

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intelectual
Oficina internacional



(10) Número de Publicación Internacional
WO 2010/056099 A1

(43) Fecha de publicación internacional
20 de mayo de 2010 (20.05.2010)

PCT

(51) Clasificación Internacional de Patentes:

A61K 35/12 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
C12N 5/071 (2010.01)

(21) Número de la solicitud internacional:

PCT/MX2009/000121

(22) Fecha de presentación internacional:

11 de noviembre de 2009 (11.11.2009)

(25) Idioma de presentación:

español

(26) Idioma de publicación:

español

(30) Datos relativos a la prioridad:

MX/a/2008/014536

13 de noviembre de 2008 (13.11.2008)

MX

(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo US): **SOCIEDAD INTERNACIONAL PARA LA TERAPIA CELULAR CON CELULAS MADRE, MEDICINA REGENERATIVA Y EL ANTIENVEJECIMIENTO, S.C.** [MX/MX]; Prol. Nicolás Bravo No. 47, Col. Lomas del Huizachal, C.P. 53840 Naucalpán de Juárez, Estado de México (MX).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): **GONZÁLEZ LÓPEZ, Gerardo Martín** [MX/MX]; Prol. Nicolás Bravo No. 47, Col. Lomas del Huizachal,

C.P. 53840 Naucalpán de Juárez, Estado de México (MX). **SÁNCHEZ GONZÁLEZ, Dolores Javier** [MX/MX]; Prol. Nicolás Bravo No. 47, Col. Lomas del Huizachal, C.P. 53840 Naucalpán de Juárez, Estado de México (MX). **SOSA LUNA, Carlos Armando** [MX/MX]; Prol. Nicolás Bravo No. 47, Col. Lomas del Huizachal, C.P. 53840 Naucalpán de Juárez, Estado de México (MX).

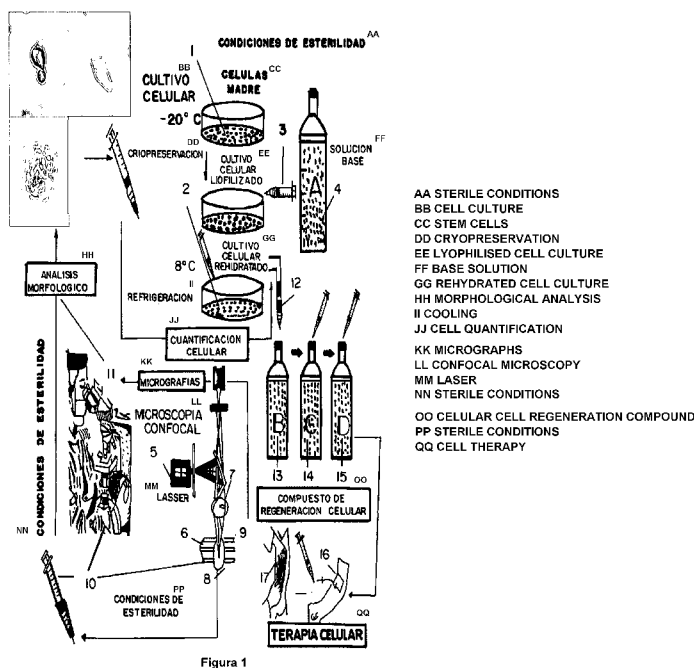
(74) Mandatario: **MARTINEZ HERNANDEZ, Patricia**; Prol. Nicolás Bravo No. 47, Col. Lomas del Huizachal, C.P. 53840 Naucalpán de Juárez, Estado de México (MX).

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, 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, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: CELL REGENERATION COMPOUND

(54) Título : COMPUESTO DE REGENERACIÓN CELULAR



de regeneración celular no existente

(57) Abstract: The present invention relates to a cell regeneration compound permitting intravenous, intramuscular and local administration of stem cells for therapeutic purposes in chronic degenerative diseases, wherein are included chronic renal insufficiency and diabetes mellitus. The object of this invention is to provide a cell regeneration compound which does not exist in the market permitting the application of stem cells in the form of cell therapy, avoiding HLA gene typification studies, surgical interventions and interventional radiology employed in implantation or transplantation of stem cells. The formula of the cell regeneration compound permits the application of stem cells, without genetic modification whatsoever, cryopreserved or lyophilised in flasks or boxes of cultured cell lines, subsequent to gradual thawing from -20°C to 8°C, being rehydrated in the base solution of the cell regeneration compound (CRC).

(57) Resumen: Esta invención se refiere a un compuesto de regeneración celular que permite la administración intravenosa, intramuscular y local de células madre con fines terapéuticos en padecimientos crónicos degenerativos en los que se incluye la Insuficiencia Renal Crónica y la Diabetes Mellitus. El objeto de esta invención es proporcionar un compuesto

[Continúa en la página siguiente]

**(84) Estados designados** *(a menos que se indique otra cosa,**para toda clase de protección regional admisible):*

ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

- *con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))*
- *antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se reciben modificaciones (Regla 48.2(h))*

en el mercado, que permite aplicar células madre en forma de terapia celular, evitándose estudios de genotipificación de HLA, e intervenciones quirúrgicas y de radiología intervencionista que se emplean en el implante o trasplante de células madre. La fórmula del compuesto de regeneración celular que permite aplicar de células madre sin modificación genética alguna, las cuales se encuentran criopreservadas o liofilizadas en frascos o cajas de líneas celulares en cultivo, después de descongelarlas gradualmente de -20° C a 8° C, son prehidratadas en la solución base del Compuesto de Regeneración Celular (CRC).

COMPUESTO DE REGENERACIÓN CELULAR ANTECEDENTES DE LA INVENCION

5 Las células madre conocidas en inglés como *stem cells*, también se les conoce como "células troncales", "células tronco", "células precursoras", "células progenitoras" y "células estaminales".

La célula madre es la precursora de aproximadamente 250 estirpes de células diferenciadas y sus
10 estadios de diferenciación parcial que van perdiendo la capacidad pluripotencial de la célula madre original y se van comprometiendo con un determinado linaje celular para formar células
15 especializadas específicas, como son las neuronas, las células beta pancreáticas, los cardiomiocitos, entre otras muchas más.

Las células madre se caracterizan por que pueden dividirse simultáneamente para mantener una
20 autorenovación celular; es decir una producción sostenida de células madre semejantes a ella.

Así como la transdiferenciación y tropismo que permite generar células hijas comprometidas hacia
25 una estirpe celular específica, además de que tienen la capacidad de migrar al sitio de lesión o daño en el que ocurre la diferenciación celular, después de que ocurra la implantación, observándose la regeneración celular en los tejidos sanos y enfermos (Sánchez-González DJ,
30 Trejo-Bahena NI. *Biología Celular y Molecular*. Editorial Alfil; México Distrito Federal, 2006). Estas características hacen ver a la inyección de células madre como una terapéutica potencial, útil para
35 llevar acabo la regeneración celular en enfermos. (González-López GM, Sánchez-González DJ y Sosa-Luna CA. *Terapia Celular con Células Madre y Medicina Regenerativa*. México 2008; Editorial Alfil).

40 Thomson y colaboradores (U.S. Pat. No. 5, 843,780; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:7844, 1995) fueron los primeros en aislar y propagar células madre de primates. En forma subsiguiente
45 derivaron la primera línea celular de células madre humana a partir de los blastocistos. Gearhart y

2

5 colaboradores derivaron células madre germinales a partir de tejidos fetales de origen gonadal (*Shamblott et.al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:13726, 1998; and U.S. Pat. No. 6,090,622*).

10 Tanto las células madre derivadas de blastocistos como las que se obtienen de tejidos gonadales, tienen características que las definen como *células madre pluripotenciales*, es decir; pueden ser cultivadas durante largos periodos de tiempo sin que estas entren en diferenciación, 15 manteniendo un morfología con cariotipo normal y son capaces diferenciarse un importante número de células especializadas.

20 El problema más importante para utilizar células madre pluripotentes en protocolos de terapia celular es que estas células madre son cultivadas tradicionalmente sobre una cama de células (*feeder cells*) que previenen la diferenciación (*U.S. Pat. No. 5, 843,780; U.S. Pat. No. 6, 090,622*).

25 De acuerdo a los experimentos de Thomson y colaboradores (*Science 282:114, 1998*), Cuando las células madre son cultivadas sin su cama de células (*feeder cells*), las células madre mueren y comienzan a diferenciarse en forma desordenada. En la patente Internacional publicada por 30 Geron Corp. (*WO 99/20741*), titulada: "*Métodos y materiales para el crecimiento de células madre derivadas de células primordiales de primate*"; se refiere a un medio de cultivo celular para hacer 35 crecer células madre de primates y que permanezcan en un estado de indiferenciación bajo condiciones de presión osmótica baja y bajo nivel de endotoxinas. Este medio de cultivo celular puede combinar suero para soportar las células madre y la cama de células, el medio de cultivo 40 celular además incluye aminoácidos no-esenciales, antioxidantes, factores de crecimiento nucleótidos y sales de piruvato. Otra patente Internacional publicada por Geron Corp. (*WO 4501/51616*) titulada: "*Técnicas de crecimiento y diferenciación de células madre humanas pluripotentes*" Y el artículo de Xu y colaboradores (*Nature Biotechnology 19:971, 2001*) titulado: "*Crecimiento de células madre indiferenciadas, sin cama de células (feeder cells)*". El artículo de 50 Lebkowski y colaboradores (*Cancer J. 7 Suppl. 2:S83, 2001*) titulado: "*Células madre*

3

5 embrionarias humanas: cultivo, diferenciación, y modificación genética para aplicaciones de
medicina regenerativa". Estas publicaciones reportan ejemplos de estado del arte de la técnica y
siempre se tratan de medios y métodos de cultivo celular para propagar células madre y
10 mantenerlas en un estado de indiferenciación. Sin embargo, no existe ningún "Compuesto de
Regeneración Celular" que permita inyectar células madre en forma de terapia celular a seres
15 humanos. Ni existe algún producto farmacéutico similar que pueda actuar como "Compuesto de
Regeneración Celular", que haya tenido éxito en revertir la progresión de enfermedades crónicas
degenerativas, como la Insuficiencia Renal Crónica inducida por la Diabetes Mellitus u otras
20 patologías (Chirino YI, Sánchez-González DJ et. al. *Protective effects of apocynin against
cisplatin-induced oxidative stress and nephrotoxicity. Toxicology* 2008; 245: 18-23 y Razo-
25 Rodríguez AC, Chirino YI, Sánchez-González DJ et. al. *Garlic powder ameliorates cisplatin-
induced nephrotoxicity and oxidative stress. J Med Food* 2008; 11(3):582-586.).

Si bien las células madre se han aplicado en algunos protocolos clínicos de investigación en
30 Medicina en fase I a III (Traynor A. et. al. "Treatment of severe systemic lupus erythematosus with
high-dose chemotherapy and haematopoietic stem-cell transplantation: a phase I" publicados en
35 Agosto del 2000 en la revista *The Lancet*. Vol. 356. Andrew P. et. al., "The Adult Blood and
Marrow Stem Cell Transplant Service" Hackensack. *Bone Marrow Transplantation*, Abril del 2000,
Sykes M. et. al. "Treatment of severe autoimmune disease by stem-cell transplantation" *Nature*
40 No. 2; Vol. 435 (7042), pp. 620-7. June 2005, Shablott MJ et. al. "Cell therapies for type 1
diabetes mellitus". *Expert Opin Biol Ther* 2004 Mar; Vol. 4 (3), pp. 269-77); en todos estos
45 protocolos las células madre son cultivadas y en ocasiones expandidas con los métodos y
medios de cultivo descritos previamente en los antecedentes de la presente invención, y las
células madre se administran en masa o como bolos mediante procedimientos conocidos como
50 trasplante de médula ósea, de forma muy similar a las convencionales transfusiones sanguíneas,

4

5 o bien se aplican inyecciones de células madre purificadas, en las que se incluyen procedimientos quirúrgicos altamente especializados, en los que se pueden integrar procedimientos de radiología intervencionista, los cuales además requiere de la erogación de
10 gasto de honorarios médicos, los de hospitalización, anestesia, estudios de laboratorio clínico y gabinete. Orlic y colaboradores inyectaron en la zona periférica del infarto agudo al miocardio, 15 células madre, estas células se diferenciaron en estructuras del corazón, mejorando la función del corazón infartado.

La reparación cardíaca producida por las células madre redujo la mortalidad en un 68% y el
20 tamaño del infarto en un 40%. (Orlic D. et. al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001; 98(18):10344-10349) Otros trabajos relacionados con la células madre están contribuyendo a establecer
25 que cuanto más altos sean los niveles de células madre en circulación, mayor es la habilidad del cuerpo para regenerarse y estar por más tiempo sano (Werner et.al. *N Engl J Med.* 2005; 8; 353 (10):999-1007).

30 Este tipo de invenciones e investigaciones están cambiando el paradigma en la historia de la humanidad en la que se pensó que era imposible reparar el daño causado una vez que se ha
35 establecido la muerte o daño celular en un órgano vital como es el caso de los infartos al corazón.

Otras investigaciones complementarias son las de Bozlar M et. al. (2005) *Saudi Med J.* 26(8):1250-4. Kong D, et. al. (2004) *Circulation.* 110(14):2039-46. Eroglu E, et al. Agalar F,
40 Altuntas I, Eroglu F. (2004) *Tohoku J Exp Med.* 204(1):11-6. Tomoda H, Aoki N. et.al. *Clin Cardiol.* 2003 Oct; 26(10):455-7. Krause DS et. al. *Cell* 105:369-77. Eglitis M. et. al. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 45 USA Vol. 40 94, pp. 4080-4085. Camargo FD, et. al. *Nature* 2003 9(12):1520-27; y el de Ianus A, et. al. *J. Clin. Invest.* (2003) 111:843-850. Secretaría de Salud. *Manual de Procedimientos Operativos de la Unidad de Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos, del Instituto Nacional*
50 *de Pediatría* (2008).

5

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

5 Como se puede constatar en el estado de la técnica, hasta el momento de la presente invención, la aplicación terapéutica de células madre en inyecciones o transfusiones no incluye un "Compuesto de Regeneración Celular", ya que la terapia celular con células madre se ha
10 realizado en forma directa y empleando células frescas de médula ósea, cordón umbilical o líneas celulares de células madre pluripotenciales cultivadas y purificadas, las cuales son implantadas
15 en el sitio de daño o a través de trasplantes de médula ósea (similares a la transfusión sanguínea), procedimientos terapéuticos que incluyen necesariamente la gen tipificación del haplotipo HLA del donador y receptor del trasplante, procedimientos que elevan el costo, que
20 igualmente se ve incrementado por la mano de obra altamente especializada, como de cirujanos subespecialistas, como son los neurocirujanos y los cirujanos cardiovasculares, que están
25 capacitados para llevar las células madre en grandes cantidades a los sitios anatómicos específicos donde se requieren, a través de avanzados procedimientos quirúrgicos (Sánchez-González DJ, Trejo-Bahena NI. *Practicas de Histología*. Editorial Alfil; México Distrito Federal,
30 2007). Con la finalidad de suprimir estos y otros inconvenientes, se pensó en el desarrollo de la presente invención "Compuesto de Regeneración Celular" (CRC), que se pretende proteger por
35 medio de la presente solicitud, pues se trata de un compuesto integrado por cuatro frascos con soluciones base ("A", "B", "C" y "D") en las cuales se suspenden elementos celulares (células madre en estado de criopreservación a una temperatura de menos ciento noventa y seis grados
40 centígrados (-196° C) y el polvo derivado de la misma cantidad de células deshidratadas por liofilización) para diversas aplicaciones terapéuticas en Terapia Celular, Medicina Regenerativa y
45 Antienvejecimiento. Los detalles característicos de nuestra invención titulada "Compuesto de Regeneración Celular" (CRC), se muestran claramente en la siguiente descripción y en las 3
figuras que le acompañan. La figura 1 muestra un esquema de la invención, la figura 2 se refiere a
50

6

5 los resultados obtenidos después de aplicar "*Compuesto de Regeneración Celular*" (CRC), en
animales de experimentación ratas Wistar con Diabetes Mellitus inducida previamente con
estreptozotocina, en donde se aprecia el aumento de la función renal medida por la depuración de
10 creatinina (ml/min) y el análisis morfológico de los cortes histológicos de los glomérulos. La figura
3 se refiere a los resultados obtenidos clínicamente en nuestro grupo de pacientes con
15 insuficiencia renal crónica en donde se aprecia claramente el incremento estadísticamente
significativo de la función renal medida por la depuración de creatinina (ml/min), existiendo
consistencia entre los resultados en animales como en pacientes humanos hecho inédito que no
20 ha sido publicado hasta la presente solicitud de patente, todos ellos son ejemplos que demuestran
la efectividad del "*Compuesto de Regeneración Celular*" (CRC) descrito en la presente solicitud de
25 patente de invención.

La descripción de la de la página 1/2, la figura 1, se refiere a la forma en que se debe preparar el
CRC, así mismo se indica las cantidades, condiciones y elementos que se requieren para producir
30 el CRC ("*Compuesto de regeneración Celular*"): En el No. 1; se refiere a una caja de cultivo
celular con una línea purificada de células madre pluripotenciales criopreservadas -198 °C, las
35 cuales se descongelan gradualmente aumentando la temperatura a una velocidad de 2 grados
centígrados por minuto ($\Delta 2^{\circ}\text{C}/\text{min.}$) hasta alcanzar la
temperatura de menos veinte grados centígrados (-20 °C).

40 En el No 2 de la figura 1; muestra la segunda opción de la fuente de células madre las cuales se
encuentran en polvo en un estado de deshidratación total obtenido por un proceso de liofilización
45 convencional.

En el No 3 de la figura 1; se muestra que ambas fuentes de células madre deben ser hidratadas
con la solución "A" la cual se debe encontrar a una temperatura de 8 °C.
50

7

5 En el No 4 de la figura 1, de la página 1/2 se encuentra la base del "Compuesto de Regeneración Celular" (CRC) que es la solución "A", esta se prepara en condiciones de esterilidad y en un ambiente controlado a una temperatura de refrigeración menor a dieciséis grados centígrados (16
10 °C) y mayor a cuatro grados centígrados (4 °C). La solución base "A" del "CRC", se prepara con un litro de de agua bidestilada en una botella de vidrio o de plástico con tapón de goma la cual se
15 somete a un proceso tradicional de esterilización como el de la autoclave, en la que previamente se disolvió cloruro de sodio (NaCl), lactato de sodio ($\text{NaC}_3\text{H}_5\text{O}_3$), cloruro de calcio (CaCl_2) y cloruro de potasio (KCl) para alcanzar la siguiente proporción iónica: $\text{Na}^+ = 130 \text{ mEq}$, $\text{Cl}^- = 109$
20 mEq , Lactato = 28 mEq , $\text{Ca}^{2+} = 3 \text{ mEq}$ y $\text{K}^+ = 4 \text{ mEq}$; esta solución debe alcanzar una osmolaridad de 273 mOsm/L , y no debe rebasar los 300 mOsm/L la cual es verificada empleando
25 un osmómetro convencional. Después de esterilizar esta solución por cualquier método convencional de esterilización, se le agregan una solución estéril con 55 mg de cloruro de zinc, 16.9 mg de sulfato cúprico pentahidratado, 38.1 mg de sulfato de magnesio, 1.3 mg de yoduro de
30 sodio, 14 mg de fluoruro de sodio, 163.9 mg de cloruro de sodio, 10 mg de tiamina, 250 mg de piridoxina, 1000 mg de ácido ascórbico, 1.0 mg de activina, 0.2 mg de factor estimulador de
35 células pluripotenciales (C-kit), 0.6 mg de derivado procaínico G1, 0.4 mg de derivado procaínico G2, y 0.4 mg de derivado procaínico G3.

En el No 5 la células madre prehidratadas en la solución base "A" son evaluadas en el
40 microscopio confocal que emplea una fuente de luz láser (láser), la cual permite realizar diversas imágenes transversales de la células madre (No 6) (Ordóñez RM, Espinosa AM, Sánchez-
45 González DJ et. al. *Enhanced oncogenicity of Asian-American human papillomavirus 16 is associated with impaired E2 repression of E6/E7 oncogene transcription. J Gen Virol* 2004; 85:
1433-1444), las cuales son reflejadas y enfocadas por las lentes ópticas (No. 7) emitidas por la
50 células en suspensión con la solución base "A" (No. 8) obteniendo diversas imágenes

8

5 microscópicas (No. 9) (Floriano-Sánchez E, Villanueva C, Medina-Campos ON, Rocha D, Sánchez-González DJ et. al. *Nordihydroguaiaretic acid is a potent in vitro scavenger of peroxynitrite, singlet oxygen, hydroxyl radical, superoxide anion, and hypochlorous acid and prevents in vivo ozone-induced tyrosine nitration in lungs. Free Radic Res* 2006; 40 (5): 523-533).

10 Las células madre con morfología saludable son tomadas en una jeringa estéril (No. 10).

15 En el No 11 de la figura 1; se refiere al estudio morfológico minucioso que descarte alteraciones de la membrana, infección, alteraciones genéticas.

20 En el No. 12 de la figura 1; se refiere a la cuantificación del numero de células por mililitro de solución base por diversos métodos de microscopia confocal o FACs en este se suspenden aproximadamente 1000, 000,000 células madre en 500 ml de la solución base "A" del CRC anteriormente ya descrita.

En el No 13 de la figura 1; se refiere a la segunda solución base "B" del CRC; útil para inducir regeneración celular por condrogénesis, hematopoyesis y osteogénesis. La cual se prepara de la siguiente forma: 500 ml de solución base "A" del CRC con una concentración de 2000,000 elementos celulares (células madre) cuantificadas y verificadas previamente por análisis morfológico en microscopia confocal, a este volumen (500 ml) se le agrega además: L-cisteína 1.0 mg, 0.5 µg de interleucina 7 (IL-7), 0.5 µg de interleucina 3 (IL-3), 0.1 mg de Factor de crecimiento mesodérmico A1 (FGM), 0.1 mg de factor estimulador de colonias de monocitos (M-CSF), y 0.1 mg de factor estimulador de colonias de granulocitos (GM-CSF); todos adicionados y mezclados en forma controlada en condiciones estériles almacenados a ocho grados centígrados (8° C) por 45 no más de una semana, o a menos cuatro grados centígrados (-4° C) por no más de cinco semanas o a menos veinte grados centígrados (-20 °C) por no mas de veinticuatro semanas.

50 En el No 14 de la figura 1; se refiere a la tercer solución base "C" del CRC; útil para inducir regeneración celular por angiogénesis y vasculogénesis. La cual se prepara de la siguiente forma,

5 500 ml de solución base "B" del CRC anteriormente preparada a la que se le adiciona lo siguiente:
a la que se le agrega 0.3 mg de factor de transformación de crecimiento beta (TGF-B) y 0.2 mg de
factor de crecimiento endodérmico K2 (FGE); todos adicionados y mezclados en forma controlada
10 en condiciones estériles almacenados a ocho grados centígrados (8° C) por no más de una
semana, o a menos cuatro grados centígrados (-4° C) por no más de cinco semanas o a menos
15 veinte grados centígrados (-20 °C) por no mas de veinticuatro semanas. En el No 15 de la figura
1/3 se refiere a la cuarta solución base "D" del CRC; útil para inducir regeneración celular por
neurogénesis, angiogénesis y vasculogénesis. La cual se prepara de la siguiente manera, 500 ml
20 de solución base "C" del CRC anteriormente descrita a la que se le adiciona lo siguiente: 100 mg
de de retinol, 0.5 mg factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y 0.2 mg de factor de crecimiento
25 neurológico (FGFN). Finalmente el "Compuesto de Regeneración Celular" CRC para aplicación en
Terapia Celular, Medicina Regenerativa y Antienvjecimiento se integra por las cuatro soluciones
base ("A","B","C" y "D"), formando una composición líquida integrada por una concentración de 2 x
30 10⁹ células madre hidratadas, previamente analizadas y cuantificadas por microscopia confocal,
las cual se prepara adicionados diversas sustancias en las concentraciones y condiciones ya
35 antes descritas (oligometales, activita y factores de crecimiento de fibroblastos).

La fórmula y el procedimiento para preparar el "CRC" permite aplicar células madre
pluripotenciales sin modificación genética alguna, las cuales se encuentran criopreservadas o
40 liofilizadas en frascos o cajas de líneas celulares en cultivo, después de descongelarlas
gradualmente de -20 °C a 8° C, son prehidratadas en la solución base del compuesto de
45 regeneración celular (solución base "A") el cual es la solución base para preparar el compuesto de
regeneración celular (frascos "B", "C" y "D").

El "CRC" (en sus soluciones base "B", "C" y "D") sirven de compuestos inductores de las células
50 madre en los protocolos de terapia celular, favoreciendo su capacidad regenerativa y de

5 antienviejecimiento. La aplicación del procedimiento para preparar el compuesto de regeneración celular (frascos "A", "B", "C" y "D") incluye condiciones de esterilidad, análisis morfológico y la cuantificación de células madre.

10

La aplicación de este "CRC" en terapia celular No 16 y No 17 figura 1/3 (frascos "A", "B", "C" y "D") permite que la terapia celular con células madre, se muy segura y no requiere de estudios de gen
15 tipificación para haplotipos HLA por que tanto la base El compuesto de regeneración celular (frascos "A", "B", "C" y "D") sirve de vehículo para transportar las células madre en los protocolos de terapia celular, medicina regenerativa y antienviejecimiento útil para diversos padecimientos
20 crónico degenerativos, que requieren de una regeneración celular como: la Insuficiencia Renal Crónica; las Diabetes Mellitus, las artrosis, la Enfermedad de Parkinson, el Vitiligo, etc. Para lo cual se requieren aplicar un mínimo de 5 aplicación intravenosa cada 7 días de 6 ml del compuesto de regeneración celular empleando "2 ml de frasco "B", 2 ml de frasco "C" y 2 ml del frasco "D" además de aplicar un volumen de 1.0 ml intramuscularmente en la región deltoidea del
30 compuesto "B" y de ser necesario 3 ml más del compuesto de regeneración celular, empleando un volumen de 1 ml del frasco "B", 1 ml del frasco "C" y 1 ml del frasco "D" este volumen se aplica
35 localmente en el sitio que se pretende regenerar.

Finalmente el "Compuesto de Regeneración Celular" CRC queda preparado como un compuesto en estado líquido de color transparente con diversas tonalidades de color rojizo, para aplicación
40 en forma de inyecciones lo hace útil en Terapia Celular, Medicina Regenerativa y Antienviejecimiento que se integra por las cuatro soluciones base ("A", "B", "C" y "D"), descritas
45 ampliamente en la descripción de la invención. El "CRC" forma una composición líquida integrada por una concentración de 2×10^9 células madre pluripotenciales, previamente analizadas y cuantificadas por microscopia confocal, las cual se prepara adicionados diversas sustancias en las
50 concentraciones y condiciones ya antes descritas (oligometales, activina, factores de crecimiento

11

5 de fibroblastos (FGF), Factor de Transformación Beta (TGF- β), ácido ascórbico, tiamina, riboflavina, Factor de Crecimiento Neurológico, retinol, derivado procaínico G1, derivado procaínico G2, derivado procaínico G3, L-Cisteína, Factor de Crecimiento Mesodérmico A1
10 (FGM), Factor de crecimiento endodérmico K2 (FGE), Factor estimulador de células pluripotenciales (cKit), Interleucina 7 (IL-7), interleucina 3 (IL-3), Factor Estimulador de Colonias
15 de Monocitos (M-CSF) y Factor Estimulador de Colonias de Granulocitos (GM-CSF)), la cual se extraen de frasco contenedor del "CRC" empleando siempre una jeringa con aguja estériles, aplicando procedimientos convencionales de asepsia y antisepsia (limpieza del tapón de goma
20 con torunda con alcohol del 96°), en forma inmediata un volumen de 5 a 6 ml "CRC" es aplicado por vía intravenosa, (vea la figura 1 No 16) y por vía intramuscular en el mismo paciente región
25 deltoidea (vea la figura 1 No 17), el "CRC" debe ser almacenado a temperatura de refrigeración a 4°C a 8° C, tiene un periodo de caducidad de 10 días y no debe emplearse después de una semana. En la figura 1 en los No. 16 y No 17, se refieren al protocolo que se debe seguir para
30 aplicar las inyecciones con el "CRC", una vez que se han preparación las cuatro soluciones base "A", "B", "C" y "D"; descritas con anterioridad.

35 El "CRC" puede aplicarse por diversas vías de administración paraenteral, a una dosis de 0.1 mililitros por kilogramo de peso, generalmente se emplea cinco aplicaciones por vía intravenosa con un volumen de 5 mililitros del compuesto de regeneración celular y cinco inyecciones por vía
40 intramuscular preferentemente en la región deltoidea (No 17); inyectando 0.5 mililitros del mismo compuesto cada 7 días, obteniéndose efectos de regeneración celular, para inducir: neurogénesis,
45 hematopoyesis, condrogénesis, osteogénesis, vasculogénesis y angiogénesis que pueden ser valorados en la piel, pruebas de función renal, así como la desaparición de síntomas neurológicos, inflamación y dolor articular que se presentan por el envejecimiento biológico y por el desarrollo
50 enfermedades crónico degenerativas. Este ciclo de diez inyecciones del compuesto puede

12

5 emplearse en dos a tres ocasiones hasta completar treinta inyecciones en un periodo de cuatro meses.

La aplicación del CRC es la más segura, ya que la mayoría de nuestros pacientes (más 700
10 pacientes con 10 aplicaciones del CRC cada uno) no han tenido que correr de riesgos quirúrgicos y no han requerido del apoyo de radiología intervencionista, y solamente en algunos casos se han
15 requerido de procedimientos que exigen quirófano, y de cirujanos subespecializados y anestesiólogos. Generalmente no se requiere de terapia intensiva, y después de tres años de aplicación no se han observado complicaciones, sin embargo, todos los pacientes mejoran en
20 forma suficientemente notoria apreciándose clínicamente, con signos y síntomas de regeneración celular. El "CRC" es en la actualidad la única opción real de regeneración celular para algunas
25 enfermedades incurables o que no cuentan con tratamiento actual. El "CRC" es una fuente de sustitución de células muertas, desvitalizadas y de regeneración celular en tejidos enfermos, prolongan y mejoran la calidad de vida en personas sanas o enfermas.

30 Las células madre circulantes liberadas por el "CRC" pueden incorporarse a órganos no dañados, y actuar como agentes antienvjecimiento, al aumentar el promedio de vida de las células del
35 órgano y de la persona en cuestión (Méndez-Bolaina E, Sanchez-Gonzalez DJ et. al. . Effect of caveolin-1 scaffolding peptide and 17β-estradiol on intracellular Ca²⁺ kinetics evoked by angiotensin II in human vascular smooth muscle cells. Am J Physiol Cell Physiol 2007; 293: C1953
40 - C1961).

El objeto de esta invención es proporcionar un compuesto de regeneración celular no existente en
45 el mercado, que permite aplicar células madre en forma de terapia celular, evitándose estudios de gen tipificación de HLA, e intervenciones quirúrgicas y de radiología intervencionista que se emplean en el implante o trasplante de células. El "CRC" actúa empleando el principio de
50 regeneración celular, que de forma natural ocurre en los tejidos del cuerpo. Si consideramos que a

13

5 lo largo de la vida los organismos sufren de un desgaste continuo, si no existiera la regeneración celular, la esperanza de vida de los seres vivos se reduciría en forma notable. Por otro lado, gran parte del amplio elenco de las enfermedades que afectan al ser humano, tienen su origen en la
10 degeneración y muerte de los diferentes tipos de células diferenciadas que conforman los tejidos y órganos de nuestro cuerpo, que se ven afectados en forma nociva de manera aguda como suele
15 ocurrir en un infarto agudo al miocardio o de manera crónica como en las enfermedades degenerativas y el envejecimiento biológico. Queda ampliamente descrito que la invención a que se refiere a la presente solicitud de patente de invención es un "*Compuesto de Regeneración*
20 *Celular*" (CRC) es que permite la administración intravenosa, intramuscular y local de células madre con fines terapéuticos en padecimientos crónicos degenerativos en los que se incluye la
25 insuficiencia renal crónica y la Diabetes Mellitus, Después de describir ampliamente su composición y forma de preparar el "Compuesto de Regeneración Celular" los inventores Gerardo Martín González-López, Dolores Javier Sánchez- González y Carlos Armando Sosa-Luna,
30 reclaman el "Compuesto de Regeneración Celular" (CRC) como su invención, declarando que a su real saber y entender han descrito en la forma más sencilla, la manera de llevarlo a cabo su
35 invención, además de incluir los resultados de sus investigaciones y hasta llegar al desarrollo del "CRC", los que constatan el funcionamiento de la presente invención al que han denominado "Compuesto de Regeneración Celular" "CRC" declarando que es la manera más segura de llevar
40 células madre pluripotenciales al organismo de los seres humanos, evitándose en la mayoría de las veces de hospitalización y estudios de laboratorio (p. e. genotipificación como los haplotipos
45 HLA).

FUNCIONAMIENTO DE LA INVENCION

Las enfermedades crónicas, degenerativas, el envejecimiento y las agresiones del medio
50 ambiente contaminado por la industrialización humana, aceleran considerablemente la reserva de

5 células madre de los seres vivos limitando la capacidad de regeneración celular intrínseca de los organismos (Trejo-Bahena NI, Pérez-Astudillo LH, Orjuela-Henry DJ, Balderas-Cornelio A, Salinas-Cano F, Martínez-Martínez CM, Sánchez-González DJ. Estudio comparativo para
10 determinar ácido hipúrico (HA) en orina mediante los métodos colorimétricos de Ogata y de Astudillo. Rev Sanid Milit Mex 2008; 62 (1): 35-41).

15 En diversas publicaciones científicas recientes señaladas anteriormente en los antecedentes de la presente solicitud de patente, se ha concluido que el número de células madre en la sangre es uno de los mejores indicadores para la salud en los seres humanos. Por lo tanto se requiere de un
20 Compuesto que permita introducir células madre sanas en la sangre, esto se logra en forma segura aplicando el "Compuesto de Regeneración Celular" CRC, ampliamente descrito en la
25 presente solicitud de invención.

El funcionamiento del "Compuesto de Regeneración Celular" (CRC) se explica debido a que incrementa la reservas de células madre incrementando la capacidad intrínseca de regeneración
30 celular en pacientes y personas sanas, obteniéndose una mejor estado de salud y calidad de vida en muchas maneras, de esto no hay duda ya que cada día aumentan el número de
35 investigaciones que comprueban que las células madre en circulación son el factor más importante en la salud de las personas, que permite la regeneración celular; cuanto mayor sea la cantidad de células madre en circulación, mayor será la habilidad del cuerpo para regenerarse.

40 El funcionamiento de nuestra invención denominada "Compuesto de Regeneración Celular" (CRC) trabaja induciendo la capacidad regenerativa de las células madre en una suspensión
45 líquida estéril que permite llevar en un volumen adecuado (6 a 0.5 ml) un número suficiente células madre (10,000,000 de elementos celulares) que permiten en forma segura y práctica elevar el número de células madre en la circulación sistémica o en forma local empleando
50 diversas vías de administración farmacológica, como son: la intravenosa, intramuscular y la local.

15

5 Al aplicar por vía intravenosa e intramuscular el "Compuesto de Regeneración Celular" (CRC),
permite la liberación inteligente de células madre pluripotenciales y moléculas bioactivas, las
cuales promueven la activación de los elementos necesarios para que se lleve acabo la
10 regeneración celular, lo que facilita su ingreso a la circulación hacia los tejidos dañados y acelera
la transdiferenciación es decir las células madre adquieren las características propias de las
15 células del tejido donde se implantan en forma más rápida. En el sitio de lesión se forman cambios
en el microambiente que atraen a las células madres liberadas y activadas por el "CRC" que se
encuentran circulantes. Las células madre circulantes del "CRC" pueden incorporarse a órganos
20 no dañados, actuando como agentes antienvjecimiento al proveer de moléculas bioactivas de
regeneración celular, que aumentan el promedio de vida de las células del órgano y de la persona
25 en cuestión.

El mejor ejemplo de que el "Compuesto de Regeneración Celular" (CRC) es un inductor de
hematopoyesis, vasculogénesis, angiogénesis, miogénesis y neurogénesis, es el efecto de
30 regeneración en la insuficiencia renal crónica, el cual se ejemplifica ampliamente en la presente
solicitud de patente, sin embargo, el "Compuesto de Regeneración Celular" (CRC), también es útil
35 para tratar diversas afecciones y enfermedades de índole crónica, degenerativa o por
envejecimiento celular biológico; obteniéndose buenos resultados en los pacientes en los que la
enfermedad o padecimiento es el resultado de la destrucción y/o disfunción de células
40 diferenciadas específicas, como por ejemplo: la enfermedad de Parkinson que es el resultado de
la destrucción o degeneración de las neuronas dopaminérgicas del cerebro (*González López GM*
45 *et. al. Neurol Neurocir Psiquiat 2007; 40 (3): 80-91*).

La Diabetes Mellitus que es el resultado de la destrucción o degeneración de las células B
pancreáticas y sus complicaciones vasculares, las cuales pueden ser tratadas con el CRC ya que
50 se induce una regeneración celular induciendo vasculogénesis, angiogénesis, neurogénesis y

16

5 miogénesis, que permite revertir la historia natural o evolución clínica de los pacientes con
insuficiencia renal crónica, con pérdida o disfunción de las células endoteliales, manifestándose
con hipertensión arterial, y nefropatía diabética; además de la vasculopatía periférica que se
10 presenta con insuficiencia venosa, arterial, úlceras e infecciones de difícil cicatrización en las
extremidades inferiores, padecimiento conocido como pie diabético. (Sosa Luna CA et. al. *Rev*
15 *Sanid Milit Mex* 2005 59(1):32-50 y *Rev Sanid Milit Mex* 2006 60(5):324-333), anemia falciforme,
talasemia, distrofia muscular, Demencia de Alzheimer, Epilepsia, Esquizofrenia, Enfermedad
Cerebro-vascular, (Sosa Luna CA et. al. *Rev Sanid Milit Mex* 1999; 53(2):123-128 y Sosa Luna CA
20 et. al. *Rev. Neurología, Neurocirugía y Psiquiatría* 2002; 35(4):183-202) lesión traumática de la
columna vertebral, degeneración de las células de Purkinje, isquemia cardíaca, insuficiencia
25 hepática, distrofia muscular de Duchenne, artrosis, osteogénesis imperfecta, Síndrome de de
Down, y como apoyo regeneración en los pacientes con cáncer que se encuentra recibiendo
esquemas de radioterapia y quimioterapia, etc. (Vásquez-Moctezuma I, Meraz-Ríos MA, Magaña
30 M, Villanueva-López GC, Sánchez-González DJ. Quimiorresistencia en el melanoma. Informe
preliminar. *Actas Dermatol Dermatopatol* 2006; 6: 8-10 y Torres-Salazar JJ, Sánchez-González DJ
35 et. al. Distribución y estado de maduración de células dendríticas y activación de linfocitos CD4⁺
en adenocarcinoma prostático. *Rev Mex Urol* 2007; 67: 140-146).

El "CRC" tiene un efecto de antienvjecimiento biológico, esto se explica ya que al pasar el tiempo
40 las células madre se vuelven más escasas, tal vez esta disminución sea la que condicione la
mayor vulnerabilidad de las personas ancianas. Si nosotros inyectamos el "CRC" en la circulación
45 de estos pacientes tendrán más capacidad de regeneración celular, ya que en la circulación se
incrementa el número de células madre activadas y liberadas por el "CRC" tienen la capacidad de
migrar a partir de la circulación a los órganos, aparatos y sistemas que se están envejeciendo. Las
50 células madre del "CRC" tienen la capacidad de transdiferenciarse en diferentes tipos de células

5 diferenciales como: las endoteliales y otras más que conforman los órganos y tejidos del cuerpo, observándose una regeneración celular de la piel, mayor hidratación, luminosidad, turgencias de la piel, así como el anciano percibe un estado de revitalización (recuperación de la energía) al
10 anciano (Tapia E, Sánchez-González DJ, et. al. *Treatment with pyrrolidine dithiocarbamate improves proteinuria, oxidative stress and glomerular hypertension in overload proteinuria. Am J*
15 *Physiol Renal Physiol* 2008 Aug 27).

En los cromosomas de personas que presentan envejecimiento biológico, se observan entrecruzamientos de ADN y con frecuencia se producen roturas de una sola cadena; disminuyen
20 las metilaciones del ADN y perdiéndose las secuencias teloméricas en dicho ácido nucleico. También al envejecimiento biológico se suma la agresión ambiental (en los que se incluyen
25 infecciones diversas, accidentes, traumatismos y otras enfermedades cuyo origen y fisiopatología todavía no se conoce), así como la agresión endógena la cual se divide en las alteraciones del ADN heredados por nuestros padres, la cual se asocia a la aparición de enfermedades crónico-
30 degenerativas como la Diabetes Mellitus, Hipertensión, cáncer etc. (Pou-López VC, Gallardo-Ollervides FJ, García-Mendoza JA, Sánchez-González DJ. *Dexametasona transtimpánica en*
35 *hipoacusia súbita neurosensorial tardía. Rev Sanid Milit Mex* 2008; 62 (2): 57-65). Estas agresiones continúan con la serie de impactos nocivos, si bien la estructura primaria de las proteínas no se altera con el envejecimiento del ADN, las agresiones ambientales y endógenas
40 aumentan los cambios posteriores a la traducción (Sánchez-González DJ et. al. *Ozone exposure induces iNOS expression and tyrosine nitration in rat aorta. Environ Toxicol Pharmacol* 2004; 17:
45 1-7 y Sánchez-González DJ et. al. *Producción de iNOS y nitración de proteínas en la aorta de ratas expuestas a ozono. Rev Sanid Milit Mex* 2005; 59 (4): 223-240).

Los daños en las proteínas pueden explicarse mejor, por una mala alimentación (rica en
50 carbohidratos, pobre en aminoácidos y proteínas) y daño en las mitocondrias, que también se

18

5 deterioran con el tiempo, aunque no siempre los hacen de forma constante. Cuando el daño
existe, es posible evidenciarlo estructuralmente con microscopía confocal de alta resolución
(Sánchez-González DJ et. al. *Microscopio confocal en el diagnóstico dermatológico de las*
10 *enfermedades ampollosas autoinmunitarias. Actas Dermatol Dermatopatol* 2007; 7: 9-15 e
Imágenes de microscopía confocal en el diagnóstico de las enfermedades ampollosas
15 *autoinmunes. Rev Sanid Milit Mex* 2006; 60 (2): 82-90).

En el envejecimiento y en organismo que reciben este tipo de nutrición rica en carbohidratos y
pobre en proteínas, hemos observado como las mitocondrias son más susceptibles sufrir de
20 alteraciones del ADN de las mismas condicionan estados de estrés oxidativo ocasionan
alteraciones en los procesos bioquímicos de desaminación, oxidación, entrecruzamientos y
25 glicosilación no enzimática, en las enzimas prostaciclina sintasa y tromboxano sintasa,
ocasionando un desequilibrio en la biodisponibilidad del tromboxano liberado en la circulación y
una reducción de la prostaciclina, provocando una mayor predisposición a la trombosis y
30 vasoconstricción en los vasos sanguíneos de los pacientes que presentan Diabetes Mellitus e
Hipertensión Arterial (Sosa Luna CA et. al. *Rev Sanid Milit Mex* 2005 59(1):32-50 y *Rev Sanid Milit*
35 *Mex* 2006 60(5):324-333).

El efecto de regeneración celular, es más evidente, cuando por motivo de alguna enfermedad,
algún stirpe celular diferenciada, se encuentra bajo un gran reto o estrés, tal es el caso de las
40 células productoras de insulina conocidas como células B del los islotes de Langerhans del
páncreas, las cuales se encuentran disminuidos o destruidas en los pacientes con Diabetes
45 Mellitus, ocasionando una sensación de fatiga crónica, y cuando se ocasiona la insuficiencia de
insulina, se observa el incremento de la glucosa sanguínea, apareciendo incremento en la orina,
sed y aumento del apetito, sintomatología característica de esta enfermedad (Shamblott MJ; Clark
50

- 5 GO, *Cell therapies for type 1 diabetes mellitus. Expert Opin Biol Ther* 2004 Mar; Vol. 4 (3), pp. 269-77).

10 En la figura 2, se presentan algunos resultados de nuestros experimentos aplicando "Compuesto de Regeneración Celular" CRC (Terapia Celular) en animales con insuficiencia renal en un modelo experimental de Diabetes Mellitus de nuestro laboratorio con insuficiencia de insulina, en ratas de 15 la cepa wistar hiperglicémicas (glucosa sanguínea >300 mg/dl), por inducción con estreptozotocina.

20 La aplicación de "Compuesto de Regeneración Celular" CRC (Terapia Celular) permitió regenerar los riñones dañados, evidenciado por el aumento en la depuración de creatinina (No 10) y el análisis morfológico (No 5). Podemos apreciar que en la barra negra (animales de laboratorio 25 sanos o control No 2 y No 4) presentan una depuración de creatinina promedio de 2.84 ml/min que equivale a una función renal del 94.66% de mientras que los animales de laboratorio representados por la barra roja enfermos con Diabetes Mellitus (No 8 y No 6)), sin tratamiento 30 alguno durante la evolución de la hiperglicemia) presentaron una depuración de creatinina promedio de 1.84 ml/min, que equivale a una función renal del 61.3% valor que permite hacer el 35 diagnóstico de insuficiencia renal crónica (< 70%). Los animales enfermos representados por la barra verde (No 9) con Diabetes Mellitus que recibieron un tratamiento nefroprotector estándar con un fármaco inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina *Ramipril* a una dosis 1 mg/kg 40 de peso diariamente por vía oral presentaron una depuración de creatinina de 2.6 que equivale a una función renal de 86.6% y los animales enfermos con Diabetes Mellitus representados con una 45 barra amarilla (No 10) que recibieron el "Compuesto de Regeneración Celular" (Terapia Celular) presentaron una depuración de creatinina de 3.7 ml/min equivalente a una función renal de 123.3% , se obtuvo una regeneración celular (No 5). Los animales con Diabetes Mellitus 50 referenciados en la barra azul (No 11), recibieron un tratamiento con fármaco inhibidor selectivo

20

5 de la ciclooxigenasa, *Celecoxib* a una dosis de 4 mg/kg de peso diariamente por vía oral, presentaron un efecto nefrotóxico (No 7), observándose, la presencia de proteinuria franca en la capsula de Bowman, una depuración de creatinina de 1.4 ml/min equivalente a una función renal
10 de 46.66% en franca insuficiencia renal.

De forma natural las células madre son liberadas desde la médula ósea y otros reservorios,
15 atravesando el torrente sanguíneo hacia aquellos tejidos que tienen mayor necesidad. Cuando un órgano está sujeto a exigencias por enfermedad, este órgano dispara compuestos que emiten una señal para que las células madre sean liberadas a la circulación. El órgano inicia la cascada de la
20 inflamación lanzando a la circulación compuestos que atraen a las células madre a este órgano en particular. Entonces las células madre que fueron liberadas por nuestro compuesto de regeneración celular, siguen el camino de la concentración de esos compuestos y dejan el torrente
25 sanguíneo para migrar al órgano donde se están proliferando y comienzan a diferenciarse en células de ese órgano en particular. La habilidad del "CRC" de liberar las células madre activadas
30 en la circulación a través de nuestra invención y los protocolos descritos de terapia celular para medicina regenerativa y antienvejecimiento son de gran relevancia ya que las células madre en
35 circulación disminuyen al aumentar en edad y en las enfermedades crónicas y degenerativas
(Pacheco-Ramírez MA, Rodríguez-Perales MA, López-Chavira A, Canul-Andrade LP, Martínez-Martínez CM, Sánchez-González DJ. *Expresión de las sintasas de óxido nítrico en tumores glómicos de cabeza y cuello. Rev Sanid Milit Mex* 2006; 60 (6): 369-378). De esta manera, se
40 podría concluir que los niños y bebés tienen un "sistema de células madre" muy efectivo y no necesita del apoyo del "CRC". Sin embargo, hemos aplicado "CRC" en niños menores de 10 años
45 como apoyo al tratamiento de quimioterapia y radioterapia en leucemias agudas, así también en pacientes pediátricos con Síndromes Genéticos como el de de Down, Turner, etc. También en
50 niños con problemas del neurodesarrollo, autistas, debilidad mental, parálisis cerebral infantil,

21

5 déficit de atención y jóvenes con esquizofrenia. Estamos recibiendo testimonios con información
acerca de experiencias muy fuertes indicando que la terapia celular con células madre podría
brindar beneficios significantes para los niños *pequeños* (Aguilera-Hernández P, Cháñez-
10 Cárdenas ME, Sánchez-González DJ et. al. *Regulación de las sintasas de óxido nítrico en el
estriado de rata en el modelo de la enfermedad de Huntington inducido por quinolinico. Arch*
15 *Neurocién Mex* 2006; 11: 31).

La terapia celular empleando el "CRC" es la forma más segura de tratar los daños que sufre el
material genético que se encuentra en el núcleo celular y las mitocondrias. Estos daños son uno
20 de los factores más relevantes del proceso de envejecimiento biológico y la senescencia celular.

En los ancianos se producen un mayor número de alteraciones estructurales de los cromosomas
25 (material genético) los cuales están compuestos del ácido desoxirribonucleico (ADN) que se
manifiestan con la sintomatología propia del envejecimiento como deterioro de la función
cardiovascular, osteomuscular, presbiacusia y presbiopía, etc (Béjar-Cornejo F, Olivares D,
30 Cantero MA, Sánchez-González DJ. *Grosor corneal determinado mediante topografía corneal
ORBSCAN en pacientes diagnosticados con glaucoma en población mexicana. Rev Sanid Milit*
35 *Mex* 2007; 61 (5): 310-319) Las células madre contienen ADN intacto así como mitocondrias
saludables y muchas proteínas que tienen la capacidad de revertir muchos de los efectos del
envejecimiento, las células madre son ricas en la enzima telomerasa la cual puede disminuir la
40 pérdida de las secuencias teloméricas del ADN en las células envejecidas o senescentes. Desde
el punto de vista de "terapia génica", podemos considerar que las células madre son el mejor
45 vector, y pueden ser consideradas como "micro-esferas inteligentes" (ya que son organismos
vivos microscópicos, con la total capacidad de autorreplicación así como de tropismo, es decir
reconocen y viajan al sitio del daño o lesión, así como de transdiferenciación de diferencian en el
50 tipo celular faltante o lesionado) (Sánchez-González DJ et. al. *Efectos biológicos de campos*

5 *electromagnéticos de frecuencia industrial. Modelo en ratas. Rev Sanid Milit Mex 2007; 61 (6):*
371-380). Ya que contienen en su interior el genoma humano completo, el cual, a diferencia de los
protocolos de terapia génica, se encuentra intacto, indiferenciado y puede dar origen a todas las
10 proteínas que dan origen a los diversos tipos celulares que constituyen el cuerpo humano, cabe
resaltar que en la terapia celular con células madre, las células madre no (negativo) han sido
15 modificadas, alterada o siquiera tocadas en su maquinaria genética (ADN), solamente han sido
protegidas de todos los agentes nocivos antes mencionados como son la irradiación, agentes
infecciosos, etc. De manera que las células que se trasplantan tienen una edad biológica de cero
20 años (nuevas).

A continuación presentamos diversos ejemplos de la utilidad en el empleo de "Compuesto de
25 Regeneración Celular (CRC):

Ejemplo 1: Las enfermedades crónicas y las neurodegenerativas son un grupo de entidades
clínicas que se diagnostican cada vez con más frecuencia en nuestro país y en el mundo. Entre
30 estas enfermedades se incluyen: la demencia de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la
enfermedad de Huntington y la Esclerosis Lateral Amiotrófica (Aguilera P, Sánchez-González DJ
et. al. Time-related changes in constitutive and inducible nitric oxide synthases in the rat striatum in
35 a model of Huntington's disease.

Neurotoxicology 2007; 28 (6):1200-1207). La particularidad que guardan estas entidades clínicas
40 es que no cuentan con una forma de tratamiento que limite o revierta el severo deterioro e
incapacidad que producen. Tienen un curso invariablemente progresivo, incapacitante y con
45 mortalidad a corto plazo en algunas, e incapacidad significativa en todas ellas. Dado el poco
efecto curativo de los tratamientos actuales, se ha explorado el uso de la terapia celular como una
alternativa terapéutica. La reparación cerebral mediante la aplicación de trasplantes celulares es el
50 foco de atención en las investigaciones recientes. Adicionalmente, el sistema nervioso tiene

23

5 privilegios inmunológicos que reducen la necesidad de los inmunosupresores habituales en trasplantes, incluso en los heterólogos. Adicionalmente, el trasplante autólogo de células madre favorece el que estas células puedan establecerse en el cerebro y transdiferenciarse a neuronas.

10 Ejemplo 2: Los pacientes con angina refractaria y con antecedentes de isquemia al miocardio o infarto, cuando ya no pueden ser tratados con terapias convencionales como son la angioplastias
15 coronarias y colocaciones de Sten, con fracción de eyección de 37.5% después de recibir la terapia celular con "CRC" pueden mejorar en meses su fracción de eyección quedando en un 47% y disminuyendo los requerimientos de medicamentos y la sintomatología. Los pacientes con
20 insuficiencia cardíaca con clase funcional III y fracción de eyección basal del 30% mejoran después de cinco a quince sesiones de terapia celular con "CRC". Todos los pacientes mejoraran
25 a una clase funcional II. Algunos de los estudios de SPECT Sestamibi Tc99m a los posteriores al tratamiento con "CRC" durante el seguimiento clínico muestran mejoría por la regeneración celular traducida en un incremento de la vascularización y viabilidad del miocardio. Uno de nuestros
30 pacientes con enfermedad de tres vasos coronarios fuera de tratamiento por angioplastia coronaria después de haber sido valorada por el especialista Dr. Hugo Gutiérrez Leonard en el
35 Hospital Central Militar, mejoró la perfusión miocárdica SPECT Sestamibi Tc99m después de recibir cinco inyecciones intravenosas del "CRC" encontrándose una mejoría notable evidenciada por los mismos familiares, ya que ahora podía caminar más cuadras sin presentar dolor en el
40 tórax, cansancio y falta de aire, el estudio mostró isquemia en un sola rama coronaria es decir de los tres vasos con isquemia se regeneraron dos, con la aplicación de células madre.

45 Ejemplo 3: Insuficiencia Renal Crónica y complicaciones de la Diabetes Mellitus., en la figura 3 se muestra una gráfica con el promedio del resultado de la depuración de creatinina antes y después del tratamiento con "CRC" en nuestros pacientes con insuficiencia renal crónica, obtenidos de los
50 estudios de depuración de creatinina antes (No 1) y después (No 2) de recibir diez aplicaciones

5 diez aplicaciones del "CRC" por vía intravenosa e intramuscular. Presentaron reversión en la
progresión del deterioro de la función renal en sus estudios de laboratorio clínico y sintomatología,
sin precedentes (Cruz C, Correa-Rotter R, Sánchez-González DJ et. al. *Renoprotective and*
10 *antihypertensive effects of S-allylcysteine in 5/6 nephrectomized rats. Am J Physiol Renal Physiol*
2007; 293: F1691–F1698 y Chirino YI, Trujillo J, Sánchez-González DJ et. al. *Selective iNOS*
15 *inhibition reduces renal damage induced by cisplatin. Toxicol Lett* 2008;176 (1): 48-57). En la
figura 2/3 se mostró la grafica, elaborada con los resultados de nuestros experimentos realizados
en animales de laboratorio, ratas cepa wistar con nefropatía diabética por Diabetes Mellitus;
20 inducidas con una inyección intraperitoneal de estreptozotocina.

En la página 2/2, se pueden observar cambios a las 5 semanas después del tratamiento con
25 "CRC", figura 2, que corroboran los resultados de la depuración de creatinina en coherencia con
los obtenidos en humanos con expedientes clínicos figura 3 (Pedraza-Chaverri J, Yam-Canul P,
Chirino YI, Sánchez-González DJ et. al. *Protective effects of garlic powder against potassium*
30 *dichromate-induced oxidative stress and nephrotoxicity. Food Chem Toxicol* 2008; 46 (2): 619-627
y Segoviano-Murillo S, Sanchez-Gonzalez DJ et. al. *S-allylcysteine ameliorates ischemia and*
35 *reperfusion induced renal damage. Phytother Res* 2008; 22 (6): 836-840). Los experimentos en
animales figura 2, no sólo nos permitieron evaluar la función, sino que también pudimos observar
los cambios en el microscopio de los glomérulos en los cortes de histología renal. Los cortes de
40 los animales control fueron similares a los cortes de ratas diabéticas tratadas con nuestro
tratamiento de Medicina Regenerativa que se ofrece a los pacientes en la SITECEM (Orozco-
45 Ibarra M, Medina-Campos ON, Sanchez-Gonzalez DJ et. al. *Pedraza-Chaverri J. Evaluation of*
oxidative stress in d-serine induced nephrotoxicity. Toxicology 2007; 229: 123-135; Yam-Canul P,
Chirino YI, Sánchez-González DJ et. al. *PJ34, a poly adenosine diphosphate-ribose polymerase*
50 *inhibitor, attenuates chromate-induced nephrotoxicity. Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2008; 102 (5):

5 483-488 y Yam-Canul P, Chirino YI, Sánchez-González DJ et. al. *Nordihydroguaiaretic acid attenuates potassium dichromate-induced oxidative stress and nephrotoxicity. Food Chem Toxicol* 2008; 46 (3):1089-1096).

10 Ejemplo 4: en las enfermedades neurodegenerativas, a partir de los años 2001 y 2003, se reportaron los resultados de estudios controlados de trasplante de neuronas de dopamina de
15 origen embrionario en pacientes con enfermedad de Parkinson ligero-moderado. En estos estudios se concluyó que la aplicación de implantes múltiples, incluyendo la sustancia nigra y cuerpo estriado en modelos animales producen mejor resultado. Igualmente, estos hallazgos se
20 confirmaron en pacientes, los cuales mostraron mejoría clínica al igual que con el uso de la tomografía por emisión de positrones con fluorodopa (PET), y sin desarrollar complicaciones
25 motoras. El objetivo de implantar células madre en la enfermedad de Parkinson es reconstruir la vía neuronal nigroestriada con precursores de células madre neurales o injertos de neuronas de dopamina. El trasplante de neuronas dopaminérgicas derivadas de células madre se ha intentado
30 con el objetivo de estimular sinapsis local o liberación de citoquinas por el injerto. Los pacientes con enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson mejoran clínicamente con el
35 tratamiento de células madre humanas disminuyendo la torpeza generalizada y la lentitud en la realización de movimientos; mejorando la escasez de motilidad espontánea, disminuye el temblor de reposo y la rigidez (Sánchez-González DJ et. al. *Óxido nítrico en el sistema nervioso central. Neuronas nitrérgicas. Neurol Neurocir Psiquiat* 2004; 37 (2): 73-78). Los pacientes recuperan la
40 respuesta a la administración farmacológica del precursor (levodopa). Hoy la aplicación del "CRC" es una alternativa para los pacientes con Parkinson. Se pueden realizar estudios de resonancia
45 magnética al inicio y a los 6 meses de la terapia celular, con espectroscopia de N-acetilaspártato (NAA)/creatina (Cr) y estudios de perfusión SPECT con Tc 99m sestamibi. Los resultados clínicos
50

5 han sido muy satisfactorios. No han ocurrido complicaciones y todos los pacientes mejoran sus parámetros clínicos.

Ejemplo 5: en las demencias que son síndrome clínico caracterizado por pérdida severa de las
10 habilidades cognitivas y emocionales adquiridas que interfieren con el desempeño diario y la calidad de vida. La demencia puede ser ocasionada por más de 55 enfermedades, algunas no
15 progresivas y ocurre principalmente en etapas tardías de la vida. La prevalencia es del uno % en personas de 60 años de edad y se duplica cada cinco años, para incrementarse hasta llegar al 30
o 50 % en las personas de 85 años y mayores.

20 Existen múltiples formas de demencia; sin embargo, la más común es la demencia de Alzheimer, que explica entre el 80 y el 85 % de las causas de demencia. Otras formas son la demencia
25 vascular (por infartos cerebrales múltiples); demencia en enfermedad de Huntington, demencia fronto-temporal, demencia con 15 cuerpos de Lewy y demencia por SIDA, entre otras. De la
totalidad de los casos con demencia, menos del % son susceptibles de tratamiento con el "CRC"
30 No obstante que existen varios medicamentos útiles en el tratamiento de la demencia, ninguno de ellos ha sido eficaz en detener la progresión inevitable de esta enfermedad neurodegenerativa. La
35 frecuencia y prevalencia de este trastorno se incrementa paulatinamente en el mundo. Este hecho se debe principalmente al incremento en la esperanza de vida de la población. Una estimación
efectuada por nuestro grupo de investigadores en el año 1999 reportó que en nuestro país existía
40 una prevalencia de 814 mil personas con trastornos cognitivos asociados a la edad, y más de medio millón de mexicanos con demencia de tipo Alzheimer. Los pacientes con Alzheimer mejoran
45 su capacidad intelectual y memoria. Los autistas y niños con síndrome de Down mejoran su capacidad de lenguaje, articulación de palabras, mejorando las comunicaciones con sus padres y
maestros.

50 Ejemplo 6: Tenemos grandes expectativas debido a la mejoría que se observa en pacientes con

5 padecimientos neurológicos, parálisis facial por lo cual hemos utilizado el "CRC" en pacientes con
síndrome de Down, autismo, sordera, mudez, secuelas por eventos vasculares cerebrales y todos
han presentado mejoría en la síntomas y signos que presentan, todos estos se han tratado con
10 protocolo externos y estamos en proceso de construcción de una área de internamiento para
aplicar la terapia celular con "CRC" en pacientes con padecimientos mentales y psiquiátricos
15 graves, como la Esquizofrenia Crónica, y tenemos un acuerdo de cooperación e investigación con
la Asociación Mexicana de Amigos de Pacientes Esquizofrénicos A.C. (AMAPE).

Ejemplo 7: En lesiones traumáticas artrosis, esguinces, para una recuperación más rápida de una
20 cirugías o durante la lesión traumática de la médula espinal no es una enfermedad
neurodegenerativa. Sin embargo, en nuestro laboratorio hemos estado trabajando en la búsqueda
25 de la metodología más apropiada para buscar la reparación de la médula espinal dañada.
Desafortunadamente jóvenes y adultos jóvenes presentan secuelas de diferente magnitud que
van desde hernias discales con una excelente respuesta al tratamiento con "CRC" hasta
30 consecuencia de parálisis por lesión medular ocasionada en accidentes o enfermedades
degenerativas y congénitas. Por lo anterior, estamos investigando clínicamente el efecto del
35 "CRC" para tratar de reparar la médula espinal dañada. En nuestro país no se han realizado
estudios de frecuencia y prevalencia de lesión traumática de la médula espinal; no obstante, se ha
estimado que la frecuencia anual de personas con daño en la médula espinal es de 40 casos por
40 un millón de habitantes (Estados Unidos), lo cual representa una incidencia de 11 mil casos
nuevos cada año. En esta estimación no se incluyen los casos de las personas que mueren en el
45 accidente. Las causas más frecuentes de lesión en la médula espinal son, en forma consistente,
los accidentes en vehículo (41 %), lesiones por violencia (22 %) y caídas (21 %). Debido a que la
edad de presentación de la lesión espinal es en jóvenes y adultos jóvenes, con potencial para
50 prolongada sobrevida, la prevalencia de esta entidad clínica es bastante alta y se incrementa

28

5 cada año. Se ha estimado que más de un cuarto de millón de personas en los Estados Unidos
viven en la actualidad con incapacidad, por secuelas debidas a lesión de médula espinal. La
mayoría de los casos de trauma en la médula espinal ocurre en adultos jóvenes. El promedio de
10 edad de estos casos es de 28.7 años; la mayor parte de los traumas medulares ocurrieron entre
los 16 y los 30 años de edad. El 77.8 % de los casos de lesión espinal son del sexo masculino,
15 por lo general jóvenes o adultos jóvenes que se encuentran en etapa productiva o en el inicio de
la misma. Se ha observado que más de la mitad de los enfermos (64.2 %) tenían empleo antes de
sufrir la lesión medular.

20 Posteriormente al evento traumático, al décimo año de evolución sólo una tercera parte de los
pacientes con Paraplejía volvían a tener empleo remunerativo. Por lo anterior, se considera que
25 esta entidad clínica tiene importante repercusión económica en el paciente y en su familia, por los
costos directos e indirectos que produce. El gasto promedio anual por el cuidado de salud del
enfermo y los costos directos, varían de acuerdo con la severidad de la lesión. Sin embargo, los
30 costos indirectos que incluyen pérdida del salario, pérdida de beneficios suplementarios y
productividad, se estiman que son en promedio alrededor de los 60 mil dólares por año; no
35 obstante, esta cifra puede variar dependiendo del nivel educativo del paciente, el tipo de empleo y
el historial laboral antes del accidente, además de la severidad de la lesión medular. Por lo
anterior, consideramos justificada la aplicación del "CRC" como una opción alternativas
40 terapéuticas para este tipo de problemas.

45

50

REIVINDICACIONES

5 Habiendo descrito suficientemente nuestra invención, la consideramos como novedad y por lo tanto reclamamos como de nuestra exclusiva propiedad, lo contenido en las siguientes cláusulas:

10

1. Las concentraciones, volúmenes, condiciones de esterilidad y temperatura que permite elaborar las soluciones base "A", "B", "C" y "D" del "Compuesto de Regeneración Celular" CRC de
15 la descripción de la invención que permite aplicar de células madre sin modificación genética alguna, las cuales se encuentran criopreservadas o liofilizadas en frascos o cajas de líneas celulares en cultivo, después de descongelarlas gradualmente de -20 °C a 8° C, son prehidratadas
20 en la solución base "A" del Compuesto de Regeneración Celular (CRC).

25 2. La aplicación del procedimiento de la descripción de la invención (figura 1/3) que permite para preparar el compuesto de regeneración celular (frascos "A" "B", "C" y "D") incluye condiciones de esterilidad, temperatura, análisis morfológico y la cuantificación de células madre en la
30 concentración y volumen estipulado estipulada en la descripción del CRC.

35 3. La aplicación del "Compuesto de Regeneración Celular" para protocolos de terapia celular con células madre, se sin requerir de estudios de gen tipificación para haplotipos HLA de las células madre pluripotenciales empleadas para la preparación del "CRC" y del paciente que recibe la
40 inyección del CRC.

45 4. La aplicación del "Compuesto de Regeneración Celular" (CRC) para tratar diversos padecimientos crónicos degenerativos, que requieren de una regeneración celular como: Insuficiencia Renal Crónica; Diabetes Mellitus, Artrosis, Artritis Reumatoide, Lupus Eritematoso
50

30

5 Sistémico, Esclerosis Lateral Amiotrofica, Esclerosis Múltiple, Enfermedad de Parkinson, Vitíligo,
Hernias Discales, Síndrome de Down, Autismo, Esquizofrenia, Demencias, Pérdida de la audición,
parálisis, insuficiencia vascular arterial o venosa, etc. Para lo cual se requieren aplicar un mínimo
10 de cinco inyecciones intravenosas cada 7 días con un volumen de 6 ml del "Compuesto de
Regeneración Celular" (CRC) empleando "2 ml de frasco "B", 2 ml de frasco "C" y 2 ml del frasco
15 "D" además de aplicar un volumen de 1.0 ml intramuscularmente en la región deltoidea del
compuesto "B" y de ser necesario 3 ml más del compuesto de regeneración celular, empleando un
volumen de 1 ml del frasco "B", 1 ml del frasco "C" y 1 ml del frasco "D" este volumen se aplica
20 localmente en el sitio que se pretende regenerar.

25 5. Otras aplicaciones del "Compuesto de Regeneración Celular" (CRC) la única opción real de
regeneración para enfermedades incurables. Como fuente de sustitución de células y tejidos
enfermos, con la intención de prolongar la calidad de vida en personas sanas o enfermas,
30 actuando como un compuesto de antienvjecimiento.

35

40

45

50

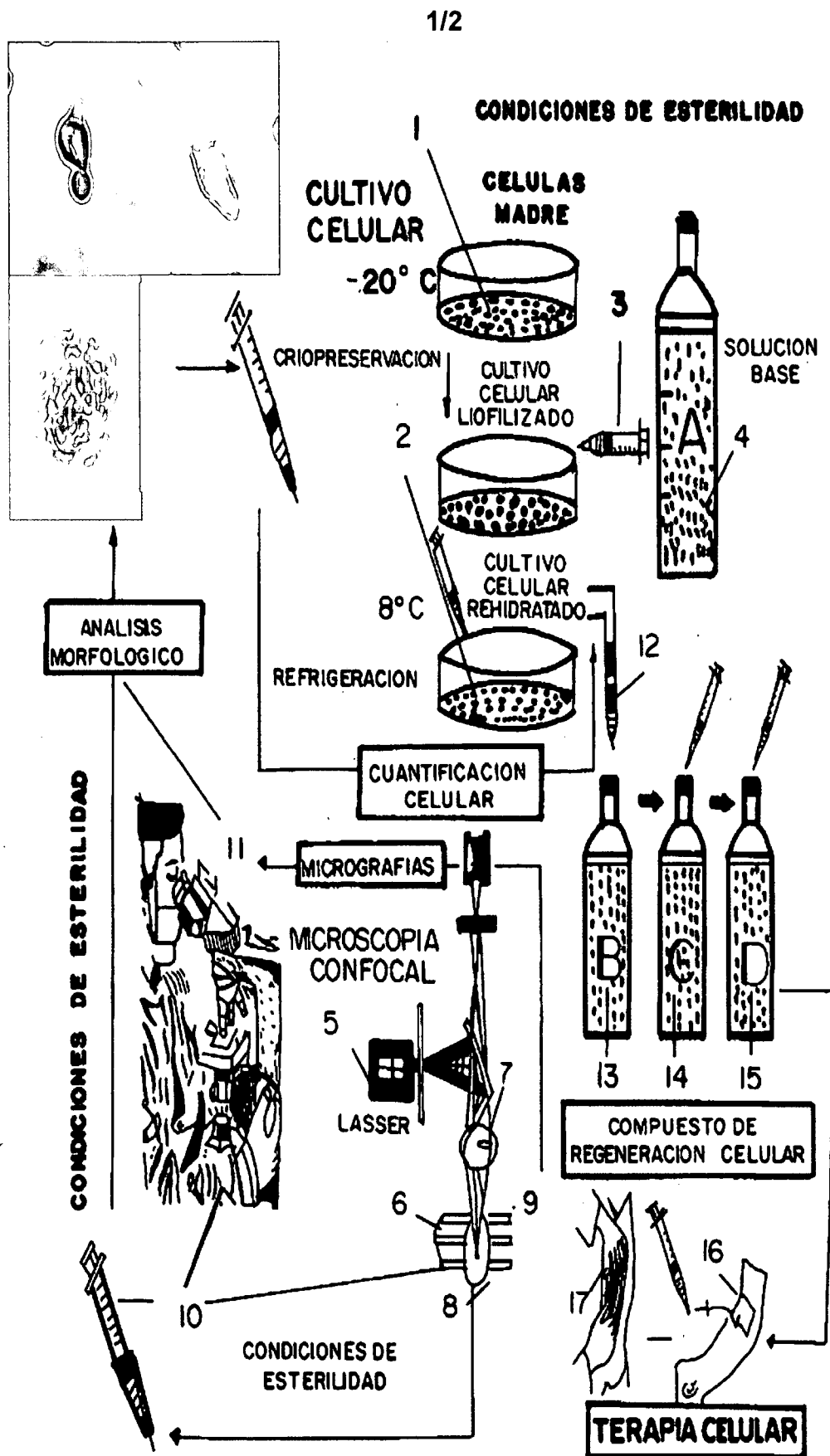


Figura 1

2/2

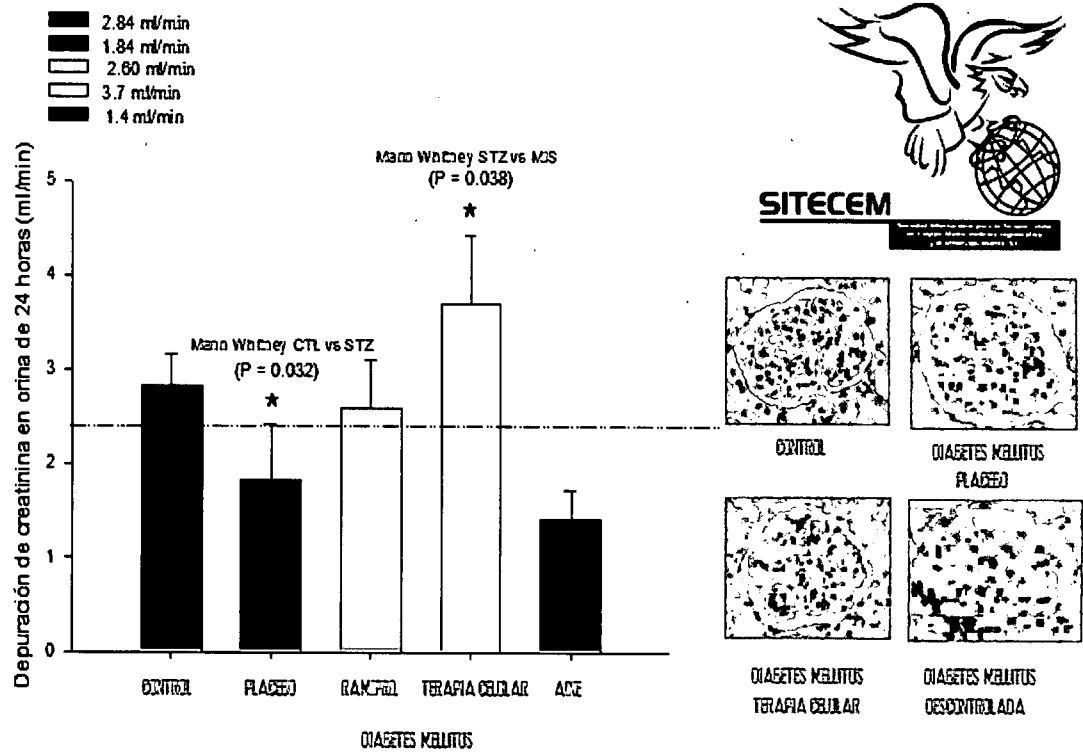
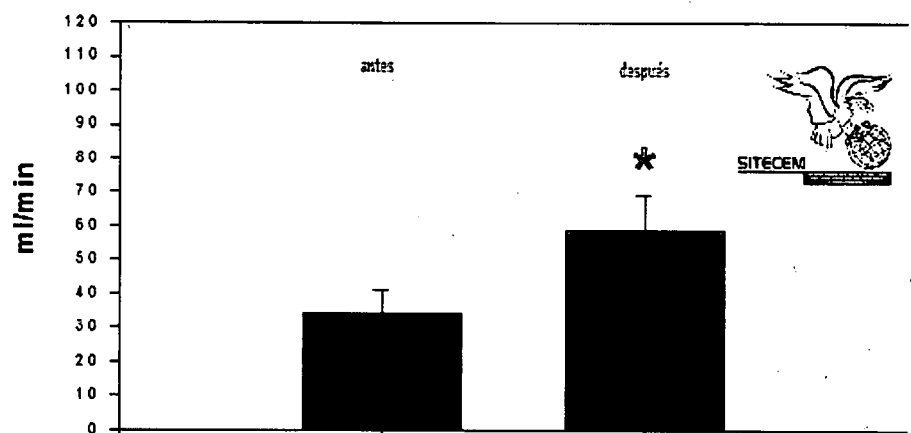


Figura 2

**Comparación de los promedios de las depuraciones de creatinina en orina de 24 horas antes y después del tratamiento



Existen diferencias significativas al comparar la depuración de creatinina en orina de 24 horas antes del tratamiento

Figura 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ MX 2009/000121

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

see extra sheet

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, C12N

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 practicable, search terms used)

INVENES, EPODOC, WPI, TXTE, MEDLINE, BIOSIS, NPL, EMBASE, XPESP

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 20050181502 A1 (FURCHT et al.) 18.08.2005. see abstract; paragraphs [0019], [0027], [0035-0037], [0089-0097], [0110-0115], [0128-0141], [0231-0238], [0246-0264]; and figures 5-14.	1-4
A	WO 2004085630 A1 (MEDVET SCIENCE PTY LTD & ANGIOBLAST SYSTEMS INC) 07.10.2004. See abstract; page 22, lines 19-28; claims 2, 3, 11, 17, 66 and 67; figures.	
A	TARE, R.S., et al. Skeletal stem cells: phenotype, biology and invironmental niches informing tissue regeneration. Molecular and cellular endocrinology. 25-06-2008. Vol. 288, n. 1-2, pages 11-21. ISSN 0303-7207. See abstract, introduction, paragraph 4.1, figure 1 and summary.	

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ 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 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

22 March 2010 (22.03.2010)

Date of mailing of the international search report

(25/03/2010)

Name and mailing address of the ISA/
O.E.P.M.

Paseo de la Castellana, 75 28071 Madrid, España.

Facsimile No. 34 91 3495304

Authorized officer

B. Pérez Esteban

Telephone No. +34 91 349 84 84

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ MX 2009/000121

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. ☒ Claims Nos.: **4 (in part)**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
The last part of claim 4 relates to subject matter considered by this Authority to be affected by the provisions of PCT Rule 67.1(iv) relating to a method for treatment of the human or animal body by therapy. Nevertheless, a search has been carried out for this claim on the basis of the alleged effects of the compounds (the compositions described as "bottles A, B, C and D").
2. ☒ Claims Nos.: **1-4 (in part), 5**
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:
Claims 1-4 are not clear and refer to the description, and owing to the lack of technical features in the claims, the search was directed to the information in the description, although this information is not claimed. Claim 5 also fails to meet the requirement of clarity and contains no technical features, and for this reason has been excluded from the search.
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 all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying 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 report covers 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/ MX 2009/000121

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2005181502 A	18.08.2005	WO 0111011 A	15.02.2001
		CA 2381292 A	15.02.2001
		AU 6621800 A	05.03.2001
		EP 1226233 A	31.07.2002
		EP 20000953840	04.08.2000
		JP 2003506075 T	18.02.2003
		NZ 517002 A	25.06.2004
		ZA 200201125 A	28.07.2004
		US 2006008450 A	12.01.2006
		US 2006030041 A	09.02.2006
		US 7659118 B	09.02.2010
		AU 784163 B	16.02.2006
		US 7015037 B	21.03.2006
		AU 2006202072 A	15.06.2006
		US 2006263337 A	23.11.2006
		US 2007009500 A	11.01.2007
		JP 2008044965 A	28.02.2008
		US 2009104163 A	23.04.2009
		US 2009203129 A	13.08.2009
		US 2009203130 A	13.08.2009
		US 2009233353 A	17.09.2009
		US 2009233354 A	17.09.2009
WO 2004085630 A	07.10.2004	CA 2520390 A	07.10.2004
		CA 2520273 A	07.10.2004
		WO 2004084921 A	07.10.2004
		AU 2004224830 A	07.10.2004
		AU 2004224830 B	29.06.2006
		AU 2004223798 A	07.10.2004
		AU 2004223798 B	15.06.2006
		US 2005019911 A	27.01.2005
		US 7670628 B	02.03.2010
		EP 1613335 A	11.01.2006
		EP 20040723937	29.03.2004
		EP 1613741 A	11.01.2006
		EP 20040723935	29.03.2004
		CN 1809632 A	26.07.2006
		CN 1822846 A	23.08.2006
		US 2006193840 A	31.08.2006
		AU 2006203628 A	07.09.2006
		AU 2006203627 A	07.09.2006
		JP 2006521121 T	21.09.2006
		JP 2006521096 T	21.09.2006
		US 2006286077 A	21.12.2006
		US 2007065938 A	22.03.2007
		AU 2009227897 A	12.11.2009
		AU 2009227881 A	12.11.2009

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ MX 2009/000121

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 35/12 (2006.01)

C12N 5/071 (2010.01)

A61P 43/00 (2006.01)

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°
PCT/ MX 2009/000121

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

Ver hoja adicional

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)
A61K, C12N

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, TXTE, MEDLINE, BIOSIS, NPL, EMBASE, XPESP

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones N°
A	US 20050181502 A1 (FURCHT et al.) 18.08.2005. Ver resumen; párrafos [0019], [0027], [0035-0037], [0089-0097], [0110-0115], [0128-0141], [0231-0238], [0246-0264]; y figuras 5-14.	1-4
A	WO 2004085630 A1 (MEDVET SCIENCE PTY LTD & ANGIOBLAST SYSTEMS INC) 07.10.2004. Ver resumen; página 22, líneas 19-28; reivindicaciones 2, 3, 11, 17, 66 y 67; figuras.	
A	TARE, R.S., et al. Skeletal stem cells: phenotype, biology and environmental niches informing tissue regeneration. Molecular and cellular endocrinology. 25-06-2008. Vol. 288, n° 1-2, páginas 11-21. ISSN 0303-7207. Ver resumen, introducción, párrafo 4.1, figura 1 y conclusiones.	



En la continuación del Recuadro C se relacionan otros documentos



Los documentos de familias de patentes se indican en el Anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T"	documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X"	documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"Y"	documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"&"	documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.		
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.		

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.

22 Marzo 2010 (22.03.2010)

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional

25-MARZO-2010 (25/03/2010)

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional O.E.P.M.

Paseo de la Castellana, 75 28071 Madrid, España.

N° de fax 34 91 3495304

Funcionario autorizado

B. Pérez Esteban

N° de teléfono +34 91 349 84 84

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°

PCT/ MX 2009/000121

Recuadro II Observaciones cuando se estime que algunas reivindicaciones no pueden ser objeto de búsqueda (continuación del punto 2 de la primera hoja)

Este informe de búsqueda internacional no se ha realizado en relación a ciertas reivindicaciones según el Artículo 17.2.a) por los siguientes motivos:

1. ☐ Las reivindicaciones N°s: 4 (en parte)
se refieren a un objeto con respecto al cual esta Administración no está obligada a proceder a la búsqueda, a saber:
La reivindicación n° 4, en su parte final, se refiere a una materia que esta Administración considera que está afectada por las disposiciones de la Regla 67. 1 (iv) PCT, relativas a un método de tratamiento terapéutico del cuerpo humano o animal. A pesar de ello, se ha efectuado una búsqueda para esta reivindicación basada en los efectos atribuidos a los compuestos (las composiciones descritas como "frasco A, B, C y D").
2. ☒ Las reivindicaciones N°s: 1-4 (en parte), 5
se refieren a elementos de la solicitud internacional que no cumplen con los requisitos establecidos, de tal modo que no pueda efectuarse una búsqueda provechosa, concretamente:
Las reivindicaciones 1 a 4 no están redactadas de forma clara, y remiten a la descripción, por lo que, a falta de características técnicas en las reivindicaciones, la búsqueda se ha dirigido a los datos descritos, aunque éstos no estén reivindicados. La reivindicación n° 5 tampoco cumple el requisito de claridad, ni tiene características técnicas, por lo que se ha excluido de la búsqueda.
3. ☐ Las reivindicaciones N°s:
son reivindicaciones dependientes y no están redactadas de conformidad con los párrafos segundo y tercero de la Regla 6.4.a).

Recuadro III Observaciones cuando falta unidad de invención (continuación del punto 3 de la primera hoja)

La Administración encargada de la búsqueda internacional ha detectado varias invenciones en la presente solicitud internacional, a saber:

1. ☐ Dado que todas las tasas adicionales requeridas han sido satisfechas por el solicitante dentro del plazo, el presente informe de búsqueda de tipo internacional comprende todas las reivindicaciones que pueden ser objeto de búsqueda.
2. ☐ Dado que todas las reivindicaciones que pueden ser objeto de búsqueda podrían serlo sin realizar un esfuerzo que justifique tasas adicionales, esta Administración no requirió el pago de tasas adicionales.
3. ☐ Dado que tan sólo una parte de las tasas adicionales requeridas ha sido satisfecha dentro del plazo por el solicitante, el presente informe de búsqueda de tipo internacional comprende solamente aquellas reivindicaciones respecto de las cuales han sido satisfechas las tasas, concretamente las reivindicaciones N°s:
4. ☐ Ninguna de las tasas adicionales requeridas ha sido satisfecha por el solicitante dentro de plazo. En consecuencia, el presente informe de búsqueda de tipo internacional se limita a la invención mencionada en primer término en las reivindicaciones, cubierta por las reivindicaciones N°s:

Indicación en cuanto a la protesta

- ☐ Se acompañó a las tasas adicionales la protesta del solicitante y, en su caso, el pago de una tasa de protesta.
- ☐ Se acompañó a las tasas adicionales la protesta del solicitante, pero la tasa de protesta aplicable no se pagó en el plazo establecido en el requerimiento.
- ☐ El pago de las tasas adicionales no ha sido acompañado de ninguna protesta.

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información relativa a miembros de familias de patentes

Solicitud internacional N°

PCT/MX 2009/000121

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
US 2005181502 A	18.08.2005	WO 0111011 A	15.02.2001
		CA 2381292 A	15.02.2001
		AU 6621800 A	05.03.2001
		EP 1226233 A	31.07.2002
		EP 20000953840	04.08.2000
		JP 2003506075 T	18.02.2003
		NZ 517002 A	25.06.2004
		ZA 200201125 A	28.07.2004
		US 2006008450 A	12.01.2006
		US 2006030041 A	09.02.2006
		US 7659118 B	09.02.2010
		AU 784163 B	16.02.2006
		US 7015037 B	21.03.2006
		AU 2006202072 A	15.06.2006
		US 2006263337 A	23.11.2006
		US 2007009500 A	11.01.2007
		JP 2008044965 A	28.02.2008
		US 2009104163 A	23.04.2009
		US 2009203129 A	13.08.2009
		US 2009203130 A	13.08.2009
		US 2009233353 A	17.09.2009
		US 2009233354 A	17.09.2009
WO 2004085630 A	07.10.2004	CA 2520390 A	07.10.2004
		CA 2520273 A	07.10.2004
		WO 2004084921 A	07.10.2004
		AU 2004224830 A	07.10.2004
		AU 2004224830 B	29.06.2006
		AU 2004223798 A	07.10.2004
		AU 2004223798 B	15.06.2006
		US 2005019911 A	27.01.2005
		US 7670628 B	02.03.2010
		EP 1613335 A	11.01.2006
		EP 20040723937	29.03.2004
		EP 1613741 A	11.01.2006
		EP 20040723935	29.03.2004
		CN 1809632 A	26.07.2006
		CN 1822846 A	23.08.2006
		US 2006193840 A	31.08.2006
		AU 2006203628 A	07.09.2006
		AU 2006203627 A	07.09.2006
		JP 2006521121 T	21.09.2006
		JP 2006521096 T	21.09.2006
		US 2006286077 A	21.12.2006
		US 2007065938 A	22.03.2007
		AU 2009227897 A	12.11.2009
		AU 2009227881 A	12.11.2009

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°

PCT/ MX 2009/000121

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K 35/12 (2006.01)

C12N 5/071 (2010.01)

A61P 43/00 (2006.01)