

①9



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



①1 Número de publicación: **2 377 796**

②1 Número de solicitud: 201131906

⑤1 Int. Cl.:
A61L 27/38 (2006.01)

①2

SOLICITUD DE PATENTE

A1

②2 Fecha de presentación: **25.11.2011**

④3 Fecha de publicación de la solicitud: **02.04.2012**

④3 Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
02.04.2012

⑦1 Solicitante/s: **BANC DE SANG I TEIXITS**
Passeig Taulat, 116
08005 Barcelona, ES

⑦2 Inventor/es: **Pla Calvet, Pablo Arnau;**
Raya Bonet, Andrés;
García López, Juan y
Oliver Vila, Irene

⑦4 Agente/Representante:
Durán Moya, Carlos

⑤4 Título: **Procedimiento para preparar productos de terapia celular o ingeniería tisular.**

⑤7 Resumen:

Procedimiento para preparar productos de terapia celular o ingeniería tisular.

Procedimiento de preparación de un producto para terapia celular o ingeniería tisular que comprende las etapas de: a) obtener material celular de un paciente; b) seleccionar la población o poblaciones celulares de interés; c) determinar parámetros de calidad de la población celular seleccionada; d) combinar el material celular obtenido en la etapa (c) con un producto bioactivo; y e) determinar parámetros de calidad del producto obtenido en la etapa (d).

ES 2 377 796 A1

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para preparar productos de terapia celular o ingeniería tisular.

5 La presente invención se refiere a un procedimiento de preparación de un producto para terapia celular o ingeniería tisular partiendo de un material celular autólogo que presenta características mejoradas en cuanto a sencillez, facilidad para controlar la calidad del producto obtenido, permite personalizar el tratamiento en función de la lesión del paciente, no hay necesidad de salir del propio centro médico, o incluso del propio quirófano en el que se realiza la intervención, y se reduce significativamente el tiempo de espera para la elaboración de estos tipos de productos.

10 En la actualidad existe una demanda creciente de productos y tratamientos basados en medicina regenerativa en forma de bioimplantes de terapia celular (TC) e ingeniería tisular (IT). Para dar respuesta a dicha demanda, se han estado desarrollando numerosas terapias de TC o IT en base a fármacos novedosos que contienen combinaciones de células madre y materiales biocompatibles. Estos tipos de fármacos se producen bajo las mismas condiciones que los medicamentos farmacéuticos clásicos y son sometidos a rigurosos requerimientos regulatorios que aseguran la calidad y seguridad de dichos fármacos.

15 Esto hace que para producir este tipo fármacos para bioimplantes de TC e IT se necesite disponer de complejas infraestructuras, sofisticados utillajes de fabricación y personal muy especializado. Además, es necesario contar con complejos sistemas de control de calidad para garantizar la seguridad y eficacia de los tratamientos. Todo esto hace que el coste de fabricación de dichos medicamentos sea muy elevado, lo que limita su potencial aplicación. Por otra parte, el proceso hasta llegar a comercializar estos tipos de fármacos es complejo e implica la realización de extensivos estudios básicos, de proceso y clínicos que conllevan importantes inversiones financiera.

20 En el caso de tratamientos autólogos, que implica la obtención de la muestra biológica del paciente a partir de la cual se obtiene el fármaco, existe una limitación adicional relacionada con demora en la fabricación de dicho fármaco. Después de recoger la muestra biológica del paciente, ésta debe ser enviada los centros productores, en los que se realiza la manipulación celular, y posteriormente se envía el producto obtenido nuevamente al centro médico en el que se aplicará la terapia a dicho paciente. Esto provoca que los pacientes receptores de la terapia estén sometidos a largos tiempos de espera antes de ser tratados, que pueden ser desde semanas hasta meses, y, por otra parte, dichos pacientes tienen que ser sometidos a dos intervenciones quirúrgicas diferentes: una primera intervención para la extracción del material biológico y una segunda para la implantación del producto de TC o IT.

25 A esto se añade que muchas de las aproximaciones de TC e IT implican procesos de manipulación celular *ex vivo* que contemplan el cultivo de las células. Con dichos cultivos se corre el riesgo de transformación celular a líneas tumorales, con las graves consecuencias que esto supone para la salud de los receptores de este tipo de terapias (Tarte K y otros, "Clinical-grade production of human mesenchymal stromal cells: occurrence of aneuploidy without transformation". Blood, 2010; 115:1549-1553).

30 Por otra parte, cabe añadir que, una vez entregado el producto de TC o IT al centro en el que se aplicará la terapia, no es posible realizar ningún tipo de modificación sobre el producto. Esto hace que sea prácticamente imposible la adaptación del tratamiento a eventuales modificaciones terapéuticas derivadas de los métodos quirúrgicos o de las condiciones cambiantes de la lesión, tal como el incremento del tamaño de la lesión debido a roturas o problemas durante la cirugía, entre otras; es decir, que es imposible personalizar el tratamiento o realizar cambios de última hora en función de las características de la lesión, lo que hace que disminuya la tasa de éxito de estos tipos de tratamiento.

35 Con el procedimiento de la presente invención es posible superar los problemas de la técnica mencionados anteriormente. Los presentes inventores han desarrollado un procedimiento de preparación de productos para utilizar en terapia celular e ingeniería tisular partiendo de un material celular autólogo, en el que dicho producto se obtiene de manera rápida y de forma simultánea a la intervención quirúrgica en el propio quirófano o en una zona adyacente al mismo. O sea, que el producto de TC o IT es implantado en el paciente en una sola intervención quirúrgica.

40 Además, el producto obtenido mediante el procedimiento de la presente invención presenta ventajas en relación a los productos farmacéuticos de este tipo obtenidos mediante el procedimiento ordinario conocido en la técnica. Por ejemplo, es un procedimiento sencillo, de fácil control de la calidad del producto, permite personalizar el tratamiento en función de la lesión del paciente, no hay necesidad de salir del propio centro médico, o incluso del propio quirófano en el que se realiza la intervención y se eliminan los largos tiempos de espera para la elaboración del producto.

45 Un aspecto fundamental a destacar del procedimiento de la presente invención es que se disminuyen notablemente los costes de estos tipos de tratamiento y, por lo tanto, se podrán aplicar de forma más extensiva y beneficiar a un mayor número de personas.

50 La expresión "productos para terapia celular" se refiere a productos que comprenden células, principalmente células madre o derivados de éstas, para el tratamiento de enfermedades. Por otra parte, la expresión "productos para ingeniería tisular", también conocida como ingeniería de tejidos, se refiere a productos que combinan células y materiales biocompatibles para mejorar o reemplazar funciones biológicas. Aunque la ingeniería tisular cubre un amplio rango de aplicaciones, en la práctica el término está íntimamente relacionado con aplicaciones para reparar o reemplazar parcial o totalmente tejidos tales como hueso, cartílago, válvula cardiaca, vejiga, entre otros.

ES 2 377 796 A1

Por lo tanto, la presente invención da a conocer un procedimiento de preparación de un producto para terapia celular o ingeniería tisular que comprende las etapas de:

- a) obtener material celular de un paciente;
- b) seleccionar la población o poblaciones celulares de interés;
- c) determinar parámetros de calidad de la población celular seleccionada;
- d) combinar el material celular obtenido en la etapa (c) con un producto bioactivo; y
- e) determinar parámetros de calidad del producto obtenido en la etapa (d).

Una vez terminado este procedimiento y si el producto obtenido cumple con los parámetros de calidad deseados, dicho producto estará en condiciones de ser implantado y/o fijado a la zona lesionada. Dicha implantación y/o fijación se puede realizar mediante cualquier técnica conocida, por ejemplo, utilizando geles de fibrina, factores plaquetarios, sutura o enclaustrado mediante el empleo de mallas sintéticas o naturales.

El material celular obtenido del paciente en la etapa (a) del procedimiento de la presente invención puede ser cualquier material a partir del cual se puedan obtener células adecuadas para los tratamientos de TC o IT tales como sangre de médula ósea, sangre periférica, sangre de cordón umbilical, tejido adiposo, y similares. Dicha obtención se puede llevar a cabo mediante cualquier técnica conocida en el sector, tales como punción de cresta ilíaca, lipoaspirado y similares.

Una vez se dispone de este material, se lleva a cabo una selección de la población o poblaciones de interés mediante cualquier técnica conocida y se realiza un control de calidad para determinar, por ejemplo, la cantidad de células, poblaciones celulares, la viabilidad de las mismas, la presencia de contaminaciones microbianas, entre otras.

De forma opcional, parte de las células obtenidas en la etapa (b) del procedimiento de la presente invención se criopreservan. El objetivo de esta criopreservación es disponer de material de reserva para, en caso de necesidad, poder realizar nuevos tratamientos de TC o IT.

La combinación del producto bioactivo y el material celular se puede llevar a cabo mediante cualquier procedimiento conocido en la técnica. Esta combinación se realiza en función de las necesidades de la lesión que se pretende tratar. Entre los productos bioactivos que se pueden utilizar en el procedimiento de la presente invención se encuentran concentrados de plaquetas, fibrina o matrices biocompatibles, hemoderivados, factores de crecimiento, entre otros. La combinación o conjugación de las células al producto bioactivo se puede llevar a cabo mediante procedimientos físicos, tales como la incubación/agitación, o mediante procedimientos químicos, tales como coagulación.

El rendimiento final de la etapa de combinación (d) del procedimiento de la presente invención es de un 30% o superior. Por otra parte, la viabilidad de las células en la etapa (d), determinada mediante tinción de núcleos o ensayos metabólicos indirectos, es de un 60% o superior.

En la etapa (e) del procedimiento de la presente invención se realiza la determinación de los parámetros de calidad finales del producto obtenido con el objetivo de confirmar que el proceso se ha realizado correctamente y que dicho producto cumple con los requisitos para ser implantados en el paciente. Además, esta última etapa permite obtener información que facilita el seguimiento de la terapia aplicada y su eficacia, ya que ofrece información acerca del número de células implantadas, su población de origen, su estado biológico global y la esterilidad del producto.

La duración aproximada del procedimiento de la presente invención es de 2,5 y 4 horas. Esto permite que no haya necesidad de salir del propio centro médico, o incluso del propio quirófano en el que se realiza la intervención y que se pueda implantar el producto obtenido en dicho procedimiento en una única intervención quirúrgica.

La presente invención se describirá a continuación con más detalles en referencia a ejemplos de realización. Estos ejemplos, sin embargo, no están destinados a limitar el alcance técnico de la presente invención.

Ejemplos

Ejemplo 1

Obtención de un producto para la regeneración de lesiones músculo-esqueléticas mediante conjugación por incubación/agitación

Se obtuvieron 1×10^8 células mononucleares de médula ósea mediante extracción por punción en cresta ilíaca y posterior selección mediante gradiente de densidades generado por centrifugación y solución de Ficoll. A continuación, mediante equipo de análisis celular, se determinó el número de células, las poblaciones presentes (progenitores

ES 2 377 796 A1

5 óseos y vasculares) y viabilidad celular con tinción de núcleos (7AAD) y mediante el empleo de un medio isotónico se fijó la concentración celular a una densidad de 5×10^7 células mononucleares de médula ósea por mililitro. Esta suspensión celular se añadió de forma estéril a un segundo frasco de material plástico, en el que previamente se había añadido 1 centímetro cúbico de matriz biológica en base a hueso humano desantigenizado. Las células restantes se criopreservaron en solución de DMSO/Albúmina.

10 Con el objetivo de facilitar la conjugación de las células a la matriz, se realizó un ciclo de centrifugación a 400 xg durante 20 minutos. A continuación, se realizó un control de la calidad del producto obtenido mediante ensayo de actividad metabólica (ATP) y se determinó el rendimiento de fijación de las células a la matriz mediante recuento de presencia celular en el sobrenadante de la centrifugación, que fue de un 47%. La duración del proceso completo fue de aproximadamente tres horas y media.

15 De forma paralela a la fabricación del implante, parte de las células obtenidas en la etapa de selección celular por gradiente de densidades se criopreservan en solución de Albúmina/DMSO.

Ejemplo 2

20 *Obtención de un producto para la regeneración de lesiones músculo-esqueléticas mediante conjugación por coagulación*

25 Se obtuvieron 1×10^8 células mononucleares de médula ósea mediante extracción por punción en cresta ilíaca y posterior selección mediante gradiente de densidades generado por centrifugación y solución de Ficoll. A continuación mediante equipo de análisis celular, se determinó el número de células, poblaciones presentes (progenitores óseos y vasculares) y viabilidad celular con tinción de núcleos (7AAD) y mediante el empleo de medio isotónico se fijó la concentración celular a una densidad de 5×10^7 células por mililitro. Esta suspensión celular se añadió de forma estéril a un segundo frasco de material plástico, en el que previamente se había añadido 1 centímetro cúbico de matriz biológica en base a chips de hueso humano desantigenizado. Las células restantes se criopreservaron en solución de DMSO/Albúmina. La retención de las células a la matriz biológica fue inducida mediante la adición de una solución coagulante en base a concentrado plasma-plaquetar. A continuación, se realizó un control de la calidad del producto obtenido mediante ensayo de actividad metabólica (ATP) y se determinó el rendimiento de fijación de las células a la matriz, que fue de un 52%. El tiempo total de la operación fue de tres horas.

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 377 796 A1

REIVINDICACIONES

5 1. Procedimiento de preparación de un producto para terapia celular o ingeniería tisular que comprende las etapas de:

- 6 a) obtener material celular de un paciente;
- 7 b) seleccionar la población o poblaciones celulares de interés;
- 10 c) determinar parámetros de calidad de la población celular seleccionada;
- 11 d) combinar el material celular obtenido en la etapa (c) con un producto bioactivo; y
- 15 e) determinar parámetros de calidad del producto obtenido en la etapa (d).

2. Procedimiento, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque el material celular obtenido del paciente es sangre de médula ósea, sangre periférica y/o sangre de cordón umbilical y/o tejido adiposo.

20 3. Procedimiento, según la reivindicación 1 ó 2, **caracterizado** porque además parte de las células obtenidas en la etapa (b) son criopreservadas.

25 4. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque entre los parámetros de calidad de la etapa (c) a determinar se encuentran la cantidad de células, poblaciones celulares y viabilidad de las células y la presencia de contaminaciones microbianas.

30 5. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque el producto bioactivo de la etapa (d) es un concentrado de plaquetas, fibrina o una matriz biocompatible.

35 6. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado** porque la etapa (d) se lleva a cabo mediante un procedimiento físico.

40 7. Procedimiento, según la reivindicación 6, **caracterizado** porque el procedimiento físico de combinación del material celular y el producto bioactivo es incubación/agitación.

45 8. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado** porque la etapa (d) se lleva a cabo mediante un procedimiento químico.

50 9. Procedimiento, según la reivindicación 8, **caracterizado** porque el procedimiento químico de combinación del material celular y el producto bioactivo es mediante coagulación.

55 10. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque el tiempo de duración del mismo es entre 2,5 y 4 horas.

60 11. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque el rendimiento final de la etapa (d) es de un 30% o superior.

65

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201131906

②② Fecha de presentación de la solicitud: 25.11.2011

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **A61L27/38** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría | ⑤⑥ Documentos citados | Reivindicaciones afectadas |
|-----------|--|----------------------------|
| X | WO 2010091051 A2 (ENDGENITOR TECHNOLOGIES INC [US]) 12.08.2010, párrafos [079]-[089]; ejemplo 1. | 1-4,10,11 |
| Y | | 5-9 |
| Y | US 20050002982 A1 (MOONEY DAVID J [US], et al.) 06.01.2005, todo el documento, especialmente ejemplo1. | 5-7 |
| Y | NIE, X., <i>et al.</i> Improvement of peripheral nerve regeneration by a tissue-engineered nerve filled with ectomesenchymal stem cells. International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 08.01.2007. Vol. 36, nº 1, páginas 36-38. ISSN 1735-1308 (Impreso). doi:10.1016/j.ijom.2006.06.005. Ver página 33. | 8,9 |
| X | US 20030054331 A1 (FRASER JOHN K [US]; HEDRICK MARC H [US]) 20.03.2003, todo el documento. | 1-4,10,11 |
| Y | | 5-9 |
| Y | WO 2011134957 A1 (CREASPINE [FR]) 03.11.2011, página 14, línea 29 – página 15, línea 3; ejemplo 1. | 5-7 |
| Y | BILIC, G., <i>et al.</i> Human preterm amnion cells cultured in 3-dimensional collagen I and fibrin matrices for tissue engineering purposes. American Journal of Obstetrics and Gynecology. Noviembre 2005. Vol. 193, nº 5, páginas 1724-1732. ISSN 0002-9378. doi:10.1016/j.ajog.2005.04.005. Ver apartado "Materiales y métodos". | 8,9 |
| X | ES 2334298 B1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS) 08.03.2010, todo el documento. | 1,2,4,5,10,11 |
| Y | | 3,6-9 |
| Y | ES 2362021 A1 (BANC DE SANG I TEIXITS) 27.06.2011, página 3, líneas 23-68; ejemplo 1; reivindicaciones 1,2,3,7. | 3,6-9 |

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
20.03.2012

Examinador
B. Pérez Esteban

Página
1/5

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61L

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

INVENES, EPODOC, WPI, TXTUS0, TXTUS1, TXTUS2, TXTUS3, TXTEP1, TXTGB1, TXTWO1, MEDLINE, BIOSIS, NPL, EMBASE, XPESP.

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 20.03.2012

Declaración

| | | |
|---|-----------------------|-----------|
| Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986) | Reivindicaciones 1-11 | SI |
| | Reivindicaciones | NO |
| Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986) | Reivindicaciones | SI |
| | Reivindicaciones 1-11 | NO |

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

| Documento | Número Publicación o Identificación | Fecha Publicación |
|-----------|---|-------------------|
| D01 | WO 2010091051 A2 (ENDGENITOR TECHNOLOGIES INC [US]) | 12.08.2010 |
| D02 | US 20050002982 A1 (MOONEY DAVID J [US], et al.) | 06.01.2005 |
| D03 | NIE, X., <i>et al.</i> International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 08-01-2007. Vol. 36, nº 1, páginas 36-38. ISSN 1735-1308 (Impreso). doi:10.1016/j.ijom.2006.06.005. | 08.01.2007 |
| D04 | US 20030054331 A1 (FRASER JOHN K [US]; HEDRICK MARC H [US]) | 20.03.2003 |
| D05 | WO 2011134957 A1 (CREASPINE [FR]) | 03.11.2011 |
| D06 | BILIC, G., <i>et al.</i> American Journal of Obstetrics and Gynecology. Noviembre 2005. Vol. 193, nº 5, páginas 1724-1732. ISSN 0002-9378. doi:10.1016/j.ajog.2005.04.005. | Noviembre 2005 |
| D07 | ES 2334298 B1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS) | 08.03.2010 |
| D08 | ES 2362021 A1 (BANC DE SANG I TEIXITS) | 27.06.2011 |

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La presente solicitud de patente describe y reivindica un procedimiento para la preparación de productos de terapia celular o ingeniería tisular. El procedimiento comprende las etapas de obtener material celular, seleccionar las células de interés y determinar los parámetros de calidad de estas células, combinar el material celular con una matriz biocompatible y determinar los parámetros de calidad del producto obtenido.

No se ha encontrado en el estado de la técnica ningún documento que describa el procedimiento de la solicitud tal y como está reivindicado, por lo que la solicitud es nueva según el artículo 6 de la Ley 11/1986 de Patentes.

Se han encontrado documentos que divulgan procedimientos similares al de la invención y que afectan la actividad inventiva de la solicitud, según el artículo 8 de la Ley de Patentes. A continuación se comentan y estos documentos y la manera en que afectan a las reivindicaciones de la solicitud.

El documento D01 describe un método para el aislamiento de células mononucleares de sangre de cordón umbilical y de células de tejido adiposo, y su combinación con una matriz biocompatible, para su uso en terapia celular e ingeniería tisular. En el ejemplo 1 de este documento se detalla que las células se congelan, y que se realiza un control de calidad de las células y de la matriz, igual que en el procedimiento de la solicitud. Por tanto, este documento por sí solo afecta la actividad inventiva de las reivindicaciones 1 a 4, 10 y 11 de la presente solicitud. Las diferencias entre el documento D01 y la solicitud se centran en el procedimiento de unión de las células a la matriz.

En el documento D02 se describe la producción de tejido a partir de dos tipos celulares (células de músculo liso y condrocitos) depositadas en una matriz de ácido poliglicólico (PGA). La unión de las células a la matriz se realiza por incubación y agitación. El experto en la materia encontraría evidente la combinación de los documentos D01 y D02, de modo que estos dos documentos afectan la actividad inventiva de las reivindicaciones 5 a 7 de la solicitud.

En el procedimiento empleado en el documento D03 para generar tejido nervioso, las células se depositan en la matriz mediante un proceso de coagulación. Dado que el experto en la materia no tendría que realizar ningún esfuerzo inventivo para combinar los documentos D01 y D03, las reivindicaciones 8 y 9 de la solicitud no cumplen el requisito de actividad inventiva según el artículo 8 de la Ley de Patentes.

El documento D04 divulga un procedimiento de obtención de células y matriz a partir de tejido adiposo, y su criopreservación, para su utilización en terapia de tejidos. Se detallan especialmente los criterios de control de calidad aplicados a las células y a la matriz (ver párrafos [0098] a [0112] del documento). Por consiguiente, este documento afecta la actividad inventiva de las reivindicaciones 1 a 4, 10 y 11 de la solicitud.

El documento D05 describe un implante bioactivo en el que la combinación de las células a la matriz se realiza por agitación e incubación. En el documento D06, por su parte, la unión se realiza mediante polimerización con trombina. La combinación de los documentos D04 y D05, por un lado, y del D04 y D06 por otro, resultaría obvia para el experto en la materia. Por ello, tanto las reivindicaciones 5 a 7 como las reivindicaciones 8 a 9 de la solicitud carecen de actividad inventiva, a la luz de lo divulgado en los documentos D04 y D05 y en los documentos D04 y D06, respectivamente.

Finalmente, el documento D07 describe la generación de un producto útil para regeneración de tejidos, basado en la combinación de células madre mesenquimales de médula ósea con una matriz de sílice mesoestructurada recubierta de partículas de hidroxiapatito cálcico. El procedimiento, similar al de la solicitud, anticipa la actividad inventiva de las reivindicaciones 1, 2, 4, 5, 10 y 11 de la solicitud.

En el documento D08, el tejido se prepara por incubación (y agitación opcional) de una matriz no celular con células mesenquimales de médula ósea (criopreservadas o no), y la posterior fijación de las células a las partículas de la matriz mediante geles de fibrina (fibrinógeno más trombina). La evidente combinación de la información divulgada en este documento con la divulgada en D07 afecta la actividad inventiva de las reivindicaciones 3 y 6-9 de la presente solicitud.