

REIVINDICACIONES

Habiendo descrito suficiente mi invención, considero como una novedad y por lo tanto reclamo como de mi exclusiva propiedad, lo contenido en las siguientes cláusulas:

1. Un proceso de obtención de un compuesto de aspersión celular de fibroblastos y queratinocitos caracterizado porque se comprende de las siguientes etapas:

- a) Separación de la dermis y epidermis,
- b) incubación e la capa de epidermis,
- c) disgregación de la capa de dermis y proliferación de fibroblastos,
- d) disgregación de la capa de epidermis,
- e) proliferación de los queratinocitos en suspensión,
- f) preparación de la solución del agente reticulatne de reacción de la solución de aspersión celular, y
- g) preparación de la solución de aspersión celular.

2. El proceso de obtención de un compuesto de aspersión celular de fibroblastos y queratinocitos humanos, de conformidad con la reivindicación 1 , caracterizado porque en la etapa a) se obtiene una muestra de piel de un paciente en condiciones estériles por medio de un dermatoma para obtener una lámina de piel; posteriormente, se lava la muestra de piel al menos 3 veces con una solución salina de fosfatos (PBS) 1X conteniendo 10% v/v de antibiótico/antimicótico; después, lava al menos 3 veces con una solución de PBS 1X conteniendo 1% v/v de antibiótico/antimicótico; después del lavado de la muestra de piel, se incuba con una enzima proteólica de disgregación celular, a una concentración de 1.79 unidades/mg en condiciones de temperatura de 4°C por al menos 16 horas para obtener una capa de epidermis y una capa de dermis; al cabo de las 16 horas, separar las dos capas mediante el uso de pinzas estériles y se colocar dichas capas en contenedores estériles e independientes.

3. El proceso de obtención de un compuesto de aspersión celular de fibroblastos y queratinocitos humanos, de conformidad con la

reivindicación 2, caracterizado porque la lámina de piel es preferentemente de 0.015 pulgadas.

4. El proceso de obtención de un compuesto de aspersión celular de fibroblastos y queratinocitos humanos, de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque la solución antibiótico/antimicótico es preferentemente estreptomycin/penicilina.

5. El proceso de obtención de un compuesto de aspersión celular de fibroblastos y queratinocitos humanos, de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque la enzima es preferentemente dispasa.

6. El proceso de obtención de un compuesto de aspersión celular de fibroblastos y queratinocitos humanos, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque en la etapa b), se separa y se lava la capa de epidermis en un contenedor independiente al menos 3 veces con la solución PBS 1X y se incuba dicha capa de epidermis en una solución de tripsina a una concentración de 0.025% de tripsina en un volumen final de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) por 20 minutos a una temperatura de 37 °C para obtener una epidermis tripsinizada.

7. El proceso de obtención de un compuesto de aspersión celular de fibroblastos y queratinocitos humanos, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque en la etapa c), se coloca la capa de dermis en un contenedor y se disgrega mecánicamente con una herramienta pulso cortante en condiciones estériles para obtener pedazos de dermis como máximo de 1mm x 1mm, y se incuba por un periodo de al menos 10 minutos, se agrega cuidadosamente 33.33% del volumen del contenedor de un medio de cultivo celular para fibroblastos por las paredes del contenedor y se evita mover los fragmentos de la dermis y se incuba a 37 °C, 95% de humedad relativa, 5% CO₂ y 20% O₂ por un periodo de para obtener fibroblastos en monocapa.

8. El proceso de obtención de un compuesto de aspersión celular de fibroblastos y queratinocitos humanos, de conformidad con la

reivindicación 1, caracterizado porque en la etapa d), se neutraliza la epidermis tripsinizada con 50% de un medio de cultivo de queratinocitos humanos conteniendo Suero bovino fetal al 10% y agitar vigorosamente por al menos 30 segundos para obtener una solución celular, posteriormente, se filtra la solución celular por un filtro de nitrocelulosa con un tamaño de poro de 40pm para obtener los queratinocitos humanos en suspensión en el producto filtrado.

9. El proceso de obtención de un compuesto de aspersión celular de fibroblastos y queratinocitos humanos, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque en la etapa e), se siembra la suspensión de queratinocitos en monocapa en condiciones asépticas en un contenedor con un medio de cultivo celular e incubar a 37 °C, 95% de humedad relativa, 5% CO₂ y 20% O₂ por un periodo de 2 a 4 semanas bajo condiciones asépticas, y se cambia el medio de cultivo celular cada segundo o tercer día hasta llegar a una confluencia del 100% para queratinocitos para obtener mayor cantidad de queratinocitos en monocapa.

10. El proceso de obtención de un compuesto de aspersión celular de fibroblastos y queratinocitos humanos, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque en la etapa f), se genera en condiciones asépticas 15ml de trombina bovina de pulmón al 27% v/v a una concentración de U/ml en cloruro de sodio al 0.9% v/v y cargar 15ml del agente reticulante de reacción en una jeringa de 15 cc para obtener el agente reticulante de reacción de la solución de aspersión celular.

11. El proceso de obtención de un compuesto de aspersión celular de fibroblastos y queratinocitos humanos, de conformidad con la reivindicación I, caracterizado porque en la etapa g), se centrifuga a 400 g por 5 minutos una 50 cc de sangre periférica autóloga para obtener 15 % v/v de suero acelular plasmático y se resuspende con 10 x 10⁶ fibroblastos en monocapa y 10 x 10⁶ queratinocitos en monocapa y se carga 15ml de la solución de aspersión celular en una jeringa de 15 cc y mezclar dicho compuesto de aspersión celular con la solución de aspersión celular con la implementación de un aspersor fibrijet para

obtener un compuesto de aspersión celular de fibroblastos y queratinocitos humanos.

12. El proceso de obtención de un compuesto de aspersión celular de fibroblastos y queratinocitos humanos, de conformidad con la reivindicación I I, caracterizado porque la sangre periférica autóloga es preferentemente plaquetas humanas o crio preservado de plaquetas.

13. El proceso de obtención de un compuesto de aspersión celular de fibroblastos y queratinocitos humanos, de conformidad con la reivindicación de la 1 a la 12 como agente regenerativo de lesiones cutáneas.