



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 362 430**

51 Int. Cl.:
A61K 35/32 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05774219 .9**

96 Fecha de presentación : **03.08.2005**

97 Número de publicación de la solicitud: **1890713**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.02.2008**

54 Título: **Composiciones de osteoblastos de fibrina mezclada semi-solidificada para aglutinación de fractura ósea y su procedimiento de fabricación.**

30 Prioridad: **13.06.2005 KR 20050050450**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
05.07.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
05.07.2011

73 Titular/es: **SEWON CELLONTECH Co., Ltd.**
10, 11th., Goodmorning-Shinhan Tower
23-2, Yoido-dong
Youngdeungpo-gu, Seoul 150-712, KR

72 Inventor/es: **Park, Hyun-Shin;**
Jang, Jae-Deog;
Chang, Cheong-Ho;
Jung, Soo-Jin;
Lee, Sae-Bom y
Ko, Chang-Kwon

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 362 430 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición de osteoblastos de fibrina mezclada semi-solidificada para aglutinación de fractura ósea y su procedimiento de fabricación

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a una composición de osteoblastos semisólida que contiene fibrina para la unión ósea y un procedimiento para preparar la misma. Más específicamente, la presente invención se refiere a una composición de osteoblastos semisólida que contiene fibrina para la unión ósea, que proporciona un agente terapéutico que contiene una mezcla de osteoblastos y fibrina, que se puede inyectar en una parte afectada de la unión ósea en el tratamiento de fractura ósea grave; y un procedimiento para preparar la misma.

10 Técnica anterior

En general, se puede curar adecuadamente una fractura ósea simple escayolando la fractura ósea durante varias semanas, pero una fractura ósea grave o un defecto óseo requiere un injerto óseo.

15 Un procedimiento de injerto óseo, preferido por la mayoría de los médicos, es el autoinjerto que implica recoger hueso a partir de una parte del cuerpo del paciente, en particular de la cresta ilíaca, seguido de injerto en la parte afectada del paciente. Este procedimiento puede proporcionar excelentes resultados debido al injerto del propio hueso del paciente. Sin embargo, tal autoinjerto es desfavorablemente una técnica quirúrgica acompañada de un dolor muy intenso, y presenta una diversidad de problemas potenciales asociados con la aparición probable de sensibilidad y pérdida sensorial en la región recogida de hueso, la necesidad de operación quirúrgica adicional para injerto óseo, y por tanto un largo periodo de tiempo para la hospitalización y la recuperación, lo que conduce a un incremento de gastos médicos. Además, no hay suficiente hueso adicional para injerto en el cuerpo y por tanto el autoinjerto sufre de muchas dificultades para obtener partes donantes para proporcionar hueso para el implante óseo. En el caso de cirugía espinal que necesite una gran cantidad de injerto óseo, la incidencia de complicaciones provocadas por el autoinjerto óseo se comunica que es tan alta como de aproximadamente el 23%.

20 El aloinjerto, que se ha usado para aliviar estas deficiencias mostradas por el autoinjerto, obtiene principalmente huesos de cadáveres y es ventajoso debido a que no es necesario una segunda cirugía adicional para el injerto óseo, pero sufre de desventajas fatales tales como el debilitamiento de la fuerza ósea durante un procedimiento de esterilización, la aparición de rechazo del implante, y la probabilidad de infección con enfermedades contagiosas, tales como la hepatitis y el SIDA. Además, el aloinjerto tiene desventajas tales como efectos de formación ósea pobres, reacción inmunitaria, absorción ósea y refractura de los huesos correspondientes, limitando así la aplicación del mismo a un intervalo muy estrecho. En consecuencia, se ha disminuido el uso de esta técnica quirúrgica desde finales de 1993 ya que la Administración de Alimentos y Fármacos ha restringido la normativa sobre los bancos de tejido óseo contra infección.

25 Entretanto, la inyección de médula ósea es una técnica basada en una asección, propuesta por Huggins (1931), Friedenstein (1973) y Ashton (1980), en la que las células osteoprogenitoras de la médula ósea inducen y facilitan la formación ósea. La inyección de médula ósea se lleva a cabo generalmente sólo para curar fracturas óseas, pero también se lleva a cabo en combinación con el injerto óseo. A diferencia de otras técnicas de injerto óseo, esta inyección de médula ósea no implica una incisión quirúrgica en la piel para obtener partes donantes y, por tanto, es ventajosa debido a que no hay morbilidad en la zona donante y no hay complicaciones o efectos secundarios adversos.

30 Posteriormente, incluso aunque se publican algunos resultados excelentes a través de muchos casos de aplicación clínica, la inyección de médula ósea es desfavorable debido a su fundamento teórico poco sólido, por el motivo de que una cantidad considerable de resultados obtenidos no es consistente entre sí, la cantidad de médula ósea que se puede recoger en un punto es limitada y además, está presente un número significativamente limitado de células osteoprogenitoras en la médula ósea.

45 Divulgación

Problema técnico

50 Por lo tanto, la presente invención se ha realizado en vista de los problemas anteriores, y es un objeto de la presente invención proporcionar una composición de osteoblastos semisólida que contiene fibrina para unión ósea y un procedimiento para preparar la misma, que no tiene rechazo del implante clínico por medio de inyección de una mezcla de osteoblastos y fibrina en una zona en la que se busca la unión ósea, y que puede lograr la unión ósea rápida y efectiva por medio de la inyección de una composición que se formó hasta un cierto grado, para aliviar los problemas asociados con la probabilidad de formación de tejido óseo en regiones no deseadas que resultan de la salida de osteoblastos inyectados desde la zona de unión ósea y luego la propagación de los mismos a otras zonas por medio del torrente circulatorio, lo que se puede provocar por la inyección de una suspensión sólo de osteoblastos.

Es otro objeto de la presente invención proporcionar una composición de osteoblastos semisólida que contiene fibrina para la unión ósea y un procedimiento para preparar la misma, que pueden realizar una operación quirúrgica con una incisión mínima cuando los osteoblastos y la fibrina se inyectan en una zona en la que se busca la unión ósea, y que pueden lograr la unión ósea por medio de la inyección simple y efectiva de una composición mezclada de osteoblastos y fibrina sin incisión de las correspondientes regiones dañadas tras utilizar radiación.

Solución técnica

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, el anterior y otros objetos se pueden lograr mediante la provisión de un procedimiento para preparar una composición de osteoblastos semisólida que contiene fibrina para la unión ósea, que comprende:

10 aislar los osteoblastos de un tejido óseo y cultivar/proliferar los osteoblastos aislados en DMEM (medio Eagle modificado por Dulbecco) o en α -MEM (Medio esencial mínimo, modificación alfa) para preparar una suspensión de osteoblastos; y

mezclar la suspensión de osteoblastos resultante con un factor de coagulación para preparar un agente terapéutico de osteoblastos.

15 En el presente documento, el factor de coagulación es una mezcla de trombina y fibrinógeno.

En el presente documento, las etapas de preparación del agente terapéutico incluyen disolver trombina liofilizada en DMEM o α -MEM líquido y entonces mezclar de 1 a 100 UI/ml de la trombina disuelta con la solución mezclada de osteoblastos; y disolver fibrinógeno liofilizado en DMEM o α -MEM líquido y entonces mezclar de 20 a 100 mg/ml del fibrinógeno disuelto con la solución mezclada de osteoblastos que contiene trombina mezclada en la misma.

20 De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición de osteoblastos preparada por el procedimiento mencionado anteriormente para preparar una composición de osteoblastos semisólida que contiene fibrina para la unión ósea.

Efectos ventajosos

25 De acuerdo con una composición de osteoblastos semisólida que contiene fibrina para la unión ósea de la presente invención y un procedimiento para preparar la misma, teniendo la construcción que se describe anteriormente, permite el injerto óseo, que no tiene rechazo de implante clínico por medio de la inyección de una mezcla de osteoblastos y fibrina en una zona en la que se busca la unión ósea, y que se puede lograr la unión ósea rápida y efectiva por medio de la inyección de una composición que se formó hasta un cierto grado, para aliviar los problemas asociados con la probabilidad de formación de tejido óseo en regiones no deseadas que resultan de la salida de osteoblastos inyectados desde la zona de unión ósea y luego la propagación de los mismos a otras zonas por medio del torrente circulatorio, lo que está provocado por la inyección de una suspensión sólo de osteoblastos.

30 Además, la presente invención permite el injerto óseo que puede realizar una operación quirúrgica con mínima incisión cuando los osteoblastos y la fibrina se inyectan en una zona en la que se busca la unión ósea, y que se puede lograr la unión ósea por medio de la inyección simples y efectiva de una composición mezclada de osteoblastos y fibrina sin incisión de las correspondientes regiones dañadas tras utilizar radiación.

Descripción de los dibujos

El anterior y otros objetos, características y otras ventajas de la presente invención se comprenderán más claramente a partir de la siguiente descripción detallada tomada conjuntamente con los dibujos adjuntos, en los que:

La fig. 1 es una vista que muestra la cascada de polimerización de fibrina;

40 La fig. 2 es un diagrama esquemático que muestra la polimerización de una matriz de fibrina;

La fig. 3 es un gráfico de flujo que muestra un procedimiento para preparar una composición de osteoblastos semisólida que contiene fibrina para la unión ósea de acuerdo con la presente invención;

La fig. 4 es una fotografía que muestra una inyección de una mezcla de fibrina y osteoblastos después de la introducción de una fractura ósea de 15 mm de tamaño en un antebrazo de un conejo;

45 La fig. 5 es una radiografía tomada 6 semanas después de una inyección de un agente terapéutico de osteoblastos semisólido que contiene una mezcla de fibrina y osteoblastos después de la introducción de una fractura ósea de 15 mm de tamaño en un antebrazo de un conejo;

50 La fig. 6 es una fotografía de una sección de tejido teñida con hematoxilina-eosina, tomada 6 semanas después de la inyección de un agente terapéutico de osteoblastos semisólido que contiene una mezcla de fibrina y osteoblastos después de la introducción de una fractura ósea de 15 mm de tamaño en un antebrazo de un conejo; y

La fig. 7 es una fotografía de una sección de tejido teñida con tricrómico de Masson, tomada 6 semanas después de la inyección de una mezcla de fibrina y osteoblastos después de la introducción de fractura ósea de 15 mm de tamaño en un antebrazo de un conejo.

Mejor modo

5 A continuación en el presente documento, se describirán con más detalle una composición de osteoblastos semisólida que contiene fibrina para la unión ósea de acuerdo con la presente invención y un procedimiento para preparar la misma con referencia a los dibujos adjuntos.

10 Con el fin de superar las desventajas mostradas por las terapias convencionales para el tratamiento de enfermedades y trastornos relacionados con el hueso, tales como implantes e injerto óseo, se ha desarrollado una técnica de trasplante de osteoblastos autólogos que no tienen efectos secundarios adversos sobre una parte afectada, por medio del cultivo de osteoblastos, como un procedimiento de tratamiento último, en conjunción con una mejora en las terapias convencionales.

15 Sin embargo, para lograr una unión ósea más temprana, es necesario mezclar los osteoblastos con una matriz a través de la que se pueden tratar lesiones más diversas, y por tanto, es posible tratar más enfermedades óseas que no compartir beneficios terapéuticos mediante la inyección de una suspensión de osteoblastos líquida que consiste sólo en osteoblastos.

20 Se puede decir que el agente terapéutico de osteoblastos semisólido para la unión ósea, que es una mezcla de osteoblastos y fibrina, es un producto más avanzado de un procedimiento de inyección de una suspensión de osteoblastos líquida que está basada en terapia celular. El procedimiento de inyección convencional de una suspensión de osteoblastos líquida, que implica el trasplante sólo de osteoblastos, sólo puede tratar tipos limitados de defectos óseos y puede sufrir de problemas asociados con la probabilidad de la formación de tejido óseo en regiones no deseadas que resultan de la salida de osteoblastos inyectados desde las zonas de formación ósea y luego la propagación de los mismos a otras zonas por medio del torrente circulatorio. En cambio, el agente terapéutico de osteoblastos semisólido que contiene fibrina, de acuerdo con la presente invención, está compuesto de una mezcla de osteoblastos y fibrina y por lo tanto, también puede tratar de forma más rápida y efectiva un intervalo más amplio de fracturas óseas y enfermedades óseas graves.

30 Se comunica que el adhesivo de fibrina promueve la neovascularización en modelos animales (Schlag G. Clinical Orthopedics, 1988), y es muy efectivo para potenciar la aplicabilidad de procedimientos usados en el injerto de materiales de implante para la sustitución ósea, tales como polvo óseo desmineralizado, vidrio bioactivo, gránulos de hidroxapatita y coral, después de realizar una operación de injerto quirúrgico de estos materiales.

35 Además, el adhesivo de fibrina sirve como un vehículo de liberación afectivo de bioactivadores para una matriz ósea. Como ejemplos de tales bioactivadores, se puede hacer mención de TGF- β -1 (factor de crecimiento de transformación beta-1) y BMP relacionado con TGF- β (Proteína morfogenética ósea relacionada con el factor de crecimiento de transformación beta). Recientemente, el adhesivo de fibrina ha recibido mucha atención como material constituyente de matriz que libera células de manera efectiva, en aplicaciones de ingeniería de tejido (C. Huang Tissue Engineering 2002). Las características mencionadas anteriormente del adhesivo de fibrina conducen a un procedimiento de unión ósea rápido en la presente composición que implica mezclar osteoblastos con adhesivo de fibrina como un material de matriz, seguido de la aplicación para la unión ósea.

40 En referencia a los dibujos, la fig. 1 muestra una cascada de polimerización de fibrina, y la fig. 2 muestra esquemáticamente polimerización de una matriz fibrina.

Para curar una fractura ósea, debe preceder la inmovilización de las regiones de fracturas y se debe asegurar el suministro suficiente de sangre y la aplicación de una tensión apropiada en la región de la fractura ósea. La fractura ósea, una vez se produce, normalmente está acompañada por daño en la piel, músculos, ligamentos, vasos sanguíneos, nervios y articulaciones próximas.

45 Después de la revisión histológicamente, los procedimientos de curación de la fractura ósea implican tres fases, es decir, las fases de inflamación, reparación y remodelación, y estas etapas no están estrictamente divididas sino que evolucionan de manera continua coincidiendo entre ellas.

50 La fase de inflamación es una etapa en la que las células en la matriz ósea, vasos sanguíneos, y también tejidos blandos, tales como el perióstico y músculos alrededor de las regiones de fractura ósea están dañadas debido al trauma provocado por la fractura, dando como resultado la formación de hematoma en una cavidad medular y bajo el periostio. Los derivados de inflamación liberados de las células necróticas dañadas conducen a la vasodilatación y exudación de plasma sanguíneo, provocando de este modo un edema agudo. Después de la fase de inflamación, el cambio a una fase de reparación está seguido del inicio de una nueva formación de matriz.

55 La fase de reparación se inicia con la organización de hematoma formado en las zonas fracturadas. El hematoma crea una estructura de fibrina que entonces recibe las células de reparación. Entonces, los factores de crecimiento u otras

5 proteínas formadas por estas células de reparación, inducen la migración celular y la proliferación, y la formación de una matriz de reparación, que son la primera etapa de la restauración de la fractura ósea. La mayoría de las células que crean tejidos óseos durante la curación de la fractura ósea aparecen en la zona de fractura junto con los tejidos de granulación, y forman callos, que están compuestos de tejidos fibrosos, cartílago y huesos fibrosos, alrededor de la zona de fractura. La mineralización del callo se inicia por acciones en serie de las células osteogénicas. La matriz, que se sintetiza por estas células osteogénicas, contiene un gran número de fibras de colágeno de tipo I espaciadas regularmente que proporcionan las condiciones para la deposición de complejos de fosfato de calcio en estos espacios. Sin embargo, esta fase de reparación no es una etapa en la que se ha completado la unión ósea, y por tanto los callos de fractura inmaduros resultantes tienen una fuerza ósea más débil que los tejidos óseos normales. Por lo tanto, durante la fase de remodelación, tales callos de fractura adquieren la fuerza que se muestra en los tejidos óseos normales.

10 Como en la etapa de remodelación, los huesos fibrosos sin callos se reemplazan por huesos lamelares maduros, y los callos innecesarios y superfluos se absorben gradualmente. Basándose en los resultados del examen radioisotópico, se puede observar que se mantiene el incremento de la actividad de radioisótopo en la zona de fractura durante un periodo de tiempo prolongado, incluso después de completar la unión ósea y la recuperación de las funciones de la zona de fractura a su estado normal, tal como se muestra en la radiografía. Por lo tanto, la etapa de remodelación continúa durante varios años después de producirse la unión clínica de la fractura ósea.

15 La fig. 3 muestra un gráfico de flujo que ilustra un procedimiento para preparar una composición de osteoblastos semisólida que contiene fibrina para la unión ósea de acuerdo con la presente invención;

20 En referencia ahora a la fig. 3, un procedimiento para preparar una composición de osteoblastos semisólida que contiene fibrina para la unión ósea de acuerdo con la presente invención, comprende aislar los osteoblastos de un tejido óseo y cultivar/proliferar los osteoblastos aislados en DMEM (medio Eagle modificado por Dulbecco) o α -MEM (Medio esencial mínimo, modificación alfa) para preparar una suspensión de osteoblastos (S100); y mezclar la suspensión de osteoblastos resultante con un factor de coagulación para preparar un agente terapéutico de osteoblastos (S200).

25 En el presente documento, el factor de coagulación es una mezcla de trombina y fibrinógeno.

30 En el presente documento, las etapas de preparación del agente terapéutico incluyen disolver la trombina liofilizada en DMEM o α -MEM líquido y entonces mezclar de 1 IU/ml a 100 UI/ml de la trombina disuelta con la solución mezclada de osteoblastos (S210); y disolver el fibrinógeno liofilizado en DMEM o α -MEM líquido y entonces mezclar de 20 a 100 mg/ml del fibrinógeno disuelto con la solución mezclada de osteoblastos que contiene trombina mezclada en ella (S220).

35 Entretanto, una concentración de trombina determina un tiempo de polimerización de fibrina. Por lo tanto, el tiempo de polimerización de fibrina se puede reducir dentro de un intervalo de 4 horas a 3 segundos, dependiendo de la concentración de trombina. Se aplica trombina a la concentración de modo que la composición de la presente invención se forma para prevenir que los osteoblastos y los factores de coagulación se filtren de las zonas de lesión cuando se inyecta en una zona para la unión de la fractura ósea, la inyección de la composición en la zona afectada conduce a la rápida formación de una matriz, y se forma una matriz porosa de fibrina óptima para la formación ósea mediante osteoblastos.

Modo de la invención

40 A continuación en el presente documento, se describirán con más detalle los efectos de una composición de osteoblastos semisólida que contiene fibrina para la unión ósea de acuerdo con un ejemplo de la presente invención con referencia a los dibujos adjuntos.

45 En primer lugar, se aíslan los osteoblastos de los tejidos correspondientes, y se cultivan en DMEM o α -MEM durante 4 semanas para proliferar cantidades suficientes de osteoblastos. Entonces, se suspendieron los osteoblastos resultantes en DMEM o α -MEM para preparar una suspensión de osteoblastos.

Después de preparar un adhesivo de fibrina de grado médico fijado a temperatura ambiente, se disolvió el fibrinógeno añadiendo una cantidad apropiada de DMEM o α -MEM líquido a un vial que contenía fibrinógeno liofilizado.

Además, también se disolvió trombina añadiendo una cantidad apropiada de DMEM o α -MEM líquido a un vial que contenía la trombina liofilizada.

50 Después, se añadió la trombina disuelta en 1/5 de volumen a la suspensión de osteoblastos líquida y se mezcló bien.

Se mezcló una suspensión de osteoblastos mezclada con trombina con una cantidad equivalente de fibrinógeno para preparar 500 μ l de una composición de osteoblastos.

30 conejos blancos de raza New Zealand, que pesan aproximadamente 3 kg, sin tener en cuenta el sexo, se dividieron en un grupo de control para el injerto óseo, y un grupo experimental para el injerto de una composición de osteoblastos semisólida que contiene fibrina para la unión ósea, consistiendo cada grupo de 15 conejos.

5 Según un enfoque de Henry, se realizó una incisión longitudinal en el antebrazo de los conejos, exponiendo de este modo el eje del radio, y después se realizó un defecto óseo de 15 mm de tamaño usando una sierra, seguido de la retirada completa del periostio de la zona de defecto óseo.

En el grupo de control, se recogió previamente hueso esponjoso a partir de hueso largo y se llevó a cabo el injerto óseo en la zona de defecto óseo, seguido de la sutura de la piel y los tejidos subcutáneos.

10 En el grupo experimental, se suturaron cuidadosamente la piel y los tejidos subcutáneos de modo que la zona de defecto óseo se volvió un espacio vacío, y se inyectó la composición de osteoblastos tres semanas después, tal como se muestra en la fig. 4.

Después de tomar radiografías en la semana 3, 6 y 9 desde el inicio del experimento, se evaluó la unión ósea asignando el/los correspondiente(s) punto(s) a las zonas de osteotomía proximal y distal y a la zona de defecto óseo, respectivamente, dependiendo de un grado de unión ósea de la misma, y la suma de los puntos así obtenidos.

Tabla 1

Procedimiento para determinar la unión de fractura ósea para lesiones			
Punto	Zona de osteotomía proximal	Zona de osteotomía distal	Parte de defecto leve
3	Unión	Unión	Unión
2	Puente moderado (> 50%)	Puente moderado (> 50%)	Puente moderado (> 50%)
1	Puente leve (< 50%)	Puente leve (< 50%)	Puente leve (< 50%)
0	Sin unión	Sin unión	Sin unión

Tabla 2

Resultados después de nueve semanas de injerto óseo en los grupos de control y experimental		
	Grupo de control	Grupo experimental
Excelente (8-9)	14	13
Buena (6-7)	1	2
Suficiente (4-5)	-	-
Pobre (2-3)	-	-
Ningún efecto (0-1)	--	-

15 La fig. 5 muestra una radiografía tomada 6 semanas después de una inyección de un agente terapéutico de osteoblastos semisólido que contiene una mezcla de fibrina y osteoblastos después de la introducción de una fractura ósea de 15 mm de tamaño en el antebrazo de un conejo y se puede ver que se logró la unión completa de la fractura ósea.

20 La fig. 6 muestra una fotografía de una sección de tejido teñida con hematoxilina-eosina, tomada 6 semanas después de una inyección de un agente terapéutico de osteoblastos semisólido que contiene una mezcla de fibrina y osteoblastos después de la introducción de una fractura ósea de 15 mm de tamaño en el antebrazo de un conejo y se observó una isla ósea formada solo.

25 La fig. 7 muestra una fotografía de una sección de tejido teñida con tricrómico de Masson, tomada 6 semanas después de la inyección de una mezcla de fibrina y osteoblastos después de la introducción de una fractura ósea de 15 mm de tamaño en el antebrazo de un conejo, y se puede confirmar que se produjo colágeno según patrones predeterminados, representando así el progreso de la formación ósea y de la formación de vasos sanguíneos entre ellos (una línea discontinua elíptica en rojo).

30 Por tanto, de acuerdo con la presente invención, se proporciona un injerto ósea sin rechazo inmunológico mezclando osteoblastos con fibrina e inyectando la mezcla en las partes afectadas para la unión ósea, cuando la unión ósea no progresa debido a una fractura ósea grave, y mostrando efectos de unión ósea rápida y efectiva por medio de la inyección de una composición que se formó hasta un cierto grado.

Aplicabilidad industrial

5 Como es evidente de lo anterior, de acuerdo con una composición de osteoblastos semisólida que contiene fibrina para la unión ósea de la presente invención y un procedimiento para preparar la misma, teniendo la formulación que se describe anteriormente, permite la reunión de la fractura ósea, que no tiene rechazo de implante clínico por medio de la inyección de una mezcla de osteoblastos y fibrina en una zona en la que se busca la unión ósea, y que se puede lograr la unión ósea rápida y efectiva por medio de la inyección de una composición que se formó hasta un cierto grado, para aliviar los problemas asociados con la probabilidad de formación de tejido óseo en regiones no deseadas que resultan de la salida de osteoblastos inyectados desde la zona de unión ósea y luego la propagación de los mismos a otras zonas por medio del torrente circulatorio, lo que puede estar provocado por la inyección de una suspensión sólo de osteoblastos.

10 Además, la presente invención permite la reunión de fractura ósea que puede realizar una operación quirúrgica con mínima incisión cuando los osteoblastos y la fibrina se inyectan en una zona en la que se busca la unión ósea, y que se puede lograr la unión ósea por medio de la inyección simple y efectiva de una composición mezclada de osteoblastos y fibrina sin incisión de las correspondientes regiones dañadas tras utilizar un sistema de radiación tal como rayos-X.

15 Aunque las realizaciones preferidas de la presente invención se han dado a conocer para fines ilustrativos, los expertos en la técnica apreciarán que son posibles diversas modificaciones, adiciones y sustituciones.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de osteoblastos semisólida que contiene fibrina para curar una fractura ósea en la que la composición se prepara mediante un procedimiento que comprende:

5 cultivar/proliferar osteoblastos aislados de un tejido óseo en medio esencial mínimo de modificación alfa (alfa-MEM) para preparar una suspensión de osteoblastos, y

mezclar la suspensión de osteoblastos resultante con un factor de coagulación para preparar un agente terapéutico de osteoblastos, en la que dicho factor de coagulación es una mezcla de trombina y fibrinógeno,

en la que las etapas de preparación del agente terapéutico incluyen:

10 disolver la trombina liofilizada en alfa-MEM líquido y después mezclar de 1 a 100 UI/ml de la trombina disuelta con la solución mezclada de osteoblastos, y

disolver el fibrinógeno liofilizado en alfa-MEM líquido y después mezclar de 20 mg/ml a 100 mg/ml del fibrinógeno disuelto con la solución mezclada de osteoblastos que contiene trombina mezclada en la misma.

Fig. 1

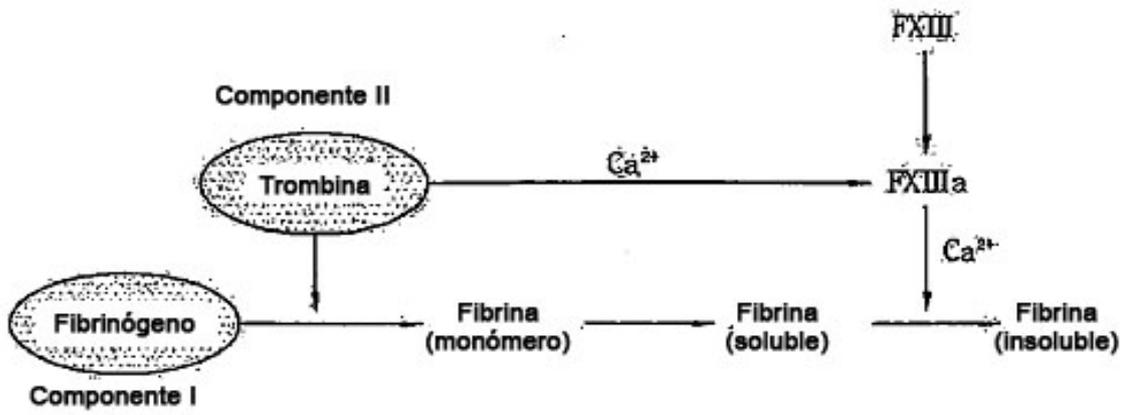


Fig. 2

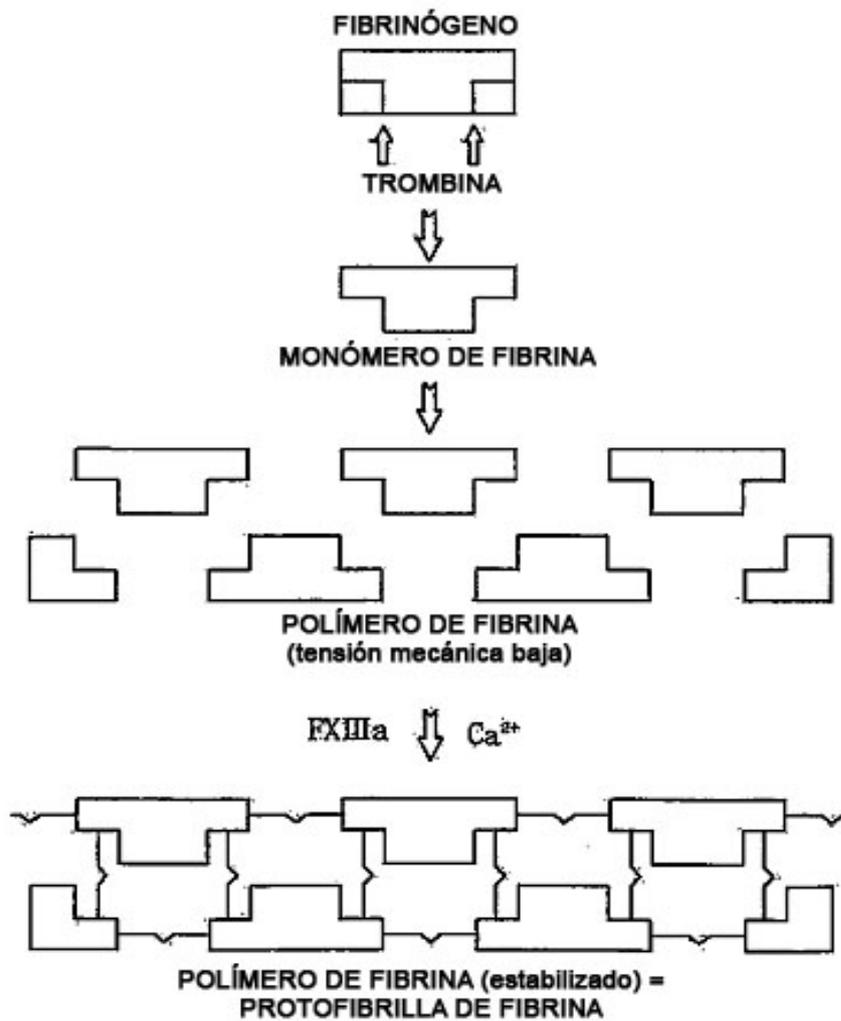


Fig. 3

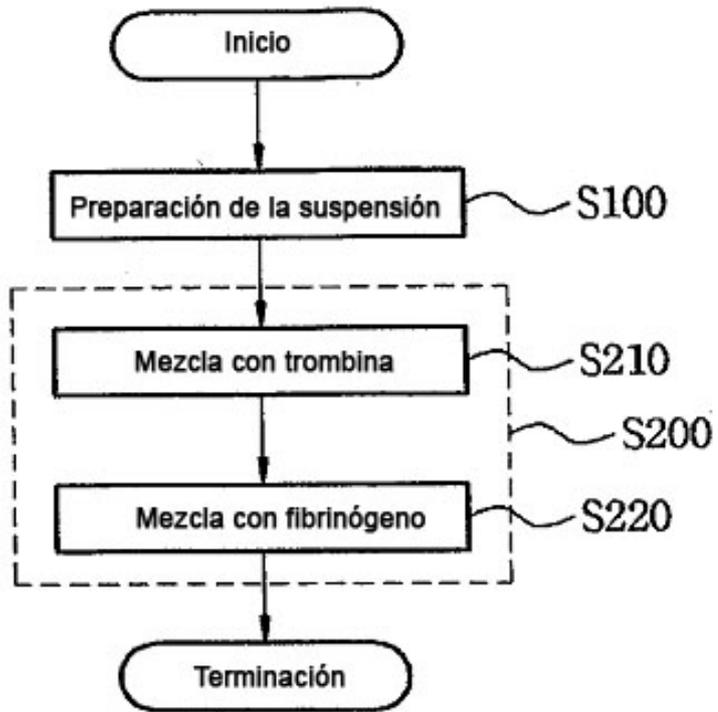


Fig. 4



Fig. 5



Fig. 6



Fig. 7

