



(51) МПК
A61K 35/14 (2006.01)
A61K 35/16 (2006.01)
A61K 35/28 (2006.01)
A61K 38/18 (2006.01)

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: **2010142988/15, 24.03.2009**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
24.03.2009

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
31.03.2008 EP 08006238.3

(43) Дата публикации заявки: **10.05.2012** Бюл. № 13

(45) Опубликовано: **27.08.2013** Бюл. № 24

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **US 6541024 B1, 01.04.2003. WO 2004001023 A, 31.12.2003. Kinoshita, K et al. Promoted New bone formation in Maxillary Distraction Osteogenesis Using a Tissue-Engineered Osteogenic Material. Journal of Craniofacial Surgery: January 2008, Vol.1, №1.**

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: **01.11.2010**

(86) Заявка РСТ:
EP 2009/002135 (24.03.2009)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2009/121503 (08.10.2009)

Адрес для переписки:
197101, Санкт-Петербург, а/я 128, "АРС-ПАТЕНТ", И.И.Липатовой

(72) Автор(ы):

БАДЕР Аугустинус (DE)

(73) Патентообладатель(и):

БАДЕР Аугустинус (DE)

(54) СПОСОБ И КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ С ПОМОЩЬЮ СТВОЛОВЫХ ИЛИ КОСТНОМОЗГОВЫХ КЛЕТОК

(57) Реферат:

Изобретение относится к фармацевтической промышленности, а именно к полимеру крови для регенерации травмированной ткани или дефектных костных или хрящевых структур. Полимер крови для регенерации травмированной ткани или дефектных костных или хрящевых структур, содержащий: кровь, плазму крови или концентрат тромбоцитов, эритропоэтин (ЕРО), стволовые клетки или клетки костного мозга, в котором полимер

крови получают смешиванием соответствующих компонентов в жидком состоянии, и полимеризация осуществляется за счет гелеобразующего вещества, выбранного из ионов кальция, тромбина, протамина, протромбина, фибрина или компонентов внеклеточного матрикса биологического происхождения. Способ регенерации травмированной ткани или дефектных костных или хрящевых структур у индивидуума. Вышеописанный полимер позволяет ускорить

и улучшить регенерацию травмированных и дефектных тканей. 2 н. и 6 з.п. ф-лы, 12 пр.

R U 2 4 9 1 0 7 6 C 2

R U 2 4 9 1 0 7 6 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 35/14 (2006.01)
A61K 35/16 (2006.01)
A61K 35/28 (2006.01)
A61K 38/18 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2010142988/15, 24.03.2009**

(24) Effective date for property rights:
24.03.2009

Priority:

(30) Convention priority:
31.03.2008 EP 08006238.3

(43) Application published: **10.05.2012 Bull. 13**

(45) Date of publication: **27.08.2013 Bull. 24**

(85) Commencement of national phase: **01.11.2010**

(86) PCT application:
EP 2009/002135 (24.03.2009)

(87) PCT publication:
WO 2009/121503 (08.10.2009)

Mail address:

197101, Sankt-Peterburg, a/ja 128, "ARS-PATENT", I.I.Lipatovoj

(72) Inventor(s):

BADER Augustinus (DE)

(73) Proprietor(s):

BADER Augustinus (DE)

(54) METHOD AND COMPOSITION FOR TISSUE REGENERATION USING STEM OR MARROW CELLS

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention refers to pharmaceutical industry, namely a blood polymer for the regeneration of injured tissue or defect osseous or chondral structures. The blood polymer for the regeneration of injured tissue or defect osseous or chondral structures containing: blood, blood plasma or thrombocyte concentrate, erythropoietin (EPO), stem cells or marrow cells, wherein the blood polymer is prepared by mixing the respective ingredients taken

in the liquid state, and the polymerisation is ensured by a gelling material specified in calcium ions, thrombin, protamine, prothrombin, fibrin or the extra-cellular matrix ingredients of a biological nature. The method for the regeneration of injured tissue or defect osseous or chondral structures in an individual.

EFFECT: polymer enables the faster and better regeneration of injured and defect tissues.

8 cl, 12 ex

Изобретение относится к новой полимеризуемой композиции, содержащей кровь, тромбоциты или плазму крови, а также стволовые клетки или клетки костного мозга, и возможно также клетки крови, жировой ткани или ткани, которая происходит из целевой ткани или соответствует целевой ткани, которую нужно создать или
5 регенерировать. Используя такое приготовление крови/стволовых клеток, за очень короткое время можно получить любую желаемую целевую ткань в качестве целевой.

При многих травмах и заболеваниях в организме возникают дефекты, которые не могут быть восстановлены из-за эволюционного барьера. Целью данного изобретения
10 является предоставление «эталона», который сделает возможной продукцию «спроектированной» ткани, а также укажет способ, с помощью которого можно получить любую желаемую целевую ткань.

Смеси этого типа способны к полимеризации под влиянием эндогенных или
15 экзогенных факторов полимеризации, таких как тромбин, ионы кальция или клеточный детрит, образуя при этом вязкие гели, которые очень выгодны для развития и дифференцировки стволовых клеток или клеток костного мозга в тканеспецифические клетки.

Полимеры этого типа, которые, в частности, дополнительно содержат
20 эритропоэтин (ЕРО), аналоги или производные ЕРО (например в карбамилированной форме) или пептидные последовательности ЕРО и/или тромбопоэтина, или тромбин, обладают превосходными свойствами, позволяющими использовать их для тканевой регенерации или регенерации костных дефектов. Альтернативно также могут использоваться GM-CSF (ГМ-КСФ) или G-CSF (Г-КСФ), отдельно или в сочетании с
25 ЕРО.

Кроме того, изобретение относится к способу регенерации и создания ткани с помощью этих полимеров из компонентов крови, стволовых клеток/костного мозга и предпочтительно факторов и веществ, которые способствуют клеточному росту и
30 дифференцировке, в частности ЕРО и биологически активных производных и/или их фрагментов, GM-CSF или G-CSF и возможно витаминов, например витамина С, или гормонов.

Считается, что эмбриональные, неонатальные (из пуповины) и взрослые стволовые клетки несут надежду на новые терапевтические формы, которые сделают возможной
35 регенерацию разрушенных тканей и органов. Эти клетки, по-видимому, действительно обладают потенциалом для репарации разрушенных частей ткани, но основные механизмы и практическая применимость по отношению к специфическим тканям по-прежнему остается предметом острой дискуссии.

Термин «стволовые клетки» охватывает гетерогенную группу клеток, которые
40 обладают по меньшей мере следующими двумя общими свойствами: стволовые клетки являются клетками-предшественниками высоко дифференцированных клеток. После деления стволовых клеток дочерние клетки, по мнению экспертов, могут либо стать стволовыми клетками снова, либо дифференцироваться в специфическую ткань,
45 например в сердечные, нервные, кожные или мышечные клетки.

Стволовые клетки появляются в период раннего эмбрионального развития. Даже оплодотворенная яйцеклетка (зигота) представляет собой омнипотентную стволовую клетку, которая проходит через стадии раннего эмбрионального развития и из
50 которой позднее формируются все ткани человеческого организма. Так, например, стволовые клетки из эмбриональной соединительной ткани (мезенхимальные клетки) развиваются в мышечные клетки под влиянием определенных факторов роста во время эмбриогенеза. Чем дальше прогрессирует специализация дочерних клеток

стволовой клетки, тем более ограничен диапазон ее возможной дифференцировки в различные ткани.

Напротив, другие стволовые клетки, так называемые взрослые стволовые клетки, играют важную роль на протяжении всей жизни, в частности в регенерации и репарации тканей. Они поддерживают способность тканей и органов функционировать путем восполнения дифференцированных клеток и замены поврежденных или мертвых клеток. Например, стволовые клетки из костного мозга обеспечивают восполнение короткоживущих клеток крови.

До недавнего времени преобладало мнение, что взрослые стволовые клетки способны производить не только клетки соответствующего органа, в котором они находятся, но также клетки других тканей или органов. Так, например, костный мозг дает не только новые клетки крови, но также клетки различных тканей тела, таких как кости, хрящи, сухожилия, мышцы, печень.

Однако мнение, что взрослые стволовые клетки из костного мозга могут превращаться в любую желаемую дифференцированную клетку, оспаривается на основании результатов последних исследований, которые показывают, что в мезенхимальных стволовых клетках такой потенциал к трансдифференцировке является только рудиментарным или возникает только с определенными предпосылками: во многих случаях, в которых полностью функциональные специализированные клетки тканей, например клетки скелетных мышц, на самом деле были произведены из мезенхимальных стволовых клеток, это произошло через слияние стволовых клеток с клетками, которые уже полностью дифференцированы. Хотя эксперименты показывают, что эти клетки экспрессируют, например, определенное количество генов, специфических для сердечной и скелетной мускулатуры, если их культивировали вместе с клетками, продуцирующими определенные факторы роста, но в конечном итоге не было найдено полностью функциональных мышечных клеток, хотя морфологические изменения в клетках наблюдались.

Таким образом, до сих пор не было возможности проводить у людей лечение стволовыми клетками, которое вызывало бы истинную регенерацию специфической ткани *in situ*. Например, трансплантация взрослых стволовых клеток в сердце приводит к увеличению ангиогенеза, но, по-видимому, не приводит к развитию сердечно-мышечной ткани.

Следовательно, в регенерации ткани очень часто используются исходные клетки, которые уже соответствующим образом специализированы или дифференцированы. Например, в соответствии с уровнем техники для регенерации хрящевых тканей используются матрицы, такие как, например, гетерологичный фибрин, в том числе аутологичного происхождения, а также, например, коллаген крысиного хвоста. Как правило, в эти полимерные матрицы вводят хрящевые клетки суставного происхождения. Их получают путем биопсии из пораженного коленного сустава пациента и колонизации на этих матрицах *lege artis* (по всем правилам) с использованием способов наращивания *ex vivo*.

Альтернативно хрящевые клетки можно культивировать известным образом прямо в альгинатной, фибриновой или коллагеновой матрице животного происхождения и после культивирования в течение нескольких недель трансплантировать. Подобные способы также известны для продукции других тканеспецифичных клеток.

Недостатком этих способов является то, что продолжительное время необходимой предварительной культивации приводит к процессам дедифференцировки выбранных

специфических клеток, которые затем приобретают нежелательные свойства. Например, процессы неправильной дифференцировки хрящевых клеток этого типа способствуют образованию нежелательного фиброзного хряща вместо гиалинового хряща.

5 Другой существенный недостаток обычных на сегодняшний день способов заключается в том, что полимерные матрицы, используемые сегодня, не благоприятствуют реформации и трансформации ткани и вызывают нежелательную активацию клеток. Кроме того, также нередко возникает иммунологическая
10 несовместимость с реципиентом.

Указанных недостатков теперь можно избежать путем применения в соответствии с изобретением стволовых клеток вместо дифференцированных клеток, где стволовые клетки не включены, как обычно делают в настоящее время, непосредственно в
15 целевую ткань, которую нужно регенерировать, а вместо этого используется матрица, которая по существу состоит из полимеризованной крови или плазмы крови или полимеризуемых концентратов тромбоцитов или препаратов, в которые стволовые клетки или клетки-предшественники были введены до полимеризации.

Таким образом, неожиданно можно показать, что использование полимеров такого
20 типа, в частности содержащих взрослые стволовые клетки, на основе крови или ее клеточных компонентов (красных и белых кровяных телец, тромбоцитов) или неклеточных компонентов (белков, липидов, сахаров и т.д.), приводит к значительно более высокому выходу и качеству полученных дифференцированных специализированных клеток по сравнению с использованием известных способов,
25 описанных выше, включая способы, при которых в качестве исходных клеток используют клетки тканей.

Удивительно, но этот эффект также может наблюдаться и по сравнению с соответствующими препаратами крови, которые не были полимеризованы заранее.
30 Таким образом, полимеризованная кровь или плазма крови, в отличие от жидких образцов крови, оказывает значительное положительное влияние на стволовые клетки с точки зрения их способности к дифференцировке в тканеспецифичные и клетки и к размножению в дифференцированной форме.

В частности, усилители полимеризации, такие как тромбин, Ca^{++} или фрагменты
35 синтетических или биологических матриц, такие как, например, пептиды, которые содержат коллагеновые последовательности или также RDG-последовательности, ответственны не только за полимеризацию, но также за биологическое влияние на 3D-структуру крови, структуру плазмы или структуру препарата тромбоцитов после
40 полимеризации.

Причиной этого является то, что тем самым высвобождается ряд факторов роста, которые имеют непосредственное стимулирующее действие на стволовые клетки. К
ним относится EGF (эпидермальный фактор роста), а также TGF β (трансформирующий фактор роста бета). Однако помимо этих факторов компоненты
45 клеточной мембраны, компоненты матрицы, компоненты, содержащие клетки, и комплексные минеральные элементы (Na, K, Cl, Mg, цинк) представляют собой загрязняющие вещества, которые обычно не появляются в нормальных синтетических материалах. Кроме того, полимеры фибрина также не в состоянии выполнять эту
50 функцию с учетом сложности микросреды.

Кроме того, в соответствии с изобретением было обнаружено, что этот эффект полимеризации крови возникает, в частности, в присутствии факторов, которые способствуют выходу, размножению или дифференцировке стволовых клеток. Это не

только обычные гормоны, витамины или факторы роста, используемые в способах
продукции стволовых клеток, такие как, например, GM-CSF, G-CSF, но также, что
неожиданно и особенно важно, эритропоэтин (EPO), его аналоги,
карбамилированные формы или также пептидные фрагменты, которые содержат
последовательности природных веществ.

В соответствии с изобретением было обнаружено, что это происходит потому, что
в 3D-структуре геля из крови в соответствии с изобретением в сочетании со
стволовыми клетками или предшественниками создается искусственная и усиленная
раневая среда, которая вызывает каскадную реакцию в отношении стволовых клеток
в сочетании с дефицитом кислорода, который возникает в этих условиях, и с местным
высвобождением цитокинов острой фазы, таких как, например, интерлейкин-6 (IL-6),
интерлейкин-1 (IL-1) и фактор некроза опухоли (TNF). Костимуляция
EPO/производных или аналогов приводит к значительному перmissive эффекту,
который позволяет действующим эффекторным клеткам (стволовым клеткам и
предшественникам) перейти на тканевую дифференцировку.

Еще одно преимущество гелевой структуры и индуцированного таким образом
перехода жидкости (раствора) в затвердевшую (полимеризованную) гелевую
структуру заключается в ее моделирующей деятельности в раневой полости или
раневом дефекте и в общей пригодности для местного применения за счет адгезивного
действия соединений. Стволовые клетки, таким образом, могут быть весьма
эффективно введены в область дна раны, и дефекты таким образом могут быть
заполнены простым способом.

Травматическая ситуация также может быть локально ограничена с помощью
прикладывания этой смеси в соответствии с изобретением в случае хронических форм
заболеваний, таких как, например, поперечное повреждение в хроническом состоянии,
когда местная травматическая ситуация уже затихла, а также в случае косметических
вмешательств в области кожи для коррекции рубцов или для заполнения дефектов, в
реконструкции молочной железы с повторными подкожными инъекциями или также
местным применением с интервалом в 3-4 дня. Это создает идеальные микроусловия
для стимуляции стволовых клеток с целью инициации местно-специфичного (целевого)
развития ткани. Благодаря проницаемости 3D-конструкции гормональные и
паракринные сигналы из окружающей области могут дополнительно воздействовать
на стволовые клетки и стимулировать их.

В отличие от естественного состояния раны сочетание этих факторов вызывает
усиление эффектов, которые могут вызвать ускорение заживления раны до
примерно 50%. Другим преимуществом гелевой структуры, кроме аутологичной
основы, является полная дополняемость синтетическими компонентами (BMP
(костные морфогенетические белки), PDGF (тромбоцитарный фактор роста), EPO, G-
CSF, GM-CSF или компоненты синтетической матрицы).

Полимеры крови, костного мозга или концентраты тромбоцитов, которые
содержат стволовые клетки и также предпочтительно EPO и/или GM-CSF или G-CSF, и
которые вводятся в соответствующие ткани или в соответствующие (дефектные)
костные структуры, демонстрируют значительно увеличенную способность
воздействия на поколение функциональных дифференцированных клеток ткани-
мишени.

Становится очевидным еще одно преимущество данного объекта, а именно, что в
случае дефекта такого размера или такого типа, которые делают невозможным
полное восстановление или замещение исходной ткани, в данный объект могут быть

включены заполняющие материалы, которые похожи на ткань-мишень и таким образом представляют собой мнимый «эталон» для процесса реконструкции стволовых клеток, активированных в наносимой смеси. Материалы эталона могут быть, например, минеральной природы для костей или дентина в случае замены зубов.
5 Синтетические аналоги RGD, коллагеновые пептиды (предпочтительно из животных коллагенов) могут быть смешаны с природным составом костей и использованы для полимеризации геля в районе раны или дефекта.

Таким образом, изобретение относится к полимеру, содержащему предпочтительно аутологичную и по существу человеческую или животную кровь или компоненты
10 крови со всеми ее продуктами дегенерации, такими как клеточный детрит, который отличается тем, что содержит стволовые клетки или клетки костного мозга и по меньшей мере одно вещество, которое способствует или влияет на высвобождение, размножение или дифференцировку стволовых клеток или клеток костного мозга.

15 Соответствующие вещества, которые способствуют росту и дифференцировке стволовых клеток, представляют собой гормоны роста, такие как HGH (гормон роста), или цитокины, такие как, например, интерлейкины, интерфероны, TNF α (фактор некроза опухоли α), G-CSF или GM-CSF.

20 В частности, подходящим является эритропоэтин (EPO) или один из его биологически активных аналогов, производных или фрагментов. Эритропоэтин (EPO) представляет собой гликопротеиновый гормон, который контролирует формирование эритроцитов из клеток-предшественников в костном мозге (эритропоэз). При этом EPO связывается со своим рецептором (EPO-R), который экспрессируется на всех
25 гематopoэтических клетках.

В последние годы разные авторы сообщали, что EPO также оказывает негематopoэтическое действие, и EPO-R, соответственно, также экспрессируется некоторыми негематopoэтическими клетками. Так сообщается, что стимуляция
30 нервных клеток, нейронов головного мозга и эндотелиальных клеток эритропоэтином в некоторых случаях связана с непосредственной экспрессией гематopoэтического рецептора EPO.

В других случаях предполагается наличие другого, негематopoэтического, рецептора. В частности, негематopoэтическое действие эритропоэтина (EPO),
35 например в связи со стимуляцией формирования и регенерации эндотелиальных клеток и тканей, о котором долгое время не было известно, все чаще рассматривается как важное.

Таким образом, WO 2004/001023, в частности, описывает применение EPO и TPO
40 для стимуляции неоваскуляризации и регенерации тканей и улучшения заживления ран, например после операций или травм.

WO 2005/063965 предлагает применение EPO для целевой, структурно контролируемой регенерации травмированной ткани, в которой стимулируется не
45 только рост эндотелиальных клеток, но также паренхиматозная регенерация и образование структур стенки, а это означает, что происходит скоординированный трехмерный рост для развития функциональной ткани, органа или его части. Таким образом, эритропоэтин, производные EPO или также аналоги EPO при системном введении, по-видимому, подходят для инициирования и контроля за реформацией и
50 регенерацией пораженной целевой ткани при травме кожи, слизистой мембраны, в случае открытой раны кожи и мышечной ткани или же в случае раздражения кожи вследствие ожогов, и наконец, для усиления и ускорения заживления.

WO 2005/070450 и другие работы исследователей данного вопроса описывают

применение ЕРО для регенерации сосудов и тканей в недельной дозе менее 90 МЕ/кг массы тела, в частности и в области ран. Целью такого применения является достижение ситуации, при которой образование крови в области костного мозга стимулируется меньше, но, в соответствии с более поздними изучениями, как это
5 предусмотрено, возможна активация предшественников эндотелиальных клеток в крови. Активация эндотелиальных клеток-предшественников в крови, а также в ткани, и развитие эндотелиальных клеток, которые образуют внутренний слой клеток кровеносных сосудов, связаны с улучшением васкуляризации, и считается, что тем
10 самым облегчают регенерацию ткани. В то же время, это было подтверждено в ходе клинических испытаний на Ожеговых ранах.

В настоящее время в соответствии с изобретением было обнаружено, что влияние на развитие и дифференцировку стволовых клеток, уже усиленное полимерами крови, может быть увеличено еще примерно на 10-50%, если соответствующие полимеры
15 дополнительно содержат ЕРО, где доза ЕРО составляет от 50 до 500 МЕ/кг массы тела, предпочтительно от 100 до 300 МЕ/кг массы тела. Причина заключается не только в том, что становится доступной 3D-структура, но также в удивительном синергетическом эффекте, который должен быть интерпретирован наоборот в соответствии с предшествующим уровнем техники. Таким образом известно, что
20 большая толщина слоя не может быть достигнута в созданной ткани, пока возникающий дефицит кислорода ограничивает формирование ткани несколькими микронами толщины слоя (обычно 100-500 мкм). Кроме того, продуцируются клеточные популяции высокой чистоты, которые не должны содержать никаких
25 мертвых клеток.

Тем не менее общая комбинация обладает удивительно положительным влиянием на стволовые клетки, введенные в полимер крови, где полимеризация, увеличенная толщина слоя, деградация клеток, например моноклеарных клеток, и их активация в
30 условиях ишемии способствуют острофазным реакциям гетерогенных стволовых клеток, которые инициируют взрывной триггерный эффект в сочетании, в частности, с ЕРО. Если затем также добавить селективный «копируемый» компонент внеклеточной среды, то в соответствии с изобретением возникает истинный «ремоделирующий» эффект, который приводит к формированию ткани de novo. Это образование ткани
35 также может возникнуть, если тип и размер дефекта не будут способствовать заживлению.

Таким образом, изобретение относится, в частности, в полимеру крови, содержащему стволовые клетки или клетки костного мозга, который также содержит
40 эритропоэтин (ЕРО) в подходящей дозе. Применение полимеров этого типа вызывает эффект, зависящий от тканеспецифического приложения, из-за которого регенерация ткани происходит на 10-50% быстрее и лучше в качественном/функциональном смысле по сравнению с традиционными способами, которые основаны на
использовании уже специализированных клеток ткани.

ЕРО-содержащие полимеры со стволовыми клетками в соответствии с изобретением, основанные предпочтительно на аутологичной крови или плазме крови или тромбоцитах, могут дополнительно содержать вещества, которые способствуют
45 росту и дифференцировке, в частности GM-CSF, G-CSF или TNFalpha.

В соответствии с изобретением ЕРО и его биологически активные производные в сочетании с процессом полимеризации крови/костного мозга/концентрата тромбоцитов, плазмы, частиц красной и/или белой фракции крови делают возможным
50 выживание и дальнейшее развитие стволовых клеток или их клеток-

предшественников, а также тканеспецифическую активацию и, в случае травмы, специфическую регенерацию ткани.

Изобретение основано на фундаментальном открытии, что кровь или плазма крови в сочетании со стволовыми клетками принимает вязкую консистенцию, и таким образом, по-видимому, формируются 3D-структуры, способствующие развитию стволовых клеток. Введение экзогенных гелевых форм в жидкую смесь крови/плазмы крови, стволовых клеток, ЕРО и т.д. может еще усилить этот эффект, делая возможным формирование гелей или полимеров различной силы и с хорошими технологическими свойствами. В соответствии с изобретением также оказались очень успешными простые гелевые формы, которые могут быть добавлены к еще жидкой смеси, например тромбин с и без ионов кальция или протамин.

Конкретным способом их применения может быть, например, использование путем переноса смеси, содержащей стволовые клетки, в шприце, при этом жидкость в канюле для одноразового применения усиленно перемешивается с содержимым второго шприца, «эталоном», а также путем только полимеризации смеси в месте применения.

Адекватный эффект полимеризации в обсуждаемом выше смысле, который является благоприятным для развития стволовых клеток или их клеток-предшественников, также получают путем добавления клеточного детрита к смеси, которую нужно полимеризовать. Клеточный детрит образуется из содержащих клетки образцов при гибели клеток, таких как моноклеарные клетки, красные и белые кровяные тельца (лейкоциты), тромбоциты или стволовые клетки, клетки-предшественники, фибробласты, эндотелиальные клетки, клетки соединительной ткани, клетки хрящевой ткани и макрофаги, из-за недостаточного питания, с веществами, которые обладают преимущественными свойствами для полимеризации или качеством полимера, который преимущественно высвобождается. Таким образом, ионы кальция также высвобождаются эндогенно, что делает добавление экзогенного кальция полностью или частично лишним. К полимеризуемой смеси преимущественно добавляют клеточный детрит аутологичного происхождения.

Таким образом, изобретение также относится к соответствующему содержащему кровь полимеру, который содержит эндогенные или экзогенные вещества, способствующие образованию способных к фиксации и конформации структур из стволовых клеток и таким образом способствующие их развитию. Веществами этого типа могут быть тромбин, ионы кальция, клеточный детрит из клеток различных типов, предпочтительно аутологичных клеток, биологические коллагены или их фрагменты, компоненты внеклеточного матрикса, фибрин, фибриновый клей или другие гелеобразующие вещества.

Альтернативно или дополнительно может осуществляться полимеризация с помощью других природных или синтетических полимерных форм, таких как, например, гелеобразующие набухающие полисахариды, например гидроксилалкилцеллюлозы и/или карбоксилалкилцеллюлозы, или синтетические полимерные формы на основе акрилатов, такие как, например, (поли)метакрилат, (поли)метилметакрилат, полиакриламид, (поли)этоксиптилметакрилат.

Кроме того было обнаружено, что добавление лиофилизированной крови к полимеризуемой смеси улучшает или дополняет полимеризационную стабильность полимера и его качества, связанные с его влиянием на регенерацию тканей. Кроме того, могут быть добавлены «липкие» белки моллюска гребешка в природной или синтетической форме. Также можно добавить серотонины, которые не только стимулируют нейрональные предшественники, но также поддерживают адгезивное

действие.

С помощью тромбина, ионов кальция и/или клеточного детрита и/или других подходящих гелевых форм и/или лиофилизированной крови доступно большое количество возможностей для изменения и модификации полимеризационных свойств смеси, содержащей кровь/плазму крови и стволовые клетки, и тем самым удивительного влияния на развитие и дифференцировку стволовых клеток.

В соответствии с изобретением стволовые клетки не должны быть выделены отдельно. Обоснованным также является использование костного мозга непосредственно от индивидуума и при необходимости смешивание его предпочтительно с аутологичной кровью или плазмой крови, концентрированной в отношении клеточных компонентов путем центрифугирования, в отношении тромбина путем фильтрации или осаждения, в отношении ионов кальция и/или клеточного детрита, матриц (минералов, пептидов, Сахаров, липидов и их комбинаций) и предпочтительно ЕРО, и доведение смеси до гелевой формы. Гель этого типа может быть непосредственно использован для очень широкого спектра применений.

Таким образом, изобретение относится к соответствующему полимеру, который может быть использован *in vivo* для регенерации ткани или кости, в частности травмированной ткани и/или среди прочего кости.

В частности, изобретение относится к применению соответствующего полимера для регенерации травмированных тканей или костных структур, где полимер предназначен для введения в пострадавшую травмированную область или в непосредственной близости от нее, или используется для заполнения дефектов.

Было обнаружено, что такой полимер в соответствии с изобретением, в частности, можно выгодно использовать в сочетании с материалами-заменителями костной ткани в случае костных дефектов. В этом случае смесь непосредственно перед началом полимеризации и еще не полностью полимеризованный материал-заменитель костной ткани могут быть введены одновременно в костный дефект и смешаны там, чтобы полимеризоваться после. Это особенно удобно, например, для нанокристаллического гидроксиапатита или других нанокристаллических минеральных или биологических материалов (белков, пептидов, липидов, сахаров, пластика), которые находятся либо в сухой, либо в гидрогенизированной форме. В связи с этим способность порошкообразных или пастообразных материалов быть колонизированными стволовыми клетками ограничена или даже невыгодна по сравнению с биологическими материалами. Так, было установлено, что материал этого типа (например «Ostim») не может быть колонизирован.

Тем не менее, на удивление возможно в соответствии с изобретением достичь высокой плотности стволовых клеток в нанокристаллическом материале, рассматриваемом как неколонизируемый.

Имплантиция *in vivo* приводит к ускорению развития кости примерно на 50% и без добавления ЕРО. При дополнительном введении ЕРО в местной форме развитие кости может быть дополнительно ускорено на 10-20%. Кроме того ЕРО, его производные или пептидные фрагменты также могут быть добавлены в качестве матричного материала в виде порошка. Преимуществом этого является лучшая способность хранения.

Альтернативно, например при использовании двух приложенных контейнеров в форме шприцев, ЕРО может быть изготовлен в лиофилизированной форме в шприце, которая содержит кровь, смесь стволовых клеток костного мозга. Кроме того, с этой

стороны (шприц 2) могут также присутствовать матричные (каркасные) компоненты аутологичного происхождения (лиофилизированная кровь или плазма, фибрин, тромбин) и синтетического происхождения (пептидные фрагменты матричных белков, самостоятельно агрегирующие пептидные структуры (RADA), фосфатидилхолин, сфинголипиды, лецитин, ЛПВП (липопротеины высокой плотности) и глюкоза, глюкозамин, глюкозаминсульфаты, гиалуроновая кислота, хитозан, белки шелка, адгезивные белки из гребешка, коллагены и их фрагменты, а также пептиды).

Этот применяемый способ позволяет стволовым клеткам оптимально распределяться, и гетерогенную «каркасную» структуру, в которой костная ткань может расти прямо извне через входные пути и постепенно может заменить их, можно получить, например, в пределах матрицы-замениителя кости. Таким образом, сформированные соединительные пористости с самого начала пронизаны стволовыми клетками в желатиновых структурах. Это создает оптимальные условия роста, несмотря на очень большую толщину слоя.

В отличие от обычной доктрины, добавление EPO, GM-CSF или G-CSF, а в частности EPO, в такой ситуации приводит к особенно эффективной стимуляции стволовых клеток или предшественников в оптимизированных средах. Это позволяет исключить соответствующие способы размножения предшественников вне мест применения (врачебный кабинет, операционная) и осуществлять терапию стволовыми клетками одновременно с текущим хирургическим вмешательством (интраоперационно). Это имеет серьезные правовые и экономические преимущества (снижение стоимости) и подразумевает минимизацию риска и существенное улучшение качества.

Тем не менее, в случае особо крупных дефектов может быть выгодным предварительное размножение стволовых клеток в геле. Однако в соответствии с изобретением эта культивация может проводиться непосредственно в 3D-геле из крови или плазмы. Для этого полимеризация может быть инициирована *in vitro* с целью создания раневой среды *in vitro*, которая обеспечивает идеальные условия для роста стволовых клеток/предшественников в паракринно стимулированной среде с дефицитом кислорода, что приводит к увеличению толщины слоя с нескольких миллиметров до нескольких сантиметров в диаметре. В интраоперационном варианте достаточно времени от нескольких секунд до нескольких минут, чтобы одновременно инициировать необходимые процессы стимуляции стволовых клеток (IL-6, EPO, GM-CSF, G-CSF, матрикс).

Таким образом, изобретение относится к применению полимера в этой связи в сочетании с материалом-заменителем кости, в частности для регенерации и реконструкции дефектных, травмированных или больных костных структур или костной ткани *in vitro*, *in vivo* или *ex vivo*.

Минеральные компоненты материала-замениителя кости должны быть пригодными для вспомогательного заполнения костного дефекта. Можно назвать такие подходящие материалы-заменители кости, как, например, гидроксипатит, трикальцийфосфат и т.п.

Полимеры в соответствии с изобретением подходят для очень широкого спектра применений в медицинских целях, когда тканевые или костные дефекты возникли из-за травмы или заболевания. В частности, они также могут быть использованы в стоматологической области в случае дефекта зуба и челюсти, а также в локальной области при повреждении кожи или слизистой оболочки.

Кроме того, изобретение относится к способу получения соответствующего

полимера, содержащего человеческую или животную кровь, а также человеческие или животные стволовые клетки или клетки костного мозга, в котором указанные компоненты смешивают друг с другом в жидком состоянии, и эту смесь полимеризуют или переводят в твердое состояние, т.е. в гелевую форму, в частности путем добавления ионов кальция, тромбина, фибрина или компонентов внеклеточного матрикса биологического происхождения или клеточного детрита и возможно дополнительно лиофилизированной крови, где в частном воплощении в жидкую смесь до полимеризации добавляют одно или более вещество, которое влияет на или увеличивает высвобождение, размножение или дифференцировку стволовых клеток или клеток костного мозга.

Кроме того, изобретение относится к способу регенерации тканей или костных структур *in vitro* или *ex vivo*. включающему следующие этапы:

(I) приготовление выделенных стволовых клеток или костного мозга

(II) введение указанных клеток в образцы крови, тромбоцитов или плазмы крови

(III) полимеризация образца из (II) и

(IV) культивация клеток в подходящей среде, которая инициирует и/или способствует росту и дифференцировке клеток в желаемую ткань.

Дополнительно изобретение относится к способу регенерации тканей или костных структур, включающему следующие этапы:

(I) приготовление выделенных стволовых клеток или костного мозга

(II) введение указанных клеток в образцы крови или плазмы крови или непосредственное применение костного мозга и смешивание с EPO, G-CSF, GM-CSF

(III) полимеризация образца из (II), например с помощью Ca^{++} или протромбина, протамина и возможно других факторов, таких как «копирующие материалы» и факторы дифференцировки синтетического или природного происхождения.

(IV) введение образца непосредственно в поврежденный, больной, дефектный или дегенерировавший участок тела.

Указанными выше факторами дифференцировки могут быть TGFbeta или паратгормон (образование хряща) или витамин С (для индукции прорастания нейронов).

В качестве важной добавки для улучшения «тканевой инженерии» также вводят фрагменты или частицы целевой ткани. В идеальной ситуации они имеют толщину примерно 100-200 мкм и диаметр примерно 200-300 мкм. Возможны фрагменты большего или меньшего размера. Измельчение в идеальной ситуации осуществляется с помощью скальпеля или острого ножа. Преимущество состоит в том, что этот процесс приготовления занимает очень мало времени. В предпочтительной форме весь этот процесс можно провести во время текущей операции.

В качестве альтернативы сложной смеси клеток, имеющейся в костном мозге, возможно также использование выделенных стволовых клеток или популяций предшественников, таких как CD31, CD71, CD134 и CD90-положительных клеток.

В частности, объектом изобретения являются способы *in vivo*, *in vitro* и *ex vivo*, в которых полимеризация образцов крови или плазмы крови осуществляется путем добавлением ионов кальция и/или природного или синтетического гелеобразующего вещества и/или клеточного детрита.

Кроме того, объектом изобретения являются способы *in vivo*, *in vitro* и *ex vivo*, при которых добавляют факторы роста и/или гормоны и/или вещества, которые способствуют росту или дифференцировке, и/или клетки, в частности, выбранные из группы, состоящей из EPO, GM-CSF, G-CSF, GH, клеток соединительной ткани,

фибробластов, макрофагов, клеточного детрита.

Следующие примеры предназначены для разъяснения изобретения без его ограничения. В частности, упомянутые конкретные этапы способа, параметры способа, вещества, образцы тканей и способы применения не являются
5 ограничивающими и могут быть заменены другими этапами способа, параметрами способа, веществами, образцами тканей и способами применения аналогичного действия, если специалист в данной области видит для этого причины.

Пример 1:

10 Терапия травмы нервов, в частности поперечной травмы.

При острой поперечной травме должна быть проведена декомпрессия пораженного участка нерва.

В соответствии с изобретением эритропоэтин добавляют в данный объект в комбинации с костным мозгом и кровью и наносят на раневую поверхность в виде
15 мази или геля.

В идеальной ситуации толщина гелевого слоя составляет примерно 1-2 мм и содержит примерно 100000 клеток.

В случае относительно крупных дефектов спинномозгового канала костный мозг может быть смешан с лиофилизированной кровью или альтернативно с измельченной
20 коллагеновой губкой. Это способствует образованию сравнительно большой массой и упорядоченной структуры. В эту массу также может быть добавлен концентрат тромбоцитов в природной или лиофилизированной форме. В то же время ко всему этому добавляется витамин С (10-20 мг).

25 Пример 2:

Развитие кости в сочетании с минералами

Одним из существенных преимуществ изобретения является то, что готовые продукты, такие как, например, материалы-заменители кости в водном растворе,
30 которые по существу являются не колонизируемыми, тем не менее могут быть использованы со стволовыми клетками очень эффективным образом.

Для этого обычный материал-заменитель кости используется в первом шприце, а смесь крови/стволовых клеток с и без ЕРО, с или без ионов кальция, клеточного детрита и т.д., используется во втором шприце в системе с tandemным соединением
35 шприцев. Более детально, лиофилизат ЕРО (например 10000 МЕ для человека весом 70 кг), дополнительно Ca^{++} (1 мг в кристаллической форме или 1 моль/л), помещают в пустой шприц. 1-2 мл костного мозга и в дополнение 1 мл концентрата тромбоцитов крови всасывают в этот шприц. Затем смесь в этом втором шприце применяют к
40 костному дефекту, в то время как все еще деформируемый материал-заменитель кости в первом шприце после усиленного перемешивания привинчивают к системе с tandemным соединением шприцев, смешивают и вводят для полимеризации на месте.

Второй шприц может дополнительно содержать синтетические или биологические коллагены или их фрагменты, компоненты внеклеточного матрикса или другие
45 вещества, такие как, например, RGD-пептиды. Кроме того, BMP, концентрат тромбоцитов или крови в лиофилизированной или нативной форме могут быть примешаны в виде концентрата.

Пример 3:

50 Заполнение костной кисты:

Для изготовления пастообразной и эластичной массы для заполнения полостей проводят следующую процедуру: примерно 10 мл костного мозга вводят в трубку/шприц, содержащий лиофилизированный эритропоэтин, лиофилизированную

плазму крови и нанокристаллический гидроксиапатит или трикальцийфосфат.

В течение короткого времени формируется пастообразная весьма липкая масса, которую вводят в область дефекта кости с помощью шпателя или через канюлю.

Кроме того, добавляют синтетические компоненты внеклеточного матрикса, такие как фибронектин или коллагены, образуя зоны роста для объединения клеточных систем для более быстрого формирования или улучшения.

Пример 4:

Регенерация мышечной ткани сердца:

Берут примерно 500 мл периферической крови и центрифугируют ее при 50g в течение 5 минут. Затем супернатант вновь центрифугируют при 800g в течение 5 минут, а осадок объединяют с предыдущим осадком. Все клетки, полученные таким образом из периферической крови, помещают в шприц, где находится 250 ЕД/кг массы тела ЕРО; и стволовые клетки готовы к имплантации после инкубационного периода 5 мин и активации ЕРО-рецепторов. Альтернативно или в комбинации в шприц с лиофилизированным ЕРО может быть введено 5-10 мл костного мозга.

Аналогичная процедура применяется для введения стволовых клеток в поврежденную область после разрыва мышечных волокон. Для этой цели используется примерно 1-2 мл на одно место инъекции.

Пример 5:

Регенерация ткани молочной железы:

К отцентрифугированному костному мозгу добавляют 2-3 мл жировой ткани из области коленного сустава и вводят местно 250 ЕД/кг массы тела. Стволовые клетки готовы для инъекции после инкубационного периода продолжительностью примерно от 10 сек до 5 мин. Раствор для инъекций может содержать лиофилизированный тромбин и Ca^{++} . Смесь стволовых клеток применяется аналогично применению для развития подкожной жировой клетчатки и для сокращения морщин и омоложения кожи. После центрифугирования тромбин и/или Ca^{++} добавляют к стволовым клеткам из костного мозга (из 10 мл) или периферической крови (из 100 мл), которые вводят подкожно в объеме примерно 500 мкл на одно место инъекции. Эту процедуру можно повторять каждые 3-4 дня или еженедельно.

Пример 6:

Регенерация межпозвоночных дисков

В случае острой или хронической травмы межпозвоночного диска должна быть проведена декомпрессия пораженного участка нерва. В случае резекции секвестра данную область нерва подвергают декомпрессии. Из этого материала секвестра путем механического размельчения получают очень маленькие фрагменты ткани. К ним ($\pm 0,5$ мл) добавляют костный мозг (2 мл) либо в природной, либо в концентрированной форме, и в то же время добавляют лиофилизированный ЕРО, GM-CSF или G-CSF в лиофилизированной форме в соответствии с обычной дозировкой, рекомендованной в соответствии с массой тела. Тем не менее, введение в данном случае является не системным, а предпочтительно местным. Ко всей смеси может быть добавлено 1-2 мл концентрата тромбоцитов, предпочтительно в лиофилизированной форме.

В соответствии с изобретением в данный объект добавляют эритропоэтин в сочетании с костным мозгом и/или кровью и вводят в область межпозвоночного диска в виде геля с помощью стерильного шприца.

В идеальной ситуации гель содержит примерно 100000-1000000 клеток, но возможно большее или меньшее количество.

В случае относительно крупных дефектов в области межпозвонкового диска костный мозг может быть смешан с лиофилизированной кровью или альтернативно с измельченной коллагеновой губкой. Это способствует формированию относительно большой массы и упорядоченной структуры. Также в эту массу может быть добавлен концентрат тромбоцитов в природной или лиофилизированной форме. В то же время ко всему этому добавляется витамин С (10-20 мг).

Пример 7:

Регенерация хрящевой ткани

В случае острой или хронической травмы хряща и артроза полимер вводят в приоткрытую область сустава с помощью мягкой, например силиконовой, трубки прямо перед его кристаллизацией, так что полимеризация может произойти на месте. В случае резекции секвестров они могут быть превращены в очень маленькие фрагменты ткани путем механического измельчения. К ним ($\pm 0,5$ мл) добавляют костный мозг (2 мл) либо в природной, либо в концентрированной форме, и в то же время добавляют лиофилизированный ЕРО, GM-CSF или G-CSF в лиофилизированной форме в соответствии с обычной дозировкой, рекомендованной в соответствии с массой тела. Тем не менее, введение в данном случае является не системным, а предпочтительно местным. Ко всей смеси может быть добавлено 1-2 мл концентрата тромбоцитов, предпочтительно в лиофилизированной форме.

В соответствии с изобретением в данный объект добавляют эритропоэтин в сочетании с костным мозгом и/или кровью и вводят в область межпозвоночного диска в виде геля с помощью стерильного шприца.

В идеальной ситуации гель содержит примерно 100000-1000000 клеток, но возможно большее или меньшее количество.

В случае относительно крупных дефектов в области хряща костный мозг может быть смешан с лиофилизированной кровью или альтернативно с измельченной коллагеновой губкой. Это способствует формированию относительно большой массы и упорядоченной структуры. Также в эту массу может быть добавлен концентрат тромбоцитов в природной или лиофилизированной форме. В то же время ко всему этому добавляется витамин С (10-20 мг). Это также позволяет воздействовать на очень крупные суставные области. В верхних по отношению к разрыву сустава суставных областях концентрат тромбоцитов чаще используется послойно. В некоторых случаях для улучшения формирования хряща могут быть использованы TGFbeta и/или паратгормон.

Пример 8:

Регенерация ткани сухожилий и мениска

В случае повреждения ткани сухожилия (например ахиллова сухожилия у людей и лошадей) или мениска в поврежденную область вводится концентрат костного мозга, к которому были добавлены ЕРО и GCSF или GM-CSF. Зияющие края идеально сопоставляют обычным образом при помощи шва. Фрагменты ткани, полученные из оторванных областей, вводят в полимеризующийся гель и возвращают в область зияния и вокруг нее.

Регенерация внутренних косточек уха или сетчатки проводится аналогично.

Пример 9:

Улучшение поверхности имплантата в целях предотвращения капсульного фиброза грудных протезов:

Одна из основных проблем в имплантации грудных протезов заключается в том, что вокруг имплантата развивается капсульный фиброз. В соответствии с

изобретением на поверхность имплантата наносят микроструктуру, которая позволяет стволовым клеткам вращать в эти поверхности. Эта микроструктура имеет полости более низкого диаметра, идеально 4-5 мкм, и полости большего диаметра, 25-250 мкм. Эта полостная структура может быть идеально связана с соединительными канальными структурами, которые обеспечивают самоорганизацию сосудистого русла. В полостях осуществляется прямая колонизация костным мозгом, в идеальной ситуации после свежего удаления костного мозга. Для концентрирования клеток проводят центрифугирование со скоростью примерно 30-50g, что может способствовать легкому обогащению. Для того, чтобы инициировать полимеризацию и реформацию ткани, добавляют тромбин.

Клетки из костного мозга, смешанные с кровью, используют для формирования геля и полимеризации в микроструктуры путем добавления тромбина. Смесь тромбина/стволовых клеток в сочетании с кровью обладает особым действием, улучшающим регенерацию. В сочетании с региональной раневой областью в месте имплантации это вызывает процесс роста, который приводит приблизительно к 50% уменьшению фиброза. В сочетании с преимущественно местным применением эритропоэтина возникает региональный эффект стимуляции, что приводит к прямой активации введенных, а также местных предшественников. К ним относятся липогенные предшественники и предшественники железистых клеток. На этих предшественниках находятся поверхностные маркеры CD90, SCA1, CD 71. Капсульный фиброз также играет важную роль, осложняя ход лечения после имплантации сетки в ходе герниопластики или закрытия дефектов стенки желудка.

Также предложены микроструктурированные поверхности имплантатов, аналогичные гелю из стволовых клеток крови с или без ЕРО/производных/аналогов, который полимеризуется на месте.

Обработка протезов бедра или других суставных протезов проводится аналогично.

Пример 10:

Зубные имплантаты:

Регенерация дентина после лечения корневого канала пульпы может быть достигнута в соответствии с изобретением путем введения наноструктурированного геля из стволовых клеток крови, содержащего гидроксилapatит или трикальцийфосфат, с или без ЕРО, а также со стволовыми клетками или без них. Размер гранул или минерала в данном случае в идеальной ситуации составляет 5-100 мкм, где выход за верхние границы означает нарушение реологических свойств в просверленном канале.

Пример 11:

Аналогичным образом, описанным в приведенных выше примерах, можно обрабатывать другие имплантаты, такие как, например: кардиостимуляторы, сетки для желудочной стенки, протезы трахеи, сосудистые протезы или протезы сердечных клапанов.

Пример 12:

Регенерация ожоговых ран, пролежней или диабетических язв. инфицированных ран

В случае острого или хронического поражения кожи гель из стволовых клеток готовят следующим образом и наносят местно после очистки дна раны.

Из поврежденных областей кожи получают очень маленькие фрагменты кожи путем механического измельчения, как описано выше. К ним ($\pm 0,5$ мл) добавляют костный мозг (2 мл) либо в природной, либо в концентрированной форме, и в то же время добавляют лиофилизированный ЕРО, GM-CSF или G-CSF в лиофилизированной

форме в соответствии с обычной дозировкой, рекомендованной в соответствии с массой тела. Тем не менее, введение в данном случае является не системным, а предпочтительно местным. Ко всей смеси может быть добавлено 1-2 мл концентрата тромбоцитов, предпочтительно в лиофилизированной форме.

В соответствии с изобретением в данном случае добавляют эритропоэтин в сочетании с костным мозгом и/или кровью и вводят в область раны в виде геля с помощью стерильного шприца или шпателя. В идеальной ситуации гель содержит примерно 100000-1000000 клеток/см², но возможно большее или меньшее количество.

В случае относительно крупных дефектов костный мозг может быть смешан с лиофилизированной кровью или альтернативно с измельченной коллагеновой губкой. Это способствует формированию относительно большой массы и упорядоченной структуры. Также в эту массу может быть добавлен концентрат тромбоцитов в природной или лиофилизированной форме. В то же время ко всему этому добавляется витамин С (10-20 мг).

Формула изобретения

1. Полимер крови для регенерации травмированной ткани или дефектных костных или хрящевых структур, содержащий:

- (i) кровь, плазму крови или концентрат тромбоцитов,
- (ii) эритропоэтин (ЕРО),
- (iii) стволовые клетки или клетки костного мозга,

в котором полимер крови получают смешиванием соответствующих компонентов в жидком состоянии, и полимеризация осуществляется за счет гелеобразующего вещества, выбранного из ионов кальция, тромбина, протамина, протромбина, фибрина или компонентов внеклеточного матрикса биологического происхождения.

2. Полимер крови по п.1, характеризующийся тем, что он дополнительно содержит частицы нетравмированной целевой ткани.

3. Полимер крови по п.1 или 2, характеризующийся тем, что он дополнительно содержит витамин С.

4. Полимер крови по п.1, в котором компонент крови (i) содержит лиофилизированную кровь или плазму крови.

5. Полимер крови по п.1, характеризующийся тем, что он дополнительно содержит клеточный детрит, фибробласты, макрофаги или клетки соединительной ткани.

6. Способ регенерации травмированной ткани или дефектных костных или хрящевых структур у индивидуума, включающий введение полимера по п.1 в область или в непосредственную близость от травмированной ткани, кости или хряща, в котором ЕРО стимулирует и усиливает развитие стволовых клеток или клеток костного мозга в указанном полимере крови и их дифференцировке в желаемую ткань на 10-50%.

7. Способ по п.6, в котором травмированной тканью является кожная ткань, а полимер крови наносят местно на травмированную кожу.

8. Способ по п.6, в котором травмированной тканью является нервная ткань в связи с острой поперечной травмой.