



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0708576-1 A2**

(22) Data de Depósito: 06/03/2007
(43) Data da Publicação: 31/05/2011
(RPI 2108)



(51) *Int.Cl.:*
A61K 35/48 2006.01
A61K 35/12 2006.01
C12N 5/06 2006.01
A61P 25/00 2006.01

(54) Título: **COMPOSIÇÃO COMPREEDENDO CÉLULAS-TRONCO EMBRIÔNICAS HUMANAS E SEUS DERIVADOS, MÉTODOS DE USO E MÉTODOS DE PREPARAÇÃO**

(30) Prioridade Unionista: 26/06/2006 IN 1500/DEL/2006, 07/03/2006 IN 582/DEL/2006, 14/09/2006 US 60/844,350

(73) Titular(es): Geeta Shroff

(72) Inventor(es): Geeta Shroff

(74) Procurador(es): Dannemann ,Siemens, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT IB2007002292 de 06/03/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/141657 de 13/12/2007

(57) Resumo: COMPOSIÇÕES COMPREENDENDO CÉLULAS TRONCO EMBRIONICAS HUMANAS E SEUS DERIVADOS, MÉTODOS DE USO E MÉTODOS DE PREPARAÇÃO. A presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica compreendendo preparação de células tronco embrionicas humanas (hES) e seus derivados e métodos para seu transplante no corpo humano, em que transplante resulta na reversão clínica dos sintomas, cura, estabilização ou parada de degeneração de uma ampla variedade de condições, doenças e distúrbios médicos atualmente incuráveis e terminais. A invenção refere-se ainda a novos processos de preparação de novas linhagens de célula tronco que são livres de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator inibidor de leucemia, combinações minerais suplementares, suplementos de aminoácido, suplementos de vitamina, fator de crescimento de fibroblasto, fator steel associado à membrana, fator steel solúvel e meios condicionados. A presente invenção refere-se ainda ao isolamento, cultura, manutenção, expansão, diferenciação, armazenamento e preservação de tais células tronco.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMPOSIÇÕES COMPREENDENDO CÉLULAS-TRONCO EMBRIÔNICAS HUMANAS E SEUS DERIVADOS, MÉTODOS DE USO E MÉTODOS DE PREPARAÇÃO**".

5 Antecedentes da Invenção

Campo da Invenção

A presente invenção refere-se a composições farmacêuticas compreendendo células-tronco embriônicas humanas (hES) ou seus derivados, as ditas células-tronco sendo livres de produtos animais, células nutri-
10 entes, fatores de crescimento, fator inibidor de leucemia, combinações mine-
rais suplementares, suplementos de aminoácido, suplementos de vitamina, fator de crescimento de fibroblasto, fator *steel* associado à membrana, fator *steel* solúvel e meios condicionados, para uso no tratamento de doenças, condições ou distúrbios atualmente incuráveis, terminais e médicos. Mais
15 particularmente, a invenção refere-se a métodos de tratamento de distúrbios clínicos e condições terminais ou atualmente incuráveis usando células hES através de um protocolo de transplante. A invenção refere-se ainda a novos processos de preparação de novas linhagens de célula-tronco que são livres de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator inibidor
20 de leucemia, combinações minerais suplementares, suplementos de amino-
ácido, suplementos de vitamina, fator de crescimento de fibroblasto, fator *steel* associado à membrana, fator *steel* solúvel e meios condicionados. A presente invenção refere-se ainda ao isolamento, cultura, manutenção, expansão, diferenciação, armazenamento e preservação de tais células-
25 tronco.

Técnica Anterior

Um grande número de distúrbios, condições e doenças médicas humanas ou são atualmente incuráveis através das terapias de fármaco, cirurgia ou métodos de transplante existentes ou eles são terminais.
30 Células-tronco têm a capacidade de se dividir para gerar células "filhas" que retêm as propriedades da célula-tronco, ou para produzir filhas que começam a se diferenciar em um tipo de célula mais especializado ou

produzir uma célula filha de cada tipo. Células-tronco são então centrais para crescimento e desenvolvimento humano normais, e através de suas características intrínsecas são também fontes potenciais de novas células para a regeneração de tecido doente ou danificado. Células-tronco estão presentes em todos os estágios de desenvolvimento, e em muitos (possivelmente a maioria) tecidos do adulto. Células-tronco de tecidos diferentes, e de estágios diferentes de desenvolvimento, variam em termos do número e tipo de células às quais elas normalmente dão origem. As principais classes de células-tronco de acordo com esta classificação são células-tronco embrionícas, células-tronco somáticas e células germinativas embrionícas.

Nos primeiros estágios após fertilização (até o oitavo estágio de célula), todas as células do embrião são totipotentes (isto é, elas têm a capacidade de se desenvolver em todo tipo de célula necessário para desenvolvimento integral, incluindo tecidos extra-embriônicos tal como a placenta e o cordão umbilical). Após cerca de dois a cinco dias o estágio de blastócito é atingido. Dentro desta bola de 50-100 células está a massa de célula interna, que vai se desenvolver no embrião propriamente dito. A massa de célula interna compreende cerca de um quarto de todas as células neste estágio de desenvolvimento e uma classe única de células-tronco; as células-tronco embrionícas. As células-tronco embrionícas têm a capacidade inata ou potencial de se diferenciar em cada um dos 200 ou mais tipos de célula do corpo e são descritas como pluripotentes. A capacidade das células hES em contribuir para todos os tipos de tecido em desenvolvimento não foi ainda completamente estabelecida, mas elas podem cultivadas durante períodos de tempo longos em cultura e expandidas em número sem mudar seus genótipos ou fenótipos celulares, e mantêm seu estado pluripotente sob essas condições.

Além do estágio de blastócito, células-tronco compreendem uma proporção decrescente de células no embrião, feto e corpo adulto. Muitos se não a maioria dos tecidos no feto e adulto contêm células-tronco, que, em sua localização normal, têm o potencial de diferenciar em um número limitado de tipos de célula específicos a fim de regenerar o tecido onde elas nor-

malmente residem. Essas células-tronco (células-tronco somáticas) são multipotentes e podem ter um potencial mais restrito do que as células-tronco embrionárias pelo fato de que elas normalmente dão origem a alguns mas não todos os tipos de célula do corpo humano. As principais fontes de células-tronco somáticas são a medula óssea do feto e adulto e sangue do cordão.

Células-tronco embrionárias servem como um excelente sistema *in vitro* para estudo de eventos de diferenciação celular, avaliação de fármaco e como uma fonte primária de células diferenciadas especializadas para aplicações terapêuticas regenerativas futuras.

As células-tronco embrionárias, sendo pluripotentes, têm o potencial desenvolvimental para dar origem a qualquer tipo de célula diferenciada. Então, uma doença que resulta da falha ou desregulação, ou genética ou adquirida, de tipos de célula específicos é potencialmente tratável através de transplante de células hES ou seus derivados através de substituição das células defeituosas e regeneração do órgão ou tecido afetado e também através da estimulação do tecido inativo e do que está morrendo.

O transplante de células hES ou seus derivados no corpo humano foi sugerido ter o potencial como um meio para se dirigir a necessidades médicas não-satisfeitas.

Tem sido amplamente considerado que o transplante de células hEs vai revolucionar o tratamento de uma ampla variedade de doenças, condições e distúrbio mas, até agora, estudos têm sido restritos a estudos pré-clínicos em camundongos e primatas. É questionável se os resultados observados em modelos animais são verdadeiramente representativos dos eventos que aconteceriam quando do transplante de tais células no humano. Ainda, sem uso clínico do conceito, as composições farmacêuticas, protocolos, vias de administração e dosagens para administração das células-tronco permanecem não-definidos ou não-testados. Ainda, embora células-tronco humanas derivadas de fontes outras que não um embrião ou xenotransplante de células, tecidos e órgãos de outras espécies tenham sido usados na clínica; essas tentativas têm sido amplamente mal-sucedidas ou apresentam

uma variedade de efeitos colaterais debilitantes.

A presente invenção provê o transplante de uma composição farmacêutica compreendendo células hES e/ou seus derivados em seres humanos sofrendo de uma variedade de condições, doenças ou distúrbios atualmente incuráveis ou terminais.

A Patente U.S. Nº 5.453.457 descreve uma composição compreendendo células pluripotentes de mamífero não-murino derivadas de uma célula germinativa primordial e incluindo fator de crescimento de fibroblasto básico, fator *steel* associado à membrana, fator *steel* solúvel e fator inibidor de leucemia.

A Patente U.S. Nº 6.800.480 reivindica uma composição compreendendo células hES não-diferenciadas se proliferando em uma matriz extracelular.

O Pedido de Patente US Nº 2003/0017587 descreve expansão *in vitro* de células-tronco embriônicas não-diferenciadas obtidas de um feto abortado ou blastócitos de estágio de clivagem frescos ou congelados usando um meio de cultura que não requer células nutrientes. Uma vez isoladas, as células-tronco embriônicas são introduzidas em um meio de cultura de célula suplementado com fatores de crescimento, soro bovino fetal, fator de crescimento neuronal, fator inibidor de leucemia, fator de crescimento de fibroblasto, fator *steel* associado à membrana, fator *steel* solúvel ou meios condicionados que não são desejáveis em vista de efeitos colaterais potenciais quando do transplante em um paciente. Também, o dito pedido de patente não menciona o protocolo a ser usado para o tratamento de distúrbios genéticos ou clínicos exceto que o paciente requer uma dose de cada tipo de célula.

O Pedido de Patente US Nº 2004/0071665 provê um método terapêutico empregando células-tronco de mamífero para tratamento de cardiopatologia. O exemplo provê células-tronco embriônicas diferenciadas para formar um agrupamento cardiomiogênico, cultivadas em células nutrientes e então injetadas em três locais do coração de um camundongo tendo infarto do miocárdio.

O Pedido de Patente US Nº 2004/0107453 descreve um método para obtenção, manutenção e diferenciação de células-tronco adultas e seu uso em tratamento terapêutico.

5 O Pedido de Patente US 2005/0124003 descreve um método para obtenção, manutenção e diferenciação de células-tronco fetais e seu uso em tratamento terapêutico.

Em particular, e de relevância particular para a presente invenção, transplante de células-tronco embriônicas em modelos de camundongo de lesão ao cordão espinhal (SCI) demonstrou claramente seu potencial futuro como uma primeira linha de tratamento de SCI aguda (McDonald e outros (1999) *Nature Med.* 5:1410; Kerr e outros (2003) *J. Neurosci.* 23:5131; Roy e outros (2004) *Nature Biotechnology*, 22:297; Hori e outros (2003) *Stem Cells*, 21:405; Harper (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101:7123). Apesar da eficácia demonstrada em modelos de animais, ceticismo com relação a problemas de rejeição de enxerto versus hospedeiro, a necessidade potencial de administração durante a vida de imunossuppressores e formação de tumor e teratoma retardaram autorizações para reproduzir segurança e eficácia pré-clínicas em testes humanos experimentais. Um problema adicional direcionado ao planejamento de estudos clínicos e de relevância particular para a presente invenção é que, até agora, não há protocolos ou programas de administração estabelecidos, não há quaisquer estudos de o que seria uma dose terapeuticamente eficaz ou composição farmacêutica ativa ou quais tipos de célula ou combinações de célula devem ser usados.

É então um objeto da presente invenção desenvolver composições farmacêuticas que compreendem células hES e seus derivados que são livres de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator inibidor de leucemia, combinações minerais suplementares, suplementos de aminoácido, suplementos de vitamina, fator de crescimento de fibroblasto, fator *steel* associado à membrana, fator *steel* solúvel e meios condicionados suspensões em uma solução, carreador ou matriz biocompatível, então adequadas para uso humano.

Ainda outro objeto da presente invenção é desenvolver um pro-

protocolo para o tratamento de distúrbios atualmente incuráveis ou terminais.

Ainda um objeto adicional da presente invenção é desenvolver um protocolo para o tratamento de SCI (Lesão ao Cordão Espinhal).

As composições da presente invenção são simples de preparar,
5 seguras, de custo eficaz, eficientes, facilmente transportáveis, escaláveis, têm boa vida de prateleira e são livres de efeitos colaterais tal como reações de anticorpo-antígeno, enervações aberrantes, tumorigenicidade, formação de teratoma ou rejeição enxerto hospedeiro. Também a presente invenção requer apenas um embrião e então o fornecimento contínuo de embriões
10 humanos não é requerido. Também, o protocolo para tratamento de acordo com a presente invenção não requer o uso de imunossuppressores, e não é dependente de tipagem de HLA, não é dependente da raça, gênero ou idade do indivíduo tratado para o tratamento eficaz das doenças, condições ou distúrbios, é sem regressão e é sem a necessidade de treinamento prévio na
15 técnica de administração. Tratamento de indivíduos com as composições farmacêuticas de acordo com a prática da presente invenção é então possível em qualquer instalação clínica adequadamente equipada em todo o mundo.

A fim de transplantar células-tronco embriônicas humanas em
20 humanos para propósitos terapêuticos é importante que tais células sejam livres de contaminação tal como bactérias, vírus, príons ou viróides. A adoção de práticas de laboratório operacionais padrão tal como práticas de fabricação boas e clínicas boas reduz o risco de tais contaminações para um nível aceitável.

25 Riscos para o paciente existem, no entanto, através das metodologias de cultura de célula existentes.

Um risco principal é que componentes do meio de cultura de célula, retidos no produto farmacêutico para administração a indivíduos humanos, sejam administrados e então representem um risco ao paciente através
30 de efeitos colaterais até agora não-antecipados que não puderam ser antecipados através de estudos de "segurança" em teste de animal.

Eliminação de tal risco é então desejável.

As características de uma fonte de cultura de célula-tronco embriônica para administração a indivíduos humanos foram identificadas como tendo o *design* que segue: ela é capaz de proliferação por um período de tempo prolongado sem diferenciação, mantém um cariótipo onde todas as

5 características do doador são retidas fielmente durante a cultura, mantém o potencial para diferenciar em derivados do endoderma, mesoderma e ectoderma através da cultura, não vai diferenciar quando cultivada na ausência de fatores exógenos, não vai dar origem a teratomas, não será imunogênica, não vai formar conexões aberrantes e tecido ectópico, vai agir sobre o tecido

10 danificado e não dividir continuamente *in vivo* exceto se elas foram programadas para fazer isso em um ciclo de vida natural. Não deve haver qualquer contaminante presente na metodologia de cultura e na linhagem de célula revelada na invenção.

O principal impulso de pesquisa até agora tem sido desenvolver

15 condições de cultura que satisfaçam essas necessidades, mas, até agora, nenhuma de tais condições esteve próxima ou validada através de testes clínicos. Em particular, a pesquisa até agora focou na eliminação da necessidade de células nutrientes de camundongo como uma matriz para o crescimento e desdiferenciação de uma cultura de célula-tronco embriônica. O

20 recurso parcial de provisão de fatores de crescimento desconhecidos através da remoção de células nutrientes e a suplementação de "meios condicionados" também revelou um risco inaceitável no meio de cultura ideal. Células-tronco embriônicas cultivadas na presença de meio condicionado nutritivo ainda retêm um risco inerente de contaminação e então um risco inaceitável durante o transplante em seres humanos.

25

Um fator adicional no planejamento de condições de cultura de células-tronco embriônicas humanas destinadas para administração a seres humanos é a questão de suplementos exógenos residuais nos meios que podem estar presentes na composição farmacêutica administrada, mas que

30 são essenciais durante a fase de expansão celular.

Esses incluem fator de crescimento de fibroblasto, fator inibidor de leucemia, fator *steel* associado à membrana, fator *steel* solúvel, soro, al-

buminas ou suplementos de albumina, suplementos de aminoácido, suplementos de vitamina, transferrinas ou suplementos de transferrina, antioxidantes, insulina ou substitutos de insulina, precursores de colágeno ou substitutos de precursor de colágeno, elementos traço, resíduos de “meios condicionados”, produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, combinações minerais suplementares, suplementos de aminoácido e suplementos de vitamina.

Resíduos de tais suplementos adicionais são vistos como riscos desnecessários para a segurança de pacientes durante o transplante de células-tronco embriônicas humanas em tais indivíduos. Ainda, a suplementação de tais fatores no meio de cultura aumenta o risco de contaminação do ambiente e aumenta o custo futuro de terapia de célula-tronco e então limita sua aplicabilidade em uma faixa ampla de doenças, condições ou distúrbios médicos.

Várias abordagens foram adotadas para reduzir esses riscos incluindo: Patente U.S. e Pedido Nºs 5.843.780; 5.690.926; 6.642.048; 6.800.480; 5.166.065; 6.200.806; 5.453.357; 6.090.622; 6.562.619; 6.921.632, 2006/0073587 e 2002/076747.

No entanto, nenhuma dessas abordagens oferece um sistema para a produção de um produto farmacêutico contendo células-tronco embriônicas humanas e seus derivados que é livre de fatores potencialmente contaminantes que poderiam afetar a eficácia e segurança de células-tronco embriônicas humanas e seus derivados quando da administração a seres humanos.

É então outro objetivo da invenção desenvolver um sistema de cultura de célula simplificado para a expansão de células hES e seus derivados em um estado substancialmente não-diferenciado a fim de produzir um produto farmacêutico que seja pronto para uso em uma ampla variedade de distúrbios médicos.

Mais particularmente, é um objetivo da invenção prover uma técnica de cultura que produza uma linhagem de célula-tronco livre de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator inibidor de

leucemia, combinações minerais suplementares, suplementos de aminoácido, suplementos de vitamina, fator de crescimento de fibroblasto, fator *steel* associado à membrana, fator *steel* solúvel e meios condicionados.

Sumário da Invenção

5 A presente invenção provê composições farmacêuticas compreendendo células hES e/ou seus derivados e o uso de células hES e seus derivados em tratamento de uma ampla variedade de condições, doenças e distúrbios onde as células-tronco são introduzidas no corpo humano através de uma variedade de vias de administração, aplicações tópicas ou inserção
10 intralesional.

 A presente invenção provê ainda um método para tratamento de um indivíduo sofrendo de uma doença, distúrbio ou condição terminal ou atualmente incurável compreendendo um programa de administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de células hES ou seus derivados
15 através de injeção intramuscular, intravenosa, caudal, intravítrea, intrastriatal, intraparenquimal, intratecal, epidural, retrobulbar, subcutânea, intracardíaca, intracística, intra-articular ou intratecal, infusão por cateter epidural, infusão por cateter de bloqueio aracnóide, infusão intravenosa, via neubilizador, via *spray*, via vias intravaginais, via gotas para olho e ouvido locais e um
20 programa para administração as células hES e seus derivados topicamente ou intralesionalmente.

 É preferível usar células hES ou seus derivados que são livres de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator inibidor de leucemia, combinações minerais suplementares, suplementos de vitamina, suplementos de aminoácido, fator de crescimento de fibroblasto, fator *steel* associado à membrana, fator *steel* solúvel e meios condicionados, para evitar quaisquer chances de contaminação e possibilidades de efeitos colaterais negativos. As células hES e seus derivados podem ser obtidos através de qualquer metodologia de cultura de célula conhecida e aprovada, que
25 seja livre de célula nutriente e livre de contaminação de qualquer fonte e segura para transplante humano. Derivados de hES incluem células diferenciadas adicionais do corpo humano.

30

A presente invenção provê ainda composições farmacêuticas para o tratamento de doenças, distúrbios ou condições terminais ou atualmente incuráveis compreendendo uma quantidade terapeuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células hES ou seus derivados são livres de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator inibidor de leucemia, combinações minerais suplementares, suplementos de aminoácido, suplementos de vitamina, fator de crescimento de fibroblasto, fator *steel* associado à membrana, fator *steel* solúvel e meios condicionados, suspensos em uma solução biocompatível farmacêuticamente aceitável ou qualquer outro veículo carreador.

A presente invenção também inclui células hES e/ou seus derivados livres de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator inibidor de leucemia, combinações minerais suplementares, suplementos de aminoácido, suplementos de vitamina, fator de crescimento de fibroblasto, fator *steel* associado à membrana, fator *steel* solúvel e meios condicionados, aprisionados em um material ou matriz biocompatível. O material ou matriz biocompatível pode ser selecionado de biopolímeros, incluindo polipeptídeos ou proteínas, polissacarídeos, incluindo fibronectina, vários tipos de colágeno, laminina, queratina, fibrina, fibrinogênio, ácido hialurônico, sulfato de heparina, sulfato de condroitina, agarose ou gelatina.

As composições da presente invenção podem estar em uma forma de fármaco pronto para uso onde as células-tronco têm viabilidade adequada, isto é, elas têm uma viabilidade alta o suficiente para serem úteis em um ou mais métodos da presente invenção. Em uma modalidade, as células-tronco têm uma viabilidade de mais do que cerca de 40%, por exemplo, maior do que cerca de 50%, 60%, 70% ou 80%. A composição pode ainda incluir um agente antimicrobiano, agente antibacteriano, produto hormonal ou outro agente farmacêutico.

A fim de preparar as composições, cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou um ou mais de seus derivados tal como progenitores de célula-tronco hematopoiética, progenitores de célula-tronco neuronal, progenitores de célula-tronco mesenquimal, progenitores de célu-

la-tronco de produção de insulina, progenitores de célula-tronco de hepatócito, progenitores de célula-tronco cardíaca, progenitores de célula-tronco epitelial ou suas misturas são suspensas em cerca de 0,25 ml a cerca de 100 ml de um veículo carreador. Em uma modalidade, cerca de 750.000 a cerca de 80 milhões de células hES são suspensas em cerca de 0,25 ml a cerca de 10 ml do veículo carreador. Enriquecimento de tipos progenitores de célula-tronco diferenciada específica em uma população é uma prioridade, embora uma proporção de células-tronco não-diferenciadas vá permanecer na composição. Em uma modalidade, a porção de células-tronco não-diferenciadas não será mais do que cerca de 80% da população de células total. Em outra modalidade, a porção de células-tronco não-diferenciadas não será mais do que cerca de 40% da população de células total.

Doenças e outros distúrbios ou condições terminais que podem ser tratados ou melhorados de acordo com a presente invenção incluem, sem limitação, câncer, distúrbio hepático e rim, distúrbios do sistema nervoso, distúrbios de pele, distúrbios auto-imunes, distúrbios genéticos, distúrbios do olho, distúrbios músculo-esqueléticos, distúrbios de fertilidade e reprodutivos e distúrbios cardiovasculares e sem limitação incluem Leucemia Mielóide Aguda, Adenocarcinoma, Artrite, Astrocitoma, Atrofia do Nervo Auditivo, Autismo, Distúrbios Auto Imunes, Mal de Alzheimer, Espondilite Anquilosante, Distrofia Muscular de Becker, Dano Cerebral, Queimaduras, Acidente vascular cerebral, Paralisia Cerebral, Coma, Úlceras Corneanas, Rejeição de Enxerto Corneano, Degeneração Córtico-Basal do Sistema Nervoso, Doença da Artéria Coronária, Diabetes, Demência, Síndrome de Down, Distrofia Muscular de Duchenne, Doença Renal de Estágio Terminal, Paralisia de Erb, Distrofia Muscular Fascio Escapular, Distúrbios de Fertilidade, Ataxia de Friedreich, Falência Cardíaca, Carcinoma Hepato Celular, Doença do Neurônio Espino Motor Hereditária, Coreia de Huntington, Doença de Krabbe, Distrofia Tipo Cintura, Cirrose Hepática, Degeneração Macular, Retardo Mental, Esclerose Múltipla, Doença do Neurônio Motor, Infarto do Miocárdio, Síndrome Nefrótica, Doença de Niemann Pick, Ulceração Não-cicatrizante da Pele, Atrofia Olivo-Ponto Cerebelar, Atrofia do Nervo Ótico,

Doença de Parkinson, Encefalopatia Pós-Choque Elétrico, Encefalopatia Pós-Vacina da Raiva, Úlceras de Pressão, Paralisia Supranuclear Progressiva, Psoríase, *Pthysis Bulbi*, Cardiomiopatia Restritiva, Retinite Pigmentosa, Bloqueio de Ramo Direito, Sarcoidose, Bradicardia Sinusal, Distrofia Muscular Espinhal, Ataxia Espino Cerebelar, Síndrome de Steven Johnson, Lúpus Eritematoso Sistêmico, Trombocitopenia, Talassemia, Colite Ulcerativa, Estado Vegetativo, Fibrose Cística, Doença Pulmonar Intersticial, Azoospermia, Falência Ovariana Primária, Úlceras Aftosas, Desequilíbrio Hormonal, Osteoartrite, Síndrome de Horner e Osteogênese Imperfeita, Canalopatia e Hipogamaglobulinemia.

Mais especificamente, a presente invenção provê um método de tratamento de SCI de um indivíduos compreendendo:

- (a) administração de cerca de 750.000 a cerca de 80 milhões de células hES e/ou seus derivados através de injeção subcutânea;
- (b) repetição da etapa (a) após um período predeterminado e em seguida administração de células hES e/ou seus derivados através de injeção intramuscular;
- (c) administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal e progenitores de célula-tronco hematopoiética, através de injeção intravenosa ou infusão;
- (d) administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal, através de injeção epidural e repetição da dita dose após um período predeterminado dependendo da condição do indivíduo conforme avaliado através de exame clínico e/ou neurológico;
- (e) administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal, através de injeção caudal;
- (f) administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal através de injeção intratecal ou um cate-

ter de bloqueio subaracnóide;

(g) administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal através de injeção epidural ou cateter epidural;

(h) administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados através de injeção espinhal profunda em qualquer lado da espinha; e

(i) administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados através de infusão intravenosa;

onde as etapas (a) e (b) são realizadas primeiro e as etapas restantes podem ser realizadas em qualquer ordem. Em uma modalidade, a etapa (f) é repetida seguida pela etapa (g), pelo menos uma vez, até que o indivíduo exiba sinais clínicos de recuperação da dita SCI.

A invenção também provê um método para tratamento de um indivíduo com uma doença, distúrbio ou condição compreendendo administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados cultivados em meios livres de produtos animais, células nutrientes, meios condicionados, fatores de crescimento, fator inibidor de leucemia, fator de crescimento de fibroblasto, fator *steel* associado à membrana e fator *steel* solúvel, através de injeção intramuscular ou injeção intravenosa ou injeção epidural ou cateter epidural ou injeção retrobulbar ou injeção subcutânea ou injeção intracardíaca ou injeção intracística ou injeção intratecal ou através de aplicação tópica ou aplicação intralesional. Em uma modalidade, a doença, distúrbio ou condição é uma doença, distúrbio ou condição terminal ou atualmente incurável.

A invenção também provê um método para tratamento de distúrbios do sistema nervoso desenvolvimentais, degenerativos, familiares e traumáticos e ataque cerebrovascular compreendendo administração de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal e progenitores de célula-tronco hematopoiética sozinhos ou em combi-

nação, através de injeção intravenosa, injeção subcutânea, injeção intramuscular, injeção intratecal, infusão por cateter epidural e infusão por cateter de bloqueio subaracnóide.

5 A invenção também provê um método para tratamento de distúrbios de pele compreendendo administração de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética, através de injeção subcutânea ou intravenosa.

10 A invenção também provê um método de tratamento de úlceras de leito compreendendo administração de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados através de aplicação local ou tópica e através de injeção intramuscular.

15 A invenção também provê um método para tratamento de distúrbios auto-imunes compreendendo administração de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética, através de injeção intramuscular, ou injeção intravenosa, ou injeção subcutânea, ou injeção intra-articular ou infusão intravenosa ou suas combinações.

20 A invenção também provê um método para tratamento de distúrbios genéticos compreendendo administração de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal e progenitores de célula-tronco hematopoiética sozinhos ou em combinação, através de injeção intravenosa, injeção subcutânea, injeção intramuscular, injeção intratecal, 25 infusão por cateter epidural ou infusão por cateter de bloqueio subaracnóide ou suas combinações.

30 A invenção também provê um método para tratamento de gangrena compreendendo administração de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados através de injeção intravenosa, injeção intramuscular ou aplicação local na junção de tecido viável e morto ou suas combinações.

A invenção também provê um método para tratamento de condi-

ções associadas com envelhecimento compreendendo administração de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados através de injeção intravenosa, injeção subcutânea, injeção intramuscular ou aplicação local em suspensão ou misturados em um carreador biocompatível tal como um gel, ungüento, matriz, pasta ou *spray* aerossol.

A invenção também provê um método para tratamento de Diabetes Mellitus compreendendo administração de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem células progenitoras de produção de insulina, através de injeção intravenosa ou intramuscular ou suas combinações.

A invenção também provê um método para tratamento de Distúrbios Cardiovasculares compreendendo administração de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética, através de injeção intravenosa, injeção subcutânea, injeção intramuscular, injeção intracardiaca, angiografia ou injeção direta durante cirurgia.

A invenção também provê um método para tratamento de Distúrbios hepáticos e Rim compreendendo administração de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética, progenitores de célula-tronco de produção de albumina e progenitores de célula-tronco de produção de bilirrubina, através de injeção intravenosa, injeção subcutânea, injeção intramuscular, infusão intravenosa ou injeção local.

A invenção também provê um método para o tratamento de Distúrbios de Fertilidade e Reprodutores compreendendo administração de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética, através de injeção intramuscular, injeção intratesticular ou através de injeção na pele subcutânea próximo ao epidídimo.

A invenção também provê um método para o tratamento de Distúrbios Músculo-esqueléticos compreendendo administração de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, onde

as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal e progenitores de célula-tronco hematopoiética sozinhos ou em combinação, através de injeção intravenosa, injeção subcutânea, injeção intramuscular ou infusão por cateter intravenosa.

- 5 A invenção também provê um método para o tratamento de Distúrbios do Olho compreendendo administração de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal, progenitores de célula-tronco hematopoiética e progenitores de célula-tronco mesenquimal sozinhos ou em combinação, através de injeção intravenosa local, injeção subcutânea, injeção intramuscular, injeção retrobulbar, injeção intravítrea ou aplicação tópica. Em uma modalidade, cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados compreendendo progenitores de célula-tronco neuronal são administradas através de injeção retrobulbar. Em
- 10
- 15 outra modalidade, cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados compreendendo progenitores de célula-tronco neuronal são administradas através de injeção intravítrea. Em outra modalidade, cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados compreendendo progenitores de célula-tronco mesenquimal são aplicadas a
- 20 lentes de contato para colocação no olho para o tratamento de abrasão corneana (por exemplo, a lente de contato é cultivada com as células hES e/ou seus derivados para revestir a lente de contato com células e a lente é então posta no olho por cerca de 24 horas).

- A invenção também provê um método para tratamento de Distúrbios do Pulmão compreendendo a administração de 750.000 a 160 milhões de células hES e/ou seus derivados onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética sozinhos ou em combinação com progenitores de célula-tronco neuronal através de injeção intramuscular, injeção intravenosa, *spray* ou nebulizador. Em uma modalidade,
- 25
- 30 750.000 a 160 milhões de progenitores de célula-tronco hematopoiética são administrados através do nebulizador onde 2 ml de solução salina normal são adicionados. Em outra modalidade, 750.000 a 160 milhões de

progenitores de célula-tronco hematopoiética são administrados através de *spray* (baforada).

A invenção também provê um método para o tratamento de Distúrbios Hormonais compreendendo a administração de 750.000 a 160 milhões de células hES e/ou seus derivados onde as ditas células compreendem células-tronco hematopoiéticas e neuronais através de vias intramuscular e intravenosa.

A invenção também provê um método para o tratamento de Úlceras Aftosas e outras úlceras compreendendo a administração de 750.000 a 160 milhões de células hES e/ou seus derivados onde as ditas células compreendem células-tronco hematopoiéticas e neuronais em combinação ou sozinhas através de vias intramuscular e intravenosa.

A invenção também provê um método para o tratamento de Osteoartrite da junta do joelho e quadril compreendendo a administração de 750.000 a 160 milhões de células hES e/ou seus derivados através de injeção intramuscular, intravenosa ou intra-articular. Em uma modalidade, 750.000 a 160 milhões de progenitores de célula-tronco hematopoiética são administradas intra-articularmente.

A presente invenção provê uma metodologia de cultura de célula que é aplicável à cultura de células hES e seus derivados que pode ser usada para transplante em seres humanos sem quaisquer efeitos colaterais tal como formação de teratoma, formação de tumor, problemas antigenicidade ou rejeição enxerto-versus-hospedeiro.

O planejamento da metodologia de cultura é especificamente para a produção de células hES e seus derivados de viabilidade suficiente e de características apropriadas para atividade terapeuticamente ótima após transplante em seres humanos.

Em uma modalidade preferida, a metodologia de cultura de célula é usada para o crescimento, expansão, diferenciação e armazenamento de células hES. Ainda, a invenção refere-se a composições prontas para injetar compreendendo células hES e/ou seus derivados que são armazenados em condições de armazenamento que são adequadas para transplante

direto quando do descongelamento.

Em contraste com as metodologias de cultura de célula existentes para a manutenção de células hES em um estado substancialmente não-diferenciado, o meio de cultura não contém suplementos tal como fator de crescimento de fibroblasto básico, fator de inibição de leucemia, fator *steel* associado à membrana, fator *steel* solúvel, soro, albuminas ou suplementos de albumina, suplementos de aminoácido, suplementos de vitamina, transferrina ou suplementos de transferrina, antioxidantes, insulina ou substitutos de insulina, precursores de colágeno ou substitutos de precursor de colágeno, elementos traço, resíduos de "meios condicionados", produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, combinações minerais suplementares, suplementos de aminoácido e suplementos de vitamina.

Em contraste adicional com outras metodologias de cultura de célula para a expansão de células hES, a prática da presente invenção não leva à formação de corpos embrióides, deste modo evitando a necessidade de operação cirúrgica. Vale a pena notar que neste ponto o produto da invenção sendo um produto totalmente humano, xenotransplante (por exemplo, teste animal) pode não ser necessário. O caso da primeira gestação de fertilização *in vitro* (IVF) é um exemplo de resultado.

Diferente de outras metodologias de cultura de célula, as técnicas de cultura de célula da presente invenção permitem expansão quase ilimitada de células hES sem diferenciação significativa. Uma vantagem principal da presente invenção é que um único embrião é suficiente para prover quantidades terapeuticamente eficazes de células hES e/ou seus derivados para tratar vários pacientes. Então, não há necessidade de procura repetida de embriões humanos e muitas das questões éticas associadas com o uso de embriões humanos podem ser evitadas.

Uma vantagem adicional dos métodos da presente invenção é que as células hES e seus derivados são produtos universalmente aceitáveis em termos imunológicos, então nenhuma reação cruzada de pacientes e células é requerida e nenhuma imunossupressão é necessária.

Um aspecto da invenção refere-se a métodos para isolamento

de células hES compreendendo:

- (a) coleta de um embrião de 2 a 7 dias de vida em meio essencial mínimo,
- (b) isolamento de células hES do embrião através de meios mecânicos.

Um aspecto da invenção refere-se a um método de expansão de células-tronco embriônicas humanas livres de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator inibidor de leucemia, combinações minerais suplementares, suplementos de aminoácido, suplementos de vitamina, fator de crescimento de fibroblasto, fator *steel* associado à membrana, fator *steel* solúvel e meios condicionados, compreendendo as etapas de:

- (a) introdução de células-tronco embriônicas humanas no meio celular consistindo em meio essencial mínimo, progestina e um agonista de β -gonadotropia coriônica humana (β hCG); e
- (b) incubação das células-tronco em uma temperatura de cerca de 34°C a cerca de 38°C em um ambiente de cerca de 3,5% a cerca de 6% de dióxido de carbono por cerca de 12 horas a cerca de 48 horas.

Outro aspecto da invenção refere-se a métodos de cultivo de células hES de modo que elas estão em um estágio anterior ao estágio parcialmente diferenciado e são livres de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator inibidor de leucemia, combinações minerais suplementares, suplementos de aminoácido, suplementos de vitamina, fator de crescimento de fibroblasto, fator *steel* associado à membrana, fator *steel* solúvel e meios condicionados, compreendendo as etapas de:

- (a) introdução de células hES em um meio de cultura de célula consistindo em meio essencial mínimo; e
- (b) incubação das células-tronco em uma temperatura de cerca de 34°C a cerca de 38°C em um ambiente de cerca de 3,5% a cerca de 6% de dióxido de carbono por cerca de 12 horas a cerca de 48 horas.

Outro aspecto da invenção refere-se a um processo de preparação de uma preparação de célula-tronco embriônica humana pronta para uso para transplante humano compreendendo:

(a) obtenção de células-tronco embriônicas humanas livres de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator inibidor de leucemia, combinações minerais suplementares, suplementos de aminoácido, suplementos de vitamina, fator de crescimento de fibroblasto, fator *steel*

5 associado à membrana, fator *steel* solúvel e meios condicionados,

(b) centrifugação das ditas células-tronco para se obter um pélete, e

(c) suspensão do pélete em uma solução biocompatível.

Outro aspecto da invenção refere-se a um método de armazenamento de uma célula-tronco embriônica humana em uma condição viável compreendendo:

(a) obter as células-tronco preparadas através dos métodos da presente invenção,

(b) adicionar um agente de criopreservação, e

15 (c) congelar as células a -4 a -80°C.

O propósito de cultivo de células hES de acordo com a prática da presente invenção é a ausência de tais suplementos para reduzir o risco de introdução de contaminações bacterianas, fúngicas, virais ou outras na cultura. Isto reduz o risco de infecção e variabilidade nas características das células.

20 Um propósito adicional da presente invenção é prover métodos simples, de custo eficaz, escaláveis para a produção e expansão de células hES e seus derivados em uma forma que é livre de quaisquer resíduos de contaminação e é segura para uso em seres humanos.

O propósito da presente invenção é então prover produtos farmacêuticos onde o risco de administração de toda co-contaminação é reduzido, e onde contaminação residual de fatores suplementares é eliminada.

Um propósito adicional da presente invenção é prover uma metodologia de cultura de célula que reduz o risco de aberrações cromossômicas ou instabilidade genética.

30 Um propósito adicional da presente invenção é prover uma metodologia de cultura de célula que reduz o risco de formação de teratoma em pacientes onde a dita cultura é transplantada.

Um propósito adicional da presente invenção é prover uma metodologia de cultura de célula que reduz o risco de formação de tumor em pacientes onde a dita cultura é transplantada.

5 Um propósito adicional da presente invenção é prover uma metodologia de cultura de célula que reduz o risco de problemas de antigenicidade ou problemas de rejeição de enxerto versus hospedeiro em pacientes onde a dita cultura é transplantada.

10 A presente invenção especificamente provê composições compreendendo células hES e seus derivados e um meio biocompatível que estão em uma forma que está de acordo com padrões reguladores internacionais de segurança e qualidade, e então em uma forma que é pronta para injeção em pacientes humanos para propósitos terapêuticos.

15 A presente invenção também provê um produto de fabricação compreendendo uma suspensão de células hES e/ou seus derivados suspensos em uma solução biocompatível e contidos em um recipiente para armazenamento, transporte ou transplante diretamente em um ser humano.

A presente invenção também provê um método para a expansão de células hES e seus derivados.

20 A presente invenção também provê um método para a expansão de células hES e seus derivados e inibição de sua diferenciação.

A presente invenção também provê um método para o cultivo de células hES e seus derivados que os torna terapeuticamente eficazes quando do transplante em um humano que está sofrendo de uma doença, condição ou distúrbio.

25 Descrição Detalhada da Invenção

Definições

30 Na descrição e exemplos que seguem, vários termos são usados aqui. A fim de prover uma compreensão clara e consistente do relatório e reivindicações, incluindo o escopo a ser dado tais termos, as definições que seguem são providas.

Pode ser notado que os termos usados para geralmente descrever a presente invenção são usados de uma maneira a manter seu significa-

do comum conforme compreendido por um versado comum na técnica.

“Célula-tronco embrionica” refere-se a células pluripotentes de seres humanos (isto é, células hES). Em uma modalidade, as células hES são isoladas de um embrião em estágio pré-blastócito. Em outra modalidade, as células hES são preparadas através de desdiferenciação de células pelo menos parcialmente diferenciadas (por exemplo, células multipotentes) e são totipotentes em prática. Métodos de preparação de células hES são bem conhecidos e ensinados, por exemplo, nas Patentes U.S. Nºs 5.843.780, 6.200.806, 7,029.913, 5.453.357, 5.690.926, 6.642.048, 10 6.800.480, 5.166.065, 6.090.622, 6.562.619, 6.921.632 e 5.914.268, Pedido Publicado U.S. Nº 2005/0176707 e Pedido Internacional Nº WO2001085917.

“Células-tronco fetais” refere-se a células-tronco derivadas do tecido fetal, isto é, tecidos de um ser humano em desenvolvimento após implante do embrião no útero.

15 “Multipotente” refere-se a células-tronco que podem produzir apenas células de uma família de células intimamente relacionada.

“Pluripotente” refere-se a células-tronco que são as descendentes de células totipotentes e podem se desenvolver em qualquer tipo exceto células-tronco totipotentes.

20 “Totipotente” refere-se a células-tronco que são produzidas a partir da fusão de uma célula de ovo e espermatozoide. Células produzidas pelas primeiras divisões da célula de ovo fertilizado são também totipotentes. Essas células podem se desenvolver em qualquer tipo de célula sem exceção.

25 “Quantidade terapeuticamente eficaz” é usada no relatório para descrever concentrações ou quantidades de componentes tal como células-tronco embrionicas, células neuroprogenitoras, células neuronais, progenitores de célula-tronco hematopoiética, progenitores de célula-tronco cardíaca ou qualquer derivado de células-tronco, ou outros agentes e suas misturas que são eficazes para produção de um resultado pretendido dentro do contexto de prática de um ou mais aspectos da presente invenção.

30 Os termos “transplantando” e “transplante” são usados no relatório sinonimamente para descrever o processo através do qual células-tronco

embrionicas e/ou seus derivados de acordo com a presente invenção são aplicados ao local dentro do corpo humano onde as células são pretendidas exibir um efeito favorável em conexão com o tratamento ou melhora de uma doença, distúrbio ou condição descrito aqui incluindo, sem limitação, reparo de dano ao sistema nervoso central de um indivíduo, tratamento de uma doença neurodegenerativa ou tratamento dos efeitos de dano ao nervo causado por derrame, doença cardiovascular, um ataque cardíaco ou lesão física ou trauma ou dano genético ou insulto ambiental ao cérebro e/ou cordão espinhal ou órgãos causados por, por exemplo, um acidente ou outra atividade, dano ao fígado, distúrbio auto-imune, disfunção sexual ou reprodutiva, degeneração de várias partes do olho, dano ao rim, etc.

“Solução biocompatível” é usada no relatório para se referir a soluções onde células hES e/ou seus derivados são suspensos para uso no protocolo para transplante ou para quaisquer outros usos subseqüentes. Tais soluções biocompatíveis incluem solução salina e podem ainda compreender outros ingredientes tal como preservativos, antimicrobianos e similar e outros agentes farmacêuticos.

“Carreador biocompatível” é usado no relatório para se referir a carreadores sólidos, soluções e misturas onde as células hES e/ou seus derivados são suspensos para uso no protocolo para tratamento tópico, transplante ou para quaisquer outros usos subseqüentes. Tais carreadores biocompatíveis incluem géis, unguentos, pastas e *sprays* aerossóis.

“Recipiente biocompatível” é usado no relatório para se referir a recipientes (por exemplo, recipientes de cultura de célula ou armazenamento) onde as células hES e/ou seus derivados são postos e que não previnem as células de serem usadas em transplante, isto é, não contaminam as células com componentes que não podem ser administrados a indivíduos. Exemplos de materiais de recipiente biocompatíveis incluem sem limitação vidro, aço inoxidável e poliestireno.

Uma “progestina” é qualquer hormônio natural ou sintético tendo atividade do tipo progesterona, isto é, tendo pelo menos 25% da atividade de progesterona em um de qualquer ensaio conhecido para atividade biológica.

Exemplos incluem sem limitação progesterona, didrogesterona, medroxiprogesterona, noretisterona, levonorgestrel, norgestrel, gestodeno e drospirenona. Exemplos de outras progestinas são revelados nas Patentes U.S. N^{os} 7.091.234, 7.084.151, 7.081.457, 7.071.205, 6.562.857, 6.319.911, 6.245.757, 6.043.235 e 6.028.064.

“Agonistas de gonadotropina coriônica β -humana (β hCG)” são definidos como qualquer β hCG de ocorrência natural ou sintética ou fragmento ou derivado dela tendo pelo menos 25% da atividade de β hCG natural em um de qualquer ensaio conhecido para atividade biológica. Exemplos de agonistas de β hCG incluem sem limitação β hCG e aqueles revelados nas Patentes U.S. N^{os} 6.635.445, 6.585.982, 6.583.109, 6.469.139 e 5.997.871.

“Meio essencial mínimo” é usado no relatório para se referir a um meio de cultura de célula compreendendo aminoácidos, sais, glicose e vitaminas. Exemplos incluem RPMI, DMEM, EMEM e GMEM.

“Nebulização” significa a administração de um fármaco ou substância aos pulmões através do nebulizador.

Intra-articular significa administração ao espaço intra-articular.

Retrobulbar significa administração ao espaço retrobulbar.

Infusão intravenosa significa administração à veia usando um fluido iv compreendendo o produto ou fármaco.

Injeção “epidural” ou infusão por cateter significa administração à região fora da dura mater das meninges.

Injeção “intratecal” ou infusão por cateter significa administração à camada mais interna das meninges, isto é, a matéria araquinóide no fluido cérebro espinhal, que está em contínuo com o cérebro.

Injeção “caudal” significa administração através da membrana sacral, que está aproximadamente três centímetros acima da ponta do cóccix que é contínuo com o espaço epidural.

“Injeção espinhal profunda” significa injeção nos músculos espinhais eretores em qualquer lado da espinha.

Injeção “intramuscular” significa administração entre as folhas do músculo.

Injeção “intravenosa” significa administração dentro de uma veia.

“SCI aguda” significa até três meses após a data da SCI.

“SCI subaguda” significa de três meses após a data da SCI até nove meses após a data da lesão.

5

“SCI crônica” mais de nove meses após a data da SCI.

“Derivados” de células hES incluem células-tronco multipotentes, células-tronco pluripotentes, células-tronco adultas e células-tronco específicas de tecido e não incluem células completamente diferenciadas. Exemplos de células-tronco específicas de tecido podem ser encontrados na tabela que segue.

10

Tipo de Célula	Número da Patente
Célula-tronco derivada adiposa	6.777.231
Células-tronco epiteliais da mama	5.814.511
Células-tronco endoteliais	6.852.533
Células progenitoras do gânglio da raiz dorsal	6.835.567
Células progenitoras hematopoiéticas CD34 ⁺ , CD7 ⁺ , Lin ⁻ , Lin ⁻ , CD45RA ⁺	6.537.807
Células-tronco hematopoiéticas Thy-1 ⁺	5.061.620
Células-tronco hematopoiéticas Thy-1 ⁺ , CD34 ⁺	5.750.397
Células-tronco hematopoiéticas CD34 ⁺ , CD38 ⁺ , HLA-DR ⁺	5.840.580
Células linfóides e dendríticas hematopoiéticas CD34 ⁺ , CD45RA ⁺ , CD10 ⁺ ; Células dendríticas hematopoiéticas CD34 ⁺ , CD45RA ⁺ , CD10 ⁺	5.972.627
Células-tronco hematopoiéticas c-kit ⁻ , Thy-1 ⁻	5.876.956
Células-tronco hematopoiéticas CD34 ⁺	5.681.559
Células-tronco hematopoiéticas HCC-1 ⁺	5.677.136
Células progenitoras hematopoiéticas CD34 ⁺ , lectina específica de galactose ⁺	5.858.782
Células-tronco hematopoiéticas (quiescentes) CD34 ⁺	5.807.686
Células-tronco de queratinócito	6.485.971
Células-tronco do fígado Não expressam OC2	6.129.911

Tipo de Célula	Número da Pa- tente
	6.872.389
Células-tronco progenitoras linfematopoiéticas	5.256.560
My10 ⁻	6.908.763
Células progenitoras linfóides	6.913.925
Células progenitoras neurais do mesencéfalo	6.387.367
Células-tronco mesenquimais CD45 ⁺	5.486.359
Células-tronco mesenquimais	5.827.735
Células-tronco mesenquimais	5.908.782
Células-tronco mesenquimais	6.936.281
Células-tronco mesenquimais	6.908.764
Células-tronco mesenquimais	6.416.999
Células epiteliais pluripotentes derivadas do duto mulleriano	6.465.247
Células progenitores mielóides c-kit ^{hi} , IL-7Rα ⁻	6.761.883
Células progenitores mielóides Thy-1 ⁻ , IL-7Rα ⁻	5.753.505
Células progenitoras neurais	5.851.832
Células-tronco neurais	6.251.669
Células progenitoras neuronais	6.969.608
Células-tronco neuronais	6.852.532
Células progenitoras neuronais que não expressam uma proteína Hu	6.734.015
Células precursoras neuronais restritas à linhagem E-NCAM ⁺	7.037.703
Células-tronco neuroepiteliais	5.968.829
Células-tronco neurais do sistema nervoso central	6.812.027
Células progenitores neuronais	6.913.925
Células progenitoras neurais	6.787.353
Células precursoras restritas a neurônio do sistema nervoso central	5.411.883
Células progenitoras de neurônio do mesencéfalo ventral	
Células-tronco da crista neural	5.589.376

Tipo de Célula	Número da Patente
Células multipotentes da crista neural contendo proteína RET	6.890.724
Células precursoras de neutrófilo	5.955.357
Células progenitoras pancreáticas	6.436.704
Células progenitoras da ilhota pancreática Expressam ErbB2	6.753.153
Células pluripotentes	5.914.268
Células pluripotentes transformadas com um gene HOX11	5.874.301
Células progenitoras do sangue periférico	5.541.103
Células-tronco renais	6.410.320
Células-tronco renais	6.458.588
Células-tronco retinais	6.117.675
Células progenitoras esqueléticas	6.517.872
Células-tronco FGFR ⁺ , não células ES	6.767.737
Células-tronco que dão origem a células sanguíneas CD34 ⁺ , MHC-I ⁺ , MHC-II ⁺	5.744.347
Células progenitoras de linhagem T CD8 ^{int} , CD4 ^{int} , c-kit ^{hi} , high bcl-2; CD8 ^{lo} , CD4 ^{lo} , c-kit ^{hi} , high bcl-2	5.821.108
Células precursoras de linfócito T C34 ⁺ , CD7 ⁺ , Leu 8 ⁺	5.622.853

A presente invenção refere-se a composições farmacêuticas compreendendo células hES e/ou seus derivados, as ditas células-tronco sendo livres de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator inibidor de leucemia, combinações minerais suplementares, suplementos de aminoácido, suplementos de vitamina, fator de crescimento de fibroblasto, fator *steel* associado à membrana, fator *steel* solúvel e meios condicionados, para uso no tratamento clínico de doenças, condições ou distúrbios atualmente incuráveis ou terminais. Em outra modalidade, a invenção refere-se a um método de tratamento de condições atualmente incuráveis ou terminais usando células hES e/ou seus derivados através de um protocolo de transplante.

A frase "livre de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator inibidor de leucemia, combinações minerais suplementares,

res, suplementos de aminoácido, suplementos de vitamina, fator de crescimento de fibroblasto, fator *steel* associado à membrana, fator *steel* solúvel e meios condicionados” não exclui as quantidades traço de progestina e agonista de β hCG que podem estar presentes na composição farmacêutica como um resultado dos métodos de cultura da presente invenção. O termo “produtos animais” refere-se a qualquer produto não-humano.

Em outra modalidade, o processo da presente invenção provê um método simples, seguro, amplamente aplicável reproduzível e eficiente para transplante de uma composição farmacêutica compreendendo células hES e/ou seus derivados em uma forma pronta para uso e sendo livre de células nutrientes e qualquer outra contaminação. Essas células podem ser derivadas de qualquer metodologia de cultura e transplantadas no corpo humano sem importar o antecedente genético do paciente, idade, raça e gênero e sem reação anticorpo-antígeno ou rejeição enxerto-hospedeiro, sem a formação de teratomas ou tumores, ou outros efeitos colaterais debilitantes, sem o resultado de enervações aberrantes e sem a necessidade de administração de imunossuppressores para o tratamento de uma variedade de doenças, condições e distúrbios.

Em contraste com outros métodos conhecidos, as células hES usadas na preparação das composições farmacêuticas da presente invenção são cultivadas em um meio de cultura que é livre de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator inibidor de leucemia, combinações minerais suplementares, suplementos de aminoácido, suplementos de vitamina, fator de crescimento de fibroblasto, fator *steel* associado à membrana, fator *steel* solúvel e meios condicionados, e então não têm qualquer tipo de contaminação que possa interferir com a segurança ou eficácia do uso clínico pretendido.

De acordo com a prática da invenção, células hES e/ou seus derivados são introduzidos no corpo humano através de injeção intramuscular, intravenosa, caudal, intravítrea, intraatrial, intraparenquimal, intratecal, epidural, retrobulbar, subcutânea, oral, intracardíaca, intracística, intra-articular ou intratecal ou cateter epidural, cateter de bloqueio subaracnóide, infusão

intravenosa, através de nebulizador, através de *spray*, através de vias intravaginais e/ou através de gotas para o olho e ouvido. Em outra modalidade, as células hES e/ou seus derivados são administrados topicamente ou intralesionalmente.

- 5 Cada via de administração usa um volume particular para injeção e então uma faixa específica de células das soluções de estoque de células hES e/ou seus derivados conforme indicado na Tabela 1. Onde tipos de célula são indicados (por exemplo, nas tabelas de programa de injeção abaixo), o tipo de célula indicado é o tipo que está predominantemente presente na população de célula.
- 10

TABELA 1

Via de administração	Volume	Número de célula
intramuscular	0,25 ml	750.000-1,5 milhão
intravenosa	0,25 ml	750.000-1,5 milhão
subcutânea	0,25 ml	750.000-1,5 milhão
caudal	2 ml	6-16 milhões
epidural	2 ml	6-16 milhões
intratecal	2 ml	6-16 milhões
intra-articular	2 ml	6-16 milhões
retrobulbar	2 ml	6-16 milhões
cateter epidural	4-5 ml	6-16 milhões
infusão intravenosa	0,75 ml	2,25-4,5 milhões
nebulizador	2 ml	6-16 milhões
intravaginal	2 ml	6-16 milhões

- Entre o laboratório e o último ponto de uso, seja ele um clínico ou outro lugar, as composições farmacêuticas devem ser mantidas em armazenamento frio. Em uma modalidade, as composições farmacêuticas são armazenadas em cerca de +4 a cerca de -160°C. Em outra modalidade, as composições farmacêuticas são armazenadas em cerca de -15 a cerca de -72°C, por exemplo, cerca de -20 a cerca de -40°C.
- 15

Em uma modalidade, as células hES usadas na presente invenção são isoladas de um embrião excedente, descartado de um ciclo de ferti-

lização *in vitro* natural e doado através de consentimento informado. Em uma modalidade alternativa, células-tronco fetais pluripotentes, tal como aquelas descritas no Pedido Publicado U.S. Nº 2005/0124003 isoladas de vilosidades coriônicas, fluido amniótico e/ou placenta, são usadas na presente invenção.

A presente invenção provê um método para tratamento de uma variedade de doenças, condições e distúrbios incluindo, mas não limitado a, câncer, derrame, distúrbios genéticos, distúrbios hepáticos, distúrbios do sistema nervoso, distúrbios vasculares, doenças e distúrbios de pele, distúrbios auto-imunes, distúrbios do olho, distúrbio do rim, distúrbios cardíacos, distúrbios músculo-esqueléticos, distúrbios reprodutivos e de fertilidade e artrite usando células hES e/ou seus derivados.

Exemplos não-limitantes de cânceres que podem ser tratados de acordo com a presente invenção incluem tumor do cordão espinhal, câncer de mama, câncer de próstata, linfoma, câncer de pele, câncer pancreático, câncer de colo, melanoma, melanoma maligno, câncer ovariano, câncer cerebral, carcinoma de cérebro primário, câncer da cabeça-pescoço, glioma, glioblastoma, câncer de fígado, câncer de bexiga, câncer pulmonar de célula não-pequena, carcinoma de cabeça ou pescoço, carcinoma de mama, carcinoma ovariano, câncer cervical, lesões metastáticas, carcinoma de pulmão, carcinoma de pulmão de célula pequena, tumor de Wilm, carcinoma cervical, carcinoma testicular, carcinoma de bexiga, carcinoma pancreático, carcinoma de estômago, carcinoma de colo, carcinoma prostático, carcinoma genitourinário, carcinoma da tireóide, carcinoma esofageal, mieloma, mieloma múltiplo, carcinoma adrenal, carcinoma de célula renal, carcinoma endometrial, carcinoma do córtex adrenal, insulinoma pancreático maligno, carcinoma carcinóide maligno, carcinosarcoma, hipercalemia maligna, hiperplasia cervical, leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crônica, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crônica, leucemia granulocítica crônica, leucemia granulocítica aguda, leucemia de célula pilosa, neuroblastoma, rabdomiossarcoma, sarcoma de Kaposi, policitemia vera, trombocitose essencial, doença de Hodgkin, linfoma de não-Hodgkin, sarcoma de

tecido mole, sarcoma osteogênico, macroglobulinemia primária e retinoblastoma.

Em uma modalidade, as células hES não são tratadas com um agente de diferenciação uma vez que, sendo embrionárias, as células são programadas, e uma vez administradas ao indivíduo, as células migram para o local da lesão. No local, as células diferenciam em resposta a sinais de diferenciação *in vivo*. No local da lesão, as células hES e seus derivados não proliferam indefinidamente, deste modo necessitando de um programa de injeções repetidas. O fato de que as células hES e seus derivados não proliferam indefinidamente elimina a possibilidade de tumorigenicidade e formação de teratoma.

Após tratamento com células hES e/ou seus derivados de acordo com a prática da presente invenção, o paciente deve descansar e adotar um regime severo de abstinência de ingestão de qualquer substância tal como álcool ou tabaco que pode prejudicar funcionamento celular e impedir o processo de degeneração disparado pela migração das células hES e seus derivados para o local da lesão. O paciente deve evitar tomar quaisquer medicações que sejam conhecidas ser prejudiciais durante a gravidez, uma vez que as medicações podem ter efeitos adversos sobre as células transplantadas.

Uso de células hES e seus derivados no tratamento de SCI

No momento não há quaisquer curas eficazes para o tratamento de SCI incluindo Dano ao Cordão Espinhal Agudo, Dano ao Cordão Espinhal Subagudo ou Dano ao Cordão Espinhal Crônico, que frequentemente resulta em paraplegia, tetraplegia e quadriplegia. O transplante de células hES para o tratamento de SCI apresenta uma oportunidade única de se endereçar a uma necessidade médica não-satisfeita e drasticamente melhorar a vida de milhões de pessoas em todo o mundo que sofrem de consequências de SCI. Ganho novamente de funções perdidas dos sistemas nervosos central e autônomo através de transplante de células hES e seus derivados em um estado substancialmente progenitor vai permitir a recuperação de cursos parassimpáticos, simpáticos, motores, autônomos e sensoriais através da repo-

sição de função de célula perdida, regeneração de células neurais perdidas, remoção das barreiras físicas tal como tecido de cicatriz, bloqueio de cursos de sinalização de inibição e a liberação de fatores neurotróficos dos progenitores de célula hES transplantadas.

5 Dentre os benefícios de restauração de função neurológica através do transplante de células hES de acordo com a prática da presente invenção estão: uma melhora na função motora e sensória, a qualidade de vida geral, redução no sistema de apoio geralmente provido por parentes, diminuição na dependência de outras composições farmacêuticas e outros
10 dispositivos e auxiliares médicos, melhora no estado mental e psicológico e também em independência econômica. Há uma redução em custos de equipamento médico e auxiliares de incapacidade e dependência de medicação através de uma recuperação das funções parassimpática, simpática, sensória e motora. Há um aumento na auto-suficiência, melhora no estado social,
15 estado marital e habilidade em exercer direitos reprodutivos, com apenas um número limitado de visitas clínicas por ano para tratamento. Tratamento através da administração de células hES e seus derivados de acordo com a presente invenção não leva a problemas de antigenicidade, formação de tumor, formação de teratoma ou conexões neurais aberrantes.

20 Também, administração de células hES e seus derivados especialmente a indivíduos SCI resulta na cura de úlceras de leito, redução em sua necessidade de hipertensivos ou antidepressivos, restauração da sensação e controle da bexiga, restauração da sensação do intestino e sensação de dor e toque; restauração de reflexos perdidos; redução em sintomas
25 de suores frios; redução na sensação de tontura; normalização da pressão sanguínea e normalização de respiração com envolvimento diafragmático completo.

Um procedimento para administração de células hES a pacientes sofrendo de Dano ao Cordão Espinhal Subagudo ou Dano ao Cordão
30 Espinhal Crônico e para os quais mecanismos de recuperação naturais falharam é dado em detalhes abaixo. Um procedimento diferente para o tratamento de SCI Aguda como uma primeira linha de tratamento dentro de três

meses da lesão de acordo com a prática da presente invenção é também provido em detalhes abaixo.

A dosagem terapeuticamente eficaz, o programa de administração e via de administração de células hES a serem administradas dependem principalmente de três fatores; a saber tipo de distúrbio, estado clínico do paciente e a severidade dos sintomas presentes. Durante a prática da presente invenção foi verificado que dosagens e programas terapeuticamente eficazes não são dependentes da idade, gênero, peso do corpo ou raça. O protocolo para cada paciente é individualmente estabelecido com base em um processo progressivo de avaliação do paciente.

Em uma modalidade da prática da presente invenção, uma composição farmacêutica contendo células hES e/ou seus derivados é administrada a um indivíduo que está sofrendo de um distúrbio ou condição terminal atualmente incurável ou outro distúrbio clínico conforme referido acima através de uma série de injeções a fim de tratar o distúrbio.

Várias modalidades para o tratamento de distúrbios clínicos e condições terminais de acordo com a presente invenção serão agora descritas com referência aos exemplos que seguem.

Tratamento, dosagem, programa, vias de administração, avaliação e acompanhamento de pacientes sofrendo de SCI

Em uma modalidade, células hES e/ou seus derivados são administrados a um indivíduo que sofreu de uma SCI há mais de três meses (SCI Subaguda ou Crônica) através de uma série de injeções a fim de tratar o distúrbio. Em outra modalidade, os derivados de hES são células-tronco progenitoras hematopoiéticas. Em outra modalidade, derivados de hES são células-tronco progenitoras neuronais.

Dose de Teste

Em uma modalidade, cerca de 750.000 a cerca de 80 milhões de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem células-tronco progenitoras hematopoiéticas e células-tronco progenitoras neuronais, diluídas em solução salina normal estéril para um volume final de cerca de 0,25 a cerca de 1,0 ml são testadas quanto à contaminação

e viabilidade e quanto à contagem usando protocolos padrão e em seguida são administrados através de injeção subcutânea como uma dose de teste no antebraço. Observações são feitas para checar quanto a choque anafilático, dor ou inflamação no local da injeção, coceira generalizada, rubor ou febre após cinco minutos, dez minutos, quinze minutos, trinta minutos, uma hora e vinte e quatro horas. Em uma modalidade, a proporção de células hES para células-tronco progenitoras hematopoiéticas e células-tronco progenitoras neuronais varia de a partir de cerca de 4:1 a cerca de 1:4. Em outra modalidade, a proporção é cerca de 1:1.

10 Dose de Iniciação

O protocolo confere a administração de uma injeção inicial subcutânea, intramuscular e/ou intravenosa de uma composição farmacêutica contendo cerca de 750.000 a cerca de 80 milhões de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem células-tronco progenitoras hematopoiéticas e células-tronco progenitoras neuronais, ressuspensas em um volume de cerca de 0,25 ml a cerca de 1,0 ml de solução salina normal estéril. A injeção inicial é administrada através de uma injeção de uma composição farmacêutica contendo o mesmo número de células hES e seus derivados diariamente por uma semana a 10 dias.

20 Injeção epidural e cateter epidural

Cerca de 750.000 a 80 milhões de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem células-tronco progenitoras neuronais, suspensas em um volume de 2 ml de solução salina normal estéril e diluídas mais para 5 ml a 40 ml de solução salina normal estéril, são administradas através de injeção epidural ou cateter epidural acima ou abaixo do local da lesão duas vezes por dia durante um período de três dias consecutivos, sete a dez dias após a primeira injeção inicial. Administração através de injeção epidural/cateter epidural é repetida acima ou abaixo do local da lesão de acordo com o progresso clínico na melhora de sintomas apresentados pelo paciente e a opinião do médico. Foi também observado que se o paciente for deitado de costas após a injeção epidural, melhora sensória é substancial e se ele foi deixado na posição de face para

baixo, a melhora motora é substancial. Em ambos casos, o paciente tem que ter as pernas mantidas em uma posição elevada.

Intratecal

5 Cerca de 750.000 a 11 milhões de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal, suspensas em 2 ml de solução solução salina normal e diluídas mais por 2 ml de solução solução salina normal estéril para um volume total de 4 ml, são administradas através de injeção intratecal acima ou abaixo do local de lesão em períodos de dois, cinco, oito, doze, dezessete e vinte e
10 dois meses após o início das injeções iniciais.

 Em uma modalidade, o tratamento de SCI é continuado através da administração de células através de injeção epidural através de cateter acima ou abaixo do local da lesão, por exemplo, quinze dias após a lesão. Em uma modalidade, uma suspensão de cerca de 750.000 a 80 milhões de
15 células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal, em um volume de 2 ml de solução solução salina normal estéril e então diluídas mais em 15 ml a 40 ml de solução solução salina normal estéril é injetada. Este tratamento pode ser repetido um mês e meio depois.

20 Injeção espinhal profunda

 De acordo com o progresso observado em reversão de sintoma, injeções de reforço adicionais da composição farmacêutica podem ser administradas compreendendo cerca de 750.000 a cerca de 80 milhões de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem ambas
25 células-tronco hematopoiéticas e células-tronco progenitoras neuronais, suspensas em um volume de 0,25 ml a 1,0 ml de solução solução salina normal estéril. Em uma modalidade, a composição farmacêutica é administrada através de injeção espinhal profunda na parte traseira da espinha semanalmente ou semana-sim-semana-não. Este tratamento vai fortalecer os
30 músculos das costas e aumentar a reabilitação física uma vez o paciente tendo novamente ganho mobilidade.

Injeção caudal

De acordo com a prática da presente invenção, uma composição farmacêutica de cerca de 750.000 a cerca de 80 milhões de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal, ressuspensos em 2 ml de solução salina e diluídos em 10 ml sozinhos ou em combinação com até 20 ml de DEPOMEDROL (acetato de metilprednisolona) são administrados através de injeção caudal. Este tratamento vai fortalecer os músculos da região lombar e permitir ganho novamente de força sensória e motora nas áreas lombar e sacral.

Em adição a transplante em progresso de células hES, a recuperação do paciente é auxiliada pela fisioterapia diária e uma reeducação em seu uso de função motora perdida e instrução em manter um estilo de vida saudável que promova processos de função celular e regeneração celular.

Administração local

Em adição ao tratamento direto de SCI usando células hES e/ou seus derivados de acordo com a prática da presente invenção, úlceras de leito que surgem como um resultado de imobilização a longo prazo do paciente podem ser tratadas rapidamente e eficazmente através da aplicação tópica de uma composição farmacêutica contendo células hES e/ou seus derivados.

Tratamento de úlceras de leito pode ser conseguido através da aplicação tópica de uma composição farmacêutica contendo cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem células progenitoras hematopoiéticas. Doses de carregamento ou iniciais são dadas através de injeções intravenosa e intramuscular para permitir cicatrização interna bem como promover neovascularização. Alternativamente, as células hES e seus derivados são ressuspensos em 2 ml de solução salina, diluídos com 2 a 4 ml de solução salina e aplicados intralesionalmente.

Infusão intravenosa

De acordo com a prática da presente invenção, uma composi-

ção farmacêutica compreendendo 750.000 a 80 milhões de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem células-tronco hematopoiéticas e neuronais, é ressuspensa em 100 ml de solução salina normal e administrada através da via intravenosa. Este tratamento assegura
5 um fluxo contínuo de células tronco para o corpo e pode ser especialmente útil se as outras vias diretas não foram acessíveis devido a qualquer razão, por exemplo, uma úlcera de leito no local, paciente muito debilitado, etc.

Protocolo para tratamento de SCI Aguda

Intervenção rápida no tratamento de SCI Aguda aumenta bastante as chances de sobrevivência do paciente. Ainda, intervenção rápida no
10 tratamento de qualquer doença, condição ou distúrbio incurável através de prática da presente invenção aumenta as chances de recuperação. Em uma modalidade adicional da presente invenção, pacientes sofrendo de SCI Aguda por menos do que três meses após lesão espinhal podem ser também
15 tratados com sucesso conforme descrito em detalhes abaixo. Uma composição farmacêutica de células hES e/ou seus derivados junto com um programa de fisioterapia, reabilitação e reeducação eficaz de acordo com a prática da presente invenção é uma primeira linha de tratamento eficaz para SCI Aguda.

20 Tratamento de SCI Aguda compreende todas as etapas usadas para tratamento de SCI Subaguda e Crônica mais duas etapas adicionais. Durante a intervenção inicial para SCI imediatamente após a lesão acontecer (por exemplo, cirurgia), células hES e/ou seus derivados são administrados diretamente ao local da lesão. Tratamento de acompanhamento com
25 preende duas injeções intratecais e uma injeção epidural dentro de três meses da lesão.

Avaliação e observações clínicas

Para pacientes que perderam a função motora em suas pernas por um período de tempo prolongado, enquanto sendo tratados de acordo
30 com a presente invenção, programas para sua reeducação em andar e outra terapia física devem ser implementados conforme a função motora retorna para suas pernas. Como uma primeira etapa em tais programas, o uso de

andadores e *caliper* provou ser eficaz na reeducação. Um programa adicional de musculação dos braços e corpo superior deve ser implementado a fim de que o paciente seja capaz de apoiar o peso do seu corpo sem auxílio no andar. Os programas de reeducação podem ser reduzidos conforme o tratamento contínuo e a condição do paciente melhora.

Em adição à redução na necessidade de apoio de dispositivo médico e terapia física, por causa das melhoras nos sintomas simpáticos e parassimpáticos do paciente, através de tratamento de acordo com a prática da presente invenção, há uma redução na necessidade de medicações, incluindo medicação de flutuação de pressão sanguínea, medicação de depressão, medicação de úlcera de leito, medicação e dispositivos médicos para complicações do intestino e bexiga, medicações e bombas antiespasticidade.

Em adição à redução na necessidade de medicações para o tratamento de sintomas diretamente ou indiretamente associados com a SCI, é observado que diabéticos com SCI e tratados de acordo com a presente invenção mostram uma redução na necessidade de suas medicações antidiabéticas.

Avaliação clínica da progressão na melhora dos sintomas apresentados pelo paciente sofrendo de SCI e tratados de acordo com a presente invenção é monitorada regularmente durante o curso do tratamento e após remissão. Vários parâmetros fisiológicos, simpáticos, parassimpáticos, motores, autônomos e psicológicos são avaliados a fim de avaliar a eficácia da técnica na reversão dos sintomas de SCI e esses são descritos em detalhes abaixo.

Um exame dos registros dos médicos de consulta, incluindo descrição de sintoma, local de categorização de lesão, progressão de sintoma, intervenção clínica, tratamentos e história geral da lesão é feito. Com base neste exame e em um exame completo do paciente, incluindo uma Imagem de Ressonância Magnética (MRI), Eletromiografia (EMG), varredura da Velocidade de Condução do Nervo (NCV) e outro exame neurológico e investigações incluindo um exame neurológico para avaliar a extensão do dano e obter um registro da lesão antes do tratamento, metodologias para a

descrição semiquantitativa de melhora após transplante de acordo com as práticas da presente invenção são feitas e são descritas em detalhes abaixo.

Parâmetros simpáticos e bem-estar neurológico incluindo o estado mental do paciente, seja deprimido ou outro, características comportamentais, função do nervo craniano e comportamento geral como parte de uma avaliação psicológica são registrados.

Uma avaliação de sinais e sintomas ligados ao dano neurológico no local da lesão e funcionamento do sistema nervoso autônomo é feita. Isto inclui um exame neurológico, teste da habilidade em sentir pressão profunda, sensação de toque, sensação, equilíbrio, habilidade em sentir dor, habilidade em sentir mudança em temperatura, movimentos involuntários, presença de suores frios, tontura, pressão sangüínea, dificuldade em respirar, postura anormal enquanto deitado e habilidade em se sentar sem auxílio.

Uma avaliação de funcionamento de bexiga e intestino é feita. Isto inclui controle da bexiga, corrente da bexiga e sensação de bexiga cheia, controle do intestino, tempo para evacuação do intestino e sensação no intestino.

Uma avaliação da função motora do corpo superior é feita a fim de avaliar a extensão de dano ao sistema nervoso central. Isto inclui movimento do ombro, movimento do pulso e dedo, reflexos do tendão e resistência de movimento do membro, atrofia muscular e ação de agarrar com a mão.

Uma avaliação da função motora do corpo inferior é feita a fim de avaliar a extensão de dano ao sistema nervoso central. Isto inclui movimento da cintura, movimento do joelho, movimento do dedo, reflexos do tendão e resistência do membro, atrofia muscular e resposta plantar. Um exame neurológico detalhado é também conduzido em intervalos regulares durante o tratamento a fim de monitorar o progresso de enervação do membro.

Para auxiliar recuperação do paciente durante o curso de visitas clínicas, técnicas de terapia física padrão são usadas a fim de tonificar o paciente conforme a função motora retorna, de modo que eles podem recuperar o uso de seus membros e juntas e se tornar mais móveis.

Prova de regeneração neural é demonstrada através da restau-

ração de função neurológica e avaliação neurológica. Exemplos para o protocolo de tratamento para SCI foram providos como estudos de caso no presente pedido.

Tratamento de Distúrbios Desenvolvidos do Sistema Nervoso

5 Células hES e/ou seus derivados de acordo com a prática da presente invenção são administrados em uma quantidade de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células para o tratamento de distúrbios desenvolvimentais tal como Autismo e Retardo Mental. Em outra modalidade, cerca de 750.000 a cerca de 80 milhões de célula são administradas a-
10 través de vias intramuscular ou intravenosa após uma dose de teste. A via intratecal pode também ser usada. Em uma modalidade adicional, transplante intracraniano pode ser também usado. As células hES e/ou seus derivados são predominantemente células progenitoras neuronais. Em outra modalidade, células progenitoras hematopoiéticas e neuronais são administra-
15 das através de via intravenosa ou intramuscular. Este tratamento continua durante um período de um ano começando com injeções diárias através de via intramuscular ou intravenosa por um período de 3 meses. Então as mesmas injeções continuam uma vez por semana pelos próximos 3-6 meses e então uma vez a cada duas semanas pelos próximos 3 meses e então
20 uma vez por mês de acordo com as observações do médico. A injeção intratecal é incluída no protocolo apenas 6-8 meses após o início do tratamento e então apenas se o paciente não estiver mostrando nenhuma resposta às injeções intramusculares e intravenosas. Em outra modalidade da presente invenção, 750.000 a 80 milhões de células hES e/ou seus derivados são
25 ressuspensos em 100 ml de solução solução salina normal e administradas através de infusão intravenosa.

EXEMPLO 1:

Um paciente diagnosticado com Autismo com tremores não-controlados, estado de hiperatividade, quaisquer habilidades sociais, ne-
30 nhum contato no olho, movimentos de *tremor (pin rolling)*, incapacidade em seguir instruções, nenhuma vontade de aprender, mostrou melhora após a administração de uma composição farmacêutica compreendendo células

hES e seus derivados incluindo progenitores de célula-tronco neuronal e progenitores de célula-tronco hematopoiética.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 2. Para esta tabela e todas as tabelas seguintes com relação a programas de injeção, o indicador de tipo de célula "neuronal" refere-se a uma população de células hES que foram parcialmente diferenciadas em um meio (por exemplo, DMEM) que promove diferenciação em células-tronco progenitoras neurais. A população de célula compreende células hES e células-tronco que são predominantemente células-tronco progenitoras neuronais. O indicador "não-neuronal" refere-se a uma população de célula de células hES que foram parcialmente diferenciadas em um meio (por exemplo, RPMI) que promove diferenciação em células-tronco progenitoras outras que não células-tronco progenitoras neuronais. A população de célula compreende células hES e várias células-tronco que são predominantemente células-tronco progenitoras não-neuronais.

TABELA 2

Data	Via de administração	Tipos de célula
13/03	dose de teste	não-neuronal
14/03	im	neuronal
16/03	im	neuronal
17/03	im	neuronal
18/03	im	neuronal
20/3	im	neuronal
21/3	im	neuronal
22/3	im	neuronal
23/3	im	não-neuronal
24/3	im	neuronal
27/3	im	neuronal
28/3	im	não-neuronal
29/3	im	não-neuronal
30/3	im	não-neuronal
31/3	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
3/4	im	neuronal
4/4	im	neuronal
5/4	im	neuronal
6/4	im	neuronal
7/4	im	neuronal
11/4	im	neuronal
12/4	im	neuronal
13/4	im	neuronal
14/4	im	neuronal
17/4	iv	neuronal
19/4	im	neuronal
21/4	iv	neuronal
24/4	im	neuronal
25/4	im	neuronal
28/4	iv	neuronal
1/5	iv	neuronal
3/5	iv	neuronal
5/5	im	neuronal
8/5	iv	neuronal
10/5	im	neuronal
12/5	im	neuronal
15/05	iv	neuronal
17/5	im	neuronal
29/5	im	neuronal
31/05	iv	neuronal
2/6	iv	não-neuronal
5/6	im	neuronal
7/6	iv	neuronal
9/6	iv	não-neuronal
12/6	iv	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
14/6	infusão iv	neuronal
16/6	im	neuronal
19/6	im	não-neuronal
21/6	im	neuronal
23/6	iv	neuronal
3/7	iv	neuronal
5/7	infusão iv	neuronal
7/7	im	não-neuronal
10/7	im	não-neuronal
12/7	im	neuronal
14/7	im	neuronal
17/7	infusão iv x2	neuronal
18/7	im	não-neuronal
20/7	im	não-neuronal
24/7	im	não-neuronal
28/7	im	não-neuronal
31/7	im	não-neuronal
2/8	im	não-neuronal
4/8	im	não-neuronal
7/8	im	não-neuronal
10/8	im	não-neuronal
11/8	im	não-neuronal
14/8	im	não-neuronal
18/8	im	não-neuronal
21/8	im	neuronal
32/8	im	neuronal
28/8	im	neuronal
30/8	im	neuronal
1/9	im	neuronal
4/9	im	neuronal

Tratamento de Distúrbios do Sistema Nervoso Degenerativos

- Células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal e progenitores de célula-tronco hematopoiética de acordo com a prática da presente invenção, são
- 5 administrados em uma quantidade de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células para o tratamento de Distúrbios do Sistema Nervoso Degenerativo incluindo, mas não limitado a, Degeneração Cortico-Basal, Atrofia Olivo Ponto Cerebelar, Mal de Alzheimer, Doença de Parkinson, Esclerose Múltipla, Demência, Atrofia do Nervo Auditivo e Doença do Neurônio Motor.
- 10 Em outra modalidade, cerca de 750.000 a cerca de 80 milhões de células são administradas.

- Embora protocolos de administração possam ser variados para se adequar ao paciente em particular, um protocolo típico para o tratamento de distúrbios do sistema nervoso degenerativo em crianças compreende in-
- 15 jeções intramusculares e intravenosas diárias no primeiro mês, injeções três vezes por semana durante 2-4 meses, injeções semanalmente nos meses 5 e 6 e reforços semanais nos meses 9-12. Para adultos, um protocolo típico envolve injeções intramusculares e intravenosas diárias junto com administração através de cateter epidural, punção lombar, via intratecal ou caudal.
- 20 Isto é seguido por duas infusões intravenosas com um espaço mínimo de pelo menos 7 dias. Finalmente, injeções de reforço são administradas uma vez por mês por 6 meses e então uma vez a cada 2 meses por pelo menos 6 meses. Tratamento pode ser continuado por períodos mais longos e pode ainda durar toda a vida como as doenças são progressivas.

- 25 No caso de distúrbios progressivos e degenerativos, obstrução ou estabilização da progressão da doença através de intervenção rápida de acordo com a prática da presente invenção permite uma autodependência aumentada do paciente. É apenas após o efeito de estabilização que algumas melhoras podem ser vistas.

30 EXEMPLO 2:

Um paciente sofrendo de uma história de dois anos de esclerose múltipla progressiva repetitiva tomando SOLUMEDROL (metilprednisolona)

diariamente era incapaz de andar, não tinha nenhum controle da bexiga ou intestino e sofria freqüentemente de distúrbios respiratórios.

Continuando o tratamento de acordo com a presente invenção, a condição do indivíduo melhorou, o paciente era capaz de andar e houve uma restauração do controle da bexiga e intestino e o uso de SOLUMEDROL foi reduzido. O MRI mostrou uma melhora de 50%.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 3.

TABELA 3

Data	Via de administração	Tipos de célula
15/7	dose de teste	neuronal
25/7	im	neuronal
26/7	im	neuronal
27/7	im	não-neuronal
28/7	im	neuronal
29/7	im	neuronal
1/8	im	neuronal
2/8	im	neuronal
3/8	im	neuronal
4/8	im x 2	neuronal
5/8	im x 2	neuronal
9/8	im x 2	neuronal
10/8	im x 2	neuronal
11/8	im	neuronal
12/8	im x 2	neuronal
16/8	iv im	neuronal
22/8	im x 4	hES
24/8	iv im	neuronal
2/9	iv	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
8/9	im	neuronal
15/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
19/9	iv	neuronal
22/9	im	neuronal
26/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
29/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
3/10	im	mistura de neuronal e não-neuronal
6/10	im	não-neuronal
13/10	iv	mistura de neuronal e não-neuronal
17/10	im	mistura de neuronal e não-neuronal
20/10	iv	neuronal
24/10	iv	mistura de neuronal e não-neuronal
31/10	iv	mistura de neuronal e não-neuronal
3/11	iv im	mistura de neuronal e não-neuronal
7/11	im	não-neuronal
21/11	iv	não-neuronal
24/11	im	não-neuronal
19/1	im x 2	não-neuronal neuronal
25/1	im x 2	neuronal
2/2	im iv	não-neuronal neuronal
15/2	im x 2 iv	neuronal não-neuronal
23/2	im x 2 iv	neuronal não-neuronal
2/2	im x 2 iv	neuronal não-neuronal
8/3	im x 2	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
	iv	
16/3	im x 2 iv	neuronal não-neuronal
2/5	im x 2	não-neuronal
12/5	im x 2 iv	neuronal não-neuronal
8/6	im x 2 iv	neuronal não-neuronal
16/6	imx2 iv	neuronal não-neuronal
3/7	im	neuronal
4/7	im	neuronal
5/7	im	neuronal
6/7	im	neuronal
7/7	im	neuronal
18/7	im x 2 iv	neuronal não-neuronal
22/7	im x 2 iv	neuronal não-neuronal
24/7	im x 2 iv	neuronal não-neuronal
1/8	im x 2 iv	não-neuronal
4/8	im x 2 iv	não-neuronal
7/8	im x 2 iv	não-neuronal
24/8	im x 2 iv	não-neuronal
28/8	im x 2	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
	iv	
2/9	im x 2 iv	não-neuronal
6/9	im x 2 iv	não-neuronal
9/9	im x 2 iv	não-neuronal

EXEMPLO 3:

Um homem de 60 anos de idade apresentou ALS (doença do neurônio motor) dois anos atrás com deterioração rápida nos braços e mãos. Havia tremores e fasciculações contínuos em seus braços, mãos e língua.

- 5 Ele não podia supinar e pronar braço esquerdo, ou levantá-lo acima de sua cabeça. Seu braço direito podia ser levantado com um puxão e ele tinha mãos esqueléticas.

- 10 1 ano e meio após tratamento, suas mãos se recuperaram da estrutura esquelética com regeneração de músculos hipotenar e tenar de ambas mãos. Supinação e pronação são possíveis com ambos braços. Ele sentia a mesma dificuldade em engolir, que não piorou desde então. Não há nenhuma deterioração com suas pernas, respiração e fala.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 4.

15 **TABELA 4:**

Data	Via de administração	Tipos de célula
2/8	im	neuronal (dose de teste)
4/8	im	neuronal não-neuronal
5/8	im	neuronal
8/8	im	neuronal
9/8	im	neuronal
10/8	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
11/8	im	neuronal
12/8	im	neuronal
16/8	im	neuronal
17/8	im	hES
22/8	im	neuronal
23/8	im	neuronal
24/8	im x 3	não-neuronal
25/8	im x 3	não-neuronal
26/8	im	neuronal
29/8	im	neuronal
31/8	im iv	neuronal
2/9	im	neuronal
5/9	im iv	neuronal
7/9	im	neuronal
9/9	im iv	neuronal misturadas
12/9	im iv	neuronal não-neuronal
13/9	im iv	neuronal não-neuronal
16/9	im	misturadas
19/9	im iv	neuronal misturadas
22/9	iv	neuronal
23/9	im iv	neuronal não-neuronal
26/9	im	misturadas
27/9	im	misturadas

Data	Via de administração	Tipos de célula
28/9	im iv	neuronal não-neuronal
30/9	im iv	misturadas não-neuronal
3/10	iv	misturadas
7/10	im	não-neuronal
10/10	iv	neuronal
12/10	iv	misturadas
17/10	im iv	neuronal misturadas
20/10	epidural	neuronal
21/10	iv	neuronal
24/10	iv	misturadas
27/10	iv	neuronal
28/10	iv	misturadas
31/10	iv	misturadas
2/11	iv	misturadas
3/11	epidural	neuronal
4/11	iv	misturadas
7/11	im	não-neuronal
9/11	im	não-neuronal
11/11	im	neuronal
14/11	im	neuronal
17/11	im	não-neuronal
21/11	im	não-neuronal
23/11	im	não-neuronal
13/12	im	não-neuronal
19/12	im	neuronal
21/12	im	neuronal
23/12	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
29/12	im	neuronal
3/1	im	neuronal
9/1	im	neuronal
12/1	im	neuronal
13/1	iv	não-neuronal
16/1	iv	neuronal
19/1	im	neuronal
	iv	não-neuronal
23/1	epidural	neuronal
27/1	im	neuronal
	iv	não-neuronal
29/1	im	neuronal
	iv	não-neuronal
1/2	iv	neuronal
3/2	im	neuronal
	iv	não-neuronal
6/2	im	neuronal
	iv	não-neuronal
8/2	iv	não-neuronal
10/2	iv	não-neuronal
13/2	iv	não-neuronal
15/2	iv	não-neuronal
17/2	im	neuronal
	iv	não-neuronal
20/2	im	neuronal
	iv	não-neuronal
22/2	im	neuronal
	iv	não-neuronal
24/2	im	neuronal
	iv	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
27/2	iv <i>spray oral</i>	neuronal não-neuronal
1/3	im iv	neuronal não-neuronal
6/3	iv	não-neuronal
8/3	epidural	neuronal
9/3	epidural	neuronal
10/3	epidural	neuronal
11/3	iv	neuronal
22/3	im	não-neuronal
24/3	im	não-neuronal
27/3	iv	não-neuronal
29/3	im iv	não-neuronal
31/3	im <i>spray oral</i>	neuronal não-neuronal
3/4	im iv	neuronal não-neuronal
5/4	im iv	neuronal não-neuronal
7/4	im iv	neuronal não-neuronal
10/4	im iv	neuronal não-neuronal
12/4	im iv	neuronal não-neuronal
19/4	epidural	neuronal
24/4	iv	neuronal
26/4	iv	não-neuronal
28/4	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
	iv	não-neuronal
2/5	im	não-neuronal
3/5	im	neuronal
5/5	im iv	neuronal não-neuronal
8/5	iv	não-neuronal
11/5	infusão intravenosa	neuronal
12/5	im	não-neuronal
14/5	im iv	neuronal não-neuronal
15/5	im iv	neuronal não-neuronal
16/5	im iv	neuronal não-neuronal
17/5	im iv	neuronal não-neuronal
19/5	im iv	neuronal não-neuronal
22/5	im iv	neuronal não-neuronal
24/5	im iv	neuronal não-neuronal
26/5	im iv	neuronal não-neuronal
29/5	im iv	neuronal não-neuronal
1/6	im iv	neuronal não-neuronal
2/6	im iv	neuronal não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
5/6	cateter epidural	neuronal
6/6	cateter epidural	neuronal
7/6	cateter epidural	neuronal
12/6	im	neuronal não-neuronal
14/6	im iv	neuronal não-neuronal
16/6	infusão intravenosa	neuronal
21/6	im	neuronal
24/6	im	neuronal
3/7	iv	neuronal
5/7	iv	neuronal
7/7	iv	neuronal
10/7	iv	neuronal
12/7	iv	neuronal
14/7	iv	neuronal
17/7	iv	não-neuronal
20/7	iv	não-neuronal
24/7	iv	não-neuronal
25/7	epidural (intratecal)	não-neuronal
31/7	iv	neuronal
2/8	iv	neuronal
3/8	iv	não-neuronal
8/8	iv	não-neuronal
11/8	iv	não-neuronal
16/8	iv	neuronal
23/8	iv	neuronal
28/8	iv	não-neuronal
29/8	iv	não-neuronal
5/9	iv	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
6/9	iv	não-neuronal
8/9	iv	não-neuronal
13/9	iv	não-neuronal
15/9	im iv	não-neuronal
18/9	im iv	não-neuronal
19/9	infusão intravenosa	neuronal
20/9	infusão intravenosa	não-neuronal
22/9	im iv	não-neuronal
25/9	im iv	não-neuronal
27/9	im iv	não-neuronal
29/9	im iv	não-neuronal
2/10	im iv	não-neuronal
4/10	im iv	não-neuronal
9/10	im iv	não-neuronal
13/10	im iv	não-neuronal
16/10	im iv	não-neuronal
18/10	im iv	não-neuronal
20/10	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
	iv	
23/10	im iv	não-neuronal
25/10	infusão iv	misturadas
27/10	infusão iv	não-neuronal
1/11	im iv	não-neuronal
6/11		não-neuronal
8/11	im iv	não-neuronal
10/11	im iv	neuronal
13/11	intratecal	não-neuronal
15/11	im iv	não-neuronal
17/11	im iv	neuronal não-neuronal
20/11	im iv	não-neuronal
22/11	im iv	não-neuronal
24/11	im iv	neuronal
27/11	im iv	misturadas
1/12	im iv	misturadas
4/12	infusão iv	misturadas
6/12	im iv	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
8/12	im iv	neuronal
11/12	im iv	não-neuronal
14/12	infusão iv	não-neuronal
15/12	infusão iv	não-neuronal
18/12	im iv	não-neuronal
20/12	iv	neuronal
27/12	im iv	neuronal
29/12	im iv	neuronal
4/1	im iv	não-neuronal
8/1	infusão iv	misturadas
9/1	infusão iv	misturadas
10/1	infusão iv	misturadas
12/1	im iv	não-neuronal
16/1	im iv	não-neuronal
19/1	im iv	não-neuronal
22/1	im iv	misturadas

EXEMPLO 4:

O paciente foi diagnosticado sofrer de doença de Parkinson. O paciente não respondeu ao tratamento padrão e sua condição piorou conforme o tempo passava. Ele tinha uma marcha arrastada típica. Tremores unilaterais estavam presentes no braço direito e ele era psicologicamente mui-

- to deprimido. Ele não podia abrir os olhos. Desde que o tratamento começou, o paciente tem mostrado melhora gradualmente e após um ano de tratamento com células hES o paciente melhorou bastante. A marcha é normal, os tremores na mão são mínimos e psicologicamente ele está otimista. Ele abre os
- 5 olhos completamente. Ele pode assinar e escrever agora, o que era impossível no início no tratamento. Ele é menos dependente dos outros agora.

O programa de injeções para este paciente é mostrado n Tabela

5.

TABELA 5

Data	Via de administração	Tipos de célula
30/1	im iv	neuronal (dose de teste)
31/1	im	neuronal
1/2	iv	neuronal
2/2	iv im	não-neuronal neuronal
3/2	iv im	neuronal
4/2	iv im	neuronal
5/2	iv im	neuronal
6/2	iv im	não-neuronal neuronal
8/2	iv im	não-neuronal neuronal
9/2	iv im	não-neuronal neuronal
10/2	iv im	não-neuronal neuronal
11/2	iv im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
12/2	iv im	neuronal não-neuronal
13/2	iv im	neuronal não-neuronal
14/2	iv	neuronal
15/2	iv im	neuronal não-neuronal
16/2	iv im	neuronal não-neuronal
17/2	iv im	neuronal não-neuronal
18/2	iv im	neuronal não-neuronal
19/2	iv im	neuronal não-neuronal
20/2	iv im	neuronal não-neuronal
21/2	iv im	neuronal não-neuronal
23/2	iv im	neuronal não-neuronal
25/2	iv im	neuronal não-neuronal
26/2	iv im	neuronal não-neuronal
27/2	iv im	neuronal não-neuronal
28/2	iv	neuronal
1/3	iv im	neuronal não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
2/3	iv im	neuronal não-neuronal
3/3	iv	neuronal
4/3	im	neuronal
5/3	iv	neuronal
7/3	im	neuronal
9/3	iv	não-neuronal
10/3	iv im	neuronal não-neuronal
11/3	iv im	neuronal não-neuronal
12/3	iv im	neuronal não-neuronal
13/3	iv im	neuronal não-neuronal
28/3	iv	neuronal
29/3	iv im iv im	neuronal não-neuronal
30/3	iv im im	neuronal não-neuronal
31/3	iv im	neuronal não-neuronal
1/4	iv im	neuronal não-neuronal
2/4	iv im	neuronal não-neuronal
3/4	iv im	neuronal não-neuronal
4/4	iv im im	neuronal não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
5/4	iv im	neuronal não-neuronal
6/4	iv im	neuronal não-neuronal
7/4	iv im im	neuronal não-neuronal
8/4	iv im	neuronal não-neuronal
9/4	iv im	neuronal não-neuronal
10/4	iv im	neuronal não-neuronal
11/4	iv im	neuronal não-neuronal
12/4	iv im	neuronal não-neuronal
13/4	iv im	neuronal não-neuronal
14/4	iv im	neuronal não-neuronal
15/4	iv im	neuronal não-neuronal
16/4	iv im	neuronal não-neuronal
20/5	iv im	neuronal não-neuronal
21/5	infusão	não-neuronal
10/7	iv im	neuronal não-neuronal
11/7	iv im	neuronal não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
12/7	iv im	neuronal não-neuronal
13/7	iv im	neuronal não-neuronal
14/7	iv im	neuronal não-neuronal
15/7	infusão iv	não-neuronal
16/7	infusão iv	não-neuronal
17/7	iv im	neuronal não-neuronal
18/7	iv im	neuronal não-neuronal
19/7	iv im	neuronal não-neuronal
20/7	iv im	neuronal não-neuronal
21/7	iv im	neuronal não-neuronal
22/7	infusão iv	neuronal
23/7	infusão iv	neuronal
24/7	infusão iv	não-neuronal
25/7	iv im	neuronal não-neuronal
26/7	iv im	neuronal não-neuronal
27/7	iv im	neuronal não-neuronal
28/7	iv im	não-neuronal
29/7	infusão iv	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
30/7	im	neuronal não-neuronal
9/9	im iv	não-neuronal
12/9	im iv	não-neuronal
13/9	iv im	não-neuronal
14/9	im iv	não-neuronal
15/9	im iv	não-neuronal
16/9	im iv	não-neuronal
17/9	infusão iv	neuronal
18/9	infusão iv	neuronal
19/9	iv	neuronal
20/9	im iv	não-neuronal
21/9	im iv	não-neuronal
22/9	im iv	não-neuronal
23/9	infusão iv	não-neuronal
24/9	infusão iv	não-neuronal
25/9	im iv	não-neuronal
26/9	iv im	não-neuronal
27/9	iv	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
	im	
28/9	iv im	não-neuronal
29/9	iv infusão iv	neuronal
30/9	iv im	não-neuronal
9/11	iv im	não-neuronal
10/11	iv im	não-neuronal
11/11	iv im	não-neuronal
12/11	iv im	não-neuronal
14/11	infusão iv	misturadas
16/11	iv im	não-neuronal
17/11	iv im	não-neuronal
18/11	infusão iv	neuronal
19/11	infusão iv	neuronal
20/11	iv im	não-neuronal
21/11	iv im	não-neuronal
22/11	iv im	não-neuronal
23/11	iv im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
24/11	infusão iv	neuronal
25/11	infusão iv	neuronal
26/11	im iv	misturadas
29/11	iv im	não-neuronal
9/1	iv im	não-neuronal
10/1	iv im	não-neuronal
11/1	iv im	não-neuronal
12/1	iv im	não-neuronal
13/1	infusão iv	misturadas
14/1	infusão iv	misturadas
15/1	iv im	não-neuronal
16/1	iv im	não-neuronal
17/1	iv im	não-neuronal
18/1	iv	não-neuronal
19/1	iv	não-neuronal
20/1	infusão iv	não-neuronal
21/1	infusão iv	misturadas
22/1	im iv	misturadas
23/1	im iv	misturadas

Data	Via de administração	Tipos de célula
24/1	iv im	neuronal
25/1	iv im	neuronal
26/1	iv im	neuronal
27/1	infusão iv	misturadas
28/1	infusão iv	misturadas
29/1	iv im	neuronal
30/1	iv im	neuronal

Tratamento de Paralisia Cerebral

Células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal e progenitores de célula-tronco hematopoiética de acordo com a prática da presente invenção, são administrados em uma quantidade de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células para o tratamento de Paralisia Cerebral. O protocolo e a dosagem são iguais àqueles para o tratamento de distúrbios neurodegenerativos.

EXEMPLO 5:

Um homem de 48 anos de idade diagnosticado em AIIMS como PC no nascimento tinha fala incompreensível, marcha arrastada, dificuldade em engolir e hemiparesia lateral esquerda. O mapeamento de tônus muscular, reflexo e força foi feito para confirmar a mesma.

Seis meses após tratamento ele tinha fala clara, nenhuma dificuldade em engolir, é capaz de usar o lado esquerdo de seu corpo e sua marcha melhorou.

Ele é capaz de se barbear com sua mão esquerda e também usar sua mão esquerda para pegar copos, etc. Seu equilíbrio é melhor e ele é capaz de fazer longas caminhadas.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 6.

TABELA 6

Data	Via de administração	Tipos de célula
8/3	iv im	não-neuronal
10/3	iv im	neuronal
17/3	iv im x 2	neuronal
8/4	iv x 3 im x 3	neuronal
9/4	iv x 3 im x 3	neuronal não-neuronal
10/4	iv im	neuronal não-neuronal
10/5	im x 2 iv	neuronal não-neuronal
11/5	infusão iv x 2	neuronal
12/5	infusão iv	neuronal
13/5	infusão iv iv	não-neuronal
14/5	im	neuronal não-neuronal
15/5	infusão iv	não-neuronal
19/7	iv im	neuronal não-neuronal
20/7	infusão iv	não-neuronal
21/7	infusão iv x 2	não-neuronal
22/7	iv im	neuronal não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
24/7	iv im	neuronal não-neuronal
25/7	espinal profunda	neuronal
26/7	iv im	neuronal não-neuronal
27/7	iv im	neuronal não-neuronal
28/7	iv im	não-neuronal
31/7	iv im	neuronal não-neuronal
1/8	iv im	não-neuronal
2/8	iv im	não-neuronal
3/8	iv im	não-neuronal
4/8	infusão iv x 2	não-neuronal
5/8	infusão iv	não-neuronal
7/8	iv im	não-neuronal
8/8	iv im	não-neuronal
9/8	iv im	não-neuronal
10/8	iv im	não-neuronal
11/8	iv im	não-neuronal
12/8	iv	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
	im	
14/8	espinhal profunda	neuronal
16/8	infusão iv	neuronal
17/8	infusão iv	neuronal
18/8	iv im	neuronal
19/8	espinhal profunda	neuronal
20/8	iv im	não-neuronal
21/8	iv im	não-neuronal
22/8	iv im	não-neuronal
24/8	infusão iv	não-neuronal
25/8	infusão iv	não-neuronal
26/8	iv im	não-neuronal

EXEMPLO 6:

Uma garotinha de 3 anos de idade foi levada para a clínica com PC e parecia e se comportava como um bebê de um mês sem nenhum controle do pescoço, choro fraco, nenhuma resposta e incapacidade de sugar a mamadeira. Ela era absolutamente mole.

Após um ano e meio de tratamento ela tinha crescido e parecia uma criança de 2 anos. Ela tinha controle do pescoço, reconhece seus pais, engatinha na cama, come comida normal, sorri em reconhecimento e senta com apoio, e deu alguns passos com sua mãe a segurando. Sua marcha é marcha em tesoura e ela também começou a chamar seus pais.

O programa de injeções para esta paciente é mostrado na Tabela 7.

TABELA 7

Data	Via de administração	Tipos de célula
4/8	im	neuronal (dose de teste)
5/8	im	neuronal
8/8	im	neuronal
9/8	im	neuronal
10/8	im	neuronal
11/8	im	neuronal
12/8	im	neuronal
16/8	im	neuronal
17/8	im	neuronal
18/8	im	neuronal
19/8	im	não-neuronal
22/8	im	misturadas
23/8	im	misturadas
25/8	im	misturadas
26/8	im	neuronal
29/8	im	neuronal
30/8	im	neuronal
31/8	im	neuronal
1/9	im	neuronal
2/9	im	neuronal
5/9	im	não-neuronal
6/9	im	neuronal
7/9	im	neuronal
8/9	im	neuronal
12/9	im	misturadas
14/9	im	não-neuronal
16/9	im	misturadas
19/9	im	neuronal
23/9	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
26/9	im	misturadas
28/9	im	misturadas
30/9	im	misturadas
3/10	im	misturadas
5/10	im	neuronal
10/10	im	não-neuronal
17/10	im	misturadas
19/10	im	não-neuronal
21/10	im	neuronal
24/10	im	misturadas
28/10	im	misturadas
31/10	im	misturadas
11/4	im	misturadas
7/11	im	não-neuronal
9/11	im	não-neuronal
11/11	im	neuronal
14/11	im	neuronal
15/11	im	não-neuronal
16/11	im	não-neuronal
18/11	im	não-neuronal
22/11	im	não-neuronal
23/11	im	não-neuronal
25/11	im	não-neuronal
28/11	im	misturadas
29/11	im	misturadas
2/12	im	misturadas
7/12	im	não-neuronal
9/12	im	não-neuronal
12/12	im	não-neuronal
14/12	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
16/12	im	neuronal
19/12	im	não-neuronal
21/12	im	neuronal
23/12	im	neuronal
26/12	im	não-neuronal
30/12	im	neuronal
5/1	im	neuronal
11/1	im	neuronal
13/1	im	neuronal
16/1	im	neuronal
18/1	im	neuronal
23/1	im	neuronal
25/1	im	neuronal
27/1	im	neuronal
30/1	im	neuronal
1/2	im	neuronal
3/2	im	neuronal
6/2	im	neuronal
8/2	im	neuronal
10/2	im	neuronal
13/2	im	neuronal
15/2	im	neuronal
17/2	im	não-neuronal
22/2/2006	im	neuronal
24/2	im	neuronal
27/2	im	neuronal
1/3	im	neuronal
3/3	im	neuronal
6/3	im	não-neuronal
8/3	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
22/3	im	não-neuronal
24/3	im	neuronal
27/3	im	não-neuronal
29/3	im	neuronal
31/3	im	neuronal
7/4	im	neuronal
10/4	im	neuronal
12/4	im	neuronal
14/4	im	neuronal
17/4	im	neuronal
19/4	im	neuronal
21/4	im	neuronal
24/4	im	neuronal
26/4	im	neuronal
1/5	im	neuronal
8/5	im	não-neuronal
18/5	im	neuronal
22/5	im	neuronal
26/5	im	neuronal
29/5	im	neuronal
31/5	im	neuronal
2/6	im	neuronal
5/6	im	neuronal
12/6	im	neuronal
16/6	im	neuronal
19/6	im	neuronal
21/6	im	neuronal
28/6	im	neuronal
30/6	im	neuronal
4/7	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
7/7	im	neuronal
17/7	im	neuronal
19/7	im	neuronal
21/7	im	neuronal
24/7	im	neuronal
26/7	im	neuronal
31/7	im	não-neuronal
2/8	im	não-neuronal
4/8	im	não-neuronal
7/8	im	não-neuronal
9/8	im	não-neuronal
11/8	im	não-neuronal
14/8	im	não-neuronal
16/8	im	não-neuronal
18/8	im	não-neuronal
21/8	im	não-neuronal
23/8	im	não-neuronal
25/8	im	não-neuronal
28/8	im	não-neuronal
30/8	im	não-neuronal
1/9	im	não-neuronal
4/9	im	não-neuronal
11/9	im	não-neuronal
13/9	im	não-neuronal
15/9	im	não-neuronal
20/9	im	não-neuronal
25/9	im	não-neuronal
27/9	im	não-neuronal
3/10	im	não-neuronal
4/10	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
13/10	im	não-neuronal
16/10	im	não-neuronal
18/10	im	não-neuronal
19/10	im	não-neuronal
23/10	im	não-neuronal
25/10	im	não-neuronal
27/10	im	não-neuronal
30/10	im	não-neuronal
31/10	im	não-neuronal
3/11	im	não-neuronal
6/11	im	não-neuronal
8/11	im	não-neuronal
10/11	im	não-neuronal
13/11	im	não-neuronal
15/11	im	não-neuronal
17/11	im	não-neuronal
20/11	im	não-neuronal
22/11	im	não-neuronal
24/11	im	não-neuronal
27/11	im	não-neuronal
29/11	im	não-neuronal
1/12	im	não-neuronal
8/12	im	não-neuronal
11/12	im	não-neuronal
15/12	im	não-neuronal
26/12	im	neuronal
27/12	im	neuronal
3/1	im	não-neuronal
7/1	im	não-neuronal
15/1	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
24/1	im	neuronal
25/1	im	neuronal
29/1	im	neuronal

EXEMPLO 8:

Uma criança de oito anos de idade foi diagnosticada com paralisia cerebral e com retardo mental severo e era incapaz de andar sozinha. Ela não podia identificar objetos e tinha um alcance de atenção muito baixo.

- 5 Havia muita baba e ela mantinha a boca aberta.

Seguindo tratamento, ela não está babando, seu alcance de atenção melhorou e ela parece mais alerta. Ela está andando com apoio mínimo.

- 10 O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 8.

TABELA 8

Data	Via de administração	Tipos de célula
9/10	im	não-neuronal (dose de teste)
10/10	im	não-neuronal
11/10	im	não-neuronal x 2
12/10	im	não-neuronal
13/10	im	não-neuronal
5/12	im	não-neuronal
6/12	im iv	não-neuronal
7/12	im x 3	não-neuronal
8/12	im iv	não-neuronal
9/12	im iv	não-neuronal
10/12	im x 3	não-neuronal
11/12	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
	iv	
12/12	im x 3	não-neuronal
13/12	im iv	não-neuronal
14/12	im	não-neuronal
15/12	im iv	não-neuronal
16/12	im x 3	não-neuronal
17/12	im iv	não-neuronal
18/12	im	não-neuronal
19/12	im iv	não-neuronal
20/12	im x 3	não-neuronal
22/12	im iv	não-neuronal
22/12	im iv	não-neuronal
23/12	im iv	não-neuronal
24/12	im iv	não-neuronal neuronal
25/12	im iv	neuronal
26/12	im iv	neuronal misturadas
27/12	im x 3	neuronal
28/12	im iv	neuronal
29/12	im x 3	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
30/12	im iv	neuronal
31/12	im x 3	neuronal
1/1	im iv	misturadas
9/1	infusão iv	misturadas
10/1	infusão iv	misturadas
11/1	im iv	não-neuronal
12/1	im iv	não-neuronal
13/1	im iv	não-neuronal
14/1	im iv	não-neuronal
15/1	im x 3	não-neuronal
16/1	im iv	não-neuronal
17/1	im x 3	não-neuronal
18/1	im	não-neuronal
19/1	im	não-neuronal
20/1	im	não-neuronal
21/1	im	misturadas
22/1	im	misturadas
23/1	im	misturadas
24/1	im	neuronal
25/1	im	neuronal
26/1	im	misturadas
27/1	im	misturadas
28/1	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
	iv	
29/1	im iv	neuronal
30/1	im iv	neuronal
31/1	im	não-neuronal
1/2	iv	não-neuronal
2/2	im	não-neuronal

Tratamento de Trauma do Sistema Nervoso

Células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal e progenitores de célula-tronco hematopoiética de acordo com a prática da presente invenção, são administrados em uma quantidade de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células para o tratamento de Trauma do Sistema Nervoso, incluindo, mas não limitado a, Dano Cerebral, Coma e Estado Vegetativo. Em outra modalidade, cerca de 750.000 a cerca de 80 milhões de células são administradas.

Embora protocolos de administração possam ser variados para se adequar ao paciente particular, um protocolo típico para o tratamento de trauma do sistema nervoso compreende injeções intramusculares e intravenosas diárias pelos dois primeiros meses junto com injeções intratecais e epidurais.

15 Tratamento de Acidente vascular cerebral ou Derrame

Células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal e progenitores de célula-tronco hematopoiética de acordo com a prática da presente invenção, são administrados em uma quantidade de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células para tratamento de acidente vascular cerebral ou derrame. Em outra modalidade, cerca de 750.000 a cerca de 80 milhões de células são administradas.

Embora protocolos de administração possam ser variados para

- se adequar ao paciente particular, um protocolo típico para o tratamento de acidente vascular cerebral compreende injeções intramusculares e intravenosas diárias por duas semanas e infusão intravenosa por 3 dias em seguida durante o primeiro mês, infusão intravenosa por 2 dias a cada 15 dias durante os meses 2 e 3, infusão intravenosa por 2 dias e uma injeção intratecal durante o mês 5, e infusão intravenosa por 4 dias seguido por injeção intramuscular por 4 dias durante os meses 8, 10 e 12.

EXEMPLO 9:

- Um paciente diagnosticado com Acidente vascular cerebral ou Derrame sofria de hemiparese lateral direita com baba, dificuldade em engolir e incapacidade de falar ou andar. Ainda, o paciente tinha câncer do colo. Após o tratamento de acordo com a presente invenção, o paciente mostrou sinais de melhora uma vez que a fala e atividades motoras melhoraram, a espinha ficou reta e hemiparese foi curada.

- O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 9.

TABELA 9

Data	Via de administração	Tipos de célula
17/8	dose de teste	não-neuronal
22/8	im	hES
23/8	im x 2	neuronal hES
24/8	im x 2	hES
25/8	im	hES
26/8	im x 2	neuronal
29/8	im	neuronal
30/8	iv	neuronal
31/8	im	neuronal
2/9	im x 2	neuronal
5/9	iv	não-neuronal
6/9	iv	neuronal
7/9	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
8/9	iv	neuronal
9/9	iv	neuronal
12/9	im	neuronal e não-neuronal misturadas
13/9	iv	neuronal
14/9	im	não-neuronal
19/9	iv	neuronal
22/9	iv	neuronal
26/9	im	neuronal e não-neuronal misturadas
29/9	iv	neuronal
3/10	im	neuronal e não-neuronal misturadas
6/10	im	não-neuronal
10/10	iv	neuronal
13/10	iv	neuronal
17/10	iv	neuronal e não-neuronal misturadas
20/10	iv	não-neuronal
24/10	iv	neuronal e não-neuronal misturadas
27/10	iv	neuronal
31/10	iv	neuronal e não-neuronal misturadas
3/11	iv	neuronal e não-neuronal misturadas
7/11	im	não-neuronal
10/11	iv	não-neuronal
14/11	im	neuronal
17/11	im	não-neuronal
21/11	im	não-neuronal
24/11	im	não-neuronal
4/12	iv	neuronal e não-neuronal misturadas
12/12	iv	não-neuronal
19/12	iv	neuronal
26/12	iv	não-neuronal
4/1	iv	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
11/1	infusão iv	neuronal
18/8	iv im	neuronal
21/8	iv im	não-neuronal
22/8	iv im	não-neuronal
24/8	im iv	não-neuronal
1/9	infusão iv	não-neuronal
2/9	infusão iv	não-neuronal

EXEMPLO 9:

Um homem de 82 anos de idade sofreu um derrame cerebral há 5 anos atrás e apresentava hemiparesia lateral direita, com assimetria facial e fala não-compreensível. Ele andava com uma bengala e uma grande coxeadura e não era capaz de comer com sua mão direita devido à dificuldade em coordenação. Ele não podia se sentar ou levantar sozinho e arrastava os pés ao andar. Havia baba de saliva e ele não podia também engolir bem.

Dois meses após tratamento ele era capaz de andar sem apoio, se senta e levanta sozinho, come com sua mão direita, não tem fala não-compreensível e nenhuma assimetria facial. Ele é capaz de se levantar de uma cadeira. Ele está dobrando o joelho afetado ao andar enquanto mantendo equilíbrio.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 10.

TABELA 10

Data	Via de administração	Tipos de célula
4/11	im	não-neuronal (dose de teste)
6/11	im	não-neuronal
7/11	im	neuronal
8/11	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
9/11	im	neuronal
10/11	im	neuronal
11/11	im	não-neuronal
13/11	im	não-neuronal
14/11	im	não-neuronal
15/11	iv im	neuronal
16/11	iv im	neuronal
18/11	iv im	não-neuronal
22/11	infusão iv	neuronal
23/11	infusão iv	neuronal
24/11	im	neuronal
27/11	im	neuronal
28/11	im	não-neuronal
29/11	im	neuronal
30/11	im	neuronal
2/12	im	não-neuronal
4/12	im	não-neuronal
5/12	infusão iv	neuronal
6/12	infusão iv im	misturadas
7/12	im	misturadas
8/12	im	misturadas
9/12	im	misturadas
11/12	im	misturadas
12/12	im	misturadas
14/12	im iv	misturadas

Data	Via de administração	Tipos de célula
15/12	im	misturadas
16/12	im	misturadas
18/12	im	misturadas
19/12	im iv	misturadas
20/12	im	misturadas
21/12	im	misturadas
22/12	im	misturadas
23/12	im	misturadas
25/12	im	neuronal
26/12	im	neuronal
27/12	iv	misturadas
28/12	im	neuronal
29/12	im	neuronal
30/12	im	neuronal
1/1	im	misturadas
2/1	im	misturadas
3/1	iv	não-neuronal
4/1	im	não-neuronal

Tratamento de Distúrbios do Sistema Nervoso Familiar

- Células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal e progenitores de célula-tronco hematopoiética de acordo com a prática da presente invenção, são
- 5 administrados em uma quantidade de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células a indivíduos para o tratamento de Distúrbios do Sistema Nervoso Familiar, incluindo, mas não limitado a, Atrofia Olivo Ponto Cerebral e Coréia de Huntington. Em outra modalidade, cerca de 750.00 a cerca de 80 milhões de células são administradas. As vias de administração são in-
 - 10 tramuscular e intravenosa junto com infusão intratecal, de cateter epidural e

intravenosa. Isto poderia continuar provavelmente por toda a vida da pessoa mas o primeiro ano seria um programa intensivo como segue – injeções intramuscular e intravenosa diárias por pelo menos três meses tempo durante o qual infusão intratecal, de cateter epidural e intravenosa é também administrada. O mesmo conjunto de injeções é administrado após um intervalo de um mês e meio durante um período de 21 dias. As injeções intramuscular e intravenosa são continuadas e então reduzidas para três vezes por semana, duas vezes por semana, uma vez por semana, uma vez a cada duas semanas e então mensalmente dependendo da condição dos pacientes. A injeção intratecal pode ser repetida em um intervalo de 4-6 meses como pode o cateter epidural. Infusões intravenosas podem ser dadas a cada duas semanas, a cada mês ou a cada dois meses.

EXEMPLO 10:

Um paciente diagnosticado com Ataxia Espino Cerebelar Esporádica com incapacidade em se virar na cama, andar ou mudar sua posição enquanto sentado, tinha dificuldade em falar, tinha tremores e incapacidade em levantar o pescoço.

Após o tratamento com célula-tronco de acordo com a prática da presente invenção, melhoras em todos os sintomas foram notadas e o paciente era capaz de se equilibrar e andar alguns passos. A fala se tornou coerente.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 11.

TABELA 11

Data	Via de administração	Tipos de célula
8/8	dose de teste	não-neuronal
9/8	im	neuronal
10/8	im x 2	neuronal
11/8	im x 2	neuronal
12/8	im x 2	neuronal
13/8	im x 2	neuronal
16/8	im x 2	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
17/8	im x 2	não-neuronal
18/8	im espinhal profunda	neuronal
19/8	im	neuronal
23/8	im	neuronal hES
24/8	im x 2	hES
25/8	im x 2	hES
26/8	im x 2	neuronal
29/8	im x 2	neuronal
31/8	im x 2	neuronal
5/9	im iv	não-neuronal
7/9	im	neuronal
12/9	im	neuronal
15/9	epidural	neuronal
16/9	im	neuronal
19/9	iv	neuronal
22/9	iv	neuronal
28/9	im	neuronal
30/9	iv	neuronal
3/10	im iv	neuronal
4/10	im iv	não-neuronal neuronal e não-neuronal misturadas
5/10	iv	neuronal
13/10	im	neuronal
14/10	intra-articular	neuronal
17/10	iv	neuronal
15/11	iv	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
18/11	im	não-neuronal
21/11	iv	não-neuronal
23/11	im	não-neuronal
1/12	im iv	neuronal e não-neuronal misturadas
6/12	im	neuronal e não-neuronal misturadas
8/12	im	não-neuronal
13/12	im	não-neuronal neuronal
15/12	epidural	neuronal
16/12	im	neuronal
21/12	im	neuronal
22/12	im iv	neuronal
25/12	im iv	não-neuronal
5/3	espinhal	não-neuronal

EXEMPLO 11:

5 Uma paciente com Atrofia Olivo Ponto Cerebral familiar foi diagnosticado na John Hopkins University. Seu pai, irmã gêmea e irmão eram afligidos pela mesma doença. Ela podia apenas falar em expiração, era presa a uma cadeira de rodas com contínuo gotejamento de urina e tinha que fazer evacuação manual de fezes. Ela tinha tremores por todo o corpo e não podia se equilibrar sozinha mesmo enquanto sentada. Haveria hipotensão postural severa.

10 Após 2 anos de tratamento a paciente vai ao banheiro para suas funções corporais, fala bem, não tem tremores e é capaz de andar com apoio. Não tem havido nenhuma deterioração desde então embora sua irmã gêmea esteja acamada com a mesma doença. Não há nenhuma hipotensão postural e ela definitivamente não deteriorou.

Tratamento de Distúrbios de Pele

Células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética de acordo com a prática da presente invenção, são administrados através de injeção subcutânea ou intravenosa ou através de aplicação local ou tópica em uma quantidade de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células para o tratamento de Distúrbios de pele, incluindo, mas não limitado a, Úlceras de não-cicatrização, Psoríase, Úlceras de pressão e Sarcoidose. No caso de distúrbios de pele, células hES podem também ser usadas topicamente para tratar o distúrbio ou dano à pele. Em outra modalidade, cerca de 750.000 a cerca de 80 milhões de células são administradas.

Em uma modalidade, as células hES ou células de pele diferenciadas e extrato embrionário podem ser misturados com um carreador biocompatível, tal como um gel, unguento ou pasta, e aplicados à pele ou tecido mucosal danificado para acelerar cicatrização bem como cicatrizar feridas resistentes à cicatrização, tal como úlceras diabéticas ou decubitosas. Alternativamente, as células podem ser providas em uma suspensão ou emulsão. Em uma modalidade, o carreador também contém agentes antimicrobianos, analgésicos ou outros agentes farmacêuticos.

Alternativamente, em uma modalidade diferente, células hES são cultivadas em um substrato poroso artificial estéril tal como musselina e aplicadas diretamente à ferida. Após 12-24 horas a musselina é removida e as células-tronco continuam a crescer, cicatrizando a ferida. Aplicada intralesionalmente, as células hES diferenciam e eventualmente substituem as células danificadas.

EXEMPLO 12:

Uma idosa de 70 anos de idade sofreu uma lesão de queimadura em seu tornozelo esquerdo que não cicatrizou apesar de terapia convencional. Após aplicação de células hES no local da queimadura, sua ferida começou a cicatrizar e três anos mais tarde a pele está absolutamente ótima.

Tratamento de Distúrbios Auto-imunes

Células hEs e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética de acordo com a prática da presente invenção, são administrados através de injeção intramuscular, injeção intravenosa, injeção subcutânea, injeção intra-articular ou infusão intravenosa ou suas combinações em uma quantidade de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células para o tratamento de Distúrbios Auto-imunes incluindo, mas não limitado a, Lúpus Eritematoso Sistêmico, Espondilite Anquilosante, Cardiomiopatia, Sarcoidose, Artrite e Colite Ulcerativa.

Em outra modalidade, cerca de 750.000 a cerca de 80 milhões de células são administradas. A administração das células hES é altamente eficaz não apenas no tratamento de distúrbios auto-imunes mas também na restauração de um sistema imune suprimido. Como uma alternativa para tratamento com imunossuppressores ou como um método para “preparar” pacientes para transplante de órgão ou outra intervenção médica, células hES e seus derivados podem ser usados para permitir aceitação do órgão através da redução nos processos de rejeição hospedeiro-enxerto.

Embora protocolos de administração possam ser variados para se adequar ao paciente particular, um protocolo típico para o tratamento de distúrbios autoimunes compreende injeções diárias pelos primeiros 2 meses, alternar injeções diárias junto com infusão intravenosa durante o mês 3, injeções semanais junto com uma infusão intravenosa contínua de 2 dias a cada 15 dias durante os meses 5-7 e 10-12, e injeções de reforço a cada 3 meses por um ano e então a cada 6 meses por um ano.

EXEMPLO 13:

Uma paciente sofrendo de psoríase nos últimos 26 anos estava presa a uma cadeira de rodas com hipertensão, diabetes mellitus e artrite psoriática com úlceras grandes na perna que eram não-cicatrizantes e não condescendentes a enxerto de pele.

Após receber terapia por 6 meses ela não tinha quaisquer úlceras e nenhuma artrite. O diabetes e a hipertensão dela estavam sob controle. Ela começou a andar sozinha e começou todas as atividades e está re-

cebendo reforço durante o 1 ano que passou. Ela diz que ela andou pela primeira vez nos últimos 26 anos e é capaz de fazer todas suas tarefas domésticas sozinha.

- 5 Tratamento com célula-tronco foi feito localmente às úlceras e as úlceras cicatrizaram. Também após o tratamento quaisquer úlceras adicionais foram detectadas. A escamosidade e coceira da pele e o inchaço das pernas foram também reduzidos. A condição diabética foi curada com pressão sanguínea controlada que levou a uma redução na medicação.

- 10 O programa de injeções para esta paciente é mostrado na Tabela 12.

TABELA 12

Data	Via de administração	Tipos de célula
27/12	dose de teste	não-neuronal
22/1	im	não-neuronal
20/2	im	neuronal
23/2	im	neuronal
28/2	im	neuronal
1/4	im	neuronal
7/4	im	mistura de neuronal e não-neuronal
10/4	im	mistura de neuronal e não-neuronal
21/4	im	mistura de neuronal e não-neuronal
29/6	im	não-neuronal
6/7	im	não-neuronal
29/7	im	não-neuronal
17/10	im <i>spray</i>	não-neuronal
1/11	im <i>spray</i>	mistura de neuronal e não-neuronal
2/11	im <i>spray</i>	mistura de neuronal e não-neuronal
3/11	im <i>spray</i>	mistura de neuronal e não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
4/11	im x 2	neuronal
5/11	iv <i>spray</i>	não-neuronal
6/11	im <i>spray</i>	não-neuronal
7/11	im <i>spray</i>	não-neuronal
11/11	iv <i>spray</i>	neuronal
14/11	iv <i>spray</i>	neuronal
15/11	im <i>spray</i>	não-neuronal
16/11	im	não-neuronal
21/11	iv	não-neuronal
23/11	im	não-neuronal
29/11	im	mistura de neuronal e não-neuronal
4/1	im	não-neuronal
28/3	im	não-neuronal

Tratamento de Distúrbios Sangüíneos

Ainda outra modalidade do método de acordo com a prática da presente invenção está no tratamento de Distúrbios Sangüíneos tal como Trombocitopenia, Talassemia, Leucemia Mielóide Aguda através de injeção intravenosa de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem células progenitoras de célula-tronco hematopoiética. Células são administradas por 10 dias a 14 dias e então repetidas como uma injeção semanalmente para condições benignas. Para condições malignas, as injeções são dadas diariamente por 40 dias e então repetidas se houver um relapso.

10 Tratamento de Distúrbios Genéticos

Outra modalidade de métodos de transplante de célula hES de acordo com a prática da presente invenção está no tratamento de Distúrbios

Genéticos incluindo, mas não limitado a, Síndrome de Down, Ataxia de Friedreich, Coreia de Huntington, Síndrome de Asperger e Atrofia Espinomuscular.

Os sintomas de distúrbios genéticos são manifestados por retardo mental, disfunção músculo-esquelética e falência de órgão em combinação ou sozinho e resultam em debilitação incurável séria e expectativa de vida reduzida. No caso de pacientes sofrendo de um distúrbio genético, células hES são administradas ao paciente de acordo com a prática da presente invenção e, uma vez administradas, diferenciam para prover o paciente com uma população de células expressando o produto de gene em falta ou comprometido com uma restauração seguinte de homeostase intracelular.

Embora protocolos de administração possam ser variados para se adequarem ao paciente particular, um protocolo típico para o tratamento de Distúrbios Genéticos compreende injeções intramuscular e intravenosa diárias pelo primeiro mês, injeções em dia alternado durante o mês 2, injeções duas vezes por semana durante o mês 3, injeções uma vez por semana durante os meses 5, 7, 9, 11 e 12 e injeções de reforço a cada 3 meses por um ano. Também infusões intravenosas são dadas a cada 15 dias.

EXEMPLO 14:

Uma paciente com síndrome de Down não mostrou nenhuma resposta a comandos verbais, não era capaz de subir e descer escadas e tinha baixo peso corporal como um resultado de dificuldades para comer. A paciente era incapaz de comer, mostrava uma base larga típica e sofria de tosse e resfriados freqüentes. Os olhos eram mongolóides.

Continuando o tratamento de acordo com a presente invenção, a paciente é capaz de compreender e realizar comandos verbais, começou a falar e começou a subir e descer escadas. Testes de DQ mostrou a idade mental estar 1 ano atrás da sua idade cronológica contra 2 anos e 6 meses atrás dentro de um espaço de menos de um ano. Socialmente, ela vai à escola e brinca com outras crianças. Ela também se alimenta sozinha.

O programa de injeções para esta paciente é mostrado na Tabela 13.

TABELA 13

Data	Via de administração	Tipos de célula
8/7	dose de teste	não-neuronal
16/7	im	neuronal
25/7	im	neuronal
26/7	im	neuronal
27/7	im	neuronal
30/7	im	neuronal
3/8	im	neuronal
10/8	im	neuronal
12/8	im	neuronal
16/8	im	neuronal
18/8	im	neuronal
22/8	im	hES
26/8	im	neuronal
29/8	im	neuronal
31/8	im	neuronal
2/9	im	neuronal
6/9	im	neuronal
8/9	im	não-neuronal
13/9	im	não-neuronal
19/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
22/9	im	não-neuronal
30/9	im	não-neuronal
3/10	im	mistura de neuronal e não-neuronal
10/10	im	não-neuronal
18/10	im	não-neuronal
27/10	im	neuronal
7/11	im	não-neuronal
8/11	im	não-neuronal
9/11	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
10/11	im	não-neuronal
11/11	im	neuronal
14/11	im	neuronal
17/11	im	não-neuronal
18/11	im	não-neuronal
21/11	im	não-neuronal
22/11	im	não-neuronal
23/11	im	não-neuronal
25/11	im	não-neuronal
28/11	im	mistura de neuronal e não-neuronal
4/12	im	mistura de neuronal e não-neuronal
8/12	im	não-neuronal
12/12	im	não-neuronal
15/12	im	neuronal
19/12	im	neuronal
27/12	iv	neuronal
4/11	im iv	não-neuronal
11/1	im	não-neuronal neuronal
19/1	im	neuronal
20/1	im	não-neuronal
23/1	im	não-neuronal
30/1	im	
9/2	im	neuronal
13/2	im	neuronal
23/2	im	neuronal
27/2	im	neuronal
10/3	im	neuronal
14/3	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
20/3	im	neuronal
11/5	im	neuronal
15/5	im	neuronal
16/5	im	neuronal
17/5	im	neuronal
18/5	im	neuronal
22/5	im	neuronal
23/5	im	neuronal
3/7	im	neuronal
5/7	im	neuronal
11/7	im	neuronal
13/7	im	neuronal
17/7	im	neuronal
19/7	im	neuronal
21/7	im	neuronal
24/7	im	neuronal
28/7	im	não-neuronal
31/7	im	neuronal
2/8	im	não-neuronal
21/8	im	não-neuronal
23/8	im	não-neuronal
28/8	im	não-neuronal
30/8	im	não-neuronal

EXEMPLO 15:

Uma menina de 3 anos de idade foi diagnosticada com síndrome de Down. Ela não era capaz de falar, compreender ou subir e descer escadas. Ela não comia sozinha e sua fala limitada a uma palavra não era muito clara.

5

Após 8 meses de tratamento ela compreende tudo, fala sentenças de três palavras e reconhece cores, formatos e tamanhos. Ela é capaz

de subir e descer escadas sozinha e começou a comer sozinha.

O programa de injeções para esta paciente é mostrado na Tabela 14.

TABELA 14

Data	Via de administração	Tipos de célula
30/1	im	neuronal (dose de teste)
6/2	im	neuronal
7/2	im	neuronal
8/2	im	neuronal
9/2	im	neuronal
10/2	im	não-neuronal
13/2	im	neuronal
15/2	im	neuronal
16/2	im	neuronal
17/2	im	neuronal
20/2	im	neuronal
22/2	im	neuronal
24/2	im	não-neuronal
27/2	im	neuronal
1/3	im	neuronal
3/3	im	não-neuronal
6/3	im	não-neuronal
13/3	im	neuronal
15/3	im	neuronal
22/3	im	neuronal
24/3	im	neuronal
26/3	im	neuronal
27/3	im	não-neuronal
29/3	im	neuronal
3/4	im	neuronal
5/4	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
7/4	im	neuronal
10/4	im	neuronal
12/4	im	não-neuronal
14/4	im	não-neuronal
21/4	im	neuronal
24/4	im	neuronal
26/4	im	neuronal
28/4	im	neuronal
1/5	im	neuronal
10/5	im	neuronal
12/5	im	neuronal
13/5	im	não-neuronal
22/5	im	neuronal
24/5	im	neuronal
29/5	im	neuronal
5/6	im	neuronal
7/6	im	neuronal
10/6	im	neuronal
14/6	im	neuronal
16/6	im	neuronal
19/6	im	neuronal
21/6	im	neuronal
23/6	iv	não-neuronal
27/6	im	neuronal
29/6	im	neuronal
3/7	im	neuronal
5/7	im	neuronal
12/7	im	neuronal
14/7	im	neuronal
17/7	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
19/7	im	neuronal
21/7	im	neuronal
27/7	im	neuronal
28/7	im	não-neuronal
1/8	im	não-neuronal
3/8	im	não-neuronal
5/8	im	não-neuronal
7/8	im	não-neuronal
19/8	im	não-neuronal
24/8	im	não-neuronal
26/8	im	neuronal
28/8	im	não-neuronal
31/8	im	não-neuronal
2/9	im	não-neuronal
7/9	im	não-neuronal
9/9	im	não-neuronal
11/9	im	não-neuronal
14/9	im	não-neuronal
21/9	im	não-neuronal
23/9	im	não-neuronal
25/9	im	não-neuronal
28/9	im	não-neuronal
29/9	im	não-neuronal
4/10	im	não-neuronal
7/10	im	não-neuronal
10/10	im	não-neuronal
14/10	im	não-neuronal
16/10	im	não-neuronal
18/10	im	não-neuronal
22/10	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
26/10	im	não-neuronal
28/10	im	não-neuronal
1/11	im	não-neuronal
4/11	im	não-neuronal
7/11	im	não-neuronal
9/11	im	não-neuronal
13/11	im	não-neuronal
16/11	im	não-neuronal
17/11	im	não-neuronal
20/11	im	não-neuronal
23/11	im	não-neuronal
27/11	im	não-neuronal
30/11	im	não-neuronal
3/12	im	não-neuronal
4/12	im x 2	não-neuronal
7/12	im	não-neuronal
9/12	im	não-neuronal
11/12	im	não-neuronal
14/12	im x 2	não-neuronal
16/12	im	não-neuronal
21/12	im	não-neuronal
24/12	im	não-neuronal
27/12	im	não-neuronal
1/1	im	misturadas
3/1	im	não-neuronal
6/1	im	não-neuronal
9/1	im	não-neuronal
12/1	im	não-neuronal
15/1	im	não-neuronal
18/1	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
22/1	im	misturadas
25/1	im	neuronal
28/1	im	neuronal

EXEMPLO 16:

Um menino de 13 anos de idade sofria de um defeito genético com falta de concentração, explosões freqüentes e prejuízo à visão. Ele tinha visão túnel total. Ele tinha dificuldade em sentar em classe e ver o quadro negro mesmo que ele estivesse sentado na primeira fileira. Ele tinha

5 marcos atrasados e se ele lesse alguma coisa ele teria que ler três vezes para se lembrar do que tinha lido. Ele também tinha dificuldades em localizar itens em uma sala.

Desde que começou com as células hES sua visão melhorou e ele senta duas fileiras atrás na sala de aula e pode ver o quadro negro muito

10 melhor. Ele é capaz de lembrar muito mais e seu tempo de resposta a comandos verbais melhorou. Ele não tem explosões tanto quanto antes e sua medicação foi reduzida. Relatórios do oftalmologista mostram que as áreas mortas na periferia foram restauradas.

15 O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 15.

TABELA 15

Data	Via de administração	Tipos de célula
8/6	im	neuronal (dose de teste)
9/6	im	neuronal
12/6	im	neuronal
13/6	im	neuronal
14/6	im	não-neuronal
15/6	im	não-neuronal
16/6	im	neuronal
20/6	im	neuronal
21/6	im	não-neuronal
22/6	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
23/6	iv	não-neuronal
27/6	im	neuronal
28/6	im	neuronal
29/6	im	neuronal
3/7	im	não-neuronal
4/7	im	neuronal
5/7	im	neuronal
6/7	im	neuronal
7/7	im	neuronal
10/7	im	neuronal
11/7	im	neuronal
12/7	im	neuronal
13/7	im	não-neuronal
14/7	im	neuronal
17/7	im	neuronal
18/7	im	neuronal
20/7	im	neuronal
21/7	infusão iv	neuronal
22/7	infusão iv	neuronal
24/7	im	neuronal
25/7	im	neuronal
26/7	im	neuronal
27/7	im	neuronal
28/7	im	não-neuronal
31/7	im	não-neuronal
2/8	im	não-neuronal
3/8	im	não-neuronal
4/8	im	não-neuronal
7/8	im	não-neuronal
8/8	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
9/8	im	não-neuronal
10/8	im x 2	não-neuronal
11/8	infusão iv	não-neuronal
12/8	infusão iv	não-neuronal
13/8	im	não-neuronal
14/8	im	não-neuronal
17/8	im x 2	não-neuronal
18/8	im	não-neuronal
21/8	im	não-neuronal
22/8	im	não-neuronal
23/8	im	não-neuronal
24/8	im	não-neuronal
25/8	im	não-neuronal
2/9	im	não-neuronal
29/8	im	não-neuronal
30/8	im	não-neuronal
2/9	infusão iv	não-neuronal
3/9	infusão iv	não-neuronal
4/9	im x 3	não-neuronal
5/9	im	não-neuronal
6/9	im	não-neuronal
7/9	im	não-neuronal
8/9	im	não-neuronal
11/9	im	não-neuronal
13/9	im	não-neuronal
14/9	im	não-neuronal
16/9	im	não-neuronal
18/9	im	não-neuronal
19/9	im	não-neuronal
21/9	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
22/9	im x 2	não-neuronal
23/9	infusão iv	não-neuronal
3/10	infusão iv	não-neuronal
4/10	im	não-neuronal
5/10	im	não-neuronal
6/10	im	não-neuronal
9/10	im	não-neuronal
10/10	im	não-neuronal
11/10	im	não-neuronal
12/10	im	não-neuronal
13/10	retroorbital	neuronal
16/10	im	não-neuronal
17/10	im	não-neuronal
18/10	im	não-neuronal
20/10	im	não-neuronal
23/10	im	não-neuronal
24/10	im	não-neuronal
25/10	im	não-neuronal
26/10	im	não-neuronal
27/10	infusão iv	não-neuronal
28/10	infusão iv x 3	não-neuronal
31/10	im x 2	não-neuronal
2/11	im x 2	não-neuronal
3/11	im x 2	não-neuronal
6/11	im x 2	não-neuronal
8/11	im	não-neuronal
9/11	im	não-neuronal
10/11	im	não-neuronal
13/11	im	não-neuronal
14/11	retroorbital	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
15/11	im	não-neuronal
16/11	im	não-neuronal
17/11	im	não-neuronal
20/11	im	não-neuronal
21/11	im	não-neuronal
23/11	im	não-neuronal
24/11	im	não-neuronal
29/11	im	não-neuronal
30/11	iv	misturadas
1/12	infusão iv	misturas
4/12	im	não-neuronal
5/12	iv	misturadas
6/12	im	não-neuronal
7/12	im	não-neuronal
8/12	im	não-neuronal
11/12	im	não-neuronal
12/12	im	não-neuronal
13/12	im	não-neuronal
14/12	im	não-neuronal
18/12	im	não-neuronal
19/12	iv	não-neuronal
21/12	im	não-neuronal
22/12	retroorbital	neuronal
2/12	im	neuronal
2/2	im	não-neuronal

EXEMPLO 17:

O paciente é um homem de 32 anos sofrendo de ataxia de Friedrick e cuja irmã morreu da doença. Ele não podia ficar de pé, tinha fala fraca, dificuldade em engolir, era preso a uma cadeira de rodas e precisava de assistência para ir ao banheiro. Ele foi anteriormente tratado na Alemanha e

Estados Unidos sem quaisquer resultados. Seu coração estava dilatando e funcionamento a 15 a 20%.

Desde o início com as células hES ele apresentou melhora. Ele é capaz de falar muito mais claro e não tem quaisquer dificuldades em engolir.

- 5 Seu coração melhorou com todas as dimensões retornando ao normal e capacidade de funcionamento até 58 a 60%. Não houve nenhuma deterioração.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 16.

TABELA 16

Data	Via de administração	Tipos de célula
17/2	im	não-neuronal (dose de teste)
20/2	im	neuronal
	iv	não-neuronal
21/2	im	neuronal
	iv	não-neuronal
22/2	im	neuronal
	iv	não-neuronal
23/2	im	neuronal
	iv	não-neuronal
24/2	im	neuronal
	iv	não-neuronal
25/2	im	neuronal
	iv	não-neuronal
26/2	im	neuronal
	iv	não-neuronal
27/2	epidural	neuronal
28/2	im	neuronal
	iv	não-neuronal
1/3	im	neuronal
	iv	não-neuronal
2/3	im	neuronal
	iv	não-neuronal
3/3	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
	iv	não-neuronal
4/3	im	neuronal
	iv	não-neuronal
5/3	im	neuronal
	iv	não-neuronal
6/3	im	neuronal
		não-neuronal
7/3	epidural (cateter)	neuronal
8/3	epidural (cateter)	neuronal
9/3	epidural (cateter)	neuronal
10/3	epidural (cateter)	neuronal
13/3	im	neuronal
	iv	não-neuronal
14/3	im	não-neuronal
16/3	im	não-neuronal
17/3	im	neuronal
	iv	não-neuronal
18/3	im	neuronal
	iv	não-neuronal
19/3	im	neuronal
	iv	não-neuronal
20/3	im	neuronal
	iv	não-neuronal
21/3	im	não-neuronal
22/3	im	não-neuronal
24/3	im	neuronal
	iv	não-neuronal
25/3	im	não-neuronal
26/3	im	não-neuronal
27/3	im	neuronal
28/3	im	não-neuronal
29/3	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
30/3	im	não-neuronal
31/3	im	não-neuronal
1/4	im	não-neuronal
2/4	im	não-neuronal
3/4	im	não-neuronal
4/4	im	neuronal
	iv	não-neuronal
5/4	im	não-neuronal
6/4	im	não-neuronal
7/4	im	não-neuronal
8/4	im	não-neuronal
9/4	im	neuronal
	iv	não-neuronal
10/4	im	neuronal
	iv	não-neuronal
11/4	im	não-neuronal
15/4	im	não-neuronal
16/4	im	não-neuronal
18/4	im	neuronal
	iv	não-neuronal
19/4	im	neuronal
	iv	não-neuronal
20/4	im	neuronal
	iv	não-neuronal
21/4	im	não-neuronal
22/4	im	não-neuronal
24/4	im	não-neuronal
25/4	im	não-neuronal
26/4	iv	neuronal
	im	não-neuronal
27/4	iv	neuronal
	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
29/4	iv	neuronal
30/4	iv im	neuronal não-neuronal
2/5	im	não-neuronal
3/5	iv	neuronal
5/5	iv epidural	neuronal
7/5	iv im	neuronal não-neuronal
9/5	iv im	neuronal não-neuronal
10/5	iv im	neuronal não-neuronal
12/5	iv im	neuronal não-neuronal
13/5	iv im	neuronal não-neuronal
14/5	iv im	neuronal não-neuronal
16/5	epidural (intratecal)	neuronal
18/5	iv im	neuronal não-neuronal
26/8	im iv	não-neuronal
27/8	im iv	não-neuronal
28/8	iv infusão	não-neuronal
29/8	iv infusão	não-neuronal
30/8	im iv	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
31/8	im iv	não-neuronal
4/9	im iv	não-neuronal
6/9	im iv	não-neuronal
7/9	im iv	não-neuronal
9/9	im iv	não-neuronal
10/9	epidural (intratecal)	neuronal
12/9	im iv	não-neuronal
14/9	im iv	não-neuronal
15/9	epidural (cateter)	neuronal
16/9	epidural (cateter)	neuronal
17/9	epidural (cateter)	neuronal
18/9	im iv	não-neuronal
19/9	im iv	não-neuronal
20/9	iv iv infusão	não-neuronal
21/9	iv iv infusão	não-neuronal

Tratamento de Distúrbios do Olho

Outro uso de transplante de célula hES de acordo com a prática da presente invenção é no tratamento de Distúrbios do olho incluindo, mas não limitado a, Atrofia do Nervo Óptico, Degeneração Macular, Dano ao O-
5 lho, Rejeição de Enxerto Corneano e Retinite Pigmentosa através da injeção direta de progenitores neuronais e células hES de acordo com a prática da

presente invenção à porção retrobulbar do olho, área superficial do olho e a câmara interna do olho.

Embora protocolos de administração possam ser variados para se adequarem ao paciente particular, um protocolo típico para o tratamento de Distúrbios do Olho compreende 10 dias de injeções intramuscular e intravenosa seguido por uma injeção retrobulbar ou intravítrea, 15 dias de injeções intramusculares e intravenosas seguido por uma injeção retrobulbar, 2 infusões intravenosas e uma injeção retrobulbar após 2 meses. Um total de 4 injeções retrobulbares é dado durante um período de 8 meses a um ano antes dos resultados serem vistos mas em alguns casos os resultados são vistos mais cedo. Vias intravítreas podem ser usadas. Também a córnea pode ser reparada através do uso de lentes de contato nas quais as células-tronco foram cultivadas. Também gotas para o olho compreendendo as células-tronco podem ser usadas.

EXEMPLO 18:

Um paciente diagnosticado com Atrofia do Nervo Óptico tinha condições que incluíam dificuldade em ler letras pequenas e não ser capaz de ver objetos postos distantes. Também as cores azul escuro e violeta não eram visíveis. Visão era zero com percepção de luz e agora é 6/24.

Continuando a terapia de célula-tronco de acordo com a presente invenção, isto é, células hES e seus derivados incluindo progenitores de célula-tronco neuronal administrados através de injeção retrobulbar e células hES e seus derivados incluindo progenitores de célula-tronco neuronal e progenitores de célula-tronco hematopoiética de acordo com a prática da presente invenção são administrados através de injeção intravenosa local ou injeção subcutânea ou injeção intramuscular, injeção intravítrea ou aplicação tópica em uma quantidade de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células, o paciente mostrou melhoras significantes. Ele é capaz de ler *time* e pode ver quadros de avisos bem como assistir televisão a uma distância.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 17.

TABELA 17

Data	Via de administração	Tipos de célula
14/2	im	neuronal
15/2	iv	neuronal não-neuronal
20/3	iv x 2 im	neuronal
21/3	iv retrobulbar	neuronal
30/4	iv	não-neuronal
1/5	iv im	neuronal
2/5	retrobulbar	não-neuronal

Tratamento de Distúrbios de Fígado e Rim

Ainda outro uso de transplante de hES de acordo com a prática da presente invenção é no tratamento de Distúrbios de Fígado e Distúrbios de Rim incluindo, mas não limitado a, Nefrose Renal de Estágio Terminal e Síndrome Nefrótica, através de transplante de acordo com a prática da presente invenção. As vias de administração são intravenosa, intramuscular e através de infusão intravenosa.

EXEMPLO 19:

- 10 Um paciente diagnosticado com síndrome nefrótica exibia níveis de uréia, creatina e proteína P elevados. A diferenciação corticomedular não foi mantida e o corpo estava inchado. Células hES e seus derivados incluindo progenitores de célula-tronco hematopoiética, progenitores de célula-tronco de produção de albumina e progenitores de célula-tronco de produção
- 15 de bilirrubina de acordo com a prática da presente invenção foram administrados através de injeção intravenosa ou injeção subcutânea ou injeção intramuscular ou infusão intravenosa em uma quantidade de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células. Após o tratamento com células-tronco, o corpo estava menos inchado e a diferenciação corticomedular foi restaurada.
- 20 Os níveis de uréia, creatina e proteína P também normalizaram.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 18.

TABELA 18

Data	Via de administração	Tipos de célula
10/8	dose de teste	neuronal
11/8	im	neuronal
12/8	im	neuronal
16/8	im	hES
22/8	im	hES
24/8	im	hES
25/8	im	neuronal
29/8	im	neuronal
1/9	im	neuronal
7/9	im	neuronal
8/9	im	não-neuronal
12/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
19/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
3/10	im	mistura de neuronal e não-neuronal
10/10	im	mistura de neuronal e não-neuronal
11/10	iv	mistura de neuronal e não-neuronal
31/10	iv	não-neuronal
10/11	im	não-neuronal
21/11	im	não-neuronal
8/12	im	não-neuronal
23/12	iv	não-neuronal
7/2	im	não-neuronal
24/8	im	não-neuronal
25/8	im	não-neuronal
9/9	im	não-neuronal

Tratamento de Distúrbios Músculo-esqueléticos

da presente invenção é no tratamento de Distúrbios Músculo-esqueléticos incluindo, mas não limitado a, Artrite, Distrofia Muscular de Duchenne, Distrofia Muscular da Cintura, Atrofia Muscular Espinhal e Atrofia Muscular de Becker.

5 Embora protocolos de administração possam ser variados para se adequarem ao paciente particular, um protocolo típico para o tratamento de Distúrbios Músculo Esqueléticos compreende injeções intramusculares ou intravenosas diárias durante o primeiro mês, injeções duas vezes por semana durante os meses 3, 5, 6 e 7, injeções semanais durante os meses 9-12 e
10 injeções de reforço a cada 3 meses. Infusões intravenosas são dadas a cada 10 a 15 dias e injeções musculares espinhais profundas são dadas a cada 15 a 30 dias.

EXEMPLO 20:

A história do caso de um paciente diagnosticado com Distrofia
15 Muscular de Duchenne mostrou sintomas tal como falta de interesse, coxas e face inchadas e sinal de Gower positivo, com níveis altos de creatina fosfocinase (CPK) em 10.000 unidades.

Após o tratamento do paciente com células hES e seus derivados incluindo progenitores de célula-tronco neuronal e progenitores de célula-tronco hematopoiética sozinhos ou em combinação através de injeção
20 intravenosa ou injeção subcutânea ou injeção intramuscular ou infusão por cateter intravenosa ou infusão por cateter epidural ou infusão por cateter de bloqueio subaracnóide por um período predeterminado, os níveis de CPK caíram drasticamente para 1198 unidades e sinal de Gower era negativo.

25 O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 19.

TABELA 19

Data	Via de administração	Tipos de célula
18/3	dose de teste	não-neuronal
19/3	im	neuronal
20/3	im x 2	neuronal
25/3	im x 2	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
26/3	im x 2	não-neuronal
27/3	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
28/3	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
29/3	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
30/3	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
31/3	im x 4	neuronal não-neuronal x 3
1/4	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
2/4	im x 3	neuronal não-neuronal x 2
3/4	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
4/4	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
5/4	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
6/5	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
7/4	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
8/4	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
9/4	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
10/4	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2

Data	Via de administração	Tipos de célula
11/4	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
12/4	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
13/4	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
14/4	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
15/4	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
16/4	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
17/4	im x 5	neuronal x 3 não-neuronal x 2
18/4	im x 3	neuronal não-neuronal x 2
19/4	im x 3	neuronal x 2 não-neuronal
20/4	im x 3	neuronal não-neuronal x 2
21/4	im x 3	neuronal não-neuronal x 2
22/4	im x 3	neuronal não-neuronal x 2
23/4	im x 3	neuronal x 2 não-neuronal
24/4	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
25/4	im x 3	neuronal não-neuronal x 2
26/4	im x 2	neuronal não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
1/7	im x 2	neuronal não-neuronal
2/7	im x 4	neuronal x2 não-neuronal x 2
3/7	im x 4	neuronal x2 não-neuronal x 2
4/7	im x 2	neuronal não-neuronal
5/7	infusão iv x 2	neuronal
6/7	infusão iv x 2	neuronal
7/7	im x 2	neuronal
8/7	im x 2	neuronal
9/7	im x 2	neuronal não-neuronal
10/7	im x 2	neuronal não-neuronal
11/7	im x 2	neuronal não-neuronal
12/7	im x 2	neuronal não-neuronal
13/7	im x 2	neuronal não-neuronal
14/7	im x 2	neuronal não-neuronal
15/7	im x 2	neuronal não-neuronal
16/7	im x 3	neuronal
17/7	infusão iv im x 2	neuronal não-neuronal
18/7	infusão iv	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
	im x 2	não-neuronal
19/7	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
20/7	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
21/7	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
22/7	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
23/7	iv x 2 im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 4
24/7	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
25/7	iv im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 4
26/7	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
27/7	iv im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 4
28/7	im x 4	neuronal não-neuronal x 3
29/7	iv im x 4	não-neuronal
30/7	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
31/7	iv im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 3
1/8	im x 4	neuronal x 2 não-neuronal x 2
2/8	im x 4	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
3/8	infusão iv x 2	não-neuronal
4/8	infusão iv x 2	não-neuronal
5/8	im x 4	não-neuronal
6/8	im x 4	não-neuronal
7/8	infusão iv im x 2	não-neuronal
8/8	infusão iv im x 2	não-neuronal
9/8	infusão iv x 2 im x 2	não-neuronal
10/8	im x 4	não-neuronal
11/8	im x 4	não-neuronal
12/8	infusão iv im x 2	neuronal

EXEMPLO 21:

Um menino de 14 anos de idade diagnosticado com um caso de DMD estava acamado sem nenhuma força nas mãos e pernas e com atrofia muscular. Ele também tinha escoliose.

- 5 Após 8 meses de terapia ele tinha desenvolvido músculo no bíceps, tríceps e braqui-radiais e é capaz de levantar seus braços até o nível do cotovelo. Ele ganhou peso e está crescendo sem qualquer escoliose espinhal associada. Seus níveis de CPK, que indicam a taxa de colapso muscular, foram reduzidos.

- 10 O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 20.

TABELA 20

Data	Via de administração	Tipos de célula
13/4	im	não-neuronal (dose de teste)
14/4	im	não-neuronal
15/4	im	neuronal
16/4	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
17/4	im	neuronal não-neuronal
18/4	im	não-neuronal
19/4	im	neuronal não-neuronal
20/4	im	neuronal não-neuronal
21/4	im	neuronal não-neuronal
22/4	im	neuronal não-neuronal
23/4	im	neuronal não-neuronal
24/4	im	neuronal não-neuronal
25/4	im	neuronal não-neuronal
26/4	im	não-neuronal
27/4	im	não-neuronal
28/4	im	neuronal não-neuronal
29/4	im	neuronal não-neuronal
30/4	im	neuronal não-neuronal
1/5	im	não-neuronal
2/5	im	não-neuronal
3/5	im	neuronal não-neuronal
4/5	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
5/5	im	neuronal não-neuronal
6/5	im	neuronal
7/5	im	neuronal não-neuronal
8/5	im	neuronal não-neuronal
9/5	infusão iv im	neuronal
13/5	im	neuronal não-neuronal
15/5	im	não-neuronal
16/5	im	não-neuronal
17/5	im	neuronal não-neuronal
18/5	im	neuronal não-neuronal
19/5	im	neuronal não-neuronal
20/5	im	neuronal não-neuronal
21/5	im	neuronal não-neuronal
22/5	im	neuronal não-neuronal
23/5	im	neuronal não-neuronal
24/5	im	neuronal não-neuronal
26/5	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
		não-neuronal
27/5	im	neuronal não-neuronal
28/5	im	neuronal não-neuronal
29/5	im	neuronal não-neuronal
30/5	im	neuronal não-neuronal
1/6	im	neuronal não-neuronal
2/6	im	neuronal não-neuronal
3/6	im	neuronal não-neuronal
4/6	im	neuronal não-neuronal
5/6	im	neuronal não-neuronal
6/6	im	neuronal não-neuronal
7/6	im	neuronal não-neuronal
8/6	im	neuronal não-neuronal
9/6	im	neuronal não-neuronal
10/6	im	neuronal não-neuronal
11/6	im	neuronal não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
12/6	im	não-neuronal
13/6	im	neuronal não-neuronal
14/6	im	neuronal não-neuronal
15/6	im	neuronal não-neuronal
16/6	im	neuronal não-neuronal
17/6	im	neuronal não-neuronal
18/6	im	neuronal não-neuronal
19/6	im	neuronal x 2
20/6	im	neuronal não-neuronal
22/6	im	neuronal x 2
23/6	iv	não-neuronal x 2
24/6	iv	não-neuronal x 2
25/6	iv	não-neuronal x 2
27/6	im	neuronal não-neuronal
28/6	im	neuronal não-neuronal
29/6	im	neuronal não-neuronal
30/6	im	neuronal não-neuronal
1/7	im	neuronal não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
2/7	im	neuronal não-neuronal
3/7	im	neuronal não-neuronal
4/7	im	neuronal não-neuronal
5/7	im	neuronal x 2
6/7	im	neuronal x 2
7/7	im	neuronal x 2
8/7	im	neuronal não-neuronal
9/7	im	neuronal não-neuronal
10/7	im	neuronal não-neuronal
11/7	im	neuronal não-neuronal
12/7	im	neuronal não-neuronal
13/7	im	neuronal não-neuronal
14/7	im	neuronal não-neuronal
15/7	im	neuronal não-neuronal
18/8	im	não-neuronal x 3
19/9	im	não-neuronal x 2
20/8	im	não-neuronal x 3
21/8	im	não-neuronal x 3
22/08	im	não-neuronal x 3

Data	Via de administração	Tipos de célula
23/08	im	não-neuronal x 3
24/08	im	não-neuronal x 3
25/08	im	neuronal não-neuronal x 2
26/08	im	neuronal x 3
27/08	im	não-neuronal x 3
28/8	iv	não-neuronal 7
29/8	iv	nao-neuronal 7 x 2
30/8	im	não-neuronal x 2
31/8	im	não-neuronal x 3
1/9	infusão iv	não-neuronal
2/9	infusão iv	não-neuronal
3/9	im	não-neuronal x 3
4/9	im	não-neuronal x 3
5/9	im	não-neuronal x 3
6/9	im	não-neuronal x 3
7/9	im	não-neuronal x 3
8/9	im	não-neuronal x 3
9/9	im	não-neuronal x 3
10/9	im	não-neuronal x 3
11/9	im	não-neuronal x 3
12/9	im	não-neuronal x 3
13/9	im	não-neuronal x 3
14/9	im	não-neuronal x 3
15/9	im	não-neuronal x 3
16/9	im	não-neuronal x 3
17/9	im	não-neuronal x 3
18/9	im	não-neuronal x 3
19/9	im	não-neuronal x 3
20/9	im	não-neuronal x 3

Data	Via de administração	Tipos de célula
21/9	im	não-neuronal x 3
22/9	infusão iv	não-neuronal
23/9	infusão iv	não-neuronal
24/9	im	não-neuronal x 3
25/9	im	não-neuronal x 3
26/9	im	não-neuronal x 3
27/9	im	não-neuronal x 3
28/9	im	não-neuronal x 3
29/9	im	não-neuronal x 3
30/9	im	não-neuronal x 3
1/10	im	não-neuronal x 3
2/10	im	não-neuronal x 3
3/10	im	não-neuronal x 3
4/10	im	não-neuronal x 3
5/10	im	não-neuronal x 3
6/10	im	não-neuronal x 3
7/10	im	não-neuronal x 3
8/10	im	não-neuronal x 3
9/10	im	não-neuronal x 3
11/10	im	não-neuronal x 3
12/10	im	não-neuronal x 3
13/10	im	não-neuronal x 3
14/10	im	não-neuronal x 3
15/10	im	não-neuronal x 3
16/10	im	não-neuronal x 3
17/10	im	não-neuronal x 3
18/10	im	não-neuronal x 3
19/10	im	não-neuronal x 3
20/10	im	não-neuronal x 3
21/10	im	não-neuronal x 3

Data	Via de administração	Tipos de célula
23/10	im	não-neuronal x 3
24/10	im	não-neuronal x 3
25/10	im	não-neuronal x 3
26/10	im	não-neuronal x 3
27/10	im	não-neuronal x 3
28/10	im	não-neuronal x 3
29/10	im	não-neuronal x 3
30/10	im	não-neuronal x 3
31/10	im	não-neuronal x 5
2/11	im	não-neuronal x 4
3/11	im	não-neuronal x 3
4/11	im	não-neuronal x 3
5/11	im	não-neuronal x 3
6/11	im	não-neuronal x 3
7/11	im	não-neuronal x 3
8/11	im	não-neuronal x 2
9/11	im	não-neuronal
10/11	im	não-neuronal x 3
12/11	im	não-neuronal x 3
13/11	im	não-neuronal x 3
14/11	im	não-neuronal x 3
15/11	im	não-neuronal x 3
30/11	im	misturados x 3
1/12	im	não-neuronal x 3
2/12	im	não-neuronal x 3
3/12	im	não-neuronal x 3
4/12	im	não-neuronal x 3
5/12	im	não-neuronal x 3
6/12	im	não-neuronal x 3
7/12	im	não-neuronal x 3

Data	Via de administração	Tipos de célula
8/12	im	não-neuronal x 3
9/12	im	não-neuronal x 3
10/12	im	não-neuronal x 3
11/12	im	não-neuronal x 3
12/12	im	não-neuronal x 3
13/12	im	não-neuronal x 3
14/12	im	não-neuronal x 3
15/12	im	não-neuronal x 3
16/12	infusão iv	não-neuronal
17/12	infusão iv im	não-neuronal x 3
18/12	im	não-neuronal
19/12	iv im	não-neuronal
20/12	im	não-neuronal x 3
21/12	iv im	não-neuronal x 3
22/12	iv	não-neuronal x 3
23/12	im	não-neuronal x 3
24/12	im	não-neuronal x 3
25/12	im	misturados x 3
26/12	iv im	não-neuronal x 3
27/12	iv	misturados
28/12	im	não-neuronal x 3
29/12	im	não-neuronal x 3
30/12	im	não-neuronal
31/12	im	não-neuronal x 3
1/1	im	misturados x 3
2/1	im	misturados x 3

Data	Via de administração	Tipos de célula
3/1	im	não-neuronal x 3
4/1	im	não-neuronal x 3
5/1	infusão iv	não-neuronal
6/1	infusão iv	não-neuronal
7/1	im	não-neuronal x 3
8/1	im	não-neuronal x 3
9/1	im	não-neuronal x 3
10/1	im	não-neuronal x 3
11/1	im	não-neuronal x 3
12/1	im	não-neuronal x 3
13/1	im	não-neuronal x 3
14/1	im	não-neuronal x 3
15/1	im	não-neuronal x 3
16/1	infusão iv	misturados
17/1	infusão iv	misturados
18/1	im	não-neuronal
19/1	im	não-neuronal
20/1	im	não-neuronal
21/1	infusão iv	misturados
22/1	im	misturados
23/1	im	misturados
24/1	im	neuronal
25/1	im	neuronal
26/1	im	misturados
27/1	im	misturados
28/1	im	neuronal x 3
29/1	infusão iv	misturados
30/1	infusão iv	não-neuronal

EXEMPLO 22:

Um menino de 8 anos de idade preso a uma cadeira de rodas

devido à DMD não era capaz de andar ou ficar de pé. Após 6 meses de tratamento seu nível de CPK tinha reduzido. Ele não deteriorou e é capaz de mover seus braços. Ele começou a andar com apoio mínimo.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 21.

TABELA 21

Data	Via de administração	Tipos de célula
29/4	im	neuronal não-neuronal
30/4	im	não-neuronal
1/5	im	neuronal não-neuronal
3/5	im	neuronal
4/5	im	neuronal não-neuronal
5/5	im	neuronal não-neuronal
6/5	im	neuronal não-neuronal
7/5	im	não-neuronal
8/5	im	neuronal não-neuronal
9/5	im	neuronal não-neuronal
10/5	im	neuronal não-neuronal
11/5	im	neuronal não-neuronal
12/5	im	neuronal não-neuronal
13/5	im	neuronal não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
14/5	im	neuronal não-neuronal
15/5	im	neuronal não-neuronal
16/5	im	neuronal não-neuronal
17/	im	neuronal não-neuronal
18/5	im	neuronal não-neuronal
19/5	im	neuronal não-neuronal
20/1	im	neuronal não-neuronal
21/5	im	neuronal não-neuronal
22/5	im	neuronal não-neuronal
23/5	im	neuronal não-neuronal
24/5	im	neuronal não-neuronal
25/5	im	neuronal não-neuronal
26/5	im	neuronal não-neuronal
27/5	im	neuronal não-neuronal
28/5	im	neuronal não-neuronal
29/5	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
		não-neuronal
30/5	im	neuronal não-neuronal
1/6	im	neuronal não-neuronal
2/6	im	neuronal não-neuronal
3/6	im	neuronal não-neuronal
4/6	im	neuronal não-neuronal
5/6	im	neuronal não-neuronal
6/6	im	neuronal não-neuronal
7/6	im	neuronal não-neuronal
8/6	im	neuronal não-neuronal
9/6	im	neuronal não-neuronal
15/11	im	não-neuronal
16/11	infusão intravenosa	neuronal
17/11	infusão intravenosa	neuronal
18/11	im	não-neuronal
19/11	im	não-neuronal
20/11	im	não-neuronal
21/11	infusão intravenosa	misturados
22/11	infusão intravenosa	misturados
23/11	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
25/11	im	misturados
26/11	im	misturados
27/11	im	misturados
29/11	im	não-neuronal
1/12	im	não-neuronal
2/12	im	não-neuronal
3/12	im	não-neuronal
5/12	im	não-neuronal
6/12	im	não-neuronal
7/12	im	não-neuronal
8/12	infusão intravenosa	misturados
9/12	infusão intravenosa	não-neuronal
10/12	im	não-neuronal
11/12	im	não-neuronal
12/12	im	não-neuronal
15/12	im	não-neuronal
16/12	infusão intravenosa	não-neuronal
17/12	infusão intravenosa	não-neuronal
18/12	im	não-neuronal
19/12	im iv	não-neuronal
20/12	im	não-neuronal
21/12	im	não-neuronal
22/12	im	não-neuronal
23/12	im	não-neuronal
24/12	im	não-neuronal
25/12	im	neuronal
26/12	im	neuronal
27/12	iv	misturados
28/12	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
29/12	im	neuronal
30/12	im	neuronal
31/12	im	neuronal
1/1	im	neuronal
1/2	im	misturados
1/4	im	não-neuronal
1/5	iv	não-neuronal
1/6	infusão intravenosa	não-neuronal
1/7	im	não-neuronal
1/8	im	não-neuronal

EXEMPLO 23:

- Um menino de 10 anos de idade diagnosticado com DMD que era capaz de dar alguns passos com apoio foi levado para terapia. Ele não era capaz de se virar sozinho na cama ou sentar sozinho. Ele podia levantar os braços até 30° até o nível do cotovelo. Seguindo alguns meses de tratamento, seu nível de CPK começou a cair e ele é capaz de se virar sozinho e pode levantar uma caneca de água acima de sua cabeça para o banho. Ele não perdeu peso.

- O programa de injeção para este paciente é mostrado na Tabela 22.

TABELA 22

Data	Via de administração	Tipos de célula
20/1	im	não-neuronal (dose de teste)
23/1	im	não-neuronal
24/1	im iv	não-neuronal
25/1	im	não-neuronal
26/1	im	neuronal não-neuronal
27/1	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
1/2	im	não-neuronal
2/2	im	neuronal não-neuronal
3/2	im	não-neuronal
4/2	im	neuronal não-neuronal
5/2	im	neuronal
6/2	im	não-neuronal
7/2	im	não-neuronal
8/2	im	neuronal não-neuronal
10/2	im	neuronal não-neuronal
11/2	im	neuronal não-neuronal
12/2	im	neuronal não-neuronal
14/2	im iv	neuronal não-neuronal
15/2	im	neuronal não-neuronal
16/2	im	neuronal não-neuronal
17/2	im	neuronal não-neuronal
18/2	im	neuronal não-neuronal
21/2	im	neuronal não-neuronal
22/2	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
		não-neuronal
23/2	im	neuronal não-neuronal
24/2	im	não-neuronal
25/2	im	neuronal
26/2	im	neuronal não-neuronal
27/2	im	neuronal não-neuronal
28/2	im	neuronal não-neuronal
28/3	im	neuronal não-neuronal
29/3	im	neuronal
30/3	im	neuronal não-neuronal
4/4	im	neuronal
5/4	im	neuronal não-neuronal
6/4	im	neuronal não-neuronal
7/4	im	neuronal não-neuronal
8/4	im	neuronal não-neuronal
9/4	im	neuronal não-neuronal
16/5	im	neuronal não-neuronal
17/5	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
		não-neuronal
18/5	im	neuronal não-neuronal
19/5	infusão iv	não-neuronal
20/5	infusão iv	não-neuronal
21/5	im	neuronal não-neuronal
22/5	im	neuronal não-neuronal
23/5	im	neuronal não-neuronal
27/7	infusão iv	neuronal
28/7	infusão iv im	neuronal não-neuronal
29/7	im	neuronal não-neuronal
30/7	im	neuronal não-neuronal
31/7	im	não-neuronal
1/8	im	não-neuronal
24/8	im	neuronal não-neuronal
25/8	im	neuronal não-neuronal
26/8	infusão iv im	não-neuronal
27/8	infusão iv im	não-neuronal
28/8	iv	neuronal não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
29/8	infusão iv im	não-neuronal
30/8	im	não-neuronal
31/8	im	não-neuronal
1/9	im	não-neuronal
2/9	infusão iv im	não-neuronal
3/9	infusão iv im	não-neuronal
4/9	im	não-neuronal
5/9	im	não-neuronal
17/11	iv im	misturados não-neuronal
18/11	infusão iv im	neuronal não-neuronal
19/11	infusão iv im	neuronal não-neuronal
20/11	im	não-neuronal
22/11	infusão iv	neuronal
23/11	iv im	misturados não-neuronal
24/11	iv im	misturados não-neuronal
25/11	im iv	misturados
26/11	im iv	misturados
27/11	iv im	não-neuronal
28/11	iv	misturados

Data	Via de administração	Tipos de célula
29/11	iv	misturados
30/11	im	misturados
1/12	iv im	não-neuronal
2/12	iv im	não-neuronal
3/12	iv im	não-neuronal
4/12	iv	misturados
5/12	im iv	não-neuronal
2/1	im	misturados
3/1	im	não-neuronal
4/1	im	não-neuronal
5/1	infusão iv im	não-neuronal
6/1	infusão iv im	misturados não-neuronal
7/1	infusão iv	misturados
8/1	infusão iv im	misturados não-neuronal
9/1	im	não-neuronal

Tratamento de Doenças e Distúrbios Cardíacos

- Outro uso de transplante de células hES de acordo com a prática da presente invenção é no tratamento de Doenças e Distúrbios Cardíacos incluindo, mas não limitado a, Cardiomiopatia Restritiva, Falência Cardíaca, 5 Bradicardia Sinusal e Doença da Artéria Coronária. Alguma porção das células diferenciadas é incorporada ao tecido cardíaco do paciente, reproduzindo e reparando músculo danificado.

Embora protocolos de administração possam ser variados para se adequarem ao paciente particular, um protocolo típico para o tratamento de

Doenças e Distúrbios Cardíacos compreende injeções intramusculares e intravenosas dia-sim-dia-não por duas semanas e então a cada 3 dias pelas próximas duas semanas, e injeções intramusculares uma vez por mês junto com infusões intravenosas durante os meses 3, 6, 10 e 12. Injeções intracardíacas em torno da área danificada podem ser dadas durante cirurgia de *bypass*.

EXEMPLO 23:

Um paciente diagnosticado com Síndrome da Corda Sinusal com Bradicardia Sinusal foi aconselhado a ter um marca-passo implantado. O paciente foi tratado de acordo com a prática da presente invenção onde as células hES e seus derivados incluindo progenitores de célula-tronco hematopoiética através de injeção intravenosa ou injeção subcutânea ou injeção intramuscular ou injeção intracardíaca ou durante angiografia foram administrados em uma quantidade de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células. O paciente mostrou sinais de melhora após sofrer o tratamento com células hES e a necessidade de um marca-passo foi eliminada.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 22.

TABELA 22

Data	Via de administração	Tipos de célula
6/7	dose de teste	não-neuronal
19/7	im x 2	neuronal
21/7	im x 2	neuronal
26/7	im x 2	neuronal
4/8	im x 2	neuronal
10/8	im x 4	neuronal
26/8	im x 2	neuronal
1/9	im x 2	neuronal
8/9	iv	neuronal
15/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
22/9	im	neuronal não-neuronal
28/9	caudal	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
13/10	iv x 2	mistura de neuronal e não-neuronal
27/10	im x 2	mistura de neuronal e não-neuronal neuronal
8/11	im x 2	não-neuronal
23/11	intra-articular na junta do joelho	neuronal
14/4	intra-articular na junta do joelho	neuronal
18/5	intra-articular na junta do joelho	neuronal
14/6	caudal	neuronal

Tratamento de Células Cancerosas e Tecidos Oncogênicos

Alternativamente, células hES podem ser administradas de acordo com a prática da presente invenção para suplementar tratamento de quimioterapia convencional de pacientes com câncer. Em quimioterapia convencional, agentes citotóxicos são administrados para destruir células cancerosas. No entanto, agentes citotóxicos não distinguem entre células normais e células cancerosas, e podem destruir as células não-cancerosas do paciente, incluindo as células do sistema imune do paciente. Como uma consequência, enquanto sofrendo quimioterapia, e por algum período depois da quimioterapia parar, pacientes com câncer são suscetíveis à infecção devido ao seu sistema imune comprometido. Através da administração de células-tronco hematopoiéticas, células-tronco neuronais e células hES a pacientes sofrendo quimioterapia alguma porção das células injetadas vai diferenciar em um novo sistema imune, substituindo células sanguíneas brancas, células sanguíneas vermelhas, plaquetas e outras células destruídas pela quimioterapia. Também, regeneração de medula óssea aplástica como um resultado de radioterapia e quimioterapia, através da regulação da mecânica de mitose, e restauração de cursos de comunicação celular normais reforçam o sistema imune e param mitose desregulada adicional. As células hES e/ou seus derivados podem ser administrados através de injeção intravenosa ou intramuscular ou administração direta no tumor. Essas células também agem sobre curso *hedgehog* e o controlam de modo a permitir a parada da multiplicação excessiva.

EXEMPLO 24:

Um paciente informado com adenocarcinoma de grau III sofreu tratamento de quimioterapia e cirurgia sem sucesso. Por causa do início de metástases hepáticas múltiplas com aparecimento nodular e nós celíacos e retropancreáticos, o paciente precisou de cuidado de apoio.

Células hES e seus derivados de acordo com a prática da presente invenção foram administrados em uma quantidade de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células ao paciente que resultou em melhoras notáveis incluindo restauração de um fígado uniformemente heterogêneo que era anteriormente nodular e uma área ecogênica aumentada nos nós linfáticos.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 23.

TABELA 23

Data	Via de administração	Tipos de célula
23/3	dose de teste	não-neuronal
24/3	im	não-neuronal
25/3	im	não-neuronal
26/3	im	não-neuronal
27/3	im	não-neuronal
28/3	iv	não-neuronal
29/3	iv	não-neuronal
30/3	iv	não-neuronal
31/3	iv	neuronal
1/4	iv	não-neuronal
2/4	im	não-neuronal
3/4	iv	não-neuronal
4/4	iv	não-neuronal
5/4	iv	neuronal
	im x 2	não-neuronal
6/4	iv	não-neuronal
	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
7/4	iv	não-neuronal
8/4	iv	não-neuronal
9/4	iv	não-neuronal
10/4	iv	não-neuronal
11/4	iv im	não-neuronal neuronal
12/4	iv im	não-neuronal neuronal
13/4	iv im	não-neuronal neuronal
14/4	iv	neuronal
15/4	iv im	não-neuronal neuronal
16/4	iv im	não-neuronal neuronal
17/4	iv	não-neuronal
19/4	iv im	não-neuronal neuronal
20/4	iv im	não-neuronal neuronal
21/4	iv im	não-neuronal neuronal
23/4	infusão iv	neuronal
24/4	iv	não-neuronal
25/4	im	não-neuronal
26/4	iv	não-neuronal
27/4	im	não-neuronal
2/5	iv	não-neuronal
3/5	iv	não-neuronal
6/5	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
	iv	não-neuronal
7/5	im	neuronal não-neuronal
8/5	iv	não-neuronal
12/5	iv	não-neuronal
16/5	im iv	neuronal não-neuronal
18/5	infusão iv	não-neuronal
19/5	iv	não-neuronal
20/5	im iv	neuronal não-neuronal
22/5	infusão iv iv x 2	não-neuronal
23/5	infusão iv iv x 2	não-neuronal

Tratamento de Úlceras Aftosas/Líquen Plano

- Ainda outro uso de células hES e/ou seus derivados está no tratamento de qualquer úlcera nas áreas mucosas do corpo, tal como uma úlcera aftosa da boca. As células são administradas intravenosa, intramuscular e localmente. Injeções diárias são dadas intramuscularmente ou intravenosamente pelos primeiros 4 meses e infusão intravenosa a cada 15-30 dias. Aplicação local diretamente ou através de mistura com um gel é também feita.

EXEMPLO 25:

- 10 Uma senhora de 65 anos de idade foi com a língua cheia de tecido necrótico e úlceras aftosas que eram dolorosas. Ela tinha dificuldade em comer e engolir e falar. Uma vez recebendo as células hES ela está melhor; achando mais fácil engolir e falar e abrindo a boca melhor. Ela também mostra recuperação com as úlceras e tecido necrótico.

15 Tratamento de Osteoartrite, Artrite, Juntas Anquilosantes

Ainda outro uso de células hES e/ou seus derivados é no trata-

mento de Osteoartrite, Artrite e Juntas Anquilosantes. Injeções intramusculares diárias são dadas para preparação x 10 dias. Injeção intra-articular de 750.000 a 80 milhões de células hES misturadas com salumendrol é dada e repetida 1 ½ a 3 meses depois.

5 Tratamento de Lesão do Plexo Braquial

Ainda outro uso das células hES e/ou seus derivados é no tratamento de Lesões ao Plexo Braquial onde o braço afetado é paralisado. As células são administradas intramuscularmente, intravenosamente e no plexo braquial e repetidas a cada 1 ½ mês por um ano ou até o braço estar melhor. Infusões intravenosas são também usadas.

10 EXEMPLO 26:

O paciente é um homem de 26 anos de idade que sofreu uma Lesão do Plexo Braquial mão (esq.) e perdeu a função dela nos últimos 7-8 anos. Com tratamento com células-tronco sua mão esquerda melhorou muito com mais força motora até o cotovelo e pulsos. Ele é capaz de mover seu pulso e a mão não é tão flácida quanto antes. Ele é também capaz de mover seu braço para cima.

Tratamento de Distúrbios Reprodutivos

Outro uso de transplante de célula hES de acordo com prática da presente invenção é o tratamento de Distúrbios Reprodutivos, através da restauração da fertilidade de pacientes sofrendo de atrofia testicular, falência ovariana e azoospermia.

EXEMPLO 27:

Tratamento de um paciente azoospermático com células hEs e seus derivados incluindo progenitores de célula-tronco hematopoiética através de injeção intramuscular de acordo com a prática da presente invenção resultou na produção de espermatozóides. Também, injeções intravenosas e intramusculares foram usadas bem como injeções diretas nos testículos e também injeção subcutânea próximo ao epidídimo foram usadas.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 24.

TABELA 24

Data	Via de administração	Tipos de célula
1/2	dose de teste	não-neuronal
4/8	im	não-neuronal
5/2	im	não-neuronal
7/8	im	não-neuronal
2/2	im	mistura de neuronal e não-neuronal
27/7	im	neuronal
6/3	im	não-neuronal
1/9	im	neuronal
2/9	im	neuronal
6/9	im	neuronal
7/9	im	neuronal
12/9	im	neuronal
13/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
17/1	iv	não-neuronal
27/3	im	não-neuronal
26/4	im	neuronal
8/5	im	não-neuronal
25/5	im	não-neuronal
11/8	im	não-neuronal
17/8	im	não-neuronal
7/9	im	não-neuronal

Regeneração de Tecido

- Células hES podem ser administradas de acordo com a prática da presente invenção para a indução de regeneração de tecido, incluindo, mas não limitado a, regeneração de músculo, o tratamento de cirrose hepática, e na formação de vasos sanguíneos (neovascularização) que é eficaz no tratamento de doenças degenerativas e no tratamento de úlceras não-cicatrizantes.
- 5

Tratamento de Diabetes

Outra modalidade para a invenção é o uso de células hES e/ou seus derivados, onde as ditas células compreendem células progenitoras de produção de insulina, no tratamento de Diabetes. Pacientes diabéticos estão 5 4 vezes sob mais risco de sofrer um ataque cardíaco ou derrame e também têm um risco aumentado de degeneração e falência múltipla de órgão, incluindo os rins, olhos, sistema nervoso e imunidade geral. Ao tratar diabetes através do transplante de células hES produtoras de insulina, e restauração de produção de insulina no corpo, há uma redução na necessidade de insu- 10 lina e uma redução nos efeitos colaterais debilitantes.

Embora protocolos de administração possam ser variados para se adequarem ao paciente particular, um protocolo típico para o tratamento do Diabetes compreende injeções intramusculares e intravenosas duas vezes por semana durante o primeiro mês e injeções uma vez por semana du- 15 rante os meses 3, 6, 11 e 12. Infusões intravenosas podem ser também dadas durante o mês 6.

EXEMPLO 28:

O paciente é um homem de 70 anos de idade com diabetes e que sofreu hipercetoacidose e estava tomando 52 unidades de insulina e um 20 hipoglicêmico oral. Dentro de 6 meses de terapia ele estava sem todos os medicamentos e insulina e está agora atualmente sendo capaz de manter seu açúcar no sangue em uma dieta normal durante o último 1 ½ ano. Ele recebe injeções de reforço.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabe- 25 la 25.

TABELA 25

Data	Via de administração	Tipos de célula
5/9	dose de teste	não-neuronal
6/9	im	neuronal
7/9	im	neuronal
8/9	im	não-neuronal
9/9	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
12/9	iv	neuronal
13/9	im	não-neuronal
19/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
22/9	iv	não-neuronal
26/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
29/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
3/10	im	mistura de neuronal e não-neuronal
5/10	im	não-neuronal
10/10	im	não-neuronal
13/10	iv	não-neuronal
17/10	im	mistura de neuronal e não-neuronal
20/10	iv	não-neuronal
24/10	iv	mistura de neuronal e não-neuronal
31/10	iv	mistura de neuronal e não-neuronal
3/11	iv	mistura de neuronal e não-neuronal
7/11	im	não-neuronal
10/11	im	não-neuronal
14/11	iv	neuronal
17/11	im	não-neuronal
21/11	im	não-neuronal
12/12	iv	não-neuronal
19/12	iv	neuronal
26/12	iv	não-neuronal
1/4	im	não-neuronal
18/8	im	não-neuronal
21/8	im	não-neuronal
22/8	im	não-neuronal
24/8	im	não-neuronal
26/8	im	não-neuronal

EXEMPLO 29:

Um homem de 54 anos de idade apresentado com diabetes mel-
litus incontrolado durante os últimos três anos e estava tomando insulina 42
unidades junto com um hipoglicêmico oral. Seu açúcar no sangue em jejum
5 era 200 mg/dl e seu açúcar pós-prandial era 280 mg/dl com todas as medi-
cações.

Após tomar as células hES por três semanas ele parou de tomar
insulina e está com uma dose reduzida de fármacos hipoglicêmicos. Ele está
se sentindo muito melhor e é mais alerta.

10 O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabe-
la 26.

TABELA 26

Data	Via de administração	Tipos de célula
18/1	im	neuronal (dose de teste)
19/1	im	não-neuronal
20/1	im	não-neuronal
21/1	im	misturados
22/1	im	misturados
23/1	im	misturados
24/1	im	neuronal
25/1	im	neuronal
26/1	im	não-neuronal
27/1	im	não-neuronal
28/1	im	neuronal
29/1	im	neuronal
30/1	im	neuronal
31/1	im	misturados

EXEMPLO 30:

Uma mulher de 45 anos de idade tinha angina e era diabética.
15 Ela estava tomando insulina e um hipoglicêmico oral e tinha sofrido angio-
plastia.

Três meses depois de receber tratamento com células hES ela

parou com a insulina e está sob uma dose reduzida de hipoglicêmico oral. Seus registros de açúcar no sangue e medicações estão mostrando níveis de açúcar no sangue bem controlados.

O programa de injeções para esta paciente é mostrado na Tabela 27.

TABELA 27

Dose	Via de administração	Tipos de célula
21/8	im	não-neuronal
22/8	im	não-neuronal
23/8	im	não-neuronal
24/8	im	não-neuronal
25/8	im	não-neuronal
28/8	im	não-neuronal
30/8	im	não-neuronal
1/9	im	não-neuronal
4/9	im	não-neuronal
6/9	iv	não-neuronal
8/9	im	não-neuronal
11/9	im	não-neuronal
13/9	im	não-neuronal
18/9	im	não-neuronal
20/9	im	não-neuronal
25/9	im	não-neuronal
28/9	im	não-neuronal
29/9	im	não-neuronal
30/9	im	não-neuronal
9/10	im	não-neuronal
11/10	im	não-neuronal
18/10	im	não-neuronal
23/10	im	não-neuronal
25/10	im	não-neuronal
31/10	im	não-neuronal

Dose	Via de administração	Tipos de célula
2/11	im	não-neuronal
08/11	im	não-neuronal
11/11	infusão iv	misturados
12/11	infusão iv	misturados
13/11	im	não-neuronal
15/11	im	não-neuronal
17/11	im	não-neuronal
18/11	infusão iv	neuronal
19/11	infusão iv	neuronal
20/11	im	não-neuronal
22/11	im	não-neuronal
25/11	infusão iv	neuronal
26/11	infusão iv	neuronal
27/11	im	não-neuronal
29/11	iv	neuronal
	im	não-neuronal
30/11	infusão iv	neuronal
1/12	infusão iv	neuronal
10/12	infusão iv	misturados
11/12	im	não-neuronal
13/12	im	não-neuronal
16/12	infusão iv	neuronal
17/12	infusão iv	neuronal
18/12	im	não-neuronal
20/12	im	neuronal
21/12	im	neuronal
22/12	iv	neuronal
5/1	im	não-neuronal
6/1	im	não-neuronal
	iv	
8/1		não-neuronal

Tratamento de Doença Pulmonar Intersticial

EXEMPLO 31:

Uma senhora de meia-idade foi para a clínica sofrendo de ILD (doença pulmonar intersticial). Ela estava em um estágio terminal com SPO₂ a 69% em descanso. Agora com o tratamento com células hES sua doença parou de progredir. A paciente está se sentindo muito melhor no geral e até mesmo sua respiração melhorou. O tratamento está continuando. Há sons de respiração que podem ser ouvidos em auscultação e seus testes de função pulmonar geral mostram melhora.

O programa de injeções para esta paciente é mostrado na Tabela 28.

TABELA 28

Data	Via de administração	Tipos de célula
16/10	im	não-neuronal (dose de teste)
17/10	im	não-neuronal
18/10	im	não-neuronal
19/10	iv epidural nebulização	neuronal não-neuronal
20/10	iv nebulização	neuronal
21/10	iv nebulização	neuronal
22/10	im iv nebulização	neuronal não-neuronal
23/10	iv nebulização	neuronal
24/10	im nebulização	não-neuronal
25/10	im iv	misturados

Data	Via de administração	Tipos de célula
	nebulização	
26/10	iv nebulização	misturados
27/10	iv nebulização	misturados
28/10	iv nebulização	neuronal
29/10	iv nebulização	neuronal
30/10	iv nebulização	misturados
31/10	iv nebulização	misturados
2/11	iv nebulização	misturados
3/11	iv nebulização	misturados
4/11	iv nebulização	misturados
5/11	iv nebulização	misturados
6/11	iv nebulização	misturados
7/11	iv nebulização	misturados
8/11	iv nebulização	não-neuronal
9/11	iv nebulização	misturados
10/11	iv nebulização	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
11/11	iv nebulização	misturados
12/11	iv nebulização	misturados
13/11	iv nebulização	misturados
14/11	iv nebulização	misturados
15/11	iv nebulização	neuronal
16/11	im iv nebulização	neuronal não-neuronal
17/11		não-neuronal
18/11	im iv nebulização	não-neuronal
19/11	im iv nebulização	não-neuronal
20/11	im iv nebulização	não-neuronal
21/11	im iv nebulização	não-neuronal
22/11	im iv nebulização	não-neuronal
23/11	iv nebulização	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
24/11	iv nebulização	não-neuronal
25/11	iv nebulização	não-neuronal
26/11	iv nebulização	não-neuronal
27/11	iv nebulização	não-neuronal
28/11	im iv nebulização	não-neuronal
29/11	im iv nebulização	não-neuronal
30/11	im iv nebulização	não-neuronal
1/12	iv nebulização	não-neuronal
2/12	iv nebulização	não-neuronal
3/12	iv nebulização	não-neuronal
4/12	iv nebulização	não-neuronal
5/12	iv nebulização	não-neuronal
6/12	iv nebulização	não-neuronal
7/12	iv nebulização	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
8/12	iv nebulização	não-neuronal
9/12	iv nebulização	neuronal
10/12	iv nebulização	neuronal
11/12	iv nebulização	não-neuronal
12/12	iv nebulização	não-neuronal
13/12	iv nebulização	não-neuronal
14/12	iv nebulização	não-neuronal
15/12	iv nebulização	neuronal
16/12	iv nebulização	neuronal
17/12	iv nebulização	não-neuronal
18/12	iv nebulização	não-neuronal
19/12	iv nebulização	não-neuronal
20/12	iv nebulização	não-neuronal
21/12	iv nebulização	neuronal
22/12	iv nebulização	neuronal não-neuronal
23/12	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
	iv nebulização	não-neuronal
24/12	im iv nebulização	neuronal não-neuronal
25/12	im iv	misturados
26/12	iv nebulização	misturados
27/12	iv nebulização	misturados
28/12	iv nebulização	misturados
29/12	im iv	neuronal misturados
30/12	im iv nebulização	neuronal
31/12	im iv nebulização	neuronal misturados
1/1	im iv nebulização	misturados
2/1	im iv	misturados
3/1	im iv nebulização	não-neuronal
4/1	im iv	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
	nebulização	
5/1	im iv nebulização	neuronal não-neuronal
6/1	im iv nebulização	misturados não-neuronal
7/1	im iv nebulização	misturados não-neuronal
8/1	im iv nebulização	misturados não-neuronal
9/1	im iv nebulização	misturados não-neuronal
10/1	im iv nebulização	misturados não-neuronal
11/1	im iv nebulização	misturados não-neuronal
12/1	im iv nebulização	misturados não-neuronal
13/1	iv	misturados
14/1	im iv nebulização	misturados não-neuronal
15/1	im iv	neuronal não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
	nebulização	
16/1	im iv nebulização	misturados não-neuronal
17/1	im iv nebulização	misturados não-neuronal
18/1	im iv nebulização	misturados não-neuronal
19/1	im iv nebulização	misturados não-neuronal
20/1	im iv nebulização	não-neuronal
21/1	im iv nebulização	misturados
22/1	im iv nebulização	misturados
23/1	im iv nebulização	neuronal misturados
24/1	im iv nebulização	neuronal misturados
25/1	im iv nebulização	neuronal misturados

Data	Via de administração	Tipos de célula
26/1	im iv nebulização	neuronal misturados
27/1	im iv nebulização	neuronal misturados
28/1	im iv nebulização	neuronal misturados
29/1	im iv nebulização	neuronal misturados
30/1	im iv nebulização	não-neuronal
31/1	im iv nebulização	não-neuronal

Desenvolvimento de Novo Fármaco

- Ainda outro uso de células hES é para o desenvolvimento e teste de novos fármacos. Por exemplo, células hES podem ser cultivadas de acordo com a prática da presente invenção e usadas como um substrato para teste dos alvos, modo de ação, absorção, metabolismo, excreção, toxicidade e segurança de novas entidades químicas, candidatos a fármaco e novos agentes farmacêuticos durante pesquisa e desenvolvimento farmacêuticos. Em uma modalidade, a presente invenção refere-se a métodos para teste do efeito de um composto sobre células hES e/ou seus derivados, compreendendo cultura das células hES e/ou seus derivados obtidos através dos métodos da presente invenção na presença do composto e determinação do efeito do composto sobre as células.

EXEMPLO 32:

Os efeitos dos antibióticos tetraciclina e ceftriaxona sobre células hES cultivadas foi analisado junto com o soro do paciente. Esses fármacos foram introduzidos separadamente bem como juntos em concentrações diferentes e os efeitos estudados sobre as células-tronco. Finalmente a dose da medicação e a eficácia dos fármacos foram determinadas.

Aplicação de Fármaco

Outro uso para células hES e/ou seus derivados é levar fármacos para o local de uma lesão ou doença para aplicação localizada. Células hES e/ou seus derivados podem ser incubados na presença de um fármaco de modo que as células absorvem o fármaco. As células carregadas podem ser então aplicadas localmente ao local de tratamento onde o fármaco vai difundir das células e tratamento da lesão ou doença vai suceder. Em outra modalidade, as células carregadas podem ser aplicadas a um local outro que não a área danificada ou doente se a área danificada ou doente for inadequada para aplicação direta do fármaco (por exemplo, a área está muito danificada para injeção direta do fármaco). Este método de aplicação de fármaco permite o uso de fármacos que seriam tóxicos se administrados sistematicamente a um indivíduo. O método também permite que concentrações mais altas do fármaco sejam administradas ao local do que pode ser possível pelas outras vias de administração. Em uma modalidade adicional, células hES e/ou seus derivados podem ser carregados com um ou mais fármacos que vão intensificar o tratamento produzido pelo transplante das próprias células. Exemplos não-limitantes incluem carregar células com agentes anti-hipertensivos para tratamento de doença cardíaca, carregar células com agentes quimioterapêuticos para tratamento de pacientes com câncer e carregar células com fatores neurotróficos para tratamento de SCI. Em uma modalidade, a presente invenção refere-se a métodos para aplicação de um fármaco a um indivíduo compreendendo cultura de células hES e/ou seus derivados obtidos através dos métodos da presente invenção na presença do fármaco, onde as células absorvem o fármaco, e administração das células a um local no indivíduo, onde o fármaco é liberado.

Em um aspecto da invenção, as metodologias de cultura da presente invenção permitem a exposição das células hES e/ou seus derivados aos fármacos e outros agentes ativos *in vitro* antes do transplante, conforme comparado com administração dos fármacos ou agentes ativos diretamente aos pacientes. Exposição das células *in vitro* vantajosamente provê os efeitos positivos dos fármacos (por exemplo, os efeitos neurotróficos de ácido valpróico) enquanto evitando toxidez de administração sistêmica do fármaco.

Tratamento de Lesão ao Cordão Espinhal: Estudos de Caso

Tratamento clínico usando células hES e seus derivados para SCI mostrou resultados notáveis. Dada a natureza da prática da presente invenção, e que todos os pacientes eram voluntários incuráveis, e que sua condição era SCI crônica ASIA A, e então além do estágio no qual processos de regeneração neural naturais são possíveis, testes controlados duplo-cego ou de placebo não foram realizados, em respeito ao juramento do Médico. Os resultados do protocolo são demonstrados através dos exemplos detalhados providos como estudos de caso abaixo.

ESTUDO DE CASO 1

A prática da presente invenção resultou na reversão dos sintomas de SCI em um indivíduo sofrendo de SCI através de transplante de células hES de acordo com o protocolo aqui descrito.

ReRo 1.3.4/000/220905/α, um indivíduo de 29 anos de idade com uma fratura C6-C7 e deslocamento foi declarado intratável por práticas médicas diferentes. O indivíduo não tinha nenhuma sensação da área mamária interna para baixo, e era incapaz de sentar sozinho, não tinha nenhum controle da bexiga ou intestino, não era capaz de mover seus braços e dedos e não tinha nenhuma força ou tônus em suas pernas. O indivíduo tinha desenvolvido úlceras de leito bilaterais não-cicatrizantes durante um período de três anos. Administração de células hES e seus derivados de acordo com as práticas da presente invenção foi iniciada sob essas condições como segue.

Uma composição farmacêutica contendo aproximadamente cerca de 750.000 a cerca de 80 milhões de células hES e seus derivados incluindo progenitores de célula-tronco hematopoiética e progenitores de célula-

tronco neuronal foi diluída em solução salina normal estéril para um volume final de 0,25 a 1,0 ml, cariotipada, testada quanto à contaminação, viabilidade e contagem usando protocolos padrão e então administrada através de injeção subcutânea no antebraço. O indivíduo foi observado quanto a
5 choque anafilático, dor ou inflamação no local da injeção, coceira generalizada, rubor ou febre após cinco minutos, dez minutos, quinze minutos, trinta minutos, uma hora e vinte e quatro horas.

Tratamento do indivíduo foi através de administração de uma injeção de preparação subcutânea de uma composição farmacêutica contendo
10 750.000 a 80 milhões de células hEs e seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética e progenitores de célula-tronco neuronal, ressuspensos em um volume de 0,25 ml a 1,0 ml de solução salina normal estéril. Uma injeção de preparação adicional carregando o mesmo número de células-tronco hematopoiéticas e células-tronco neuronais ressuspensas em 0,25 ml a 1,0 ml de solução salina normal foi administrada através de injeção intramuscular. Uma injeção de preparação final de 750.000 a 80 milhões de progenitores de célula-tronco neuronal ressuspensos em um volume de 0,25 ml a 1,0 ml de solução salina normal estéril foi administrada através de injeção intravenosa.

20 Tratamento direto da SCI de acordo com a prática da presente invenção foi realizado através de ressuspensão de uma composição farmacêutica compreendendo 750.000 a 80 milhões de células hES e seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal, ressuspensos em um volume de 2 ml de solução salina normal estéril e diluídos mais para 15 ml a 40 ml de solução salina normal estéril e administrados através de injeção epidural no local, abaixo do local e acima do local da lesão sete dias após a primeira injeção de preparação. Tratamento através da administração de injeção epidural foi repetido após um mês e meio de preparação, quatro meses após preparação e seis
30 meses após preparação.

Em adição à administração epidural, o indivíduo foi tratado através de injeção intratecal de uma composição farmacêutica compreendendo

750.000 a 11 milhões de células hES e seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética e progenitores de célula-tronco neuronal ressuspensos em 2 ml de solução salina normal estéril e cinco meses após o início do tratamento.

- 5 Ainda, o indivíduo foi tratado com uma injeção epidural de uma composição farmacêutica compreendendo 750.000 a 80 milhões de células hES e seus derivados, onde as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal, ressuspensos em 2 ml de solução salina normal estéril e diluídos mais para um volume final de 4 ml, duas vezes diariamente por três dias consecutivos.
- 10

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 29.

TABELA 29

Data	Via de administração	Tipos de célula
24/8	dose de teste	não-neuronal
25/8	im x 3	hES
27/8	im x 2	neuronal
28/8	spray para úlcera de leito	neuronal
29/8	im x 4	neuronal
6/9	im x 2	neuronal
8/9	epidural	neuronal
9/9	iv	neuronal
10/9	im	não-neuronal
14/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
4/10	im intratecal	não-neuronal
7/10	im espinhal profunda	não-neuronal
15/10	im	neuronal
21/10	im	não-neuronal
26/10	iv	neuronal
7/11	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
1/3	im espinhal profunda x 3	neuronal
2/3	im x 2	neuronal
3/3	im x 2	neuronal
5/3	im	neuronal
6/3	im x 2	neuronal
7/3	im x 2	neuronal
8/3	epidural x 2	neuronal
9/3	cateter epidural	neuronal
10/3	cateter epidural	neuronal
11/3	cateter epidural	neuronal
12/3	espinhal profunda	neuronal
13/3	espinhal profunda	neuronal
14/3	im	neuronal
15/3	im	neuronal
16/3	im	neuronal
17/3	im	neuronal
18/3	im	neuronal
19/3	im	neuronal
20/3	im	neuronal
21/3	im	neuronal
22/3	im	neuronal
23/3	im	neuronal
24/3	im	neuronal
25/3	im	neuronal
26/3	im	neuronal
27/3	im	neuronal
28/3	im	neuronal
29/3	im	neuronal
30/3	im	neuronal
31/3	im	neuronal
1/5	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
2/5	im	neuronal
3/5	cateter epidural	neuronal
4/5	cateter epidural	neuronal
5/5	cateter epidural	neuronal
6/5	im	neuronal
8/5	im	não-neuronal
12/5	im	neuronal

O bem-estar neurológico do indivíduo foi avaliado em intervalos regulares após o início do tratamento, e uma melhora notável do estado mental e higiene geral do indivíduo foi observada após duas semanas conforme mostrado na TABELA 30.

5 TABELA 30

Período de Tempo	Estado Mental	Higiene	Comportamento	Nervos Cranianos
0 dia	Deprimido	Pobre	Formal	Normais
3 dias	Deprimido	Pobre	Formal	Normais
15 dias	Esperançoso	Média	Formal	Normais
2 meses	Feliz	Média	Formal	Normais
3 meses	Esperançoso	Média	Formal	Normais
10 meses	Muito feliz e procura ansiosamente viver	Média	Formal	Normais

Sinais e sintomas típicos de dano ao sistema nervoso autônomo como um resultado de uma fratura de C6-C7 foram avaliados durante o curso de tratamento. Uma melhora notável e progressiva em todos os parâmetros testados, incluindo a habilidade em sentir pressão profunda, sensação de toque, sensação, equilíbrio, habilidade em sentir dor, habilidade em sentir mudança em temperatura, movimentos involuntários, presença de suores frios, tontura, pressão sanguínea, dificuldade em respirar, postura anormal enquanto deitando e habilidade em sentar sem auxílio, foram observados conforme mostrado na Tabela 31.

TABELA 31

Período de Tempo	Pressão Profunda	Toque	Sensação	Equilíbrio	Dor	Temp.
0 dia	Intermamária	Borda inferior da clavícula	Borda inferior da clavícula	Não senta	Borda superior da clavícula	Borda superior da clavícula
3 dias	Umbigo	Braço Intermamária	Braço Intermamária antebraço	Não senta	Intermamária	Intermamária
15 dias	Abaixo do umbigo	Xifoesterno	Xifoesterno e braço interno	Senta	Xifoesterno e braço interno	Xifoesterno e braço interno
2 meses	Espinha isquiática	Espinha isquial	Xifoesterno e braço interno	Senta muito bem	Espinha isquiática	Espinha isquiática
3 meses	Borda superior da coxa	Espinha isquial	Xifoesterno e braço interno	Senta	Espinha isquiática	Espinha isquiática
10 meses	"	Perineal	Umbigo	Senta bem	Perineal	Perineal
06/05	Perineal	Metade abaixo das coxas	Umbigo	Senta bem	Perineal	Perineal

TABELA 31 (continuação)

Período de Tempo	Suores Frios	Tontura	PS	Respiração	Postura Anormal Enquanto Deitado
0 dia	++++	++++	Flutuante	Respiração diafragmática	Incapaz de sentar
3 dias	+++	+++	Flutuante	Respiração diafragmática	Incapaz de sentar
15 dias	++	+	Estável	Normal	Sentado estável
2 meses	zero	+ sentado	Estável	Normal	Senta muito bem
3 meses	zero	+ sentado	Estável	Normal	Senta muito bem
10 meses	zero	+ de pé	Estável	Normal	De pé com <i>calipers</i> e andador
06/05	zero	zero	Estável	Normal	De pé com <i>calipers</i> e andador e dá um passo para a frente

Disfunção da bexiga e intestino é geralmente associada com dano neurológico como resultado de SCI. Este dano resulta em controle da bexiga prejudicado, corrente da bexiga e sensação de bexiga cheia, controle do intestino, tempo para evacuação do intestino e sensação no intestino.

- 5 Durante o curso do tratamento, melhoras notáveis e progressivas em todos os parâmetros testados foram observadas como um resultado do tratamento conforme mostrado na TABELA 32.

TABELA 32

Período de Tempo	Movimentos involuntários	Controle da Bexiga	Corrente da Bexiga	Sensação (bexiga)	Controle do Intestino	Tempo de Evacuação	Sensação (Intestino)
0 dia	Zero	Zero	Zero	Zero	Zero	3 horas	Zero
3 dias	Zero	Zero	Zero	Zero	Zero	3 horas	Zero
15 dias	Zero	Zero	Zero	Zero	Zero	2,5 horas	Zero
2 meses	Zero	Zero	Zero	Zero	Zero	2 horas	+
3 meses	Zero	Zero	Zero	Começou	+	0,5 hora	++

- 10 Mudanças na função motora do corpo superior, como evidência de regeneração neural no sítio da lesão C6-C7 foram avaliadas durante o curso do tratamento. Melhoras notáveis e progressivas em movimento do ombro, movimento de pulso e dedo, forças nos dedos, reflexos de tendão, resistência do movimento do membro, atrofia muscular e ação de segurar com a mão foram observadas conforme mostrado na Tabela 33.

15 **TABELA 33**

Período de Tempo	Ombro L R	Pulso Dedos L R	Reflexo de tendões L R	Força S FA W F	Atrofia S FA W F	Agarra com a Mão
0 dia	Encolher os ombros +	Pulso cai dedo fraco Nenhum movimento	Bíceps Rápido Bilateral	4 2 3 0	0 3+ 4+ 4+	Zero
3 dias	Encolher os ombros +	Pulso cai dedo fraco nenhum movimento	Bíceps Rápido Bilateral	4 2 3 0	0 3+ 4+ 4+	Zero B/L

Período de Tempo	Ombro		Pulso Dedos		Reflexo de tendões	Força				Atrofia				Agarra com a Mão
	L	R	L	R		S	FA	W	F	S	FA	W	F	
15 dias	Encolher os ombros +		Pulso cai melhor pode agarrar Pode mover o pulso		Rápido	4	3	4	3	0	3	4	4+	Zero B/L
2 meses	+		"		Duvidoso	4	4	4	4	0	2+	3+	3+	Presente pode pegar copo
3 meses	+		Movimento muito melhor		Duvidoso	4	4	4	4	0	2+	3+	3+	

S = ombro; FA = antebraço; W = pulso; F = dedos; L = esquerdo; R = direito

Força: 0 é pobre, 4 é boa

Atrofia: 0 é boa, 4 é pobre

- Mudanças na função motora do corpo inferior, como evidência
- 5 de regeneração neural no sítio da lesão C6-C7, foram avaliadas durante o curso do tratamento, incluindo movimento do quadril, movimento do joelho, movimento do dedo do pé, reflexos de tendão, resistência dos membros, atrofia muscular e resposta plantar. Embora não houvesse nenhuma melhora em nenhum dos parâmetros testados durante o curso do estudo, após
- 10 três meses de tratamento, o indivíduo era capaz de ficar de pé com o auxílio de um andador conforme mostrado na TABELA 34.

TABELA 34

Período de Tempo	Quadril		Joelho		Dedo do pé		Reflexo		Força		Atrofia L R		Plantar
	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R			
0 dia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4+	4+	Duvidosa
3 dias	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4+	4+	Duvidosa
15 dias	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4+	4+	Duvidosa
2 meses	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4+	4+	Duvidosa
3 meses	FICOU DE PÉ COM ANDADOR POR 10 MINUTOS												Duvidosa

ESTUDO DE CASO 2

ReRo 1.3.4/001/051004/a001, um indivíduo de vinte e dois anos

de idade sofria de SCI paraplégica pós-traumática como um resultado de uma fratura D6-D7 após uma queda de do telhado do segundo andar. O indivíduo entrou em coma por dois dias após a queda e voltou à consciência, mas desenvolveu paralisia bilateral com perda sensória e motora total da metade inferior do corpo da região intermamária até os pés, e era incapaz de levantar os pés ou pernas e era incapaz de sentar sem auxílio ou se levantar para uma posição sentada. O indivíduo estava permanentemente acamado, tinha perdido controle da bexiga e intestino e era totalmente dependente do apoio de sua família embora seus membros superiores não tivessem sido afetados.

Administração de uma composição farmacêutica compreendendo células hES e seus derivados de acordo com a prática da presente invenção foi iniciada após cinco meses da lesão. No período de cinco meses, o indivíduo ganhou novamente controle da bexiga e intestino, e habilidade em sentar sem apoio, e escorregar para cima e para baixo levantando o quadril. Percepção sensória restaurada para o nível perineal. O indivíduo pode se levantar para um andador sem auxílio, e pode ficar de pé com facilidade no andador sem a necessidade de apoio do joelho. O tratamento resultou na habilidade do indivíduo em andar usando um andador com o apoio de um suporte para joelho e volta a trabalhar, isto é, ele ganhou novamente um estilo de vida regular.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 35.

TABELA 35

Data	Via de administração	Tipos de célula
5/10	dose de teste	neuronal
17/8	im x 3	neuronal
18/8	im	neuronal
19/8	im	neuronal
5/9	im	não-neuronal
6/9	im x 2	neuronal
7/9	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
8/9	im	neuronal
10/9	im	não-neuronal
13/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
14/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
15/9	im	não-neuronal
6/11	cateter epidural	neuronal
7/11	cateter epidural x 3	neuronal
8/11	cateter epidural x 3	neuronal
9/11	cateter epidural x 3	neuronal
10/11	cateter epidural x 3	neuronal
11/11	iv	neuronal
12/11	im	neuronal
13/11	iv	neuronal
14/11	iv	neuronal
15/11	iv	neuronal
16/11	im	não-neuronal
18/11	im	não-neuronal
12/1	im	neuronal
14/2	im	não-neuronal
15/2	im	neuronal
16/2	im	não-neuronal
17/2	im	não-neuronal
18/2	im	neuronal
26/3	im	neuronal
27/3	cateter epidural x 3	neuronal
28/3	cateter epidural x 4	neuronal
29/3	cateter epidural x 2	neuronal
30/3	cateter epidural x 2	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
31/3	iv	neuronal
21/5	im	neuronal
24/5	intratecal	neuronal
26/5	im	neuronal
14/7	im	neuronal
15/7	im	neuronal
16/7	im	neuronal
17/7	im	neuronal
18/7	intratecal	neuronal
19/7	im	neuronal
21/7	im	neuronal
22/7	im	neuronal
24/7	caudal	neuronal

ESTUDO DE CASO 3

ReRo 1.3.4/002/040205/α, um indivíduo de quarenta anos de idade sofria de SCI quadriplégica como um resultado de uma lesão C5-C6 e rigidez e dor no pescoço. O indivíduo sofreu cirurgia após seis meses e ficou quadriplégico desde então. O indivíduo sentia uma sensação de queda e tontura se feito sentar com apoio, e tinha sensação da borda superior da escápula para cima, com perda total de força em todos os quatro membros e perda de função da bexiga e intestino imediatamente após cirurgia.

Administração de uma composição farmacêutica compreendendo células hES e seus derivados de acordo com a prática da presente invenção foi iniciada nove meses após cirurgia. Como um resultado do tratamento com células hES, o indivíduo é capaz de sentar confortavelmente sem a necessidade de apoio, e é capaz de se mover e dobrar para o lado enquanto sentando em uma cadeira com suas pernas abaixadas confortavelmente. O indivíduo recuperou uma melhora notável de seu controle de seu corpo superior. O indivíduo teve melhora substancial em seu bem-estar psicológico geral através de mobilidade aumentada e independência e atividades. Ele é capaz de ficar de pé com o apoio com força nos membros inferiores, controla

o movimento do dedo do pé e não deixa cair o pulso. Tratamento está acontecendo de acordo com as melhoras da condição do indivíduo.

ESTUDO DE CASO 4

5 ReRo 1.3.4/003/260902/β, um indivíduo de trinta e sete anos de idade que sofreu lesão espinhal com dano cerebral dezessete anos atrás após um acidente de carro e ficou confinado a uma cadeira de rodas. O indivíduo sofria também de hemiplegia lateral direita, incapacidade em falar, paralisia facial, uma perda total de memória e nenhum controle da bexiga.

10 O indivíduo foi administrado com composição farmacêutica compreendendo células hES e seus derivados de acordo com a prática da presente invenção por um ano e dois meses que resultou na capacidade em andar com o auxílio de um andador, falando algumas palavras, pescoço esticado, remoção de paralisia facial e melhora de memória.

ESTUDO DE CASO 5

15 ReRo 1.3.4/004/030505/α, um indivíduo de cinquenta e seis anos de idade que sofria de fratura pós-traumática na C5-C8 com retrovulsão da vértebra fraturada causando contusão do cordão espinhal e hemorragia epidural anterior associada e estava paraplégico. O indivíduo era incapaz de mover ambos membros inferiores e sofria dor aguda nas costas.

20 A administração de uma composição farmacêutica compreendendo células hES e seus derivados de acordo com a prática da presente invenção foi realizada por um período de um ano que resultou em recuperação de alguma força em ambas pernas, percepção sensorial tal como vibração nas pernas e habilidade de ficar de pé com o auxílio de andador sem dor nas costas. O indivíduo pode andar com o auxílio do andador, recuperou controle e sensação da bexiga e superou episódios de suores frios e tontura.

25

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 36.

TABELA 36

Data	Via de administração	Tipos de célula
25/5	dose de teste	não-neuronal
27/5	im	misturadas – neuronal > hematopoiética
3/6	im	misturadas – neuronal > hematopoiética
6/6	im	misturadas – neuronal > hematopoiética
20/6	im	misturadas – neuronal > hematopoiética
22/6	im	misturadas – neuronal > hematopoiética
24/6	im	misturadas – neuronal > hematopoiética
27/6	im	misturadas – neuronal > hematopoiética
29/6	iv	misturadas – neuronal > hematopoiética
30/6	im iv	misturadas – neuronal > hematopoiética
1/7	iv	misturadas – neuronal > hematopoiética
4/7	im	misturadas – neuronal > hematopoiética
5/7	iv	misturadas – neuronal > hematopoiética
6/7	im	misturadas – neuronal > hematopoiética
7/7	iv	misturadas – neuronal > hematopoiética
11/7	im	não-neuronal
12/7	im	hEs
18/7	iv	neuronal
19/7	im	neuronal
20/7	im	neuronal
21/7	im x 2	neuronal
25/7	im x 2	neuronal
26/7	im	neuronal
27/7	im x 2	neuronal
28/7	im	neuronal
29/7	im x 2	neuronal
30/7	im x 2	neuronal
1/8	im x 2	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
2/8	im x 2	neuronal
16/8	im x 2	neuronal
17/8	im	neuronal
25/8	im x 2	hES
30/8	im x 2	neuronal
1/9	im x 2	neuronal
2/9	im x 2	neuronal
6/9	intratecal	misturadas – neuronal > hematopoiética
7/9	im	neuronal
13/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
14/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
15/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
19/9	im x 2	neuronal mistura neuronal e não-neuronal
4/10	im	neuronal
5/10	im intratecal	neuronal
11/10	espinhal profunda	neuronal
13/10	epidural	neuronal
17/10	lado da espinha	neuronal
5/11	intratecal	neuronal
7/11	im	não-neuronal
8/11	im	não-neuronal
9/11	espinhal profunda	neuronal
17/11	im x 2	não-neuronal
paciente no hospital até janeiro		
12/1	im	não-neuronal
25/1	im	neuronal
8/2	im	neuronal
2/3	im x 3	neuronal (2)

Data	Via de administração	Tipos de célula
		não-neuronal
8/3	im	não-neuronal
9/3	im	não-neuronal
10/3	im	não-neuronal
13/3	cateter epidural x 4	neuronal
14/3	cateter epidural x 4	neuronal
15/3	cateter epidural x 4	neuronal
16/3	cateter epidural x 2	neuronal
20/3	im	neuronal
22/3	im	neuronal
28/3	im	não-neuronal
29/3	im	não-neuronal
3/4	im	não-neuronal
4/4	im	não-neuronal
7/4	im x 2	neuronal
14/4	im	neuronal
20/4	cateter epidural x 5	neuronal
21/4	cateter epidural x 3	neuronal
24/4	im	neuronal
19/5	im x 2	neuronal não-neuronal
25/5	caudal	neuronal
5/6	infusão iv x 2	neuronal
6/6	infusão iv x 2	neuronal
9/6	intratecal	neuronal
10/6	infusão iv	não-neuronal
11/6	infusão iv	não-neuronal
12/6	iv	não-neuronal
13/6	im	não-neuronal
21/6	im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
4/7	im	neuronal
10/7	intratecal	neuronal
11/7	infusão iv x 2	neuronal
12/7	infusão iv x 2	neuronal
13/7	caudal	neuronal
14/7	iv	não-neuronal

ESTUDO DE CASO 6

ReRo 1.3.4/005/130705/β, um indivíduo de vinte e cinco anos de idade que foi diagnosticado com distúrbio Potts Spine no nível D6 com paraplegia do membro inferior sofreu cirurgia três vezes com uma descompressão anterior do cordão espinhal. O indivíduo estava em cadeiras de roda, não podia sentar sem apoio, com paralisia flácida das pernas, não tinha nenhum controle do intestino e evacuava enquanto deitado e não tinha nenhuma sensação na bexiga.

O indivíduo foi administrado com uma composição farmacêutica compreendendo células hES e seus derivados de acordo com a prática da presente invenção, onze anos e seis meses após a lesão. O protocolo de tratamento seguido durante o primeiro ano resultou no fortalecimento das costas, habilidade em sentar sem apoio e sensação de peso nas pernas. O indivíduo também recuperou dor nas costas durante menstruação e dor menstrual. Sensações nas coxas, pernas e recuperação da sensação e controle da bexiga foram observadas. O indivíduo é capaz de andar com o auxílio de um andador com boa restauração de movimento em ambas pernas. Tratamento está em andamento.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 37.

TABELA 37

Data	Via de administração	Tipos de célula
13/7	dose de teste	não-neuronal
27/7	im	neuronal
28/7	im	não-neuronal
29/7	im	neuronal
3/8	im x 2	neuronal
4/8	im x 2	não-neuronal
5/8	im	neuronal
9/8	im	neuronal
12/8	im x 2	neuronal
16/8	im	neuronal
23/8	im x 2	hES
30/8	im x 2	neuronal
1/9	im x 4	neuronal
2/9	im x 2	neuronal
8/9	iv	neuronal
12/9	im	neuronal
14/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
22/9	iv	neuronal
27/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
29/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
30/9	im	neuronal
4/10	im	mistura de neuronal e não-neuronal
6/10	epidural x 2 frascos	neuronal
10/10	im	neuronal
19/10	im	não-neuronal
21/10	im	neuronal
24/10	epidural	neuronal
7/11	epidural	neuronal
14/11	iv	neuronal
15/11	im	não-neuronal
18/11	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
1/12	intratecal	mistura de neuronal e não-neuronal
7/12	espinhal profunda	não-neuronal
23/12	im	neuronal
26/12	im	não-neuronal
5/1	im	neuronal
11/1	im	neuronal
17/1	im	neuronal
24/1	iv	neuronal
26/1	im	neuronal
1/2	im	neuronal
3/2	im	neuronal
9/2	im	não-neuronal
15/2	im	não-neuronal
22/2	im	neuronal
1/3	im	não-neuronal
9/3	im	não-neuronal
21/3	im	neuronal
28/3	im	neuronal
13/4	cateter epidural	neuronal
26/4	im	neuronal
2/5	im	não-neuronal
4/5	cateter epidural	neuronal
5/5	cateter epidural	neuronal
6/5	cateter epidural	neuronal
7/5	im	neuronal
21/5	im	neuronal
5/6	im	neuronal
12/6	im	neuronal
26/6	iv x 2	não-neuronal
8/7	im	neuronal

ESTUDO DE CASO 7

ReRo 1.3.4/006/22080/α, um indivíduo de trinta anos de idade

sofrendo de uma SCI paraplégica C6-C7 era incapaz de mover os membros inferiores e não tinha nenhum controle do intestino ou sensação do intestino. O indivíduo tinha sensação de pressão boa e profunda apenas da região mamária interna para cima. Então, o indivíduo tinha dificuldade em sentar.

- 5 As mãos do indivíduo tinham muito pouca força, com movimento de dedo muito fraco e o indivíduo tinha dificuldade em respirar.

O indivíduo foi tratado de acordo com a prática da presente invenção através da administração de uma composição farmacêutica compreendendo células hES e seus derivados cerca de três meses após a lesão.

- 10 O indivíduo recuperou a habilidade em se sentar sem apoio, não sofre quaisquer tonturas, pode sentir pressão na virilha, tem sensação no lado médio do cotovelo e sente dor nas pernas se o paciente tentar se mover. O indivíduo respira facilmente, tem sensação na bexiga e intestino, tem sensação em pernas e pode agora ficar de pé por alguns minutos com apoio. O indivíduo
- 15 também tem mais força e movimento nos dedos. Tratamento está sob andamento.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 38.

TABELA 38

Dose	Via de administração	Tipos de célula
22/2	dose de teste	não-neuronal
23/2	im	neuronal
24/2	im	neuronal
27/2	im	não-neuronal
28/2	im	não-neuronal
2/3	im	neuronal
3/3	im	neuronal
8/3	cateter epidural	neuronal
9/3	cateter epidural x 2	neuronal
10/3	cateter epidural x 2	neuronal
11/3	iv	neuronal
20/3	im	neuronal

Dose	Via de administração	Tipos de célula
22/3	im	neuronal
23/3	im x 2	neuronal
24/3	im	não-neuronal
27/3	im	não-neuronal
5/4	intratecal	neuronal
12/4	im	neuronal
1/5	im cateter epidural x 4	neuronal
2/5	im cateter epidural	neuronal
10/5	cateter epidural x 4	neuronal
11/5	cateter epidural x 4	neuronal
12/5	cateter epidural x 4	neuronal

ESTUDO DE CASO 8

ReRo 1.3.4/007/221005/β, um indivíduo de vinte e seis anos de idade, paraplégico como resultado de SCI na D6, era incapaz de mover ambos membros inferiores, embora capaz de se sentar sem apoio. O indivíduo não tinha nenhum controle da bexiga ou intestino, e tinha sensação apenas da área mamária interna para cima.

O indivíduo foi administrado com uma composição farmacêutica compreendendo células hES e seus derivados de acordo com a prática da presente invenção cerca de dez meses após a lesão. O indivíduo recuperou a sensação na lateral do corpo e até a região umbilical bilateralmente da área axilar até o ilíaco. O indivíduo pode andar com o auxílio de um andador e um *caliper* com força motora nas pernas.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 39.

TABELA 39

Dose	Via de administração	Tipos de célula
26/9	dose de teste im	neuronal
27/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
28/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
29/9	im	neuronal
30/9	im	mistura de neuronal e não-neuronal
1/10	im	mistura de neuronal e não-neuronal
3/10	im	mistura de neuronal e não-neuronal
4/10	im intratecal	não-neuronal
5/10	m	neuronal
6/10	epidural	neuronal
8/10	m	não-neuronal
10/10	im	neuronal
12/10	im espinhal profunda	neuronal
15/10	iv	neuronal
19/10	im	não-neuronal
24/10	im	mistura de neuronal e não-neuronal
25/10	epidural	neuronal
8/12	espinhal profunda	não-neuronal
10/12	intratecal	não-neuronal
11/12	im	não-neuronal
12/12	espinhal profunda	não-neuronal
13/12	im	neuronal
14/12	epidural	neuronal
15/12	im	neuronal
13/2	im	neuronal
15/2	epidural	neuronal
16/2	iv	neuronal

Dose	Via de administração	Tipos de célula
17/2	im	neuronal
24/5	im iv	neuronal
25/5	im iv	não-neuronal neuronal
26/5	im iv x 2	neuronal não-neuronal, neuronal
27/5	im x 2 iv x 2	não-neuronal neuronal
28/5	im	neuronal, não-neuronal
29/5	im	neuronal, não-neuronal
30/5	infusão epidural	neuronal
31/5	im	neuronal

ESTUDO DE CASO 9

ReRo 1.3.4/008/151005/β, um indivíduo de vinte e sete anos de idade sofria com quadriplegia traumática e tinha grande dificuldade em falar e respirar, com pescoço rígido. As pernas do indivíduo foram paralisadas e o indivíduo não tinha nenhum movimento do dedo e nenhuma sensação no resto do corpo.

O tratamento através da administração de uma composição farmacêutica compreendendo células hES e seus derivados de acordo com a prática da presente invenção foi iniciado cerca de dois anos após a lesão.

O indivíduo sentiu uma melhora no movimento do pescoço, facilidade em falar e melhora no controle de tom de voz. O indivíduo sentiu respirar ser menos incômodo e função motora retornou com algum movimento do dedo. As pernas se tornaram menos espásticas e o indivíduo era capaz de sentar sem auxílio. Movimentos dos dedos dos pés também reiniciaram e o indivíduo pode mover os ombros.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 40.

TABELA 40

Data	Via de administração	Tipos de célula
26/5	dose de teste	não-neuronal
27/5	im	neuronal
28/5	im	neuronal
29/5	im	neuronal
30/5	im	neuronal
31/5	im	neuronal
1/6	im	neuronal
8/6	im x 2	neuronal não-neuronal
9/6	im	neuronal
10/6	im x 2	neuronal não-neuronal
11/6	im x 2	neuronal não-neuronal
12/6	im x 2	neuronal não-neuronal
13/6	im x 2	neuronal não-neuronal
14/6	intratecal	neuronal
15/6	im x 2	neuronal não-neuronal
16/6	im x 2	neuronal não-neuronal
17/6	im x 2	neuronal não-neuronal
18/6	im	não-neuronal
19/6	im x 2	neuronal não-neuronal
20/6	im x 2	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
21/6	im x 2	neuronal não-neuronal
22/6	im x 2	neuronal
23/6	iv x 2	não-neuronal
24/6	iv x 2	não-neuronal
25/6	iv x 2	não-neuronal
26/6	cateter epidural x 2	neuronal
27/6	cateter epidural x 2	neuronal
28/6	cateter epidural x 3	neuronal
21/7	im iv	neuronal não-neuronal
22/7	im x 2	neuronal não-neuronal
23/7	im x 2	neuronal
22/8	intratecal	neuronal

ESTUDO DE CASO 10

ReRo 1.3.4/009/300106/α, um indivíduo de vinte e cinco anos teve um acidente de carro e perdeu sua habilidade em se sentar sem apoio, a espinha estava prestes a entortar, o indivíduo tinha perdido controle da bexiga e intestino e o indivíduo sofria uma perda total de força nas pernas.

O indivíduo foi tratado através da administração de uma composição farmacêutica compreendendo células hES e seus derivados de acordo com a prática da presente invenção cerca de dois anos após a lesão. O indivíduo mostrou melhora rápida e pode se sentar sem apoio. O indivíduo não sofre quaisquer tonturas, tem movimentos em ambos pés, recuperou a sensação nas pontas dos dedos e pode sentir calafrio pela espinha.

ESTUDO DE CASO 11

ReRo 1.3.4/010/020206/β, um indivíduo de vinte e seis anos de idade com uma SCI na D12-L1 como um resultado de acidente de carro era incapaz de ficar de pé com os joelhos sendo contraídos. O indivíduo era ca-

paz de se sentar sem apoio e tinha sensações normais nos membros. O indivíduo não tinha nenhum controle da bexiga e intestino e tinha espasticidade aumentada.

O indivíduo foi tratado cerca de doze anos após a lesão através da administração de uma composição farmacêutica compreendendo células hES e seus derivados de acordo com a prática da presente invenção. O indivíduo teve recuperação notável em função motora da perna com espasticidade menor, exibia a perna direita completamente estendida e um retorno de força na perna esquerda. O indivíduo recuperou a habilidade em ficar de pé e andar com o auxílio de *calipers* e um andador. Sensações da bexiga e intestino também retornaram no indivíduo.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 41.

TABELA 41

Dose	Via de administração	Tipos de célula
27/3	dose de teste	não-neuronal
29/3	im	não-neuronal
	iv	neuronal
30/3	im	neuronal
31/3	im	neuronal
1/4	im	neuronal
2/4	im	não-neuronal
3/4	im	neuronal
4/4	im	neuronal
5/4	caudal	neuronal
7/4	epidural	neuronal
8/4	im	neuronal
10/4	im	neuronal
13/4	im	neuronal
14/4	im	neuronal
14/4	im	neuronal
16/4	im	neuronal

Dose	Via de administração	Tipos de célula
18/4	iv	não-neuronal
22/4	im	neuronal
23/4	im	neuronal
24/4	cateter epidural	neuronal
25/4	cateter epidural	neuronal
26/4	iv	neuronal
27/4	im	neuronal
28/4	im	neuronal
29/4	im	neuronal
30/4	im	neuronal
1/5	im	neuronal
2/5	im	não-neuronal
3/5	im	neuronal
4/5	im	neuronal
5/5	im	neuronal
7/5	im	neuronal
8/5	im	não-neuronal
9/5	im	não-neuronal
10/5	im	neuronal
11/5	caudal	neuronal
12/5	im	neuronal
13/5	im	neuronal
14/5	im	neuronal
16/5	im	não-neuronal
17/5	im	neuronal
20/5	epidural	neuronal
21/5	im	neuronal
22/5	im	neuronal
23/5	im	neuronal
24/5	im	não-neuronal

ESTUDO DE CASO 12

O paciente era um homem de 26 anos de idade com paraplegia após uma lesão entre D6-D8. Ele sofreu um acidente de carro traumático em setembro de 2004. Ele estava totalmente acamado sem nenhuma sensação abaixo do peito, nem controle da bexiga ou intestino, e nenhuma sensação ou força motora do peito para baixo. Ele tinha uma úlcera de leito muito profunda na parte inferior das costas onde seu sacro podia ser visto.

O paciente começou com células hES em 27 de abril de 2006. Por causa da úlcera de leito ele não podia sofrer quaisquer procedimentos O/T e recebeu dosagens diárias de células intravenosamente e intramuscularmente, e eventualmente tinha células hES aplicadas diretamente em sua úlcera de leito. Ele também recebeu infusões intravenosas.

No 11º dia de tratamento ele podia ficar de pé com *calipers completo* (da cintura até o tornozelo) e um andador e deu 2 passos. Conforme o tempo passava sua força no músculo aumentou e após 4 meses ele podia dar até 100 passos e podia ficar de pé por até 20 minutos. Ele é capaz de sentir suas pernas e movê-las também. Ele é também capaz de sentir intestino e bexiga cheios e é capaz de andar agora com apenas um suporte de joelho e o andador para apoio. Sua úlcera de leito cicatrizou e ele reiniciou seus estudos.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 42.

TABELA 42

Data	Via de administração	Tipos de célula
28/4	im iv	neuronal (dose de teste)
29/4	iv im	neuronal não-neuronal
30/4	iv im	neuronal não-neuronal
1/5	iv im	neuronal não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
2/5	iv im	neuronal não-neuronal
3/5	infusão iv im	neuronal não-neuronal
4/5	infusão iv im	neuronal não-neuronal
5/5	iv im	neuronal não-neuronal
6/5	iv im	neuronal não-neuronal
8/5	infusão iv im	neuronal
9/5	infusão iv im	neuronal não-neuronal
10/5	infusão iv im	neuronal não-neuronal
11/5	iv im	neuronal
12/5	iv im	neuronal não-neuronal
13/5	iv im	neuronal
14/5	iv im	neuronal não-neuronal
15/5	infusão iv im	não-neuronal
16/5	infusão iv im	não-neuronal
17/5	iv im	neuronal não-neuronal
18/5	iv im	neuronal não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
19/5	iv im	neuronal não-neuronal
20/5	iv im	neuronal não-neuronal
21/5	iv im	neuronal não-neuronal
22/5	infusão iv im	não-neuronal
23/5	infusão iv im	não-neuronal
24/5	iv im	neuronal não-neuronal
25/5	iv im	neuronal não-neuronal
26/5	iv im	neuronal não-neuronal
27/5	iv im	neuronal não-neuronal
28/5	iv im	neuronal não-neuronal
29/5	infusão iv im	neuronal não-neuronal
30/5	infusão iv im	neuronal não-neuronal
31/5	iv im	neuronal não-neuronal
1/6	iv im	neuronal não-neuronal
2/6	iv im	neuronal não-neuronal
3/6	iv im	neuronal não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
4/6	iv im	neuronal não-neuronal
5/6	infusão iv im	neuronal não-neuronal
6/6	infusão iv im	neuronal não-neuronal
7/6	iv im	neuronal não-neuronal
8/6	im iv	neuronal não-neuronal
9/6	im iv	neuronal não-neuronal
10/6	im iv	neuronal não-neuronal
11/6	im iv	neuronal não-neuronal
12/6	infusão iv	neuronal
13/6	infusão iv im	não-neuronal
14/6	iv im	neuronal não-neuronal
15/6	iv im	neuronal não-neuronal
16/6	iv im	neuronal não-neuronal
17/6	iv im	neuronal não-neuronal
18/6	iv im	neuronal não-neuronal
20/6	iv infusão iv im	neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
21/6	iv	neuronal não-neuronal
22/6	iv im	não-neuronal (2)
23/6	iv	não-neuronal (2)
24/6	iv	não-neuronal (2)
25/6	iv	não-neuronal (2)
26/6	iv infusão iv	não-neuronal
27/6	iv infusão iv im	não-neuronal
28/6	iv im	neuronal
29/6	iv im	neuronal não-neuronal x 2
30/6	iv im	neuronal não-neuronal x 2
1/7	iv im	neuronal não-neuronal x 2
2/7	iv im	neuronal não-neuronal x 2
3/7	iv infusão iv im	neuronal não-neuronal x 2
4/7	iv infusão im	neuronal não-neuronal
5/7	iv im	neuronal x 2
6/7	iv im	neuronal x 2

Data	Via de administração	Tipos de célula
7/7	iv im	neuronal
8/7	iv im	neuronal não-neuronal x 2
9/7	iv im	neuronal não-neuronal
11/7	iv infusão iv im	neuronal não-neuronal
12/7	iv infusão iv	neuronal
17/7	im curativo	neuronal não-neuronal
18/7	difusão iv curativo	não-neuronal
19/7	infusão iv im	não-neuronal
20/7	iv im curativo	neuronal não-neuronal
21/7	iv im curativo	neuronal não-neuronal
22/7	iv im curativo	neuronal não-neuronal
23/7	iv im	neuronal não-neuronal
24/7	iv im	neuronal não-neuronal
25/7	im curativo	neuronal não-neuronal x 2

Data	Via de administração	Tipos de célula
26/7	m curativo	neuronal não-neuronal x 2
27/7	im	neuronal não-neuronal
28/7	im curativo	não-neuronal
29/7	im curativo	neuronal não-neuronal
30/7	im	neuronal não-neuronal
31/7	im curativo	não-neuronal
1/8	im curativo	não-neuronal x 2
2/8	im curativo	não-neuronal x 2
3/8	im	não-neuronal x 2
4/8	im	não-neuronal x 2
5/8	im curativo	não-neuronal x 2
6/8	im	não-neuronal x 2
7/8	im curativo	não-neuronal x 2
8/8	im	não-neuronal x 2
9/8	im curativo	não-neuronal x 2
10/8	im	não-neuronal x 2
11/8	im	não-neuronal x 2
12/8	im curativo	não-neuronal x 2
13/8	im	não-neuronal x 2
14/8	im	não-neuronal x 2

Data	Via de administração	Tipos de célula
	curativo	
15/8	im curativo	não-neuronal x 2
16/8	im	não-neuronal x 2
17/8	im	não-neuronal x 2
18/8	infusão iv im	não-neuronal x 3
19/8	im curativo	neuronal x 3
5/12	im	não-neuronal
6/12	infusão iv	não-neuronal
7/12	infusão iv im curativo	não-neuronal
8/12	epidural (intratecal)	neuronal
9/12	im curativo	não-neuronal x 2
10/12	im curativo	não-neuronal x 2
11/12	im curativo	não-neuronal x 2
12/12	epidural (cateter)	neuronal x 2
13/12	epidural (cateter)	neuronal x 2
14/12	epidural (cateter)	neuronal x 2
15/12	infusão iv im	neuronal, não-neuronal
16/12	infusão iv	neuronal, não-neuronal

ESTUDO DE CASO 13

O paciente é um homem de 22 anos de idade que sofreu um acidente de cavalo em junho de 2006 e está paraplégico em T-12, L-1. Ele não tinha nenhuma força abaixo da cintura, nenhum controle do intestino ou bexiga e nenhuma sensação abaixo da cintura.

O paciente começou tratamento em setembro de 2006 admitido por 6 semanas. Ele respondeu a células hES e dentro de uma semana ele era capaz de ficar de pé e andar alguns passos com *calipers completo* (cintura até o tornozelo) e andador. Ele tinha progredido e está no suporte de joelho com o qual ele pode ficar de pé por até 30 minutos com um andador. Ele agora tem sensação completa e controle do intestino e bexiga. Ele também tem bom equilíbrio com a bengala e também as muletas. Ele é capaz de subir e descer escadas com o *caliper* e as muletas.

O programa de injeções para este paciente é mostrado na Tabela 43.

TABELA 43

Data	Via de administração	Tipos de célula
4/10	im	não-neuronal (dose de teste)
5/10	im	não-neuronal
6/10	im	não-neuronal
7/10	im	não-neuronal
8/10	im	não-neuronal
9/10	infusão iv	neuronal
10/10	infusão iv	neuronal
11/10	im	não-neuronal
12/10	im	não-neuronal
13/10	im	não-neuronal
14/10	im	não-neuronal
15/10	im	não-neuronal
16/10	caudal	neuronal
17/10	im	não-neuronal
18/10	im	não-neuronal
19/10	infusão im im	não-neuronal
20/10	infusão iv im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
21/10	im	não-neuronal
22/10	im	não-neuronal
23/10	lombar	neuronal
24/10	im	não-neuronal
25/10	im	não-neuronal
26/10	im	não-neuronal
27/10	im	não-neuronal
28/10	im	não-neuronal
29/10	im	não-neuronal
30/10	cateter epidural	neuronal
31/10	cateter epidural	neuronal
1/11	cateter epidural	neuronal
2/11	im	não-neuronal
3/11	im	não-neuronal
4/11	im	não-neuronal
5/11	im	não-neuronal
6/11	im	não-neuronal
7/11	im	não-neuronal
8/11	im	não-neuronal
9/11	caudal	neuronal
10/11	im	não-neuronal
11/11	im	não-neuronal
12/11	im	não-neuronal
13/11	infusão iv im	misturadas não-neuronal
14/11	im infusão iv	não-neuronal
15/11	im	não-neuronal
31/12	iv	misturadas
10/1	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
11/1	infusão iv	misturadas
12/1	infusão iv	misturadas
13/1	im	não-neuronal
14/1	im	não-neuronal
15/1	caudal	neuronal
16/1	im	não-neuronal
17/1	im	não-neuronal
18/1	im	não-neuronal
19/1	lombar	neuronal
20/1	im	não-neuronal misturadas
21/1	im	misturadas
22/1	im	misturadas
23/1	cateter epidural	neuronal
24/1	im iv	neuronal
25/1	im	neuronal
26/1	infusão im	misturadas neuronal
27/1	infusão im	misturadas neuronal

ESTUDO DE CASO 14

A paciente é uma mulher de 26 anos de idade paraplégica traumática em T-12, L-1 que sofreu um acidente de carro em setembro de 2004. Ela não tinha nenhuma sensação abaixo do peito e ela não tinha nenhum controle do intestino ou bexiga. Não havia nenhuma força motora em nenhuma perna e ela estava de cadeira de rodas.

A paciente começou com células hES em março de 2006. Ela era capaz de ficar de pé e andar alguns passos com *calipers completo* (cintura até tornozelo) e andador após 9 dias e continuou a progredir. Seu esta-

do atual é que ela pode andar continuamente com *caliper* e andador e também ficar de pé usando o suporte de joelho. Sensações do intestino e bexiga foram recuperadas com controle e sem o uso de qualquer caracterização ou supositório. Sensação melhorou para os níveis de tornozelo.

- 5 O programa de injeção para este paciente é mostrado na Tabela 44.

TABELA 44

Data	Via de administração	Tipos de célula
27/3	im	não-neuronal (dose de teste)
29/3	iv im	neuronal não-neuronal
30/3	im	neuronal
31/3	im	neuronal
1/4	im	neuronal
3/4	im	neuronal
4/4	im	neuronal
5/4	Epidural (caudal)	neuronal x 2
7/4	Epidural (intratecal)	neuronal x 2
9/4	im	neuronal
10/4	im	neuronal
12/4	im	neuronal
13/4	im	neuronal
14/4	im	neuronal
15/4	im	neuronal
16/4	im	neuronal
17/4	im	neuronal
18/4	iv	não-neuronal
20/4	im	neuronal
21/4	im	neuronal
22/4	im	neuronal
24/4	Epidural (cateter)	neuronal x 4

Data	Via de administração	Tipos de célula
25/4	Epidural (cateter)	neuronal x 4
26/4	iv (cateter)	neuronal x 4
27/4	im	neuronal
28/4	im	neuronal
29/4	im	neuronal
30/4	im	neuronal
1/5	im	neuronal
2/5	im	não-neuronal
3/5	im	neuronal
4/5	im	neuronal
5/5	im	neuronal
7/5	im	neuronal
8/5	im	não-neuronal
10/5	im	neuronal
11/5	EPI (caudal)	neuronal
13/5	im	neuronal
14/5	im	neuronal
16/5	im	não-neuronal
17/5	im	neuronal
18/5	EPI (cateter)	neuronal x 2
19/5	EPI (cateter)	neuronal x 2
20/5	EPI (cateter)	neuronal x 2
21/5	im	neuronal
22/5	im	neuronal
23/5	im	neuronal
24/5	im	neuronal
25/5	im	neuronal
25/10	im	não-neuronal misturadas
26/10	im	não-neuronal

Data	Via de administração	Tipos de célula
	infusão iv	misturadas
27/10	im	não-neuronal
28/10	im	não-neuronal
29/10	im	não-neuronal
30/10	caudal	neuronal
31/10	im	não-neuronal
1/11	im	não-neuronal x 2
2/11	im	não-neuronal x 2
3/11	lombar	neuronal
4/11	infusão	neuronal
5/11	im	não-neuronal x 2
6/11	im	não-neuronal x 2
7/11	im	não-neuronal x 2
8/11	cateter epidural	neuronal
9/11	cateter epidural	neuronal
10/11	cateter epidural	neuronal
11/11	im	não-neuronal x 2
12/11	im infusão	não-neuronal misturadas
13/11	caudal infusão	neuronal misturadas
14/11	im	neuronal

Metodologia de cultura de célula-tronco embrionica

- As células hES usadas como o material de partida para as linhagens de célula desenvolvidas sob a presente invenção são derivadas de um embrião de 2 a 7 dias de vida antes de seu implante no útero, por exemplo, um embrião de 2 a 4 dias, pro exemplo, um embrião de 3 dias.

Para isolamento do embrião, os óvulos são coletados com consentimento de doadores humanos que estão em um ciclo de IVF regular. Os óvulos são fertilizados pelo esperma e cultivados através de métodos con-

vencionais para se obter os embriões. Embriões extras são incubados por períodos variáveis para desenvolvimento da linhagem celular.

O embrião é suspenso em uma pequena quantidade de meio essencial mínimo (por exemplo, RPMI, por exemplo, RPMI 1640 com 2,2 g/L de bicarbonato de sódio) e as células hES são isoladas do embrião através de meios mecânicos (por exemplo, agitação). Mais meio é adicionado às células isoladas junto com uma progestina e um agonista de β hCG. Em uma modalidade, progesterona (16-64 μ l de 250 mg/ml) e β hCG (16-64 μ l de 5000 iu/ml) são adicionadas. As células isoladas são cultivadas por 12-48 horas, por exemplo, 24 horas, em uma temperatura entre 34-38°C, em um ambiente de 3,5-6% de dióxido de carbono.

Em uma modalidade, as células hES são cultivadas sob condições anaeróbicas ou substancialmente anaeróbicas a fim de expandir as células enquanto prevenindo diferenciação. "Substancialmente anaeróbica" é definida como menos do que cerca de 10% de O_2 , menos do que 8%, 6%, 4%, 2% ou 1% de O_2 . Condições com pouco oxigênio podem ser criadas usando incubadoras de célula multigás (CO_2 , O_2 , N_2) onde o nível de oxigênio pode ser melhor ajustado entre 0% e 20% substituindo o ar ambiente com gás nitrogênio. Exemplos de incubadoras multigás incluem a série Fisher 11-730, a série Napco 7000, a série Sanyo COM, o Jouan IG750 e o Heraeus Heracell 150. Em outra modalidade, as células são cultivadas em uma incubadora de CO_2 e o nível de oxigênio é controlado pelo formato e posição do frasco onde as células estão contidas. Por exemplo, quando um frasco de cultura de célula é mantido em uma posição vertical, muito do meio de cultura no frasco é substancialmente anaeróbico. Em contraste, quando o frasco de cultura de célula é mantido em uma posição horizontal, o meio de cultura é substancialmente aeróbico. O nível de oxigênio no meio de cultura pode ser variado entre substancialmente anaeróbico e substancialmente aeróbico alterando o formato e/ou posição do frasco de cultura de célula dentro da incubadora ou a quantidade de meio no frasco (por exemplo, a quantidade de parte vazia).

Durante o estágio de expansão, frascos podem ser mantidos em

uma posição vertical ao invés de horizontal. Em uma modalidade, incubação é realizada em um recipiente de cultura onde o volume é quase completamente ocupado pelo meio e o recipiente é mantido em uma posição vertical. Como uma consequência, uma proporção substancial das células não adere
5 às paredes do frasco de cultura e o meio de cultura é substancialmente anaeróbico.

Sob tais condições de crescimento, ciclos de duplicação ou replicação de célula estão em seu máximo, e processos de diferenciação celular são substancialmente inibidos. Ciclos de replicação celular durante expansão prosseguiram por 12-48 horas, por exemplo, 24 horas.
10

Para passagem ou recultura das células hES, a suspensão de célula é centrifugada, o pélete de célula é ressuspenso em uma pequena quantidade de meio de cultura fresco compreendendo progesterona e β hCG, as células são separadas em alíquota e meio fresco adicional sem progesterona e β hCG é adicionada. Em uma modalidade, a razão da alíquota de células-tronco incubadas para o meio de célula fresco é cerca de 1:3,5 a cerca de 1:35 volume/volume. As células são reincubadas a 34-38°C em uma incubadora revestida com água suplementada com uma atmosfera de 3,5-6% de dióxido de carbono sob condições substancialmente anaeróbicas por 12 a
15 48 horas, por exemplo, 24 horas. Neste ponto as células podem ser passadas para expansão continuada ou armazenadas para uso futuro.
20

Células hES cultivadas sob tais condições permanecem em uma forma amplamente não-diferenciada conforme determinado pela atividade de fosfatase alcalina e a ausência de quaisquer marcadores característicos de especialização ou diferenciação celular. No entanto, pode ser notado que nenhuma população de célula é obtida que seja completamente diferenciada ou completamente não-diferenciada. A população de célula é uma mistura de linhagens de célula diferenciada e não-diferenciada, com uma razão variando de a partir de cerca de 4:1 a cerca de 10:1 de células não-diferenciadas para diferenciadas.
25 30

Para armazenamento das células hES expandidas, por exemplo, em um congelador profundo ou em nitrogênio líquido, um agente de criopre-

- servação, incluindo, mas não limitado a, 0,2-2% (p/v) de sulfóxido de dimetila (DMSO), pode ser adicionado ao meio de cultura. O nível de DMSO usado é menos do que tipicamente usado para criopreservação (por exemplo, 2-84 µl/0,5 ml tubo) para evitar indução de diferenciação ou dano às células. A
- 5 razão da quantidade de agente de criopreservação para aquele de meio de cultura contendo células-tronco pode variar de a partir de cerca de 1:500 a cerca de 16:1000. Outros agentes de criopreservação incluem sem limitação glicerol, propanodiol, butanodiol, etanol, glicose, D-glicose, sucrose, trealose, manitol, paparavina, formamida, probucol, curcumina, polivinilpirrolidona,
- 10 polietileno glicol, sulfato de condroitina, glicosaminoglicano dimetil sulfóxido, glutamina e piruvato de sódio. A temperatura de congelamento para a suspensão de célula pode ser variada de a partir de cerca de -15 a cerca de -80°C, por exemplo, cerca de -15 a cerca de -40°C. Em contraste com outras técnicas para o armazenamento de células-tronco embrionárias humanas e
- 15 seus derivados, não há nenhuma necessidade de congelamento rápido ou armazenamento em "canudos". Após armazenamento, as células podem ser preparadas para expansão continuada ou para diferenciação através de coleta das células através de centrifugação e ressuspensão do pélete de célula em meio fresco.
- 20 Diferenciação parcial das células hES expandidas (por exemplo, células hES após expansão ou recém-isoladas ou armazenamento de células previamente expandidas) é realizada através de sedimentação da suspensão de célula em uma centrífuga (por exemplo, entre cerca de 700-1400 rpm por 5-12 minutos), removendo e descartando o sobrenadante, e ressus-
- 25 pendendo as células em uma pequena quantidade de meio fresco (por exemplo, RPMI) contendo uma progestina e um agonista de β hCG. As células são então separadas em alíquotas e meio de cultura adicional (por exemplo, meio essencial mínimo tal como RPMI ou DMEM, por exemplo, DMEM livre de ácido glutâmico 1X ou DMEM com 4,5 g/L de glicose e 3,7 g/L de bicarbonato de sódio) sem progestina ou β hCG é adicionado. As células são cul-
- 30 turadas sob condições substancialmente aeróbicas (por exemplo, em um frasco em uma posição horizontal) por 12 a 48 horas, por exemplo 24 horas.

"Substancialmente aeróbica" é definido como pelo menos cerca de 15% de O₂, por exemplo, pelo menos cerca de 18% ou 20% de O₂. Sob condições substancialmente aeróbicas as células hES vão começar a diferenciar. O curso de diferenciação para as células hES é dependente do meio de cultura usado durante o estágio de diferenciação. Para produzir células progenitoras neuronais, as células hES são cultivadas em DMEM ou seu equivalente. Para produzir células progenitoras outras que não progenitoras neuronais, as células hES são cultivadas em RPMI ou seu equivalente. Após o ciclo de replicação de 12-48 horas, as células podem ser coletadas e res-suspensas em meio fresco para continuarem a diferenciação. Em geral, o estágio de diferenciação não deve durar mais do que 48-72 horas uma vez que diferenciação adicional além deste tempo produz células que não são adequadas para transplante usando os métodos da presente invenção.

Uma vez as células sendo parcialmente diferenciadas, as células podem ou ser armazenadas para uso futuro através da adição de um criopreservante e armazenamento das células a -15 a cerca de -80°C conforme descrito acima ou preparando as células para uso nos métodos da invenção. Para preparar as células para uso, as células são separadas em alíquota, meio fresco é adicionado (por exemplo, DMEM ou RPMI conforme apropriado) e as células são cultivadas por 12-48 horas, por exemplo, 24 horas, sob condições substancialmente anaeróbicas para prevenir diferenciação adicional. As células são então separadas em alíquotas em meio fresco para expansão continuada ou coletadas através de centrifugação e ressuspensas em uma solução biocompatível (por exemplo, solução salina) em preparação para transplante. Neste ponto as células podem ser transplantadas para pacientes ou armazenadas a +4°C a -80°C para transplante futuro. Armazenamento pode ser em um recipiente adequado incluindo, mas não limitado a, tubos de teste, frascos, seringas, etc, que podem facilitar transporte ou uso clínico. Em uma modalidade, as células ressuspensas em solução biocompatível são armazenadas em uma forma pronta para uso (por exemplo, em uma seringa pré-cheia). Quando necessário, alíquotas de células são descongeladas naturalmente sem a necessidade de

banhos de água ou incubadoras.

Sob as condições de armazenamento descritas em uma solução biocompatível, viabilidade de célula de >40% é observada após novo descongelamento mesmo após seis meses de armazenamento, sem quaisquer alterações genotípicas (instabilidade genética) ou fenotípicas tal como aneuplóide ou heteroplóide.

Em cada estágio de expansão, diferenciação e armazenamento, uma alíquota das células é testada quanto à viabilidade através de exclusão de azul tripano e exame microscópico. Uma alíquota da cultura de célula é também testada quanto à contaminação microbiológica. Uma alíquota adicional da suspensão de célula é também posta em um hemocítômetro e examinada microscopicamente a fim de determinar a densidade celular. Uma alíquota adicional é também obtida para teste de atividade de fosfatase alcalina como um marcador para o estado de diferenciação da cultura de célula.

Durante armazenamento, as células podem ser testadas uma vez por mês quanto ao seu cariótipo, para testar instabilidade genética surgindo como um resultado da metodologia de cultura.

EXEMPLOS

Exemplo 1

Para isolamento de embriões, óvulos foram coletados com consentimento de um doador humano que sofreu um ciclo IVF regular, que produziu 8 folículos. Os óvulos foram fertilizados pelo esperma e cultivados através de métodos convencionais para obter os embriões. Três dos embriões foram transplantados no doador. Os embriões extras foram incubados por períodos variáveis para desenvolvimento de uma linhagem de célula hES.

O embrião, ou intacto ou em condição em pedaços, foi suspenso em meio de cultura. Ainda, 84 µl de progesterona (250 mg/ml) e 84 µl de βhCG (5000 ui/ml) foram adicionados. Os meios com as células embriônicas foram testados quanto a qualquer contaminação, e qualquer embrião infectado foi descartado. As células dos embriões nesta forma foram usadas para expansão e armazenamento.

Após um dia de incubação, 1 ml dos meios contendo célula em-

- 5 briônica foi introduzido em 40 ml de meio de cultura (DMEM ou RPMI) em um recipiente de 50 ml junto com progesterona e β hCG. O meio de cultura junto com as células-tronco foi incubado em uma posição horizontal em temperatura ambiente em um ambiente contendo dióxido de carbono. A Tabela 45 mostra algumas das condições experimentais seguidas por este método.

TABELA 45

Nº S	(a) Estágio do embrião em dias	(b) Estado do embrião	(c) Meios de célula	(d) Quantidade de (c)	(e) Adição a Meios	(f) Tempo de incubação
1	2	intacto	Meios IVF	2,5 ml	FF	24 h
2	2	Intacto	Meios IVF	2,5 ml	A	24h
3	3	Pedaço	RPMI	2,5 ml	A	24 h
4	3	Pedaço	RPMI	2,5 ml	A&B	24h
5	3	Pedaço	DMEM	2,5 ml	B	24 h

Nº S	(g) Alíquota de (f)	(h) Meios de célula	(i) Quantidade de (h)	(j) Volume do recipiente	(k) Temp. e incubação 36°C	(l) % de CO ₂ no ambiente
1	-	-	-	-	36	4
2	-	-	-	-	36,5	4,5
3	0,5 ml	RPMI	45 ml	50 ml	37	5
4	1,0 ml	RPMI	46 ml	50 ml	38	5
5	0,5 ml	DMEM	35 ml	50 ml	37	5

TABELA 46

Nº S	(a) Quantidade de cultura de ESC	(b) Meios de célula	(c) Quantida- de de (b)	(d) Adição aos meios	(e) Volume do recipiente	(f) Temperatura de incubação
1	0,5 ml	RPMI	35 ml	A	50 ml	36,5
2	1,0 ml	RPMI	38 ml	B	50 ml	37
3	1,5 ml	DMEM	45 ml	AB	50 ml	37
4	2,0 ml	RPMI	46 ml	A	50 ml	37,2
5	2,5 ml	DMEM	45 ml	A	50 ml	36,8

Nº S	(g) % de CO ₂ no ambiente	(h) Tempo de incubação	(i) Alíquota e de (h)	(j) Meio de cultura	(k) Volume do recipiente	(l) Temperatura de armazenamento
1	5	24	0,5 ml	RPMI	0,5 ml	- 72
2	5	24	0,25 ml	RPMI	0,5 ml	-20
3	5	48	1,0 ml	DMEM	1,5 ml	-20
4	5	48	1,5 ml	RPMI	1,5 ml	-18
5	5	24	0,5 ml	DMEM	1,5 ml	-72

FF = Fluido folicular aspirado junto com o óvulo durante o ciclo de IVF, 16-84 μ l;

A = progesterona; B = β hCG

- 5 Após 24 horas de incubação, números iguais de células nucleadas (parcialmente diferenciadas) e células do branco (não-diferenciadas) foram observados. Alíquotas de cerca de 0,5 ml foram obtidas para armazenamento neste estágio. Após 48 horas de incubação, células em formato oblongo com alguns filamentos foram observadas com meios DMEM. No
- 10 entanto, quando meios RPMI foram usados, muitas células nucleadas com formatos variados foram observadas. O volume do recipiente foi verificado estar cheio até a marca de 37 ml após a incubação de 48 horas. Alíquotas de 0,5 ml foram obtidas para armazenamento neste estágio. Após 72 horas de incubação em DMEM, filamentos longos de célula reticuladas igual a te-

cido nervoso foram observados. A incubação nos meios RPMI produziu algumas células de tamanho pequeno e algumas células se acumulando em torno de uma célula central. Alíquotas de 0,5 ml foram obtidas para armazenamento neste estágio.

- 5 Uma alíquota das células embriônicas cultivadas em meios contendo cultura foi introduzida em mais meio de célula (RPMI ou DMEM) com outros componentes de teste, em um recipiente estéril (Tarsons steriflask). As células-tronco foram incubadas em temperatura ambiente em um ambiente de dióxido de carbono em posição horizontal por vários períodos de
- 10 tempo variando de 18 horas a 5 dias. Após 24 horas de incubação, alíquotas de cerca de 0,5 ml foram novamente introduzidas em mais meios de cultura e reincubadas. Alíquotas foram obtidas para preparar composições prontas para uso bem como para armazenamento após estágios de incubação diferentes. A Tabela 46 mostra algumas condições experimentais seguidas por
- 15 expansão de células hES.

Exemplo 2

- O embrião, ou intacto ou em condição em pedaços, foi suspenso em meios de cultura. Ainda, 84 µl de progesterona e 84 µl de βhCG foram adicionados. Os meios com as células embriônicas foram testadas quanto a
- 20 qualquer contaminação, e qualquer embrião infectado foi descartado. As células dos embriões nesta forma foram usadas para expansão e armazenamento.

- Após um dia de incubação, 1 ml dos meios contendo célula embriônica foi introduzido em 46 ml de meio de cultura de célula (DMEM ou
- 25 RPMI) em um recipiente de 50 ml junto com progesterona e βhCG. As células-tronco foram incubadas em uma posição vertical em temperatura ambiente em um ambiente de dióxido de carbono. A Tabela 47 mostra algumas das variáveis de exemplo de trabalho usadas para este experimento.

TABELA 47

Nº S	(a) Estágio do em- brião em dias	(b) Estado do embrião	(c) Meios de célula	(d) Quantida- de de (c)	(e) Adição a Meios	(f) Tempo de incubação
1	2	Intacto	Meios IVF	2,5 ml	FF	24 h
2	2	Intacto	Meios IVF	2,5 ml	A	24h
3	3	Pedaço	RPMI	2,5 ml	A	24 h
4	3	Pedaço	RPMI	2,5 ml	B	24h
5	3	Pedaço	DMEM	2,5 ml	A&B	24 h

Nº S	(g) Alíquota de (f)	(h) Meios de célula	(i) Quantida- de de (h)	(j) Volume do recipiente	(k) Temp. e incu- bação 36°C	(l) % de CO ₂ no ambiente
1	-	-	-	-	36	4
2	-	-	-	-	36,5	4,5
3	0,5 ml	RPMI	45 ml	50 ml	37	5
4	1,0 ml	RPMI	46 ml	50 ml	38	5
5	0,5 ml	DMEM	35 ml	50 ml	37	5

TABELA 48

Nº S	(a) Quantidade de cultura de ESC	(b) Meios de célula	(c) Quantida- de de (b)	(d) Adição aos meios	(e) Volume do recipiente	(f) Temperatura de incuba- ção
1	0,5 ml	RPMI	35 ml	A	50 ml	36,5
2	1,0 ml	RPMI	38 ml	B	50 ml	37
3	1,5 ml	DMEM	45 ml	B	50 ml	37
4	2,0 ml	RPMI	46 ml	A	50 ml	37,2
5	2,5 ml	DMEM	45 ml	AB	50 ml	36,8

Nº S	(g) % de CO ₂ no ambiente	(h) Tempo de incubação	(i) Alíquota e de (h)	(j) Meio de cultura	(k) Volume do recipiente	(l) Temperatura de armazenamento
1	5	24	0,5 ml	RPMI	0,5 ml	- 40
2	5	24	0,25 ml	RPMI	0,5 ml	-20
3	5	48	1,0 ml	DMEM	1,5 ml	-18
4	5	48	1,5 ml	RPMI	1,5 ml	-20
5	5	24	0,5 ml	DMEM	1,5 ml	-72

Após 24 horas de incubação, células nucleadas (parcialmente diferenciadas) e células branco (não-diferenciadas) foram observadas em uma razão de cerca de 1:4. Após 48 horas de incubação, células nucleadas e células branco na razão de 1:2 foram observadas. Alíquotas de 0,5 ml foram obtidas para armazenamento no estágio de 24 horas e 48 horas.

0,5 ml das células embriônicas cultivadas em meios contendo cultura foi introduzido em 46 ml de meio de célula (RPMI ou DMEM) com outros componentes de teste, em um recipiente estéril de 50 ml (Tarsons steriflask). As células-tronco foram incubadas em uma posição horizontal em temperatura ambiente em um ambiente contendo dióxido de carbono. Após 24 horas de incubação, alíquotas de 0,5 ml foram novamente introduzidas em 46 ml de meios de cultura e reincubadas. A Tabela 48 mostra algumas

condições experimentais seguido por expansão de células hES.

Alíquotas foram obtidas para preparação de composições prontas para uso bem como para armazenamento após o estágio de incubação de 24 horas.

5 Exemplo 3: Armazenamento

Para armazenamento, células hES foram obtidas em um tubo de armazenamento de 0,5 ml e um agente de criopreservação tal como DMSO a 0,2% em uma quantidade de 16 µl foi adicionado e após agitação suave foram armazenadas a -20°C. As células foram descongeladas naturalmente para fazer composições prontas para uso ou para expansão futura. A viabilidade das células descongeladas foi testada e 64% a 84% das células foram verificadas ser viáveis. As células armazenadas foram testadas quanto à contaminação bem como viabilidade após intervalos regulares. A Tabela 49 mostra os parâmetros reais seguidos para armazenamento em cinco experimentos diferentes bem como a viabilidade das células após descongelamento.

TABELA 49

Nº S	Quantidade de Suspensão de Célula	Quantidade de DMSO	% de DMSO	Meios Usados	Viabilidade de células descongeladas
1	0,5 ml	16 µl	0,2	NaCl	74%
2	0,5 ml	32 µl	1,4	NaCl	66%
3	0,5 ml	64 µl	0,4	NaCl	70%
4	0,5 ml	48 µl	0,2	NaCl	78%
5	0,5 ml	16 µl	0,2	NaCl	88%

Exemplo 4

Vários testes foram realizados para checagem de qualquer contaminação ou infecção ou anormalidade nas células embrionárias em vários intervalos dos estágios de expansão e armazenamento e para identificar os derivados de hES que estavam presentes em cada cultura. Os testes diferentes incluíam aqueles para HIV, HbSAg (para hepatite), PCR convencional para teste Koch (para tuberculose), análise cromossomal pelo método CG de ligação de giemsa, Bilirrubina pelo método Jendrasik e Grof e Albumina usando o método de ligação de BCG Dye (para células progenitoras do fígado), insulina a-

- través do método CLIA (para células progenitoras pancreáticas), neurofilamento através do método imunoistoquímica (para células progenitoras neuronais), teste de CD34 através de método imunoistoquímico ((para células progenitoras hematopoiéticas), Fosfatase Alcalina através do método PNPP (para células não-diferenciadas), testes histopatológicos (para identificação de célula através de morfologia), etc. A condição de cultura foi testada através do método de placa de cultura manual e sensibilidade manual e identificação com versatrek/AP1 foi realizada para infecção fúngica. Todos os testes foram realizados e a contagem de célula e viabilidade das células foram checadas em cada estágio. A
- 5
- 10 Tabela 50 provê os resultados de alguns dos testes.

Exemplo 5:

- 15 15 ml de suspensão de célula-tronco foram obtidos e centrifugados a 1000 rpm por 7 minutos. O sobrenadante foi descartado. 2 a 15 ml de solução solução salina foram adicionados ao pélete e as células-tronco então suspensas. A suspensão foi checada quanto à contaminação microbiana. Um teste de viabilidade foi também feito.

Exemplo 6: Armazenamento de células hES em forma pronta para uso

- 20 Recipientes (seringa, tubo de teste, frasco) cheios com a suspensão de célula hES transplantável foram rotulados e armazenados a -20°C. A cadeia fria foi mantida até o estágio de transplante. A suspensão foi descongelada naturalmente imediatamente antes do transplante.

TABELA 50

Código da Batelada	Bilirrubina	HIV	HbSAg	FosfAlc	PCR	Albumina
B77	-	-ve	-ve	-	-ve	-
B78	-	-ve	-ve	-	-ve	-
B79	-	-ve	-ve	-	-ve	-
B80	-	-ve	-ve	-	-ve	-
L56	-	-ve	-ve	-	-ve	-
L57	-	-ve	-ve	-	-ve	-
B81	-	-ve	-ve	-	-ve	-
B82	-	-ve	-ve	-	-ve	-
B83	-	-ve	-ve	-	-ve	-
B84	-	-ve	-ve	-	-ve	-

Código da Batelada	Bilirrubina	HIV	HbSAg	FosfAlc	PCR	Albumina
B85	-	-ve	-ve	-	-ve	-
B86	-	-ve	-ve	-	-ve	-
L58	-	-ve	-ve	-	-ve	-
L59	1,27	-ve	-ve	97	-ve	1,9
B87	-	-ve	-ve	-	-ve	-
B88	-	-ve	-ve	-	-ve	-
L1/V1	-	-ve	-ve	-	-ve	-
L1/V2	-	-ve	-ve	-	-ve	-
B89	-	-ve	-ve	-	-ve	-
B90	0,05	-ve	-ve	14	-ve	0,15
B91	-	-ve	-ve	-	-ve	-
B92	-	-ve	-ve	-	-ve	-
B93	-	-ve	-ve	-	-ve	-
B94	-	-ve	-ve	-	-ve	-
B95	-	-ve	-ve	-	-ve	-

Código da Batelada	Insulina S	Neutrófilo	Histo	Contagem de Célula (em milhões)	Viabilidade (%)	Estado da Cultura
B77	-	-	-	3,86	72	Estéril
B78	-	-	-	3,18	70	Estéril
B79	-	-	-	3,92	70	Estéril
B80	-	-	-	3,96	68	Estéril
L56	-	-	-	3,12	72	Estéril
L57	-	-	-	3,84	72	Estéril
B81	-	-	-	3,16	70	Estéril
B82	-	-	-	3,72	68	Estéril
B83	-	-	-	3,68	74	Estéril
B84	-	-	-	3,72	72	Estéril
B85	-	-	-	3,86	76	Estéril
B86	-	-	-	3,92	78	Estéril
L58	-	-	-	3,86	82	Estéril
L59	13,2	-	-	3,12	70	Estéril

Código da Batelada	Insulina S	Neutrófilo	Histo	Contagem de Célula (em milhões)	Viabilidade (%)	Estado da Cultura
B87	-	-	-	3,16	72	Estéril
B88	-	-	-	3,84	70	Estéril
L1/V1	-	-	-	3,68	78	Estéril
L1/V2	-	-	-	3,72	74	Estéril
B89	-	-	-	3,68	72	Estéril
B90	-	-	-	3,76	70	Estéril
B91	-	-	-	3,64	68	Estéril
B92	-	-	-	3,72	72	Estéril
B93	-	-	-	3,74	70	Estéril
B94	-	-	-	3,92	72	Estéril
B95	-	-	-	3,86	70	Estéril

Linhagens de Célula

Subculturas foram repetidas mais de 100 vezes para estabelecer células hES da presente invenção. Ainda, as subculturas foram testadas quanto a qualquer contaminação/infecção em cada estágio de expansão adicional ou armazenamento. As linhagens de célula hES foram verificadas ser estáveis e sem qualquer anormalidade durante cinco anos de ciclos de subcultura.

A presente invenção não deve ser limitada em escopo pelas modalidades específicas e exemplos, que são pretendidos como ilustrações de vários aspectos da invenção e quaisquer modalidades que sejam funcionalmente equivalentes estão dentro do escopo da presente invenção. Aqueles versados na técnica saberão, ou serão capazes de averiguar usando não mais do que experimentação de rotina, muitos equivalentes para as modalidades específicas da invenção descrita aqui. Esses e outros equivalentes pretendem ser compreendidos pelas reivindicações que seguem. Todas as patentes, pedidos de patente e publicações citados aqui são incorporados a título de referência em sua totalidade.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição farmacêutica para o tratamento de doenças, distúrbios ou condições compreendendo uma quantidade terapêutica eficaz de células-tronco embrionárias humanas (hES) e/ou seus derivados, em que as
5 ditas células hES e/ou seus derivados são livres de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator de inibição de leucemia, fator de crescimento de fibroblasto, fator steel associado à membrana ou fator steel solúvel ou meios condicionados, em que as ditas células hES e/ou seus derivados são suspensos em uma solução biocompatível farmacêuticamente
10 aceitável.
2. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, em que a dita composição está em uma forma pronta para uso.
3. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 2, em que a dita forma pronta para uso é uma seringa pré-cheia.
- 15 4. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 2, em que as células-tronco têm viabilidade suficiente para serem terapeuticamente eficazes.
5. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 4, em que a viabilidade das células-tronco é maior do que 40%.
- 20 6. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, em que a dita solução biocompatível é solução salina.
7. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, em que a dita solução biocompatível compreende ainda um agente antimicrobiano, agente antibacteriano ou outro agente farmacêutico.
- 25 8. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, em que a composição compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de progenitores de célula-tronco hematopoética.
9. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, em que a composição compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz
30 de progenitores de célula-tronco neuronal.
10. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, em que a composição compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz

de progenitores de célula-tronco hematopoiética e progenitores de célula-tronco neuronal.

11. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, em que a composição compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de progenitores de célula-tronco mesenquimal.

12. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, em que a composição compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de progenitores de célula-tronco de produção de insulina.

13. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, em que a composição compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de progenitores de célula-tronco hepatocítica.

14. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, em que a composição compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de progenitores de célula-tronco cardíaca.

15. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, em que a composição compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de progenitores de célula-tronco epitelial.

16. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 8, em que a quantidade terapeuticamente eficaz de progenitores de célula-tronco hematopoiética na composição é cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células.

17. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 9, em que a quantidade terapeuticamente eficaz de células-tronco neuronais na composição é cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células.

18. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, em que a quantidade terapeuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados é cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células em cerca de 0,25 ml a cerca de 100 ml da solução biocompatível.

19. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, em que a quantidade terapeuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados é 750.000 a cerca de 80 milhões de células em cerca de 0,25 ml a cerca de 10 ml da solução biocompatível.

20. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, em que as doenças, distúrbios ou condições são selecionados do grupo consistindo em câncer, derrame, distúrbios genéticos, distúrbios hepáticos, distúrbios desenvolvimentais, distúrbios degenerativos, distúrbios familiares ou distúrbios traumáticos do sistema nervoso, distúrbios vasculares, doenças e distúrbios de pele, distúrbios auto-imunes, distúrbios do olho, distúrbios renais, distúrbios cardíacos, distúrbios músculo-esqueléticos, distúrbios reprodutores e de fertilidade, e artrite e distúrbios sangüíneos.

21. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, em que as doenças, distúrbios ou condições são selecionados do grupo consistindo em Leucemia Mielóide Aguda, Adenocarcinoma, Artrite, Astrocitoma, Atrofia do Nervo Auditivo, Autismo, Distúrbios Auto Imunes, Mal de Alzheimer, Espondilite Anquilosante, Distrofia Muscular de Becker, Dano Cerebral, Queimaduras, Acidente vascular cerebral, Paralisia Cerebral, Coma, Úlceras Corneanas, Rejeição de Enxerto Corneano, Degeneração Córtico-Basal do Sistema Nervoso, Doença da Artéria Coronária, Diabetes, Demência, Síndrome de Down, Distrofia Muscular de Duchenne, Doença Renal de Estágio Terminal, Paralisia de Erb, Distrofia Muscular Fascio Escapular, Distúrbios de Fertilidade, Ataxia de Friedereich, Falência Cardíaca, Carcinoma Hepato Celular, Doença do Neurônio Espino Motor Hereditária, Coréia de Huntington, Doença de Krabbe, Distrofia Tipo Cintura, Cirrose Hepática, Degeneração Macular, Retardo Mental, Esclerose Múltipla, Doença do Neurônio Motor, Infarto do Miocárdio, Síndrome Nefrótica, Doença de Niemann Pick, Ulceração Não-cicatrizante da Pele, Atrofia Olivo-Ponto Cerebelar, Atrofia do Nervo Ótico, Doença de Parkinson, Encefalopatia Pós-Choque Elétrico, Encefalopatia Pós-Vacina da Raiva, Úlceras de Pressão, Paralisia Supranuclear Progressiva, Psoríase, *Pthysis Bulbi*, Cardiomiopatia Restritiva, Retinite Pigmentosa, Bloqueio de Ramo Direito, Sarcoidose, Bradicardia Sinusal, Tumor do Cordão Espinhal, Distrofia Muscular Espinhal, Ataxia Espino Cerebelar, Síndrome de Steven Johnson, Lúpus Eritematoso Sistêmico, Trombocitopenia, Talassemia, Colite Ulcerativa, Estado Vegetativo, Fibrose Cística, Doença Pulmonar Intersticial, Azoospermia, Falência Ovariana Primária,

Úlceras Aftosas, Desequilíbrio Hormonal, Osteoartrite, Síndrome de Horner e Osteogênese Imperfeita, Canalopatia e Hipogamaglobulinemia.

22. Composição de matéria compreendendo células hES e/ou seus derivados, as ditas células hES e/ou seus derivados sendo livres de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator de inibição de leucemia, fator de crescimento de fibroblasto, fator steel associado à membrana e/ou fator steel solúvel ou meios condicionados, em que as ditas células hES e/ou seus derivados são aprisionados em uma estrutura ou matriz seletivamente permeável, biocompatível.

23. Composição de matéria de acordo com a reivindicação 22, em que as células hES e/ou seus derivados compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética.

24. Composição de matéria de acordo com a reivindicação 22, em que as células hES e/ou seus derivados compreendem progenitores de célula-tronco neuronal.

25. Composição de matéria de acordo com a reivindicação 22, em que as células hES e/ou seus derivados compreendem uma combinação de progenitores de células-tronco hematopoiéticas e célula-tronco neuronal.

26. Composição de matéria de acordo com a reivindicação 22, em que a estrutura ou matriz seletivamente permeável, biocompatível, é selecionada do grupo consistindo em biopolímeros, polipeptídeos, proteínas, polissacarídeos, fibronectina, colágeno, laminina, queratina, fibrina, fibrinogênio, ácido hialurônico, sulfato de heparina, sulfato de condroitina, agarose e gelatina.

27. Composição de matéria de acordo com a reivindicação 22, em que as células hES e/ou seus derivados são aprisionados em uma mistura de agarose e colágeno ou uma mistura de agarose e gelatina.

28. Método para isolamento de células hES compreendendo:

a) coleta de um embrião de 2 a 7 dias de vida em meio essencial mínimo.

b) isolamento de células hES do embrião através de meios mecânicos.

29. Método de acordo com a reivindicação 28, em que o dito embrião é um embrião de 2 dias de vida.

30. Método de acordo com a reivindicação 28, em que o dito meio mecânico é agitação.

5 31. Método de expansão de células hES livres de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator inibidor de leucemia, combinações minerais suplementares, suplementos de aminoácido, suplementos de vitamina, fator de crescimento de fibroblasto, fator steel associado à membrana, fator steel solúvel e meios condicionados, compreendendo
10 as etapas de:

(a) introdução de células hES em um meio de cultura de célula consistindo em meio essencial mínimo, um agonista de progesterina e um de gonadotropina coriônica β -humana (β hCG); e

(b) incubação das células-tronco em uma temperatura de cerca
15 de 34°C a cerca de 38°C em um ambiente de cerca de 3,5% a cerca de 6% de dióxido de carbono por cerca de 12 horas a cerca de 48 horas.

32. Método de expansão de células hES de acordo com a reivindicação 31, em que o dito meio de cultura celular é RPMI.

33. Método de expansão de células hES de acordo com a reivindicação 31, compreendendo ainda:
20

(c) obtenção de uma alíquota de células-tronco incubadas da etapa (b) em que a dita alíquota contém pelo menos uma célula-tronco,

(d) ressuspensão das células no meio de cultura celular junto com progesterona e β hCG para a alíquota,

25 (e) diluição das células em meio de cultura sem agonista de progesterina e β hCG, e

(f) incubação das células em uma temperatura de cerca de 34°C a cerca de 38°C em um ambiente de cerca de 3,5% a cerca de 6% de dióxido de carbono por cerca de 12 horas a cerca de 48 horas.

30 34. Método de expansão de células hES de acordo com a reivindicação 31, em que a dita incubação é realizada em uma incubadora de cultura de célula revestida com água.

35. Método de expansão de células hES de acordo com a reivindicação 31, em que as ditas células-tronco em meio de cultura são incubadas em um recipiente biocompatível sob condições substancialmente anaeróbicas.

5 36. Método de expansão de células hES de acordo com a reivindicação 35, em que as ditas células-tronco não diferenciam em proliferação.

37. Método de expansão de células hES de acordo com a reivindicação 31, em que as células hES usadas são isoladas de um embrião de 3 dias de vida através de meios mecânicos.

10 38. Método de expansão de células hES de acordo com a reivindicação 31 compreendendo ainda a etapa de teste das células-tronco expandidas quanto a qualquer contaminação.

15 39. Método de expansão de células hES de acordo com a reivindicação 31, em que o dito processo de cultura é realizado em recipientes biocompatíveis.

40. Método de expansão de células hES de acordo com a reivindicação 31, em que a razão da alíquota de células-tronco incubadas para meio celular é cerca de 1:3,5 a cerca de 1:35.

20 41. Método de expansão de células hES de acordo com a reivindicação 31, em que a dita incubação é realizada em ambiente substancialmente anaeróbico.

25 42. Método de expansão de células hES de acordo com a reivindicação 31, em que a dita incubação é realizada em recipiente biocompatível em que o volume é quase completamente ocupado pelo meio e o recipiente é mantido em uma posição vertical.

30 43. Método de parcialmente diferenciar células hES livres de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator inibidor de leucemia, combinações minerais suplementares, suplementos de aminoácido, suplementos de vitamina, fator de crescimento de fibroblasto, fator steel associado à membrana, fator steel solúvel e meios condicionados compreendendo as etapas de:

(a) introdução de células hES em um meio de cultura consistin-

do em meio essencial mínimo; e

(b) incubação das células-tronco em uma temperatura de cerca de 34°C a cerca de 38°C em um ambiente de cerca de 3,5% a cerca de 6% de dióxido de carbono por cerca de 12 horas a cerca de 48 horas.

5 44. Método de parcialmente diferenciar células hES de acordo com a reivindicação 43, em que o dito meio de cultura celular é RPMI ou DMEM.

 45. Método de parcialmente diferenciar células hES de acordo com a reivindicação 43, em que a dita incubação é realizada em uma incubadora de cultura de célula revestida com água.

 46. Método de parcialmente diferenciar células hES de acordo com a reivindicação 43, em que as ditas células-tronco em meio de cultura são incubadas em um recipiente biocompatível sob condições substancialmente aeróbicas.

15 47. Método de parcialmente diferenciar células hES de acordo com a reivindicação 46, em que as ditas células-tronco diferenciam em proliferação.

 48. Método de parcialmente diferenciar células hES de acordo com a reivindicação 43, compreendendo ainda a etapa de teste das células-tronco expandidas quanto a qualquer contaminação.

20 49. Método de parcialmente diferenciar células hES de acordo com a reivindicação 43, em que o dito processo de cultura é realizado em recipientes biocompatíveis.

 50. Método de parcialmente diferenciar células hES de acordo com a reivindicação 43, em que a razão da alíquota de células-tronco incubadas para o meio celular é cerca de 1:3,5 a cerca de 1:35.

 51. Método de parcialmente diferenciar células hES de acordo com a reivindicação 43, em que a dita incubação é realizada em ambiente substancialmente aeróbico.

30 52. Método de parcialmente diferenciar células hES de acordo com a reivindicação 51, em que a dita incubação é realizada em recipiente biocompatível e o recipiente é mantido em uma posição horizontal.

53. Processo de preparação de uma preparação pronta para uso de células hES e/ou seus derivados para transplante humano compreendendo:

5 (a) obtenção de células hES livres de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator inibidor de leucemia, combinações minerais suplementares, suplementos de aminoácido, suplementos de vitamina, fator de crescimento de fibroblasto, fator steel associado à membrana, fator steel solúvel e meios condicionados,

10 e (b) centrifugação das ditas células-tronco para obter um pélete,

/ (c) suspensão do pélete em uma solução biocompatível.

54. Processo de preparação de uma preparação pronta para uso de células hES e/ou seus derivados para transplante humano de acordo com a reivindicação 53, compreendendo ainda:

15 (d) armazenamento da preparação em cerca de -15°C a cerca de -72°C,

(e) descongelamento da preparação armazenada naturalmente antes do transplante, em que a viabilidade das células é pelo menos 40% no descongelamento.

20 55. Processo de preparação de uma preparação pronta para uso de células hES e/ou seus derivados para transplante humano de acordo com a reivindicação 53 ou 54, compreendendo ainda teste da preparação quanto a qualquer contaminação antes do transplante.

25 56. Processo de preparação de uma preparação pronta para uso de células hES e/ou seus derivados para transplante humano de acordo com a reivindicação 53, em que as células hES e/ou seus derivados obtidos em (a) são produzidos através dos métodos de acordo com a reivindicação 31 ou 45.

30 57. Método de armazenamento de uma preparação de células hES e/ou seus derivados em uma condição viável compreendendo:

(a) obtenção da preparação de células hES e/ou seus derivados preparados através do método de acordo com a reivindicação 31 ou 45,

(b) adição de um agente de criopreservação, e

(c) congelamento das células em cerca de -15 a cerca de -72°C.

58. Método de armazenamento de uma preparação de células hES e/ou seus derivados de acordo com a reivindicação 57, em que a razão da quantidade do dito agente de criopreservação para aquela do meio de cultura é de a partir de cerca de 1:5000 a cerca de 16:1000.

59. Método de armazenamento de uma preparação de células hES e/ou seus derivados de acordo com a reivindicação 57, em que o dito armazenamento é em um recipiente biocompatível.

10 60. Método de armazenamento de uma preparação de células hES e/ou seus derivados de acordo com a reivindicação 57, em que as células são congeladas em cerca de -18 a cerca de -20°C.

61. Método de tratamento de uma doença, distúrbio ou condição em um indivíduo compreendendo administrar ao dito indivíduo uma quantidade terapêuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados, as ditas células sendo livres de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator inibidor de leucemia, fator de crescimento de fibroblasto ou meios condicionados.

20 62. Método de acordo com a reivindicação 61, em que as células hES e/ou seus derivados são produzidos através do método de acordo com a reivindicação 31 ou 45.

63. Método de acordo com a reivindicação 61, em que a doença, distúrbio ou condição é selecionado do grupo consistindo em câncer, derrame, distúrbios genéticos, distúrbios hepáticos, distúrbios desenvolvimentais, distúrbios degenerativos, distúrbios familiares ou distúrbios traumáticos do sistema nervoso, distúrbios vasculares, doenças e distúrbios de pele, distúrbios auto-imunes, distúrbios do olho, distúrbios renais, distúrbios cardíacos, distúrbios músculo-esqueléticos, distúrbios reprodutores e de fertilidade, artrite e distúrbios sangüíneos.

30 64. Método de acordo com a reivindicação 63, em que os distúrbios do sistema nervoso são distúrbios do sistema nervoso desenvolvimentais selecionados do grupo consistindo em Autismo, Paralisia Cerebral, Para-

lisia de Erb, Retardo Mental e Paralisia Supranuclear Progressiva.

65. Método de acordo com a reivindicação 63, em que os distúrbios do sistema nervoso central são distúrbios do sistema nervoso degenerativos selecionados do grupo consistindo em Mal de Alzheimer, Degeneração Corticobasal, Surdez (Atrofia do Nervo Auditivo), Demência, Ataxia de Friedereich, Doença do Neurônio Motor, Esclerose Múltipla, Atrofia Olivo Ponto Cerebelar, Doença de Parkinson e Ataxa Espino Cerebelar.

66. Método de acordo com a reivindicação 63, em que os distúrbios do sistema nervoso central são traumas do sistema nervoso selecionados do grupo consistindo em Dano Cerebral, Coma, Encefalopatia Pós-Choque Elétrico, Encefalopatia Pós-Vacina Contra a Raiva, Dano ou Lesão ao Cordão Espinhal e Estado Vegetativo.

67. Método de acordo com a reivindicação 63, em que os distúrbios do sistema nervoso são Acidente vascular cerebral ou Derrame.

68. Método de acordo com a reivindicação 63, em que os distúrbios do sistema nervoso são condições familiares selecionadas do grupo consistindo em Doença do Neurônio Espino Motor Hereditária e Coréia de Huntington.

69. Método de acordo com a reivindicação 63, em que os distúrbios hepáticos e renais são selecionados do grupo consistindo em Cirrose Hepática, Doença Renal de Estágio Terminal, Síndrome Nefrótica e Doença de Niemann Pick.

70. Método de acordo com a reivindicação 63, em que os distúrbios de pele são selecionados do grupo consistindo em Artrite, Arteriosclerose, Queimaduras, Úlceras de Não-cicatrização, Úlceras de Pressão, Psoríase, Lúpus Eritematoso Sistêmico e Sarcoidose.

71. Método de acordo com a reivindicação 63, em que os distúrbios auto-imunes são selecionados do grupo consistindo em Trombocitopenia, Lúpus Eritematoso Sistêmico, Sarcoidose e Colite Ulcerativa.

72. Método de acordo com a reivindicação 63, em que os distúrbios genéticos são selecionados do grupo consistindo em Síndrome de Down, Espondilite Anquilosante, Talassemia e Coréia de Huntington.

73. Método de acordo com a reivindicação 63, em que os distúrbios dos olhos são selecionados do grupo consistindo em Atrofia do Nervo Ótico, *Pthysis Bulbi*, Degeneração Macular, Retinite Pigmentosa, Abrasão Corneana, Rejeição de Enxerto Corneano e Úlceras Corneanas.

5 74. Método de acordo com a reivindicação 63, em que os distúrbios músculo-esqueléticos são selecionados do grupo consistindo em Distrofia Muscular de Duchenne, Distrofia Muscular Fascio Escapular, Distrofia do Tipo Cintura, Atrofia Muscular Espinhal e Distrofia Muscular de Becker.

10 75. Método de acordo com a reivindicação 63, em que os distúrbios cardíacos são selecionados do grupo consistindo em Infarto do Miocárdio, Bloqueio de Ramo Direito, Cardiomiopatia Restritiva, Falência Cardíaca, Bradicardia Sinusal e Doença da Artéria Coronária.

15 76. Método de acordo com a reivindicação 63, em que os estados oncológicos são selecionados do grupo consistindo em Leucemia Mieloide Aguda, Adenocarcinoma da Glândula Adrenal, Astrocitoma, Carcinoma Hepatocelular e Tumor do Cordão Espinhal.

77. Método de acordo com a reivindicação 63, em que a doença é Diabetes Mellitus.

20 78. Método para tratamento de um indivíduo com uma doença, distúrbio ou condição compreendendo administrar uma quantidade terapêuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados cultivados em meios livres de produtos animais, células nutrientes, meios condicionados, fatores de crescimento, fator de inibição de leucemia, fator de crescimento de fibroblasto, fator steel associado à membrana ou fator steel solúvel, através de
25 injeção intramuscular ou injeção intravenosa ou injeção epidural ou cateter epidural ou injeção retrobulbar ou injeção subcutânea ou injeção intracardíaca ou injeção intracística ou injeção intratecal ou através de aplicação tópica ou aplicação intralesional ou infusão intravenosa ou através de nebulizador ou através de *spray* ou vias intravaginais ou através de gotas para o olho e
30 ouvido locais.

79. Método de acordo com a reivindicação 78, em que as células hES e/ou seus derivados são produzidos através do método de acordo

com a reivindicação 31 ou 45.

80. Método para tratamento de um indivíduo com uma doença, distúrbio ou condição de acordo com a reivindicação 78, em que a quantidade terapeuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados é cerca de 5 750.000 a cerca de 160 milhões de células.

81. Método para tratamento de um indivíduo com uma doença, distúrbio ou condição de acordo com a reivindicação 78, em que as células hES e/ou seus derivados compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética, progenitores de célula-tronco neuronal, progenitores de célula-tronco mesenquimal, progenitores de célula-tronco epitelial, progenitores de 10 célula-tronco renal, progenitores de célula-tronco cardíaca ou progenitores de célula-tronco hepática ou suas combinações.

82. Método para tratamento de um indivíduo com uma doença, distúrbio ou condição de acordo com a reivindicação 78, em que a doença é 15 selecionada do grupo consistindo em câncer, derrame, distúrbios genéticos, distúrbios hepáticos, distúrbios desenvolvimentais, distúrbios degenerativos, distúrbios familiares ou distúrbios traumáticos do sistema nervoso, distúrbios vasculares, doenças e distúrbios de pele, distúrbios auto-imunes, distúrbios do olho, distúrbios renais, distúrbios cardíacos, distúrbios músculo-esqueléticos, distúrbios reprodutores e de fertilidade, artrite e distúrbios sangüíneos. 20

83. Método para tratamento de um indivíduo com uma doença, distúrbio ou condição de acordo com a reivindicação 78, em que a doença, distúrbio ou condição é selecionado do grupo consistindo em Leucemia Mieloide Aguda, Adenocarcinoma, Artrite, Astrocitoma, Atrofia do Nervo Auditivo, Autismo, Distúrbios Auto-Imunes, Mal de Alzheimer, Espondilite Anquilosante, Distrofia Muscular de Becker, Dano Cerebral, Queimaduras, Acidente vascular cerebral, Paralisia Cerebral, Coma, Úlceras Corneanas, Rejeição de Enxerto Corneano, Degeneração Córtico-Basal do Sistema Nervoso, Doença da Artéria Coronária, Diabetes, Demência, Síndrome de Down, Distrofia Muscular de Duchenne, Doença Renal de Estágio Terminal, Paralisia de Erb, Distrofia Muscular Fascio Escapular, Distúrbios de Fertilidade, Ataxia de 30

Friedereich, Falência Cardíaca, Carcinoma Hepato Celular, Doença do Neurônio Espino Motor Hereditária, Coréia de Huntington, Doença de Krabbe, Distrofia Tipo Cintura, Cirrose Hepática, Degeneração Macular, Retardo Mental, Esclerose Múltipla, Doença do Neurônio Motor, Infarto do Miocárdio, 5 Síndrome Nefrótica, Doença de Niemann Pick, Ulceração Não-cicatrizante da Pele, Atrofia Olivo-Ponto Cerebelar, Atrofia do Nervo Ótico, Doença de Parkinson, Encefalopatia Pós-Choque Elétrico, Encefalopatia Pós-Vacina da Raiva, Úlceras de Pressão, Paralisia Supranuclear Progressiva, Psoríase, *Pthysis Bulbi*, Cardiomiopatia Restritiva, Retinite Pigmentosa, Bloqueio de 10 Ramo Direito, Sarcoidose, Bradicardia Sinusal, Tumor do Cordão Espinhal, Distrofia Muscular Espinhal, Ataxia Espino Cerebelar, Síndrome de Steven Johnson, Lúpus Eritematoso Sistêmico, Trombocitopenia, Talassemia, Colite Ulcerativa, Estado Vegetativo, Fibrose Cística, Doença Pulmonar Intersticial, Azoospermia, Falência Ovariana Primária, Úlceras Aftosas, Desequilíbrio 15 Hormonal, Osteoartrite, Síndrome de Horner e Osteogênese Imperfeita, Canalopatia e Hipogamaglobulinemia.

84. Método para tratamento de um indivíduo com uma doença, distúrbio ou condição de acordo com a reivindicação 78, em que a administração de células hES e/ou seus derivados não causa tumores, teratomas ou 20 mudanças cromossomais.

85. Método para o tratamento de Lesão ao Cordão Espinhal (CSI) de um indivíduo compreendendo:

- (a) administração de cerca de 750.000 a cerca de 80 milhões de células hES e/ou seus derivados através de injeção subcutânea;
- 25 (b) repetição da etapa (a) após um período predeterminado e em seguida administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados através de injeção intramuscular;
- (c) administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem 30 progenitores de célula-tronco neuronal e progenitores de célula-tronco hematopoiética, através de injeção intravenosa ou infusão;
- (d) administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de

células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal, através de injeção epidural e repetição da dita dose após um período predeterminado dependendo da condição do indivíduo conforme avaliado através de exame clínico e/ou neurológico;

5 (e) administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal, através de injeção caudal;

(f) administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem
10 progenitores de célula-tronco neuronal através de injeção intratecal ou um cateter de bloqueio araquinóide;

(g) administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal através de injeção epidural ou cateter
15 epidural;

(h) administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de células hES e/ou seus derivados através de injeção espinhal profunda em qualquer lado da espinha; e

(i) administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de
20 células hES e/ou seus derivados através de infusão intravenosa;

em que as etapas (a) e (b) são realizadas primeiro e as etapas restantes podem ser realizadas em qualquer ordem.

86. Método de acordo com a reivindicação 85, compreendendo ainda a etapa (f) seguido pela etapa (g), até que o indivíduo exiba sinais clí-
25 nicos de recuperação do dito SCI.

87. Método de acordo com a reivindicação 85, em que as células hES e/ou seus derivados são produzidos através do método de acordo com a reivindicação 31 ou 45.

88. Método de tratamento de SCI de acordo com a reivindicação
30 85, em que cerca de 750.000 a cerca de 80 milhões de células hES e/ou seus derivados, em que as células compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética e progenitores de célula-tronco neuronal, são suspen-

sas em 0,25 a 1,0 ml de uma solução biocompatível na etapa (a) e na etapa (b).

89. Método de tratamento de SCI de acordo com a reivindicação 85, em que cerca de 750.000 a cerca de 11 milhões de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética e progenitores de célula-tronco neuronal, são suspensas em 2,0 a 4,0 ml de uma solução biocompatível na etapa (f).

90. Método de tratamento de SCI de acordo com a reivindicação 85, em que cerca de 750.000 a cerca de 80 milhões de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética e progenitores de célula-tronco neuronal, são suspensas em 15 a 40 ml de uma solução biocompatível na etapa (g).

91. Método de acordo com a reivindicação 85, em que o dito tratamento de indivíduos com SCI resulta na melhora de úlceras de leito.

92. Método para o tratamento de distúrbios do sistema nervoso desenvolvimentais, degenerativos, familiares e traumáticos e ataque cerebrovascular compreendendo administrar cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal e/ou progenitores de célula-tronco hematopoiética, através de injeção intravenosa, injeção subcutânea, injeção intramuscular, injeção intratecal, infusão de cateter epidural ou infusão de cateter de bloqueio aracnóide.

93. Método para tratamento de distúrbios de pele compreendendo administrar cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética, através de injeção subcutânea ou intravenosa.

94. Método para tratamento de acordo com a reivindicação 93, em que as ditas células hES e/ou progenitores são misturados em um carreador biocompatível a ser aplicado à pele danificada.

98. Método para tratamento de acordo com a reivindicação 94, em que o dito carreador biocompatível é um gel, unguento, pasta ou *spray* aerossol.

95. Método para tratamento de úlceras de leito compreendendo administrar cerca de 750.000 a cerca de 80 milhões de células hES e/ou seus derivados através de aplicação local ou tópica e através de injeção intramuscular.
- 5 96. Método para tratamento de distúrbios auto-imunes compreendendo administrar cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados através de injeção intramuscular, injeção intravenosa, injeção subcutânea, injeção intra-articular ou infusão intravenosa ou suas combinações.
- 10 97. Método para tratamento de distúrbios genéticos compreendendo administrar cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal e/ou progenitores de célula-tronco hematopoiética, através de injeção intravenosa, injeção subcutânea, injeção intramuscular, injeção intratecal, infusão de cateter epidural ou infusão de cateter de bloqueio aracnóide ou suas combinações.
- 15
98. Método para tratamento de gangrena compreendendo administrar cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados através de injeção intravenosa, injeção intramuscular ou aplicação local na junção de tecido viável e morto ou suas combinações.
- 20
99. Método para tratamento de condições associadas com envelhecimento compreendendo administrar cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados através de injeção intravenosa, injeção subcutânea, injeção intramuscular, aplicação local em suspensão ou misturada em um carreador biocompatível.
- 25
100. Método para tratamento de acordo com a reivindicação 102, em que o dito carreador biocompatível é um gel, unguento, pasta ou *spray* aerossol.
101. Método para o tratamento de Diabetes Mellitus compreendendo administração de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células progenitoras de produção de insulina embriônicas humanas através de injeção intravenosa ou intramuscular ou ambas.
- 30

102. Método para tratamento de Distúrbios Cardiovasculares compreendendo administrar cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética, através de injeção intravenosa, injeção subcutânea, injeção intramuscular, injeção intracardíaca, angiografia, ou injeção direta, ou suas combinações.

103. Método de tratamento de Distúrbios Cardiovasculares de acordo com a reivindicação 103, em que a dita administração é durante angiografia.

104. Método para tratamento de Distúrbios Hepáticos e Renais compreendendo administração de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética, progenitores de célula-tronco de produção de albumina e progenitores de célula-tronco de produção de bilirrubina, através de injeção intravenosa, injeção subcutânea, injeção intramuscular, infusão intravenosa, ou injeção local, ou suas combinações.

105. Método para o tratamento de Distúrbios de Fertilidade e Reprodutivos compreendendo administrar cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/o seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco hematopoiética, através de injeção intramuscular local, injeção intratesticular ou através de injeção de pele subcutânea próximo ao epidídimo, ou suas combinações.

106. Método para o tratamento de Distúrbios Músculo-esqueléticos compreendendo administrar administração de cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal e/ou progenitores de célula-tronco hematopoiética, através de injeção intravenosa, injeção subcutânea, injeção intramuscular, ou infusão de cateter intravenoso, ou suas combinações.

107. Método para o tratamento de Distúrbios do Olho compreendendo administrar cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenito-

res de célula-tronco neuronal, progenitores de célula-tronco hematopoiética e/ou progenitores de célula-tronco mesenquimal, através de injeção intravenosa local, injeção subcutânea, injeção intramuscular, injeção retrobulbar, injeção intravítrea ou aplicação tópica, ou suas combinações.

5 108. Método para o tratamento de Distúrbios do Olho de acordo com a reivindicação 107, em que cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal, são administradas através de injeção retrobulbar.

10 109. Método para o tratamento de Distúrbios do Olho de acordo com a reivindicação 107, em que cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula tronco neuronal, são administradas através de injeção intravítrea.

15 110. Método para o tratamento de Distúrbios do Olho de acordo com a reivindicação 107, em que cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco mesenquimal, são aplicadas a lentes de contato para o tratamento de abrasão da córnea.

20 111. Método para o tratamento de Distúrbios Pulmonares compreendendo administrar cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal e/ou progenitores de célula-tronco hematopoiética, através de injeção intramuscular, injeção intravenosa, *spray* ou nebulizador, ou suas combinações.

25

 112. Método para o tratamento de Distúrbios Hormonais compreendendo administrar cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal e/ou progenitores de célula-tronco hematopoiética, através de injeção intramuscular ou injeção intravenosa, ou suas combinações.

30

 113. Método para o tratamento de Úlceras Aftosas compreen-

dendo administrar cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal e/ou progenitores de célula-tronco hematopoiética, através de injeção intramuscular ou injeção intravenosa, ou suas combina-
5 ções.

114. Método para o tratamento de Osteoartrite do joelho e junta do quadril compreendendo administrar cerca de 750.000 a cerca de 160 milhões de células hES e/ou seus derivados, em que as ditas células compreendem progenitores de célula-tronco neuronal e/ou progenitores de célula-tronco hematopoiética, através de injeção intramuscular, injeção intravenosa,
10 ou injeção intra-articular, ou suas combinações.

115. Método para teste do efeito de um composto sobre células hES e/ou seus derivados compreendendo cultura de células hES e/ou seus derivados obtidos através do método como definido na reivindicação 31 ou
15 45, na presença do composto e determinação do efeito do composto sobre as células.

116. Método para aplicação de um fármaco a um indivíduo compreendendo cultura de células hES e/ou seus derivados obtidos através do método de acordo com a reivindicação 31 ou 45, na presença do fármaco,
20 em que as células absorvem o fármaco, e administração das células a um sítio no indivíduo, em que o fármaco é aplicado.

RESUMO

Patente de Invenção: **"COMPOSIÇÕES COMPREENDENDO CÉLULAS-TRONCO EMBRIÔNICAS HUMANAS E SEUS DERIVADOS, MÉTODOS DE USO E MÉTODOS DE PREPARAÇÃO"**.

- 5 A presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica compreendendo preparação de células-tronco embriônicas humanas (hES) e seus derivados e métodos para seu transplante no corpo humano, em que transplante resulta na reversão clínica dos sintomas, cura, estabilização ou parada de degeneração de uma ampla variedade de condições, doenças e
- 10 distúrbios médicos atualmente incuráveis e terminais. A invenção refere-se ainda a novos processos de preparação de novas linhagens de célula-tronco que são livres de produtos animais, células nutrientes, fatores de crescimento, fator inibidor de leucemia, combinações minerais suplementares, suplementos de aminoácido, suplementos de vitamina, fator de crescimento de
- 15 fibroblasto, fator steel associado à membrana, fator steel solúvel e meios condicionados. A presente invenção refere-se ainda ao isolamento, cultura, manutenção, expansão, diferenciação, armazenamento e preservação de tais células-tronco.