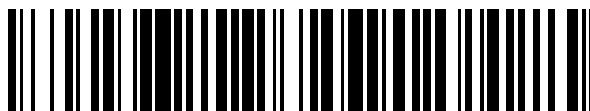


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 376 131**

51 Int. Cl.:

C12N 5/00 (2006.01)

A61L 27/38 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07838279 .3**

96 Fecha de presentación: **13.09.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2061873**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.05.2009**

54 Título: **MATRICES DE ADMINISTRACIÓN DE CÉLULAS.**

30 Prioridad:
21.09.2006 US 846468 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
09.03.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
09.03.2012

73 Titular/es:
**TISSUE GENESIS
677 ALA MOANA BOULEVARD, SUITE 1100
HONOLULU, HI 96813, US**

72 Inventor/es:
**BOLAND, Eugene, D.;
WILLIAMS, Stuart, K. y
KOSNIK, Paul, E.**

74 Agente/Representante:
Linage González, Rafael

ES 2 376 131 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

Matrices de administración de células

5 Campo de la invención

La presente divulgación se refiere generalmente a composiciones y métodos para mejorar la eficacia de las terapias basadas en células a través del uso de una composición que mitiga significativamente la migración de las células del sitio de administración. Más específicamente, la presente divulgación se refiere a matrices de administración de células que localizan células endoteliales derivadas de tejido adiposo y mejoran la adherencia de las células endoteliales al tejido diana, la cavidad corporal o las articulaciones.

Antecedentes de la invención

En los últimos años, se han desarrollado numerosas terapias que utilizan una diversidad de células madres, presagiando una nueva especialidad emergente denominada medicina regenerativa que promete sacar partido de células madre de fuentes embrionarias y somáticas para proporcionar terapias de reemplazo celular para afecciones genéticas, malignas y degenerativas. Las células endoteliales derivadas del tejido adiposo son células madre pluripotentes, que tienen la capacidad de diferenciarse en el músculo liso u otros tipos de células, como se describe en Oliver Kocher y Joseph A. Madri, "Modulation of Actin mRIVAs in Cultured Vascular Cells By Matrix Components and TGF-β", In Vitro Cellular & Developmental Biology, vol. 25, nº 5, mayo de 1989. Como tales, estas células son útiles para la retención o restauración de la función cardíaca en isquemia aguda o crónica. Las células del tejido adiposo pueden diferenciarse en células que expresan un fenotipo cardiomiocítico o endotelial, así como factores de crecimiento angiogénicos y antiapoptóticos.

La inyección directa o trasplante de células puede restaurar de forma eficaz pequeñas áreas dañadas, pero reconstruir daños graves a tejidos lesionados, resultado de un bloqueo arterial coronario mayor por ejemplo, requerirá una terapia extensa con numerosas células diferenciadas. Dicha terapia se mejora manteniendo las células endoteliales en un sitio diana durante una cantidad de tiempo terapéuticamente eficaz, que puede ser de horas a días. En algunas realizaciones, una cantidad de tiempo terapéuticamente eficaz es de semanas a meses.

Sumario de la invención

Se describe que las matrices de administración de células mantienen la administración local de células endoteliales derivadas del tejido adiposo y otros agentes terapéuticos a un tejido diana, una cavidad corporal o una articulación. La matriz de administración de células puede ser una estructura de matriz tridimensional que comprende fibrina obtenida del propio cuerpo del paciente. La matriz de administración de células usada en los métodos de la invención puede ser degradable, bioabsorbible o no degradable. En una realización, la matriz de administración de células es un polímero sintético, artificial, aprobado por la FDA. En una realización, la matriz de administración de células comprende politetrafluoroetileno expandido (ePTFE). En otra realización, la matriz de administración de células comprende polietilentereftalato (PET). La matriz de administración de células puede ser biocompatible y semi-permeable. La superficie de la matriz de administración de células puede comprender una molécula de adhesión inmovilizada.

La presente divulgación proporciona terapias regenerativas que comprenden implantar en el sujeto matrices de administración de células que localizan las células endoteliales derivadas de tejido adiposo. Los matrices de administración de células mantienen las células endoteliales derivadas de tejido adiposo en la diana durante una cantidad de tiempo terapéuticamente eficaz. Las células endoteliales derivadas de tejido adiposo pueden ser alogénicas o singénicas al sujeto. Las células endoteliales pueden administrarse solas o en combinación con otros agentes terapéuticos.

Un experto en la técnica apreciará que el sujeto de la presente invención puede ser cualquier animal, incluyendo anfibios, aves, peces, mamíferos y marsupiales, pero preferiblemente un mamífero (por ejemplo, un ser humano; un animal doméstico, tal como un gato, perro, mono, ratón y rata; o un animal comercial, tal como una vaca, caballo o cerdo). Adicionalmente, el sujeto de la presente invención puede ser de cualquier edad, incluyendo un feto, un embrión, un niño y un adulto.

Breve descripción de las figuras

La figura 1 representa una matriz de administración de células. Las flechas indican las células endoteliales localizadas y el biomaterial semi-poroso.

Descripción detallada

Los expertos en la técnica se darán cuenta de que la siguiente descripción detallada es únicamente ilustrativa y no pretende ser en ningún modo limitante. Otras realizaciones se les sugerirán fácilmente a tales expertos

aprovechando esta divulgación.

Como se usa en este documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una", "el" y "la" incluyen referencias plurales a menos que el contenido indique claramente otra cosa. Toda publicación, solicitudes de patente, patentes y otras referencias mencionadas en este documento se incorporan por referencia en su totalidad. Adicionalmente, los encabezados de sección usados en este documento sólo tienen fines de organización y no deben interpretarse como que limitan el objeto descrito.

La patente de EE.UU. nº 5.372.945 divulga métodos y dispositivos que pueden usarse para aislar fácilmente grandes cantidades de células endoteliales que tienen la capacidad de diferenciarse en el músculo liso. De acuerdo con una realización, la grasa subcutánea se elimina de un paciente usando técnicas de liposucción modificadas y se transfiere a un dispositivo autocontenido cerrado en el que la grasa puede almacenarse en condiciones estériles hasta que se necesite. La grasa se transfiere de forma estéril a un dispositivo de digestión en el que se lava inicialmente para eliminar los glóbulos rojos y otros desechos, seguido de una digestión de colagenasa controlada durante aproximadamente 20 minutos a aproximadamente 37 °C. Después, el lodo de grasa se transfiere a un dispositivo de aislamiento de células endoteliales, de nuevo en condiciones estériles, en el que las células endoteliales sedimentan en un dispositivo de aislamiento, permitiendo la recuperación automática de las células endoteliales aisladas. Después, la suspensión celular se transfiere de forma estéril a una unidad de procesamiento en la que las células se filtran rápidamente sobre la superficie de injerto en condiciones estériles. El proceso de aislamiento y deposición de células endoteliales requiere sólo aproximadamente 40 minutos para completarse. Después de un periodo de incubación, el tejido está listo para implantarse en el paciente. El sistema produce un producto de células endoteliales en cantidades aceptables para un cultivo de alta densidad posterior, por ejemplo en un intervalo de aproximadamente $5,14 \times 10^6$ a $4,24 \times 10^7$ células a partir de 50 cc de grasa, y adherencia a la superficie del injerto. El aparato deposita células a lo largo de toda la longitud y diámetro del injerto de forma consistente, sin ninguna diferencia significativa en la concentración celular según se compara mediante análisis de varianza.

Como se representa en la figura 1, después del aislamiento, estas células pueden localizarse entonces por una matriz de células. La matriz de administración de células que localiza las células endoteliales puede ser un cultivo tridimensional, que es líquido, gel, semi-sólido o sólido a 25 °C. El cultivo tridimensional puede ser biodegradable o no biodegradable.

La matriz de administración de células usada en los métodos de la invención puede comprender cualquier polímero degradable bio-absorbible o no degradable biocompatible. Los materiales de cultivo tridimensionales ejemplares incluyen polímeros e hidrogeles que comprenden colágeno, fibrina, quitosán, MATRIGEL, polietilenglicol, dextranos que incluyen dextranos químicamente reticulables o fotorreticulables, y similares. En una realización, el cultivo tridimensional comprende componentes alogénicos, componentes autólogos, o tanto componentes alogénicos como componentes autólogos. En una realización, el cultivo tridimensional comprende materiales sintéticos o semi-sintéticos. En una realización, el cultivo tridimensional comprende un marco o soporte, tal como una estructura obtenida a partir de fibrina. El término estructura se usa en este documento para incluir una amplia variedad de marcos tridimensionales, por ejemplo, pero sin limitación, una malla, red, esponja, espuma o similares.

El término "polímero" también se usa en este documento en su sentido amplio y pretende incluir una amplia variedad de polímeros biocompatibles, por ejemplo, pero sin limitación, homopolímeros, copolímeros, polímeros de bloques, polímeros reticulables o reticulados, polímeros fotoiniciados, polímeros iniciados químicamente, polímeros biodegradables, polímeros no biodegradables, y similares. En otras realizaciones, la construcción prevascularizada comprende una matriz polimérica que no está polimerizada, para permitir que se combine con un tejido, órgano o producto de ingeniería tisular en un estado líquido o semi-líquido, por ejemplo por inyección. En ciertas realizaciones, la construcción prevascularizada que comprende una matriz líquida puede polimerizarse o polimerizarse sustancialmente "*in situ*". En ciertas realizaciones, la construcción prevascularizada se polimeriza o se polimeriza sustancialmente antes de la inyección. Tales composiciones inyectables se preparan usando materiales convencionales y métodos conocidos en la técnica, incluyendo, pero sin limitación, Knapp y col., Plastic and Reconstr. Surg. 60: 389 405, 1977; Fagien, Plastic and Reconstr. Surg. 105: 362 73 y 2526 28, 2000; Klein y col., J. Dermatol. Surg. Oncol. 10: 519 22, 1984; Klein, J. Amer. Acad. Dermatol. 9: 224 28, 1983; Watson y col., Cutis 31: 543 46, 1983; Klein, Dermatol. Clin. 19: 491 508, 2001; Klein, Pediatr. Dent. 21: 449 50, 1999; Skorman, J. Foot Surg. 26: 511 5, 1987; Burgess, Facial Plast. Surg. 8: 176 82, 1992; Laude y col., J. Bio-mech. Eng. 122: 231 35, 2000; Frey y col., J. Urol. 154: 812 15, 1995; Rosenblatt y col., Biomaterials 15: 985 95, 1994; Griffey y col., J. Biomed. Mater. Res. 58: 10 15, 2001; Stenburg y col., Scfand. J. Urol. Nephrol. 33: 355 61, 1999; Sclafani y col., Facial Plast. Surg. 16: 29 34, 2000; Spira y col., Clin. Plast. Surg. 20: 181 88, 1993; Ellis y col., Facila Plast. Surg. Clin. North Amer. 9: 405 11, 2001; Alstery col., Plastic Reconstr. Surg. 105: 2515 28, 2000; y las patentes de EE.UU. nº 3.949.073 y nº 5.709.854.

Una matriz de administración de células puede comprender colágeno, incluyendo genes de colágeno contraído y no contraído, hidrogeles que comprenden, por ejemplo, pero sin limitación, fibrina, alginato, agarosa, gelatina, hialuronato, polietilenglicol (PEG), dextranos, incluyendo dextranos que son adecuados para reticulación, fotorreticulación, o ambos, albúmina, ácido poliglicólico, cloruro de polivinilo, alcohol polivinílico, poli(n-vinil-2-

pirrolidona), poli(2-hidroxi etil metacrilato), poliuretanos hidrófilos, derivados acrílicos, plurónicos, tales como copolímero de óxido de polipropileno y de óxido de polietileno, o similares. La fibrina o el colágeno pueden ser autólogos o alogénicos con respecto al paciente. La matriz puede comprender materiales no degradables, por ejemplo, pero sin limitación, politetrafluoroetileno expandido (ePTFE), politetrafluoroetileno (PTFE), 5 polietilentereftalato (PET), tereftalato de polibutileno (PBT), poliuretano, polietileno, policarbonato, poliestireno, silicona, y similares, o materiales degradables selectivamente, tales como poli(ácido láctico-co-glicólico; PLGA), PLA, o PGA. (Véase también, Middleton y col., *Biomaterials* 21: 2335 2346, 2000; Middleton y col., *Medical Plastics and Biomaterials*, marzo/abril de 1998, en las páginas 30-37; *Handbook of Biodegradable Polymers*, Domb, Kost, and Domb, eds., 1997, Harwood Academic Publishers, Australia; Rogaila, *Minim. Invasive Surg. Nurs.* 11: 67 69, 1997; 10 Klein, *Facial Plast. Surg. Clin. North Amer.* 9: 205 18, 2001; Klein y col., *J. Dermatol. Surg. Oncol.* 11: 337 39, 1985; Frey y col., *J. Urol.* 154: 812 15, 1995; Peters y col., *J. Biomed. Mater. Res.* 43: 422 27, 1998; y Kuijpers y col., *J. Biomed. Mater. Res.* 51:136 45, 2000).

15 La superficie de la matriz de administración de células puede comprender una molécula de adhesión inmovilizada, como se describe en la patente de EE.UU. n° 5.744.515. En ciertas realizaciones, la molécula de adhesión inmovilizada se selecciona entre el grupo que consiste en fibronectina, laminina y colágeno. Las moléculas de adhesión pueden inmovilizarse en la superficie, incluyendo los poros de la superficie, de la matriz por medio de fotoquímica.

20 La matriz de administración de células, además de localizar células endoteliales, puede localizar al menos una citocina, al menos una quimiocina, al menos un antibiótico, tal como un agente antimicrobiano, al menos un fármaco, al menos un agente analgésico, al menos un agente antiinflamatorio, al menos un agente inmunosupresor, o diversas combinaciones de los mismos. Los al menos una citocina, al menos un antibiótico, al menos un fármaco, al menos un agente analgésico, al menos un agente antiinflamatorio, al menos un agente inmunosupresor o diversas 25 combinaciones de los mismos pueden comprender un formato de liberación controlada, tal como los que se conocen generalmente en la técnica, por ejemplo, pero sin limitación, Richardson y col., *Nat. Biotechnol.* 19: 1029 34, 2001.

30 Las citocinas ejemplares incluyen angiogenina, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF, incluyendo, pero sin limitación, VEGF-165), interleucinas, factores de crecimiento de fibroblastos, por ejemplo, pero sin limitación, FGF-1 y FGF-2, factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta), endotelinas (tales como ET-1, ET-2 y ET-3), factor de crecimiento insulínico (IGF-1), angiopoyetinas (tales como Ang-1, Ang-2, Ang-3/4), proteínas de tipo angiopoyetinas (tales como ANGPTL1, ANGPTL-2, ANGPTL-3 y ANGPTL-4), factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), incluyendo, pero sin limitación, PDGF-AA, PDGF-BB y PDGF-AB, factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento de células endoteliales (ECGF), incluyendo 35 ECGS, factor de crecimiento de células endoteliales derivado de plaquetas (PD-ECGF), factor de crecimiento de placenta (PLGF), y similares. Las citocinas, incluyendo citocinas recombinantes, y quimiocinas están disponibles en el mercado a partir de numerosas fuentes, por ejemplo R&D Systems (Minneapolis, Minn.), Endogen (Woburn, Wash.) y Sigma (St. Louis, Mo.). El experto en la técnica entenderá que la selección de quimiocinas y citocinas para su incorporación en construcciones prevascularizadas particulares dependerá, en parte, del tejido u órgano diana 40 que se va a vascularizar o revascularizar.

En ciertas realizaciones, la matriz de administración de células se localiza adicionalmente en al menos una célula creada por ingeniería genética. Se pueden encontrar descripciones de técnicas de ingeniería genética ejemplares, entre otros lugares, en Ausubel y col., *Current Protocols in Molecular Biology* (incluyendo los suplementos de marzo de 2002), John Wiley & Sons, Nueva York, N.Y., 1989; Sambrook y col., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989; Sambrook y Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3ª Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2001; Beaucage y col., *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry*, John Wiley & Sons, Nueva York, N.Y., 2000 (incluyendo suplementos de marzo de 2002); *Short Protocols in Molecular Biology*, 4ª Ed., Ausbel, Brent, and Moore, eds., John Wiley & Sons, 45 New York, N.Y., 1999; Davis y col., *Basic Methods in Molecular Biology*, McGraw Hill Professional Publishing, 1995; *Molecular Biology Protocols* (véase el sitio web high-veld.com), y *Protocol Online* (protocol-online.net). Los productos génicos ejemplares para modificar genéticamente las células creadas por ingeniería genética de la invención incluyen, activador de plasminógeno, CD4 soluble, Factor VIII, Factor IX, Factor de von Willebrand, urocina, hirudina, interferones, incluyendo interferón alfa, beta y gamma, factor de necrosis tumoral, interleucinas, factor de crecimiento hematopoyético, anticuerpos, glucocerebrosidasa, adenosina deaminasa, fenilalanina hidroxilasa, hormona del crecimiento humano, insulina, eritropoyetina, VEGF, angiopoyetina, factor del crecimiento de 50 hepatocitos, PLGF, y similares.

En ciertas realizaciones, una matriz de administración de células comprende adicionalmente células estromales apropiadas, células madre o combinaciones de las mismas. Como se usa en este documento, la expresión "células madre" incluye células madre tradicionales, células progenitoras, células pre-progenitoras, células de reserva, y similares. Las células madre ejemplares incluyen células madre embrionarias, células madre adultas, células madre pluripotentes, células madre neurales, células madre hepáticas, células madre musculares, células madre precursoras musculares, células progenitoras endoteliales, células madre de la médula ósea, células madre 65 condrogénicas, células madre linfoides, células madre mesenquimales, células madre hematopoyéticas, células madre del sistema nervioso central, células madre del sistema nervioso periférico, y similares. Las descripciones de

las células madre, incluyendo el método para su aislamiento y cultivo, pueden encontrarse, entre otros lugares, en Embryonic Stem Cells, Methods and Protocols, Turksen, ed., Humana Press, 2002; Weisman y col., Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. 17: 387 403; Pittinger y col., Science, 284: 143 47,1999; Animal Cell Culture, Masters, ed., Oxford University Press, 2000; Jackson y col., PNAS 96(25): 14482 86, 1999; Zuk y col., Tissue Engineering, 7: 211 228, 2001 ("Zuk y col."); Atala y col., particularmente los capítulos 33 41; y las patentes de EE.UU. nº 5.559.022, nº 5.672.346 y nº 5.827.735. Las descripciones de las células estromales, incluyendo métodos para su aislamiento, pueden encontrarse, entre otros lugares, en Prockop, Science, 276: 71 74,1997; Theise y col., Hepatology, 31: 235 40, 2000; Current Protocols in Cell Biology, Bonifacino y col., eds., John Wiley & Sons, 2000 (incluyendo actualizaciones de marzo de 2002); y la patente de EE.UU. nº 4.963.489.

Los agentes terapéuticos que también pueden localizarse por la matriz de administración de células pueden incluir el factor de crecimiento transformante beta (TGFβ) y proteínas relacionadas con el TGF-β para regular la renovación y diferenciación de las células madre.

Los agentes terapéuticos adicionales que pueden usarse incluyen agentes anti-trombogénicos u otros agentes para suprimir la estenosis o restenosis tardía, tales como heparina, estreptocinasa, urocinasa, activador del plasminógeno tisular, agentes anti-tromboxanos B2, anti-B-tromboglobulina, prostaglandina E, aspirina, dipiridimol, agentes anti-tromboxanos A2, anticuerpo murino monoclonal 7E3, triazolopirimidina, ciprosteno, hirudina, ticlopidina, nicorandilo, y similares. El factor del crecimiento derivado de anti-plaquetas puede usarse como un agente terapéutico para suprimir la hiperplasia fibromuscular subíntima en un sitio de estenosis arterial, o puede usarse cualquier otro inhibidor del crecimiento celular en el sitio de estenosis.

Otros agentes terapéuticos que pueden usarse junto con las células endoteliales pueden comprender un vasodilatador para contrarrestar un vasoespasmo, por ejemplo un agente antiespasmódico, tal como papaverina. Los agentes terapéuticos pueden ser agentes vasoactivos generalmente, tales como antagonistas de calcio, o agonistas o antagonistas alfa y beta adrenérgicos. Adicionalmente, el agente terapéutico puede ser un agente anti-neoplásico, tal como 5-fluorouracilo o cualquier otro agente anti-neoplásico conocido, preferiblemente mezclado con un vehículo de liberación controlada para el agente, para la aplicación de un agente anti-neoplásico persistente de liberación controlada a un sitio de tumor.

El agente terapéutico puede ser un antibiótico, que puede aplicarse a un stent (endoprótesis vascular extensible) infectado o cualquier otra fuente de infección localizada en el cuerpo. De forma análoga, el agente terapéutico puede comprender esteroides con el propósito de suprimir la inflamación o por otras razones en un sitio de tejido localizado.

Adicionalmente, pueden localizarse glucocorticoesteroides o ácidos grasos omega-3 por la matriz de administración de células, particularmente para aplicaciones de estenosis. Cualquiera de los agentes terapéuticos puede incluir agentes de liberación controlada para prolongar la persistencia.

El agente terapéutico puede constituir cualquier mezcla deseada de productos farmacéuticos individuales o similares, para la aplicación de combinaciones de agentes activos. El agente farmacéutico puede apoyar la supervivencia de la célula (por ejemplo, un carbohidrato, una citocina, una vitamina, etc.). La matriz de administración de células puede administrarse al tejido diana, cavidad corporal, o articulación por cualquier medio de administración local conocido en la técnica. La solicitud provisional 60/841.009 del solicitante, titulada "Catheter for Cell Delivery", incorporada en este documento por referencia en su totalidad, divulga métodos y aparatos adecuados para administrar localmente las matrices de administración de células de la presente divulgación. En una realización, el sistema de administración de células usado para administrar las células localmente comprende un catéter. El catéter puede comprender una vejiga interna y una vejiga perforada externa que permite la administración localizada de células madre. La vejiga interna puede expandirse a través del uso de un conducto a presión con el fin de desplegar un stent. Las matrices de células que comprenden células endoteliales pueden introducirse entre la vejiga interna y la externa. La vejiga interna puede expandirse adicionalmente con el fin de ejercer presión sobre la vejiga externa perforada para hacer avanzar las células a través de las aberturas de la vejiga externa. La vejiga interna puede permanecer presurizada para sostener la vejiga externa contra la pared del vaso, dirigiendo de este modo las células a sitios diana específicos. En una realización, una estructura de matriz tridimensional que comprende fibrina se administra localmente sin células, de acuerdo con los métodos divulgados en la solicitud nº 60/841.009.

Serán evidentes modificaciones adicionales y realizaciones alternativas de diversos aspectos de la invención para los expertos en la técnica en vista de esta descripción. Por consiguiente, esta descripción ha de interpretarse únicamente como ilustrativa y con el fin de mostrar a los expertos en la técnica la forma general de realizarse la invención. Se entenderá que las formas de la invención mostradas y descritas en este documento se toman como las realizaciones preferidas en el presente. Los elementos y materiales pueden sustituirse con los ilustrados y descritos en este documento, las partes y los procesos pueden trastocarse, y ciertas características de la invención pueden utilizarse independientemente, todo como sería evidente para un experto en la técnica después de aprovechar esta descripción de la invención. Pueden hacerse cambios en los elementos descritos en este documento sin salir del espíritu y el alcance de la invención como se describe en las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que comprende una matriz de administración de células tridimensional, semi-permeable, bio-compatibles que envuelve un gránulo de células endoteliales de microvaso que puede obtenerse mediante el método de acuerdo con la reivindicación 2, configurada la matriz para localizar las células endoteliales y para mantener las células endoteliales en una diana de un sujeto durante una cantidad de tiempo terapéuticamente eficaz.
2. Un método para preparar una matriz de administración de células, que comprende:
- 10 proporcionar un recipiente de recogida para procesar un tejido a fin de producir un producto de células endoteliales, teniendo el recipiente una cámara de aclarado y de digestión en comunicación fluida con una cámara de residuos separada y una cámara de aislamiento conectada a la cámara de aclarado y de digestión, en el que un tamiz separa al menos la cámara de aclarado y de digestión y la cámara de residuos;
- 15 introducir tejido adiposo a la cámara de aclarado y de digestión;
- introducir una solución de aclarado a la cámara de aclarado y de digestión;
- 20 orientar el recipiente para identificar el tejido que se va a procesar de una solución de aclarado pasada a la cámara de residuos;
- introducir colagenasa a la cámara de aclarado y de digestión;
- 25 calentar el tejido y la enzima durante un tiempo y a una temperatura suficientes mientras se agita la cámara de aclarado y de digestión para digerir el tejido con la enzima;
- 30 aislar las células en forma de un gránulo de células endoteliales de microvaso; y
- envolver el gránulo de células endoteliales de microvaso con una matriz semi-permeable.
- 35 3. La composición de la reivindicación 1 o el método de la reivindicación 2, en los que la matriz comprende fibrina.
4. La composición de la reivindicación 1 o el método de la reivindicación 2, en los que la matriz comprende colágeno.
- 40 5. La composición de la reivindicación 1 o el método de la reivindicación 2, en los que la matriz comprende un polímero.
6. La composición o el método de la reivindicación 5, en los que el polímero es politetrafluoroetileno expandido.
7. La composición o el método de la reivindicación 5, en los que el polímero es polietilentereftalato.
- 45 8. Matriz como se ha definido en la reivindicación 1 o preparada de acuerdo con el método de la reivindicación 2, para uso en la implantación en un sujeto, en la que las células endoteliales son alogénicas al sujeto.
9. Matriz como se ha definido en la reivindicación 1 o preparada de acuerdo con el método de la reivindicación 2, para uso en la implantación en un sujeto, en la que las células endoteliales son singénicas al sujeto.
- 50 10. Matriz como se define en la reivindicación 1 o preparada de acuerdo con el método de la reivindicación 2, para uso en la implantación en un sujeto, en la que dicha matriz comprende fibrina derivada de dicho sujeto.

Biomaterial semi-poroso

Células localizadas

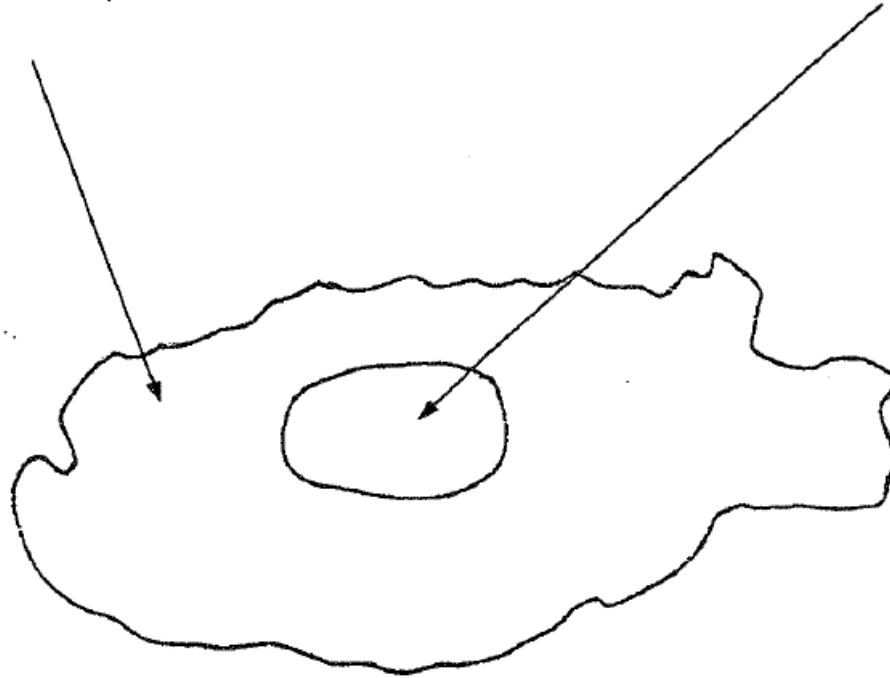


FIG. 1