for the cell lines developed under the present invention are derived from a 2 to 7 day old embryo prior to its implantation into the uterus, *e.g.*, a 2 to 4 day old embryo, *e.g.*, a 3 day old embryo..

[0330] For embryo isolation, the ova are collected with consent from human donors who are undergoing a regular IVF cycle. The ova are fertilized by the sperm and cultured by conventional methods to obtain the embryos. Extra embryos are incubated for variable periods for development of the cell line.

[0331] The embryo is suspended in a small amount of minimal essential medium (*e.g.*, RPMI, *e.g.*, RPMI 1640 with 2.2 g/L sodium bicarbonate) and the hES cells are isolated from the embryo by mechanical means (*e.g.*, shaking). Additional medium is added to the isolated cells along with a progestin and a βhCG agonist. In one embodiment, progesterone (16-64 μl of 250 mg/ml) and βhCG (16-64 μl of 5000 iu/ml) are added. The isolated cells are cultured for 12-48 hours, *e.g.*, 24 hours, at a temperature of between 34-38°C, in an environment of 3.5–6% carbon dioxide.

[0332] In one embodiment, the hES cells are cultured under anaerobic or substantially anaerobic conditions in order to expand the cells while preventing differentiation. "Substantially anaerobic" is defined as less than about 10% O_2, *e.g.*, less than 8%, 6%, 4%, 2%, or 1% O_2. Low oxygen conditions may be created using multi-gas (CO_2, O_2, N_2) cell incubators in which the oxygen level may be set between 0% and 20% by replacing the ambient air with nitrogen gas. Examples of multi-gas incubators include the Fisher 11-730 series, the Napco 7000 series, the Sanyo MCO series, the Jouan IG750, and the Heraeus Heracell 150. In another embodiment, the cells are cultured in a CO_2 incubator and the level of oxygen is controlled by the shape and position of the flask in which the cells are contained. For example, when a cell culture flask is maintained in a vertical position, much of the culture medium in the flask is substantially anaerobic. In contrast, when the cell culture flask is maintained in a horizontal position, the culture medium is substantially aerobic. The level of oxygen in the culture medium can be varied between substantially anaerobic and substantially aerobic by altering the shape and/or position of the cell culture flask within the incubator or the amount of medium in the flask (*e.g.*, the amount of head space).

[0333] During the expansion stage, flasks may be maintained in a vertical position rather than horizontal. In one embodiment, incubation is carried out in a culture vessel where the volume is almost completely occupied by the medium and the vessel is kept in a vertical position. As a consequence, a substantial proportion of the cells do not adhere to the walls of the culture flask, and the culture medium is substantially anaerobic.

[0334] Under such growth conditions, cell-doubling or replication cycles are at their maximum, and cellular differentiation processes are substantially inhibited. Cell replication cycles during expansion proceed for 12-48 hours, *e.g.*, 24 hours.

[0335] For passaging or re-culture of the hES cells, the cell suspension is centrifuged, the cell pellet is resuspended in a small amount of fresh culture medium comprising progesterone and βhCG, the cells are aliquoted and additional fresh medium without progesterone and βhCG is added. In one embodiment, the ratio of the aliquot of incubated stem cells to the fresh cell medium is about 1:3.5 to about 1:35 volume/volume. The cells are re-

incubated at 34-38°C in a water jacketed incubator supplemented with an atmosphere of 3.5-6% carbon dioxide under substantially anaerobic conditions for 12 to 48 hours, *e.g.*, 24 hours. At this point the cells may be passaged for continued expansion or stored for future use.

[0336] hES cells cultured under such conditions remain in a largely undifferentiated form as determined by alkaline phosphatase activity and the absence of any markers characteristic of cellular specialization or differentiation. However, it may be noted that no cell population is obtained which is completely differentiated or completely undifferentiated. The cell population is a mix of differentiated and undifferentiated cell lines, with a ratio ranging from about 4:1 to about 10:1 undifferentiated to differentiated cells.

[0337] For storage of the expanded hES cells, *e.g.*, in a deep freezer or in liquid nitrogen, a cryopreservation agent, including but not limited to 0.2–2% (w/v) dimethyl sulphoxide (DMSO), may be added to the culture medium. The level of DMSO used is less than typically used for cryopreservation (*e.g.*, 2-84 µl/0.5 ml tube) to avoid inducing differentiation or damage to the cells. The ratio of the amount of cryopreservation agent to that of culture medium containing stem cells may vary from about 1:500 to about 16:1000. Other cryopreservation agents include without limitation glycerol, propanediol, butanediol, ethanol, glucose, D-glucose, sucrose, trehalose, mannitol, paparavine, formamide, probuchol, curcumin, polyvinylpyrrolidone, polyethylene glycol, chondroitin sulfate, glycosaminoglycan dimethyl sulfoxide, glutamine, and sodium pyruvate. The freezing temperature for the cell suspension may be varied from about -15 to about -80°C, *e.g.*, about -15 to about -40°C. In contrast to other techniques for the storage of human embryonic stem cells and their derivatives, there is no need for flash freezing or storage in "straws". After storage, the cells may be prepared for continued expansion or for differentiation by collecting the cells by centrifugation and resuspending the cell pellet in fresh medium.

[0338] Partial differentiation of the expanded hES cells (*e.g.*, after expansion of freshly isolated hES cells or storage of previously expanded cells) is carried out by sedimenting the cell suspension in a centrifuge (*e.g.*, at between 700–1400 rpm for 5–12 minutes), removing and discarding the supernatant, and

resuspending the cells in a small amount of fresh medium (*e.g.*, RPMI) containing a progestin and a βhCG agonist. The cells are then aliquoted and additional culture medium (*e.g.*, a minimal essential medium such as RPMI or DMEM, *e.g.*, 1X glutamic acid free DMEM or DMEM with 4.5 g/L glucose and 3.7 g/L sodium bicarbonate) without progestin or βhCG is added. The cells are cultured under substantially aerobic conditions (*e.g.*, in a flask in a horizontal position) for 12 to 48 hours, *e.g.*, 24 hours. "Substantially aerobic" is defined as at least about 15% O_2, *e.g.*, at least about 18% or 20% O_2. Under substantially aerobic conditions the hES cells will begin to differentiate. The differentiation pathway for the hES cells is dependent on the culture medium used during the differentiation stage. To produce neuronal progenitor cells, the hES cells are cultured in DMEM or its equivalent. To produce progenitor cells other than neuronal progenitors, the hES cells are cultured in RPMI or its equivalent. After the 12-48 hour replication cycle, the cells may be collected and resuspended in fresh medium to continue differentiation. In general, the differentiation stage should not last more than 48-72 hours as further differentiation beyond this time produces cells that are not suitable for transplantation using the methods of the present invention.

[0339] Once the cells are partially differentiated, the cells can either be stored for future use by adding a cryopreservative and storing the cells at -15 to about -80°C as described above or preparing the cells for usage in the methods of the invention. To prepare the cells for usage, the cells are aliquoted, fresh medium is added (*e.g.*, DMEM or RPMI as appropriate) and the cells are cultured for 12-48 hours, *e.g.*, 24 hours, under substantially anaerobic conditions to prevent further differentiation. The cells are then aliquoted into fresh medium for continued expansion or collected by centrifugation and resuspended in a biocompatible solution (*e.g.*, saline) in preparation for transplantation. At this point the cells may be transplanted into patients or stored at +4°C to -80°C for future transplantation. Storage may be in any suitable container including but not limited to test tubes, vials, syringes, *etc.* that may facilitate transportation or clinical use. In one embodiment, the resuspended cells in biocompatible solution are stored in a ready-to-use form (*e.g.*, in a prefilled syringe). When needed, aliquots of cells are thawed naturally without the need for water baths or incubators.

[0340] Under the described storage conditions in a biocompatible solution, cell viability of > 40% is observed after re-thawing even after six months of storage, with no detectable genotypic (genetic instability) or phenotypic alterations such as aneuploidy or heteroploidy.

[0341] At each stage of expansion, differentiation, and storage, an aliquot of the cells is tested for viability via trypan blue exclusion and microscopic examination. An aliquot of the cell culture is also tested for microbiological contamination. A further aliquot of the cell suspension is also placed on a haemocytometer and examined microscopically in order to determine the cell density. A further aliquot is also taken for testing alkaline phosphatase activity as a marker for the state of differentiation of the cell culture.

[0342] During storage, the cells may be tested once a month for their karyotype, to test for genetic instability arising as a result of the culture methodology.

EXAMPLES

Example 1

[0343] For embryo isolation, ova were collected with consent from a human donor who underwent a regular IVF cycle, which produced 8 follicles. The ova were fertilized by the sperm and cultured by conventional methods to obtain the embryos. Three of the embryos were transplanted into the donor. The extra embryos were incubated for variable periods for development of an hES cell line.

[0344] The embryo, either intact or in broken condition, was suspended in culture media. Further, 84 µl of progesterone (250 mg/ml) and 84 µl of βhCG (5000 iu/ml) were added. The media with the embryonic cells were tested for any contamination, and any infected embryo was discarded. The cells of the embryos in this form were used for expansion and storage.

[0345] After one day of incubation, 1 ml of the embryonic cell containing media were introduced in a 40 ml cell culture medium (DMEM or RPMI) in a 50 ml container along with progesterone and βhCG. The culture medium along with the stem cells was incubated in a horizontal position at ambient

TABLE 45

	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)	(i)	(j)	(k)	(l)
S.No.	Embryo stage in days	Embryo state	Cell Media	Amount of (c)	Addition to Media	Incubation time	aliquot of (f)	Cell Media	Amount of (h)	Container volume	Incubation temp degree C	%CO2 in environment
1	2	Intact	IVF media	2.5ml	FF	24 hrs	-	-	-	-	36	4
2	2	Intact	IVF media	2.5ml	A	24 hrs	-	-	-	-	36.5	4.5
3	3	Broken	RPMI	2.5ml	A	24 hrs	0.5ml	RPMI	45 ml	50 ml	37	5
4	3	Broken	RPMI	2.5ml	A& B	24 hrs	1.0ml	RPMI	46 ml	50 ml	38	5
5	3	Broken	DMEM	2.5ml	B	24 hrs	0.5ml	DMEM	35 ml	50 ml	37	5

TABLE 46

	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)	(i)	(j)	(k)	(l)
S.No.	Amount of ESC culture	Cell Media	Amount of (b)	Addition to Media	Container volume	Incubation temperature	%CO2 in environment	Incubation time	Aliquot of (h)	Culture medium	Container volume	Storage temp
1	0.5 ml	RPMI	35 ml	A	50 ml	36.5	5	24	0.5ml	RPMI	0.5 ml	-72
2	1.0 ml	RPMI	38 ml	B	50 ml	37	5	24	.25 ml	RPMI	0.5 ml	-20
3	1.5 ml	DMEM	45 ml	AB	50 ml	37	5	48	1.0 ml	DMEM	1.5 ml	-20
4	2.0 ml	RPMI	46 ml	A	50 ml	37.2	5	48	1.5 ml	RPMI	1.5 ml	-18
5	2.5 ml	DMEM	45 ml	A	50 ml	36.8	5	24	0.5 ml	DMEM	1.5 ml	-72

FF = follicular fluid aspirated along with the ovum during the IVF cycle, 16-84 µl;
A = progesterone; B = βhCG

[0346] After 24 hrs of incubation, equal numbers of nucleated (partly differentiated) cells and blank (undifferentiated) cells were observed. Aliquots of about 0.5 ml were taken for storage at this stage. After 48 hrs of incubation, oblong shape cells with few strands were observed with DMEM media. However, when RPMI media was used, many nucleated cells with varied shapes were observed. The volume of the container was found to be filled up to the 37 ml mark after the 48 hr incubation. Aliquots of 0.5 ml were taken for storage at this stage. After 72 hrs of incubation in DMEM, long strands of cells cross linked like nerve tissue were observed. The RPMI media incubation produced a few small sized cells and a few cells accumulating around a central cell. Aliquots of 0.5 ml were taken for storage at this stage.

[0347] An aliquot of the embryonic cells grown in culture containing media were introduced into more cell medium (RPMI or DMEM) with other test components, in a sterile container (Tarsons steriflask). The stem cells were incubated at ambient temperature in an environment of carbon dioxide in horizontal position for various time periods ranging from 18 hrs to 5 days. After 24 hrs of incubation, aliquots of about 0.5 ml were again introduced into more culture media and reincubated. Aliquots were taken for preparing ready to use compositions as well as for storage after different incubation stages. Table 46 depicts some experimental conditions followed for expansion of hES cells.

Example 2

[0348] The embryo, either intact or in broken condition, was suspended in culture media. Further, 84 µl of progesterone and 84 µl of βhCG were added. The media with the embryonic cells were tested for any contamination, and any infected embryo was discarded. The cells of the embryos in this form were used for expansion and storage.

[0349] After one day of incubation, 1 ml of the embryonic cell containing media was introduced in a 46 ml cell culture medium (DMEM or RPMI) in a 50 ml container along with progesterone and βhCG. The stem cells were incubated in a vertical position at ambient temperature in an environment of carbon dioxide. Table 47 shows some of the working example variables used for this experiment.

TABLE 47

	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)	(F)	(G)	(H)	(I)	(J)	(K)	(L)
S.No.	Embryo stage in days	Embryo state	Cell Media	Amount of (c)	Addition to Media	Incubation time	aliquot of (f)	Cell Media	Amount of (h)	Container volume	Incubation temp	%CO2 in environment
1	2	Intact	IVF media	2.5ml	FF	24 hrs	-	-	-	-	36	4
2	2	Intact	IVF media	2.5ml	A	24 hrs	-	-	-	-	36.5	4.5
3	3	Broken	RPMI	2.5ml	A	24 hrs	0.5ml	RPMI	45 ml	50 ml	37	5
4	3	Broken	RPMI	2.5ml	B	24 hrs	1.0ml	RPMI	46 ml	50 ml	38	5
5	3	Broken	DMEM	2.5ml	A& B	24 hrs	0.5ml	DMEM	35 ml	50 ml	37	5

TABLE 48

	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)	(i)	(j)	(k)	(l)
S.No.	Amount of ESC culture	Cell Media	Amount of (b))	Addition to Media	Container volume	Incubation temperature	%CO2 in environment	Incubation time hrs	Aliquot of (h)	Culture medium	Container volume	Storage temp
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

regular intervals. Table 49 shows the actual parameters followed for storage in five different experiments as well as the viability of the cells after thawing.

TABLE 49

S.No.	Amount of Cell suspension	DMSO quantity	DMSO %	Media used	Viability of thawed cells
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%

[0350] After 24 hrs of incubation, nucleated cells (partly differentiated) and blank cells (undifferentiated) were observed in a ratio of about 1:4. After 48 hrs of incubation, nucleated cells and blank cells in the ratio 1:2 were observed. Aliquots of 0.5 ml were taken for storage at the 24 hr and 48 hr stage.

[0351] 0.5 ml of the embryonic cells grown in culture containing media were introduced in 46 ml cell medium (RPMI or DMEM) with other test components, in a 50 ml sterile container (Tarsons steriflask). The stem cells were incubated in a horizontal position at ambient temperature in an environment containing carbon dioxide. After 24 hrs of incubation, aliquots of 0.5 ml were again introduced into 46 ml of culture media and reincubated. Table 48 depicts some experimental conditions followed for expansion of hES cells.

[0352] Aliquots were taken for preparing ready to use compositions as well as for storage after the 24 hr incubation stage.

Example 3: Storage

[0353] For storage, hES cells were taken in a 0.5 ml storage tube and a cryopreservation agent such as 0.2% DMSO in a quantity of 16 µl was added and after gentle shaking were stored at -20°C. The cells were thawed naturally for making ready to use compositions or for further expansion. The viability of the thawed cells was tested and 64% to 84% of the cells were found to be viable. The stored cells were tested for contamination as well as viability after regular intervals. Table 49 shows the actual parameters followed for storage in five different experiments as well as the viability of the cells after thawing.

TABLE 49

S.No.	Amount of Cell suspension	DMSO quantity	DMSO %	Media used	Viability of thawed cells
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%

Example 4

[0354] Various tests were carried out for checking any contamination or infection or abnormality in the embryonic cells at various intervals of the expansion and storage stages and to identify the hES derivatives that were present in each culture. The different tests include those for HIV, HbSAg (for hepatitis), conventional PCR for Kochs test (for tuberculosis), chromosomal analysis by CG method of giemsa banding, Bilirubin by the Jendrasiik and Grof method and Albumin using BCG Dye binding method (for liver progenitor cells), insulin via CLIA method (for pancreatic progenitor cells), neurofilament by immunohistochemical method (for neuronal progenitor cells), CD34 testing by immunohistochemical method (for hematopoietic progenitor cells), Alkaline Phosphatase via PNPP method (for undifferentiated cells), Histopathology tests (for cell identification by morphology), *etc.* The culture condition was tested by the manual culture plate method and manual sensitivity and identification with versatrek/AP1 was carried out for fungal infection. All the tests were carried out and the cell count and viability of the cells were checked at each stage. Table 50 provides the results of some of the tests.

Example 5: Preparation of hES cells for transplantation

[0355] 15 ml of stem cell suspension was taken and centrifuged at 1000 r.p.m. for 7 minutes. The supernatant was discarded. 2 to 15 ml of saline was added to the pellet and the stem cells thus suspended. The suspension was checked for microbial contamination. A viability test was also done.

Example 6: Storage of hES cells in ready-to-use form

[0356] Containers (syringe, test tube, flask, vial) filled with the transplantable hES cell suspension were labeled and stored at -20°C. The cold chain was maintained up to the transplantation stage. The suspension was thawed naturally immediately before transplantation.

TABLE 50

Batch Code	Bilirubin	HIV	HbSAg	Alk Phos	PCR	Albumin	S insulin	Neurofil	Histo	Cell Count (in millions)	Viability %	Culture State
B77	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.86	72	Sterile
B78	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.18	70	Sterile
B79	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.92	70	Sterile
B80	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.96	68	Sterile
L56	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.12	72	Sterile
L57	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.84	72	Sterile
B81	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.16	70	Sterile
B82	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.72	68	Sterile
B83	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.68	74	Sterile
B84	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.72	72	Sterile
B85	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.86	76	Sterile
B86	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.92	78	Sterile
L58	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.86	82	Sterile
L59	1.27	-ve	-ve	97	-ve	1.9	13.2	-	-	3.12	70	Sterile
B87	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.16	72	Sterile
B88	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.84	70	Sterile
L1/V 1	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.68	78	Sterile
L1/V 2	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.72	74	Sterile
B89	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.68	72	Sterile
B90	0.05	-ve	-ve	14	-ve	0.15	-	-	-	3.76	70	Sterile
B91	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.64	68	Sterile
B92	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.72	72	Sterile
B93	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.74	70	Sterile
B94	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.92	72	Sterile
B95	-	-ve	-ve	-	-ve	-	-	-	-	3.86	70	Sterile

-ve = negative test result

- = not done

Cell Lines

[0357] Subcultures were repeated more than 100 times to establish hES cells of the present invention. Further, the subcultures were tested for any contamination/infection at each stage of further expansion or storage. The hES cell lines were found to be stable and without any abnormality for over five years of sub culturing cycles.

[0358] The present invention is not to be limited in scope by the specific embodiments and examples, which are intended as illustrations of a number of aspects of the invention and any embodiments which are functionally equivalent are within the scope of this invention. Those skilled in the art will know, or be able to ascertain using no more than routine experimentation, many equivalents to the specific embodiments of the invention described herein. These and all other equivalents are intended to be encompassed by the following claims. All patents, patent applications and publications cited herein are fully incorporated by reference.

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A pharmaceutical composition for the treatment of diseases, disorders, or conditions comprising a therapeutic effective amount of human embryonic stem (hES) cells and/or their derivatives, wherein said hES cells and/or their derivatives are free from animal products, feeder cells, growth factors, leukemia inhibiting factor, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor or soluble steel factor or conditioned media, wherein said hES cells and/or their derivatives are suspended in a pharmaceutically acceptable biocompatible solution.

2. A pharmaceutical composition of claim 1 wherein said composition is in a ready-to-use form.

3. A pharmaceutical composition of claim 2, wherein said ready-to-use form is a prefilled syringe.

4. A pharmaceutical composition of claim 2 wherein the stem cells have sufficient viability to be therapeutically effective.

5. A pharmaceutical composition of claim 4 wherein the viability of the stem cells is greater than 40%.

6. A pharmaceutical composition of claim 1 wherein said biocompatible solution is saline.

7. A pharmaceutical composition of claim 1 wherein said biocompatible solution further comprises an antimicrobial agent, antibacterial agent or other pharmaceutical agent.

8. A pharmaceutical composition of claim 1 wherein the composition comprises a therapeutically effective amount of hematopoietic stem cell progenitors.

9. A pharmaceutical composition of claim 1 wherein the composition comprises a therapeutically effective amount of neuronal stem cell progenitors.

10. A pharmaceutical composition of claim 1 wherein the composition comprises a therapeutically effective amount of hematopoietic stem cell progenitors and neuronal stem cell progenitors.

11. A pharmaceutical composition of claim 1 wherein the composition comprises a therapeutically effective amount of mesenchymal stem cell progenitors.

12. A pharmaceutical composition of claim 1 wherein the composition comprises a therapeutically effective amount of insulin producing stem cell progenitors.

13. A pharmaceutical composition of claim 1 wherein the composition comprises a therapeutically effective amount of hepatocytic stem cell progenitors.

14. A pharmaceutical composition of claim 1 wherein the composition comprises a therapeutically effective amount of cardiac stem cell progenitors.

15. A pharmaceutical composition of claim 1 wherein the composition comprises a therapeutically effective amount of epithelial stem cell progenitors.

16. A pharmaceutical composition of claim 8 wherein the therapeutically effective amount of hematopoietic stem cell progenitors in the composition is about 750,000 to about 160 million cells.

17. A pharmaceutical composition of claim 9 wherein the therapeutically effective amount of neuronal stem cells in the composition is about 750,000 to about 160 million cells.

18. A pharmaceutical composition of claim 1 wherein the therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives is about 750,000 to about 160 million cells in about 0.25 ml to about 100 ml of the biocompatible solution.

19. A pharmaceutical composition of claim 1 wherein the therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives is 750,000 to about 80 million cells in about 0.25 ml to about 10 ml of the biocompatible solution.

20. A pharmaceutical composition of claim 1 wherein the diseases, disorders or conditions are selected from the group consisting of cancer, stroke, genetic disorders, liver disorders, developmental disorders, degenerative disorders,

familial disorders or traumatic disorders of the nervous system, vascular disorders, skin diseases and disorders, auto immune disorders, eye disorders, kidney disorders, cardiac disorders, musculoskeletal disorders, reproductive and fertility disorders, and arthritis and blood disorders

21. A pharmaceutical composition of claim 1 wherein the diseases, disorders, or conditions are selected from the group consisting of Acute Myeloid Leukaemia, Adenocarcinoma, Arthritis, Astrocytoma, Auditory Nerve Atrophy, Autism, Auto Immune Disorders, Alzheimer's disease, Ankylosing Spondylitis, Becker's Muscular Dystrophy, Brain Damage, Burns, Cerebro Vascular Accident, Cerebral Palsy, Coma, Corneal Ulcers, Corneal Graft Rejection, Cortico-Basal Degeneration of the Nervous System, Coronary Artery Disease, Diabetes, Dementia, Downs Syndrome, Duchenne's Muscular Dystrophy, End-Stage Renal Disease, Erb's Palsy, Fascio Scapular Muscular Dystrophy, Fertility Disorders, Friedereich's Ataxia, Heart Failure, Hepato Cellular Carcinoma, Hereditary Spino Motor Neuron Disease, Huntington's Chorea, Krabbe's Disease, Limb Girdle Dystrophy, Liver Cirrhosis, Macular Degeneration, Mental Retardation, Multiple Sclerosis, Motor Neuron Disease, Myocardial Infarction, Nephrotic Syndrome, Niemann Pick Disease, Non-Healing Ulceration of the Skin, Olivo-Ponto Cerebellar Atrophy, Optic Nerve Atrophy, Parkinson's Disease, Post Electric Shock Encephalopathy, Post-Rabies Vaccine Encephalopathy, Pressure Sores, Progressive Supranuclear Palsy, Psoriasis, Pthysis Bulbi, Restrictive Cardiomyopathy, Retinitis Pigmentosa, Right Bundle Branch Block, Sarcoidosis, Sinus Bradycardia, Spinal Cord Tumour, Spinal Muscular Dystrophy, Spino Cerebellar Ataxia, Steven Johnson's Syndrome, Systemic Lupus Erythematosus, Thrombocytopenia, Thalassemia, Ulcerative Colitis, Vegetative State, Cystic Fibrosis, Interstitial Lung Disease, Azoospermia, Primary Ovarian Failure, Aphthous Ulcers, Hormone Imbalance, Osteo-Arthritis, Horner's Syndrome and Osteogenic Imperfecta, Channelopathy, and Hypogammaglobulinemia.

22. A composition of matter comprising hES cells and/or their derivatives, said hES cells and/or their derivatives being free from animal products, feeder cells, growth factors, leukemia inhibiting factor, fibroblast growth factor,

membrane associated steel factor and/ or soluble steel factor or conditioned media, wherein said hES cells and/or their derivatives are entrapped in a biocompatible, selectively permeable structure or matrix.

23. A composition of matter of claim 22 wherein the hES cells and/or their derivatives comprise hematopoietic stem cell progenitors.

24. A composition of matter of claim 22 wherein the hES cells and/or their derivatives comprise neuronal stem cell progenitors.

25. A composition of matter of claim 22 wherein the hES cells and/or their derivatives comprise a combination of hematopoietic stem cells and neuronal stem cell progenitors.

26. A composition of matter of claim 22 wherein the biocompatible, selectively permeable structure or matrix is selected from the group consisting of biopolymers, polypeptides, proteins, polysaccharides, fibronectin, collagen, laminin, keratin, fibrin, fibrinogen, hyaluronic acid, heparin sulfate, chondroitin sulfate, agarose, and gelatin.

27. A composition of matter of claim 22 wherein the hES cells and/or their derivatives are entrapped in a mixture of agarose and collagen or a mixture of agarose and gelatin.

28. A method for isolating hES cells, comprising:

(a) collecting a 2 to 7 day old embryo in minimal essential medium,
(b) isolating hES cells from the embryo by mechanical means.

29. A method of claim 28, wherein said embryo is a 2 day old embryo.

30. A method of claim 28, wherein said mechanical means is shaking.

31. A method of expanding hES cells free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor,

membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media, comprising the steps of:

(a) introducing hES cells in a cell culture medium consisting of minimal essential medium, a progestin and a β-human chorionic gonadotropin (βhCG) agonist; and

(b) incubating the stem cells at a temperature of about 34°C to about 38°C in an environment of about 3.5% to about 6% carbon dioxide for about 12 hours to about 48 hours.

32. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein said cell culture medium is RPMI.

33. A method of expanding hES cells of claim 31 further comprising:

(c) taking an aliquot of incubated stem cells of step (b) wherein said aliquot contains at least one stem cell,

(d) resuspending the cells in cell culture medium along with progesterone and βhCG to the aliquot,

(e) diluting the cells in cell culture medium without progestin and βhCG agonist, and

(f) incubating the cells at a temperature of about 34°C to about 38°C in an environment of about 3.5% to about 6% carbon dioxide for about 12 hours to about 48 hours.

34. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein said incubation is carried out in a water jacketed cell culture incubator.

35. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein said stem cells in culture medium are incubated in a biocompatible container under substantially anaerobic conditions.

36. A method of expanding hES cells of claim 35 wherein said stem cells do not differentiate on proliferation.

37. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein the hES cells used are isolated from a 3 day old embryo via mechanical means.

38. A method of expanding hES cells of claim 31 further comprising the step of testing the expanded stem cells for any contamination.

39. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein said culture process is carried out in biocompatible containers.

40. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein the ratio of the aliquot of incubated stem cells to the cell medium is about 1:3.5 to about 1:35.

41. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein said incubation is carried out in substantially anaerobic environment.

42. A method of expanding hES cells of claim 31 wherein said incubation is carried out in biocompatible container where the volume is almost completely occupied by the medium and the container is kept in a vertical position.

43. A method of partially differentiating hES cells free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media, comprising the steps of:

(a) introducing hES cells in a cell culture medium consisting of minimal essential medium; and

(b) incubating the stem cells at a temperature of about 34°C to about 38°C in an environment of about 3.5% to about 6% carbon dioxide for about 12 hours to about 48 hours.

44. A method of partially differentiating hES cells of claim 43 wherein said cell culture medium is RPMI or DMEM.

45. A method of partially differentiating hES cells of claim 43 wherein said incubation is carried out in a water jacketed cell culture incubator.

46. A method of partially differentiating hES cells of claim 43 wherein said stem cells in culture medium are incubated in a biocompatible container under substantially aerobic conditions.

47. A method of partially differentiating hES cells of claim 46 wherein said stem cells differentiate on proliferation.

48. A method of partially differentiating hES cells of claim 43 further comprising the step of testing the expanded stem cells for any contamination.

49. A method of partially differentiating hES cells of claim 43 wherein said culture process is carried out in biocompatible containers.

50. A method of partially differentiating hES cells of claim 43 wherein the ratio of the aliquot of incubated stem cells to the cell medium is about 1:3.5 to about 1:35.

51. A method of partially differentiating hES cells of claim 43 wherein said incubation is carried out in substantially aerobic environment.

52. A method of partially differentiating hES cells of claim 51 wherein said incubation is carried out in biocompatible container and the container is kept in a horizontal position.

53. A process of preparing a ready to use preparation of hES cells and/or their derivatives for human transplantation comprising:

(a) obtaining hES cells free of animal products, feeder cells, growth factors, leukaemia inhibitory factor, supplementary mineral combinations, amino acid supplements, vitamin supplements, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor, soluble steel factor and conditioned media,

(b) centrifuging said stem cells to obtain a pellet, and

(c) suspending the pellet in a biocompatible solution.

54. A process of preparing a ready to use preparation of hES cells and/or their derivatives for human transplantation of claim 53 further comprising:

(d) storing the preparation at about -15°C to about -72°C, and

(e) thawing the stored preparation naturally before transplantation, wherein the viability of the cells is at least 40% on thawing.

55. A process of preparing a ready to use preparation of hES cells and/or their derivatives for human transplantation of claim 53 or 54 further comprising testing the preparation for any contamination prior to transplantation.

56. A process of preparing a ready to use preparation of hES cells and/or their derivatives for human transplantation of claim 53 wherein the hES cells and/or their derivatives obtained in (a) are produced by the methods of claims 31 or 45.

57. A method of storing a preparation of hES cells and/or their derivatives in a viable condition comprising

(a) taking preparation of hES cells and/or their derivatives prepared by the method of claim 31 or 45,

(b) adding a cryopreservation agent, and

(c) freezing the cells at about -15 to about -72°C.

58. A method of storing a preparation of hES cells and/or their derivatives of claim 57 wherein the ratio of the amount of said cryopreservation agent to that of culture medium is from about 1:500 to about 16:1000.

59. A method of storing a preparation of hES cells and/or their derivatives of claim 57 wherein said storage is in a biocompatible container.

60. A method of storing a preparation of hES cells and/or their derivatives of claim 57 wherein the cells are frozen at about -18 to about -20°C.

61. A method of treating a disease, disorder, or condition in a subject, comprising administering to said subject a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, said cells being free from animal products, feeder

cells, growth factors, leukaemia inhibiting factor, fibroblast growth factor, or conditioned media.

62. A method of claim 61 wherein the hES cells and/or their derivatives are produced by the method of claim 31 or 45.

63. A method of claim 61 wherein the disease, disorder or condition is selected from the group consisting of cancer, stroke, genetic disorders, liver disorders, developmental disorders, degenerative disorders, familial disorders or traumatic disorders of the nervous system, vascular disorders, skin diseases and disorders, auto immune disorders, eye disorders, kidney disorders, cardiac disorders, musculoskeletal disorders, reproductive and fertility disorders, arthritis and blood disorders.

64. A method of claim 63 wherein the nervous system disorders are developmental nervous system disorders selected from the group consisting of Autism, Cerebral Palsy, Erb's Palsy Mental Retardation and Progressive Supranuclear Palsy.

65. A method of claim 63 wherein the nervous system disorders are degenerative nervous system disorders selected from the group consisting of Alzheimer's Disease, Corticobasal Degeneration, Deafness (Auditory Nerve Atrophy), Dementia, Friedereich's Ataxia, Motor Neuron Disease, Multiple Sclerosis, Olivo Ponto Cerebellar Atrophy, Parkinson's Disease and Spino Cerebellar Ataxia.

66. A method of claim 63 wherein the nervous system disorders are traumas of the nervous system selected from the group consisting of Brain Damage, Coma, Post Electric Shock Encephalopathy, Post Rabies Vaccine Encephalopathy, Spinal Cord Damage or Injury and Vegetative State.

67. A method of claim 63, wherein the nervous system disorders are Cerebro Vascular Accident or Stroke.

68. A method of claim 63 wherein the nervous system disorders are familial conditions selected from the group consisting of Hereditary Spino Motor Neuron Disease and Huntington's Chorea.

69. A method of claim 63 wherein the liver and kidney disorders are selected from the group consisting of Cirrhosis of the Liver, End Stage Renal Disease, Nephrotic Syndrome and Niemann Pick disease.

70. A method of claim 63 wherein the skin disorders are selected from the group consisting of Arthritis, Artherosclerosis, Burns, Non-Healing Ulcers, Pressure Sores, Psoriasis, Systemic Lupus Erythematosus and Sarcoidosis.

71. A method of claim 63 wherein the auto immune disorders are selected from the group consisting of Thrombocytopenia, Systemic Lupus Erythematosus, Sarcoidosis and Ulcerative Colitis.

72. A method of claim 63 wherein the genetic disorders are selected from the group consisting of Down's syndrome, Ankylosing Spondylitis, Thalassemia and Huntington's Chorea.

73. A method of claim 63 wherein the eye disorders are selected from the group consisting of Optic Nerve Atrophy, Pthysis Bulbi, Macular Degeneration, Retinitis Pigmentosa, Corneal Abrasion, Corneal Graft Rejection and Corneal Ulcers.

74. A method of claim 63 wherein the musculoskeletal disorders are selected from the group consisting of Duchenne's Muscular, Dystrophy, Fascio Scapular Muscular Dystrophy, Limb Girdle Dystrophy, Spinal Muscular Atrophy, and Becker's Muscular Dystrophy.

75. A method of claim 63 wherein the cardiac disorders are selected from the group consisting of Myocardial Infarction, Right Bundle Branch Block, Restrictive Cardiomyopathy, Heart failure, Sinus Bradycardia and Coronary Artery disease.

76. A method of claim 63 wherein the oncologic states are selected from the group consisting of Acute Myeloid Leukaemia, Adenocarcinoma of the Adrenal Gland, Astrocytoma, Hepatocellular Carcinoma and Spinal Cord Tumour.

77. A method of claim 63, wherein the disease is Diabetes Mellitus.

78. A method for treating a subject with a disease, disorder, or condition comprising administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives cultured in media free of animal products, feeder cells, conditioned media, growth factors, leukaemia inhibiting factor, fibroblast growth factor, membrane associated steel factor or soluble steel factor, via intramuscular injection or intravenous injection or epidural injection or epidural catheter or retrobulbar injection or subcutaneous injection or intracardiac injection or intracystic injection or intrathecal injection or by topical application or intralesional application or intravenous infusion, or via nebulizer, or via spray, or via intravaginal routes, or via local eye and ear drops.

79. A method of claim 78 wherein the hES cells and/or their derivatives are produced by the method of claim 31 or 45.

80. A method for treating a subject with a disease, disorder, or condition of claim 78 wherein the therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives is about 750,000 to about 160 million cells.

81. A method for treating a subject with a disease, disorder, or condition of claim 78 wherein the hES cells and/or their derivatives comprise hematopoietic stem cell progenitors, neuronal stem cell progenitors, mesenchymal stem cell progenitors, epithelial stem cell progenitors, renal stem cell progenitors, cardiac stem cell progenitors, or hepatic stem cell progenitors, or combinations thereof.

82. A method for treating a subject with a disease, disorder, or condition of claim 78 wherein the disease is selected from the group consisting of cancer, stroke, genetic disorders, liver disorders, developmental disorders, degenerative disorders, familial disorders or traumatic disorders of the nervous system,

vascular disorders, skin diseases and disorders, auto immune disorders, eye disorders, kidney disorders, cardiac disorders, musculoskeletal disorders, reproductive and fertility disorders, arthritis and blood disorders.

83. A method for treating a subject with a disease, disorder, or condition of claim 78 wherein the disease, disorder, or condition is selected from the group consisting of Acute Myeloid Leukaemia, Adenocarcinoma, Arthritis, Astrocytoma, Auditory Nerve Atrophy, Autism, Auto Immune Disorders, Alzheimer's disease, Ankylosing Spondylitis, Becker's Muscular Dystrophy, Brain Damage, Burns, Cerebro Vascular Accident, Cerebral Palsy, Coma, Corneal Ulcers, Corneal Graft Rejection, Cortico-Basal Degeneration of the Nervous System, Coronary Artery Disease, Diabetes, Dementia, Downs Syndrome, Duchenne's Muscular Dystrophy, End-Stage Renal Disease, Erb's Palsy, Fascio Scapular Muscular Dystrophy, Fertility Disorders, Friedereich's Ataxia, Heart Failure, Hepato Cellular Carcinoma, Hereditary Spino Motor Neuron Disease, Huntington's Chorea, Krabbe's Disease, Limb Girdle Dystrophy, Liver Cirrhosis, Macular Degeneration, Mental Retardation, Multiple Sclerosis, Motor Neuron Disease, Myocardial Infarction, Nephrotic Syndrome, Niemann Pick Disease, Non-Healing Ulceration of the Skin, Olivo-Ponto Cerebellar Atrophy, Optic Nerve Atrophy, Parkinson's Disease, Post Electric Shock Encephalopathy, Post-Rabies Vaccine Encephalopathy, Pressure Sores, Progressive Supranuclear Palsy, Psoriasis, Pthysis Bulbi, Restrictive Cardiomyopathy, Retinitis Pigmentosa, Right Bundle Branch Block, Sarcoidosis, Sinus Bradycardia, Spinal Cord Tumour, Spinal Muscular Dystrophy, Spino Cerebellar Ataxia, Steven Johnson's Syndrome, Systemic Lupus Erythematosus, Thrombocytopenia, Thalassemia, Ulcerative Colitis, Vegetative State, Cystic Fibrosis, Interstitial Lung Disease, Azoospermia, Primary Ovarian Failure, Aphthous Ulcers, Hormone Imbalance, Osteo-Arthritis, Horner's Syndrome and Osteogenic Imperfecta, Channelopathy, and Hypogammaglobulinemia.

84. A method for treating a subject with a disease, disorder, or condition of claim 78 wherein the administration of hES cells and/or their derivatives does not cause tumours, teratomas, or chromosomal changes.

85. A method for the treatment of Spinal Cord Injury (SCI) of a subject comprising:

a) administering about 750,000 to about 80 million hES cells and/or their derivatives via sub-cutaneous injection;

b) repeating step (a) after a pre-determined period and thereafter administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives via intramuscular injection;

c) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and hematopoietic stem cell progenitors, via intravenous injection or infusion;

d) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, via epidural injection and repeating said dose after a pre-determined period depending upon the condition of the subject as assessed by clinical and/or neurological examination;

e) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, via caudal injection;

f) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors via intrathecal injection or sub arachnoid block catheter;

g) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors via epidural injection or epidural catheter;

h) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives via deep spinal injection on either side of the spine; and

i) administering a therapeutically effective amount of hES cells and/or their derivatives via intravenous infusion;

wherein steps (a) and (b) are carried out first and the remaining steps may be carried out in any order.

86. A method of claim 85 further comprising repeating step (f) followed by step (g), until the subject exhibits clinical signs of recovery from said SCI.

87. A method of claim 85 wherein the hES cells and/or their derivatives are produced by the method of claim 31 or 45.

88. A method of treatment of SCI of claim 85 wherein about 750,000 to about 80 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors and neuronal stem cell progenitors, are suspended in 0.25 to 1.0 ml of a biocompatible solution in step (a) and step (b).

89. A method of treatment of SCI of claim 85 wherein about 750,000 to about 11 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors and neuronal stem cell progenitors, are suspended in 2.0 to 4.0 ml of a biocompatible solution in step (f).

90. A method of treatment of SCI of claim 85 wherein about 750,000 to about 80 million hES cells and/or their derivatives,. wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors and neuronal stem cell progenitors, are suspended in 15 to 40 ml of a biocompatible solution in step (g).

91. A method of claim 85 wherein said treatment of subjects with SCI results in the amelioration of bed sores.

92. A method for treatment of developmental, degenerative, familial and traumatic nervous system disorders and cerebrovascular attack comprising administering about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, via intravenous injection, subcutaneous injection,

intramuscular injection, intrathecal injection, epidural catheter infusion or sub arachnoid block catheter infusion.

93. A method for treatment of skin disorders comprising administering about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors, via subcutaneous or intravenous injection.

94. A method for treatment of claim 93 wherein said hES cells and/or progenitors are mixed in a biocompatible carrier to be applied to the damaged skin.

98. A method for treatment of claim 94 wherein said biocompatible carrier is a gel, ointment, paste or aerosol spray.

95. A method for treatment of bed sores comprising administering about 750,000 to about 80 million hES cells and/or their derivatives via local or topical application and via intramuscular injection.

96. A method for treatment of auto immune disorders comprising administering about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives via intramuscular injection, intravenous injection, subcutaneous injection, intra-articular injection or intravenous infusion or combinations thereof.

97. A method for treatment of genetic disorders comprising administering about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, intrathecal injection, epidural catheter infusion or sub arachnoid block catheter infusion or combinations thereof.

98. A method for treatment of gangrene comprising administering about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives via intravenous injection, intramuscular injection, or local application at the junction of viable and dead tissue or combinations thereof.

99. A method for treatment of conditions associated with ageing comprising administering about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their

derivatives via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, local application in suspension or mixed in a biocompatible carrier.

100. A method for treatment of claim 102 wherein said biocompatible carrier is a gel, ointment, paste or aerosol spray.

101. A method for treatment of Diabetes Mellitus comprising administration of about 750,000 to about 160 million human embryonic insulin producing progenitor cells via intravenous or intramuscular injection or both.

102. A method for treating Cardiovascular Disorders comprising administering about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors, via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, intracardiac injection, angiography, or direct injection, or combinations thereof.

103. A method for treating Cardiovascular Disorders of claim 103 wherein said administration is during angiography.

104. A method for treatment of Liver and Kidney Disorders comprising administering about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors, albumin producing stem cell progenitors and bilirubin producing stem cell progenitors, via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, intravenous infusion, or local injection, or combinations thereof.

105. A method for the treatment of Fertility and Reproductive Disorders comprising administering about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise hematopoietic stem cell progenitors, via local intramuscular injection, intratesticular injection, or through subcutaneous skin injection near the epididymis, or combinations thereof.

106. A method for the treatment of Musculoskeletal Disorders comprising administering of about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or

hematopoietic stem cell progenitors, via intravenous injection, subcutaneous injection, intramuscular injection, or intravenous catheter infusion, or combinations thereof.

107. A method for the treatment of Eye Disorders comprising administering about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors, hematopoietic stem cell progenitors and/or mesenchymal stem cell progenitors, via local intravenous injection, subcutaneous injection intramuscular injection, retrobulbar injection, intravitreous injection or topical application, or combinations thereof.

108. A method for the treatment of Eye Disorders of claim 107 wherein about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors are administered via retrobulbar injection.

109. A method for the treatment of Eye Disorders of claim 107 wherein about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors are administered via intravitreous injection.

110. A method for the treatment of Eye Disorders of claim 107 wherein about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise mesenchymal stem cell progenitors are applied to contact lenses for the treatment of corneal abrasion.

111. A method for the treatment of Lung Disorders comprising administering about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, via intramuscular injection, intravenous injection, spray, or nebulizer, or combinations thereof.

112. A method for the treatment of Hormone Disorders comprising administering about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem

cell progenitors, via intramuscular injection or intravenous injection, or combinations thereof.

113. A method for the treatment of Aphthous Ulcers and other ulcers comprising administering about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, via intramuscular injection or intravenous injection, or combinations thereof.

114. A method for the treatment of Osteo-arthritis of the knee and hip joint comprising administering about 750,000 to about 160 million hES cells and/or their derivatives, wherein said cells comprise neuronal stem cell progenitors and/or hematopoietic stem cell progenitors, via intramuscular injection, intravenous injection, or intra-articular injection, or combinations thereof.

115. A method for testing the effect of a compound on hES cells and/or their derivatives, comprising culturing hES cells and/or their derivatives obtained by the method of claim 31 or 45 in the presence of the compound and determining the effect of the compound on the cells.

116. A method for delivering a drug to a subject comprising culturing hES cells and/or their derivatives obtained by the method of claim 31 or 45 in the presence of the drug, wherein the cells take up the drug, and administering the cells to a site in the subject, wherein the drug is delivered.

PCT

REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

For receiving Office use only

International Application No.

International Filing Date

Name of receiving Office and "PCT International Application"

Applicant's or agent's file reference *(if desired) (12 characters maximum)* 2515.002PC00

Box No. I TITLE OF INVENTION

COMPOSITIONS COMPRISING HUMAN EMBRYONIC STEM CELLS AND THEIR DERIVATIVES, METHODS OF USE, AND METHODS OF PREPARATION

Box No. II APPLICANT [X] This person is also inventor

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

SHROFF, GEETA
487 Hardevpuri, Gautam Nagar
New Delhi 115049
INDIA

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality: IN

State *(that is, country)* of residence: IN

This person is applicant for the purposes of: [X] all designated States [ ] all designated States except the United States of America [ ] the United States of America only [ ] the States indicated in the Supplemental Box

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)*

This person is:
[ ] applicant only
[ ] applicant and inventor
[ ] inventor only *(If this check-box is marked, do not fill in below.)*

Applicant's registration No. with the Office

State *(that is, country)* of nationality:

State *(that is, country)* of residence:

This person is applicant for the purposes of: [ ] all designated States [ ] all designated States except the United States of America [ ] the United States of America only [ ] the States indicated in the Supplemental Box

[ ] Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.

Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as: [ ] agent [ ] common representative

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*

Robert W. Esmond

Sterne, Kessler, Goldstein & Fox P.L.L.C.
1100 New York Avenue, N.W.
Washington, DC 20005-3934
United States of America

Telephone No. (202) 772-8560

Facsimile No. (202) 371-2540

Teleprinter No. 248636 SSK

Agent's registration No. with the Office 32,893

[X] **Address for correspondence:** Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

Supplemental Box *If the Supplemental Box is not used, this sheet should not be included in the request.*

If, in any of the Boxes, except Boxes Nos. VIII(i) to (v) for which a special continuation box is provided, the space is insufficient to furnish all the information: in such case, write "Continuation of Box No...." (indicate the number of the Box) and furnish the information in the same manner as required according to the captions of the Box in which the space was insufficient, in particular:

(i) if more than two persons are to be indicated as applicants and/or inventors and no "continuation sheet" is available: in such case, write "Continuation of Box No. III" and indicate for each additional person the same type of information as required in Box No. III. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below;

(ii) if, in Box No. II or in any of the sub-boxes of Box No. III, the indication "the States indicated in the Supplemental Box" is checked: in such case, write "Continuation of Box No. II" or "Continuation of Box No. III" or "Continuation of Boxes No. II and No. III" (as the case may be), indicate the name of the applicant(s) involved and, next to (each) such name, the State(s) (and/or, where applicable, ARIPO, Eurasian, European or OAPI patent) for the purposes of which the named person is applicant;

(iii) if, in Box No. II or in any of the sub-boxes of Box No. III, the inventor or the inventor/applicant is not inventor for the purposes of all designated States or for the purposes of the United States of America: in such case, write "Continuation of Box No. II" or "Continuation of Box No. III" or "Continuation of Boxes No. II and No. III" (as the case may be), indicate the name of the inventor(s) and, next to (each) such name, the State(s) (and/or, where applicable, ARIPO, Eurasian, European or OAPI patent) for the purposes of which the named person is inventor;

(iv) if, in addition to the agent(s) indicated in Box No. IV, there are further agents: in such case, write "Continuation of Box No. IV" and indicate for each further agent the same type of information as required in Box No. IV;

(v) if, in Box No. VI, there are more than three earlier applications whose priority is claimed: in such case, write "Continuation of Box No. VI" and indicate for each additional earlier application the same type of information as required in Box No. VI.

2. *If the applicant intends to make an indication of the wish that the international application be treated, in certain designated States, as an application for a patent of addition, certificate of addition, inventor's certificate of addition or utility certificate of addition: in such a case, write the name or two-letter code of each designated State concerned and the indication "patent of addition," "certificate of addition," "inventor's certificate of addition" or "utility certificate of addition," the number of the parent application or parent patent or other parent grant and the date of grant of the parent patent or other patent grant or the date of filing of the parent application (Rules 4.11(a)(iii) and 49bis.1(a) or (b)).*

3. *If the applicant intends to make an indication of the wish that the international application be treated, in the United States of America, as a continuation or continuation-in-part of an earlier application: in such a case, write "United States of America" or "US" and the indication "continuation" or "continuation-in-part" and the number and the filing date of the parent application (Rules 4.11(a)(iv) and 49bis.1(d)).*

Continuation of Box No. IV;

Additional agent(s) with same address as first named agent

STERNE, Robert Greene; KESSLER, Edward J.; GOLDSTEIN, Jorge A.; BANOWIT, Donald R.; CAPUANO, Vincent L.; CIMBALA, Michele A.; CORNWELL, David K. S.; COVERT, John M.; DEL BUONO, Brian J.; DURKIN, Tracy-Gene G.; ELLISON, Eldora L.; ESMOND, Robert W.; FEATHERSTONE, Donald J.; HAANES, Elizabeth J.; HELVEY, Jeffrey T.; JACKMAN, Peter A.; KIM, Judith U.; LEE, Michael Q.; MCCABE, Kevin W.; MESSINGER, Michael V.; MILLONIG, Robert C.; RAY, Michael B.; SHEA, Jr., Timothy J.; SOKOHL, Robert E.; SPECHT, Michael D.; STEFFE, Eric K.;

Box No. V DESIGNATIONS

The filing of this request **constitutes under Rule 4.9(a), the designation** of all Contracting States bound by the PCT on the international filing date, for the grant of every kind of protection available and, where applicable, for the grant of both regional and national patents.

However,

☐ DE Germany **is not designated** for any kind of national protection

☐ JP Japan **is not designated** for any kind of national protection

☐ KR Republic of Korea **is not designated** for any kind of national protection

☐ RU Russian Federation **is not designated** for any kind of national protection

(The check-boxes above may only be used to exclude (irrevocably) the designations concerned if, at the time of filing, the international application contains in Box No. VI a priority claim to an earlier national application filed in the particular State concerned, in order to avoid the ceasing of the effect, under the national law, of this earlier national application. See the Notes to Box No. V as to the consequences of such national law provisions in these States).

Box No. VI PRIORITY CLAIM

The priority of the following earlier application(s) is hereby claimed:

Filing date of earlier application *(day/month/year)*	Number of earlier application	Where earlier application is:		
		national application: country or Member of WTO	regional application: * regional Office	international application: receiving Office
item (1) 7 March 2006	582/DEL/2006	IN		
item (2) 26 June 2006	1500/DEL/2006	IN		
item (3) 14 September 2006	60/844,350	US		

☐ Further priority claims are indicated in the Supplemental Box.

The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) *(only if the earlier application was filed with the Office which for the purposes of this international application is the receiving Office)* identified above as:

☐ all items ☐ item (1) ☐ item (2) ☐ item (3) ☐ other, see Supplemental Box

* *Where the earlier application is an ARIPO application, indicate at least one country party to the Paris Convention for the Protection of Industrial Property or one Member of the World Trade Organization for which that earlier application was filed (Rule 4.10(b)(ii)):*

.....

Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

Choice of International Searching Authority (ISA) *(if two or more International Searching Authorities are competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used):*

ISA / . . EP.....

Request to use results of earlier search; reference to that search *(if an earlier search has been carried out by or requested from the International Searching Authority):*

Date *(day/month/year)* Number Country *(or regional Office)*

Box No. VIII DECLARATIONS

The following **declarations** are contained in Boxes Nos. VIII (i) to (v) *(mark the applicable check-boxes below and indicate in the right column the number of each type of declaration)*: Number of declarations

☐ Box No. VIII (i)	Declaration as to the identity of the inventor	:
☐ Box No. VIII (ii)	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent	:
☐ Box No. VIII (iii)	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application	:
☐ Box No. VIII (iv)	Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America)	:
☐ Box No. VIII (v)	Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty	:

Box No. IX CHECK LIST; LANGUAGE OF FILING

This international application **contains**:

(a) **on paper**, the following number of sheets:

request (including declaration sheets)	:	4
description (excluding sequence listing and/or tables related thereto)	:	164
claims	:	18
abstract	:	1
drawings	:	0
Sub-total number of sheets	:	187
sequence listing	:	0
tables related thereto	:	0
(for both, actual number of sheets if filed on paper, whether or not also filed in electronic form; see (c) below)		
Total number of sheets	:	187

(b) ☐ **only in electronic form** (Section 801(a)(i))
- (i) ☐ sequence listing
- (ii) ☐ tables related thereto

(c) ☐ **also in electronic form** (Section 801(a)(ii))
- (i) ☐ sequence listing
- (ii) ☐ tables related thereto

Type and number of carriers (diskette, CD-ROM, CD-R or other) on which are contained the
- ☐ sequence listing: .....
- ☐ tables related thereto: .....

(additional copies to be indicated under items 9(ii) and/or 10(ii), in right column)

This international application is **accompanied by** the following item(s) *(mark the applicable check-boxes below and indicate in right column the number of each item)*:

		Number of items
1. ☒	fee calculation sheet	: 1
2. ☐	original separate power of attorney	:
3. ☐	original general power of attorney	:
4. ☐	copy of general power of attorney; reference number, if any:	:
5. ☐	statement explaining lack of signature	:
6. ☐	priority document(s) identified in Box No. VI as item(s):	:
7. ☐	translation of international application into *(language)*:	:
8. ☐	separate indications concerning deposited microorganism or other biological material	:
9. ☐	sequence listing in electronic form *(indicate type and number of carriers)*	
(i) ☐	copy submitted for the purposes of international search under Rule 13*ter* only (and not as part of the international application)	:
(ii) ☐	*(only where check-box (b)(i) or (c)(i) is marked in left column)* additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Rule 13*ter*	:
(iii) ☐	together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the sequence listing mentioned in left column	:
10. ☐	tables in electronic form related to sequence listing *(indicate type and number of carriers)*	
(i) ☐	copy submitted for the purposes of international search under Section 802(b-*quater*) only (and not as part of the international application)	:
(ii) ☐	*(only where check-box (b)(ii) or (c)(ii) is marked in left column)* additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Section 802(b-*quater*)	:
(iii) ☐	together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the tables mentioned in left column	:
11. ☒	other *(specify)*: Transmittal Letter and Postcard	: 2

Figure of the drawings which should accompany the abstract: None

Language of filing of the international application: English

Box No. X SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request).

SHROFF, GEETA

Applicant/Inventor

For receiving Office use only

1. Date of actual receipt of the purported international application:	2. Drawings: ☐ received:
3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:	
4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):	☐ not received:
5. International Searching Authority (if two or more are competent): ISA /	6. ☐ Transmittal of search copy delayed until search fee is paid

For International Bureau use only

Date of receipt of the record copy by the International Bureau:

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

PATENTE ☒ MODELO DE UTILIDAD ☐ DISEÑO INDUSTRIAL ☐

SOLICITANTE/S. RAZON SOCIAL O APELLIDOS Y NOMBRES: GEETA SHROFF

DOMICILIO: 487 Hardevpuri, Gautam Nagar, New Delhi 115049 INDIA

APODERADO: MAURICIO PATIÑO BONNET

TITULO: COMPOSICIONES QUE COMPRENDEN CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS HUMANAS Y SUS DERIVADOS, MÉTODOS DE USO Y MÉTODOS DE PREPARACIÓN.

CLASIFICACIÓN: A61K 35/48 (2006.01); C12N 5/06 (2006.01); A61K 35/12 (2006.01); A61P 25/00 (2006.01)

EXPEDIENTE No: _____ FECHA DE SOLICITUD: _____ ROLLO MICROFILM: _____

CERTIFICADO No: _____ FECHA DE CONCESIÓN _____ VIGENCIA DESDE: _____ HASTA: _____

PRORROGA: _____ CAMBIO DE NOMBRE _____

TRASPASO A: _____

INVENTOR(ES): SHROFF, Geeta.

ROS: _____

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
TARJETA ARCHIVO TEMATICO

PATENTE DE INVENCIÓN ☒ PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD ☐ DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(21) N° de solicitud:

(22) Fecha de solicitud:

(51) Clasificación Internacional: A61K 35/48 (2006.01); C12N 5/06 (2006.01); A61K 35/12 (2006.01); A61P 25/00 (2006.01)

(71) Solicitante (s) GEET SHROFF

(72) Inventor(es) SHROFF, Gesta.

(74) Agente: MAURICIO PATIÑO BONNET

	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País
(30) Prioridad	582/DEL/2006	07/03/2006	INDIA
SÍ	1500/DEL/2006	26/06/2006	INDIA
	60/844,350	14/09/2006	E.E.U.U.

(85) Fecha Inicio fase nacional:

(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud. PCT
Fecha de presentación de la solicitud: 06/03/2007
No. de solicitud PCT/IB2007/002292

(87) Publicación Internacional:
Fecha: 13/12/2007
No. Publicación:
WO 2007/141657 A2

FIGURA CARACTERISTICA
6X6

(54) Titulo:
COMPOSICIONES QUE COMPRENDEN CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS HUMANAS Y SUS DERIVADOS, MÉTODOS DE USO Y MÉTODOS DE PREPARACIÓN

(57) Resumen:
La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende preparaciones de células madre embrionarias humanas (hES) y sus derivados, y a métodos para su transplante en el cuerpo humano, en donde el transplante da como resultado la inversión clínica de síntomas, cura, estabilización o detención de degeneración de una amplia variedad de condiciones, enfermedades y trastornos médicos actualmente incurables y terminales. La invención se refiere además a procesos nuevos para preparar líneas de células madre nuevas que 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, diferenciación, almacenamiento y conservación de estas células madre.

CONTINUA AL RESPALDO

371

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 08-105992- -00000-0000

Fecha: 2008-10-06 11:39:24 Dep: 2020 NUECREACIONI
Tra: 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act: 411 PRESENTACION Folios: 870

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE PCT

PATENTE DE INVENCION [✓] MODELO DE UTILIDAD [ ]

- Indicación de que se solicita la concesión de una patente [✓]
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [✓]
- Descripción de la invención [✓]
- Dibujos de ser estos pertinentes [✓]
- Comprobante de pago de las tasas establecidas [✓]

COMPLETA [ ] INCOMPLETA [ ]

DISEÑO INDUSTRIAL [ ]

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial [ ]
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [ ]
- Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño [ ]
- Comprobante de pago de las tasas establecidas [ ]

COMPLETA [ ] INCOMPLETA [ ]

ESQUEMA DE TRAZADO [ ]

- Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado [ ]
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [ ]
- Representación gráfica del esquema trazado [ ]
- Comprobante de pago de las tasas establecidas [ ]

COMPLETA [ ] INCOMPLETA [ ]

Claudia M Neiva C.
Firma Responsable

Fecha_____

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
PATIÑO BONNET MAURICIO

REFERENCIA	Radicación No.	8 105992
	Solicitud internacional	PCT/IB2007/002292
	Fecha inicio fase nacional	07/10/2008
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	13268

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

2. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

Continua en la página siguiente...

873

REPUBLICA DE COLOMBIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación No.:8 105992

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 17 OCT. 2008
adpall

PRIETO & CARRIZOSA
ABOGADOS

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
E. S. D.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 08-105992- -00002-0000
Fecha: 2008-12-16 14:44:50 Dep: 2020 NUECREACIONI
Tra: 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act: 444 RESPUESTAREQUE Folios: 6

SOLICITUD DE PATENTE

Expediente : 08 105992
Solicitante : GEETA SHROFF

MAURICIO PATIÑO BONNET, mayor de edad, con domicilio en la ciudad de Bogotá, D.C., portador de la tarjeta profesional No.73583 actuando como apoderado de la sociedad en referencia, manifiesto a usted que, por medio del presente escrito me permito contestar en tiempo el Oficio No. 13268 notificado por fijación en lista el 17 de octubre de 2008 en los siguientes términos:

i. Allego copia autentica del poder de abogado otorgado por GEETA SHROFF para actuar en este trámite, el cual se encuentra debidamente legalizado por apostilla ante las autoridades de Estados Unidos de América.

ii. Adicionalmente y en respuesta al punto 2 del oficio de requerimiento No. 13268 notificado por fijación en lista del 17 de octubre de 2008, me permito aclarar que en la solicitud presentada ante su Despacho el 6 de octubre de 2008, el inventor y el solicitante son la misma persona natural, esto es, GEETA SHROFF. De acuerdo con lo anterior, no se hace necesario aportar documento de cesión del inventor al solicitante en la presente solicitud.

Así, habiendo respondido en tiempo oportuno el Oficio mencionado, y por ende encontrándose cumplidos los requisitos de ley, comedidamente solicito a ese Despacho seguir con el trámite de la referencia.

Atentamente,

MAURICIO PATIÑO BONNET
C.C. 11.342.699 de Zipaquirá
T.P. 73.583

Ref: 63395

2

875

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: *United States of America*

This public document

2. has been signed by Stephanie M. Castonguay

3. acting in the capacity of Vice Consul

4. bears the seal/stamp of Consular Services of the United States of America in New Delhi, India

Certified

5. at Washington, D.C.

6. the fifth of November, 2008

7. by *Assistant Authentication Officer, United States Department of State*

8. No. 99003776-3

9. Seal/Stamp:

10. Signature:

Sonya N. Johnson

NOTARIA DECIMA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

05 DIC. 2008

AMPARO QUINTERO ARTURO

NOTARIA

876

INDIVIDUAL ACKNOWLEDGMENT CERTIFICATE

REPUBLIC OF INDIA)
CITY OF NEW DELHI) SS:
EMBASSY OF THE UNITED)
STATES OF AMERICA)

I certify that on this day the individual(s) named below appeared before me and acknowledged to me that the attached instrument was executed freely and voluntarily.

Geeta Shroff
NAME(S) OF INDIVIDUAL(S)

SIGNATURE OF CONSULAR OFFICER

Stephane M. Castonguay
Vice Consul
U. S. Embassy
New Delhi, India
COMMISSION EXPIRES : INDEFINITE

NAME/TITLE OF THE OFFICER

DATE

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
05 DIC. 2008
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

2515.002C001 (r-s)

377

PRIETO & CARRIZOSA
INTELLECTUAL PROPERTY
POWER OF ATTORNEY

The undersigned Geeta Shroff, ~~acting on behalf of and representing~~ _____, domiciled in 487 Hardevpuri, Guatam Nagar, New Delhi 110049, India, hereby appoint(s) MAURICIO PATIÑO, JORGE DI TERLIZZI and/or MARTÍN CARRIZOSA domiciled in Santafé de Bogotá D.C., Republic of Colombia, as our true and legal attorneys with the necessary powers:

1) To apply to the administrative, judicial and police authorities of the Republic of Colombia, in any instance or appeal, for obtaining registration of patents, utility models, industrial designs and models, commercial ensigns and names, trademarks, slogans, health licenses, copyrights and domain names as well as their assignments, extensions, renewals and changes of name; 2) To prepare, apply for, obtain, execute and register contracts, licenses, authorizations and registrations of any kind; 3) To intervene as plaintiffs or defendants, in any instance or appeal, before any judge, court, tribunal, corporation, public officer or authority in any judicial, administrative or police action, such as: action dealing with commercial ensigns and names; oppositions against trademark registrations; caducity and nullity actions; recovery actions, actions arising from obtainment and working of license agreements; actions dealing with unfair competition; criminal actions; actions claiming indemnity for damages, complaints or remarks on all sort of industrial property matters; the performance of precautionary measures, and in any other similar action, measure or appeal related to intellectual property matters.

To this effect, I (we) hereby authorize them to file applications, make descriptions, protests, amendments, declarations, oppositions, cancellations, appeals and claims; to pay taxes, quotas and liens as provided by Law; to waive or abandon granted rights or rights in process of being granted, to receive all kind of documents and securities; to issue the respective releases and, in general, to take, before said authorities, pertinent steps to the above mentioned purposes and take all measures they may deem advisable to protect my (our) interests, with all other necessary legal faculties, and I (we) hereby declare as good and valid whatever the attorneys should do to my (our) benefit.

This power comprises the authority to ratify or confirm on my (our) behalf any action, as well as the faculty of receiving, desisting, transacting, compromising, substituting and revoking substitutions, taking notifications, and appointing judicial or extra-judicial attorneys.

Signed in New Delhi, India on this 21st day of October of 2008.

Geeta Shroff
SIGNATURE

PRIETO & CARRIZOSA
PROPIEDAD INTELECTUAL
PODER

Yo (nosotros) _____, ~~obrando en nombre y representación de~~ _____, con domicilio en _____, nombro(amos) a MAURICIO PATIÑO, JORGE DI TERLIZZI y/o MARTÍN CARRIZOSA con domicilio en Santafé de Bogotá D.C., República de Colombia, apoderados verdaderos y legales con poder especial, amplio y suficiente:

1) Para recabar de las oficinas y autoridades colombianas administrativas, judiciales y de policía en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, dibujos y modelos industriales, registro de marcas, registro de lemas comerciales, depósito de nombres y enseñas comerciales, registros sanitarios, derechos de autor y nombres de dominio así como sus traspasos, prórrogas, renovaciones y cambios de nombre y domicilio; 2) Elaborar, tramitar, solicitar, obtener, realizar, ejecutar y registrar contratos, licencias, autorizaciones y registros de cualesquiera clases; 3) Intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso y ante cualquier juez, entidad, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía, tales como acciones derivadas de nombre o enseña comerciales; oposiciones al registro de marcas; acciones de caducidad y nulidad; acciones reivindicatorias; acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias; acciones de competencia desleal, demandas penales y civiles; acciones de indemnización de perjuicios, reclamos, u observaciones a cualquier asunto sobre propiedad intelectual; al ejercicio de medidas cautelares y cualesquiera otras acciones, medidas o recursos similares relacionados con la propiedad intelectual.

A este efecto, los facultamos para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, apelaciones y reclamos; pagar impuestos, cuotas y gravámenes prescritos por la Ley; renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión; recibir toda clase de documentos y valores dando al descargo respectivo, y en general, para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al efecto indicado y tomas todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de mis (nuestros) intereses, con todas las facultades necesarias, y por este documento desde ahora declaro(amos) válido y bueno todo cuanto los apoderados hicieren en mi (nuestro) beneficio.

Este poder comprende la facultad de ratificar, o confirmar en mi (nuestro) nombre lo actuado, así como la facultad de recibir, desistir, transigir, comprometer, sustituir y revocar sustituciones, recibir notificaciones y nombrar apoderados

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
05 DIC. 2008
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

de _____.

5
878

APOSTILLA

(Convenio de la Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País:	Estados Unidos de América
Este Documento Público	
2. Firmado por	Stephanie M. Castonguay
3. Actuando en calidad de	Vicecónsul
4. Sello y Firma	Servicios Consulares de los Estados Unidos de América en New Delhi, India

Certificado

5. En Washington D.C.

6. El 5 de Noviembre de 2008

7. Por: el Oficial Asistente de Autenticación, Departamento de los Estados Unidos de América

8. No. **09003776-3**

9. Sello del Departamento de Estado de los Estados Unidos de América

10. Firma:

Sonya N. Johnson

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
2008 DIC -4 A 11:03
JEFE DE LEGALIZACIONES BOGOTA D.C.
RECIBO LEGALIZACION No. 49612
NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO
850025

NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
05 DIC. 2008
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

Resolución 6654/78 Minjusticia

Imprenta Nacional de Colombia
TRADUCTORA OFICIAL
ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

6

331

CERTIFICADO DE RECONOCIMIENTO INDIVIDUAL

REPUBLICA DE LA INDIA

CIUDAD DE NEW DELHI

EMBAJADA DE LOS ESTADOS

UNIDOS DE AMÉRICA

Certifico que en este día la persona abajo mencionada comparece ante mi y reconoció que el documento anexo fue realizado libremente y voluntariamente.

NOMBRE DEL INDIVIDUO: GRIETA SHROFF

FIRMA DEL OFICIAL CONSULAR

NOMBRE/ TITULO DEL OFICIAL

Stephane M. Castonguay

Vicecónsul

Embajada de los Estados Unidos

New Delhi, India

La comisión expira: indefinida

FECHA: OCTUBRE 21 DE 2008

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C., HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C., REPUBLICA DE COLOMBIA
05 DIC. 2008
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

Resolución
6808/78
Ministerio

Clemencia Morales Tejada
TRADUCTORA OFICIAL
ENGLISH - FRENCH - SPANISH
ANGLAIS - FRANÇAIS - ESPAGNOL

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Folio 880

Bogotá D.C.,

Doctor(a)
PATIÑO BONNET MAURICIO
Apoderado(a) y/o Representante de
SHROFF GEETA

REFERENCIA	Radicación No.	8 105992
	Solicitud internacional	PCT/IB2007/002292
	Fecha inicio fase nacional	07/10/2008
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	416
	Oficio No.	9522
	Folios	1

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial.

Cúmplase
Dado en Bogotá DC, 10 DIC. 2009

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

jfernand

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 08-105992- -00003-0000
Fecha: 2010-04-22 15:58:39 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 538 PETICION Folios: 7

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

División de Nuevas Creaciones

E. S. D.

REF. **SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCIÓN**

Trámite: PATENTE PCT CAPÍTULO I FASE NACIONAL

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

Expediente: **08 105992**

Solicitante: GEETA SHROFF

Asunto: **SOLICITUD DE EXAMEN DE PATENTABILIDAD**

MAURICIO PATIÑO BONNET, mayor de edad, con domicilio en la ciudad de Bogotá D.C., 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** y en cumplimiento de la exigencia del Artículo 44 de la Decisión 486 de 2000 de la Comunidad Andina, comedidamente y estando dentro del término de seis (6) meses previsto para el efecto, por medio del presente memorial acudo a la División de Nuevas Creaciones de la Superintendencia de Industria y Comercio con el fin de **SOLICITAR SE PROCEDA A LA REALIZACIÓN DEL EXAMEN DE PATENTABILIDAD** correspondiente a la solicitud de patente de invención que se tramita bajo el expediente No. 08 105992 y cuyo objeto se denomina "**COMPOSICIONES QUE COMPRENDEN CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS HUMANAS Y SUS DERIVADOS MÉTODOS DE USO Y MÉTODOS DE PREPARACIÓN**", la cual fue publicada en la Gaceta de la Propiedad Industrial No. 613 del 19 de febrero de 2010.

De conformidad con la Resolución No. 69699 del 30 de diciembre de 2009 de la Superintendencia de Industria y Comercio, adjunto a la presente solicitud los Recibos Oficiales de Pago Nros. 10- 4,079 del 18 de enero de 2010, 10- 8,291 del 3 de febrero de 2010, 10- 22,562 del 24 de marzo de 2010, 10- 22,563 del 24 de marzo de 2010, 10- 22,564 del 24 de marzo de 2010, por valor de **CUATROCIENTOS SETENTA Y CUATRO MIL PESOS ($474.000) M/CTE.**

PRIETO & CARRIZOSA
ABOGADOS

De la señora Jefe de la División de Nuevas Creaciones,

MAURICIO PATIÑO BONNET

C.C. 11.342.699 de Zipaquirá

T.P. 73583 del C.S. de la J.

N/Ref: 63365

DME: 401255

Moller > CO
Ref: 63365
Examen de patentabilidad
$ 470.000=

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 4,079
FECHA : ENERO 18 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 08-105992- -00003-0000
Fecha: 2010-04-22 15:58:39 Dep: 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 538 PETICION Folios: 7

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
PRIETO & CARRIZOSA S.A	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	326217371	18/01/2010	37,275.000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	*** N.CREACIN - INSCRIPCION AFECTACIO	280,000.00
		TOTAL : $	280,000.00

SON: DOSCIENTOS OCHENTA MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE NO. _____

Hoeller & Co
Ref: 63365
Examen de patentabilidad

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 8,291
FECHA : FEBRERO 3 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 08-105992- -00003-0000
Fecha: 2010-04-22 15:58:39 Dep: 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 538 PETICION Folios: 7

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
PRIETO & CARRIZOSA S.A	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	21037564	03/02/2010	19,617,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO		TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	83	INVOCACION DE UNA PRIORIDAD EN SI	155,000.00
			TOTAL : $	155,000.00

SON: CIENTO CINCUENTA Y CINCO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

Whitoff 5

Ref: 63365
Examen de patentabilidad

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 22,562
FECHA : MARZO 24 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 08-105992- -00003-0000
Fecha: 2010-04-22 15:58:39 Dep: 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 538 PETICION Folios: 7

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
PRIETO & CARRIZOSA S.A	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	326939410	24/03/2010	26,219,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO		TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	21	CERTIFICACIONES	13,000.00
			TOTAL : $	13,000.00

SON: TRECE MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

C

Hoeller & CO
Ref: 63365
Examen de patentabilidad

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 22,563
FECHA : MARZO 24 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 08-105992- -00003-0000
Fecha: 2010-04-22 15:58:39 Dep: 2020 DIR.NUEVASCR
Tra: 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act: 538 PETICION Folios: 7

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
PRIETO & CARRIZOSA S.A	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	326939410	24/03/2010	26,219,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	21 CERTIFICACIONES	13,000.00
		TOTAL : $	13,000.00

SON: TRECE MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

7

Hoeller + CO
Ref: 63365
Exam de patentabilidad.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 22,564
FECHA : MARZO 24 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 08-105992- -00003-0000
Fecha: 2010-04-22 15:58:39 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 538 PETICION Folios: 7

C O N S I G N A C I O N

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
PRIETO & CARRIZOSA S.A	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	326939410	24/03/2010	26,219,000.00

C O N C E P T O

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	21 CERTIFICACIONES	13,000.00
		TOTAL : $	13,000.00

SON: TRECE MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____