



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **77549** (13) **U**  
(51) МПК (2013.01)  
**A61B 1/00**

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	<b>u 2012 06479</b>	(72) Винахідник(и):	<b>Мозгова Олена Михайлівна (UA), Ковпак Віталій Васильович (UA)</b>
(22) Дата подання заявки:	<b>29.05.2012</b>	(73) Власник(и):	<b>Мозгова Олена Михайлівна, вул. Ернста, 12, кв. 90, м. Київ, 00048 (UA), Ковпак Віталій Васильович, вул. Ломоносова, 65, кв. 124, м. Київ, 03040 (UA)</b>
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	<b>25.02.2013</b>		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	<b>25.02.2013, Бюл.№ 4</b>		

## (54) СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ІМПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ У ЖІНОК

### (57) Реферат:

Спосіб підвищення ефективності імплантації ембріонів у жінок із застосуванням внутрішньоматкового введення аутологічних мононуклеарних клітин периферійної крові. Перевага застосування надається пацієнтам із діагностованим порушенням імунології імплантації. Культивування клітин проводиться протягом 24 годин з внесенням аутологічної сироватки крові та без додавання хоріонічного гонадотропіну.

**UA 77549 U**



Останні десятиріччя характеризуються стрімким розповсюдженням допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) для лікування різних форм безпліддя. Удосконалення техніки проведення ДРТ, зокрема стандартної процедури екстракорпорального запліднення та переносу ембріонів - запліднення *in vitro* (ЗІВ - ПЕ), дало можливість підвищити частоту настання вагітностей і зафіксувати її, за даними ESHRE (Європейське товариство з репродукції людини) на рівні 30 % на цикл ЗІВ та біля 70 % сумарно за три перші спроби ЗІВ. Однак близько 20-30 % жінок зазнають чисельних невдач при ЗІВ.

Вважається, що це пов'язано з ембріональним або імплантаційним факторами, серед яких найбільш значущими є дефекти в ендометрії та порушення імунологічної відповіді на імплантацію. На сьогоднішній день відомі різноманітні способи діагностики і лікування змін ендометрію, що перешкоджають імплантації. Однак незважаючи на чисельні дослідження останніх років, що стосуються імунології імплантації, не існує достовірно ефективних методів впливу на покращення показників імплантації.

Корисна модель належить до медицини, а саме до гінекології і може бути використана для покращення результативності лікування безпліддя методами ДРТ.

Аналогом способу є введення у порожнину матки аутологічних мононуклеарних клітин периферійної крові (МКПК), культивованих протягом 48 годин з додаванням хоріонічного гонадотропіну (ХГ) серед пацієнтів з багаторазовими невдалими програмами ДРТ [Yoshioka S., Fujiwara H., Nakayama T. et al. Intrauterine administration of autologous peripheral blood mononuclear cells promotes implantation rates in patients with repeated failure of IVF\_embryo transfer // Human Reproduction.-2006. - V. 21. - P. 3290-3294].

Суть методу полягає у продукуванні мононуклеарними клітинами периферійної крові цитокінів (інтерлейкін-1 $\epsilon$ , інтерлейкін -1 $\beta$  та інтерлейкін -8), які сприяють розвитку та імплантації ембріону.

Основними недоліками способу є:

1. Культивування МКПК здійснюють протягом 48 годин, в той час, як концентрація інтерлейкінів вища після 24-годинного культивування [Atsushi Ideta, Shin-ichi Sahai, Yimhi Nakamura. et al. /Administration of peripferal blood mononuclear cells into the uterine horn to improve pregnancy rate following bovine embryo transfer // Animal Reproduction Science. - 2010. - V. 117. - P. 18-23].

2. Культуральне середовище містить компоненти тваринного походження (ембріональна сироватка теляти), що може бути фактором переносу чужорідних патогенів та антигенів до порожнини матки.

3. Використання хоріонічного гонадотропіну при культивуванні клітин і уведення суспензії клітин з ХГ до порожнини матки може призвести до порушення синхронного розвитку ендометрію та ембріонів.

4. Методика не передбачає переваг її застосування пацієнтам, безпліддя яких пов'язане з порушенням імунології імплантації та виключення інших можливих причин невдалої імплантації.

Задачею корисної моделі є розробка способу покращення результативності лікування безпліддя методами ДРТ у жінок з чисельними невдалими спробами ЗІВ.

Поставлена задача вирішується тим, що після комплексного обстеження (гістероскопія, імунограма, визначення антифосфоліпідних антитіл, пайпель-біопсія з електронною мікроскопією, каріотипування) та виключення інших можливих причин невдалої імплантації, крім порушення імунології імплантації, пацієнтам проводять внутрішньоматкове введення аутологічних МКПК у концентрації 30-40 млн., попередньо культивованих протягом 24 годин у живильному середовищі Ігла, модифікованому Дульбеко (DMEM) з додаванням 20 % аутологічної сироватки крові.

Через 48 год. після аспірації яйцеклітин у пацієнток відбирають 20 см<sup>3</sup> венозної крові. Для відділення фракції мононуклеарних клітин від еритроцитів обережно нашаровують 7 см<sup>3</sup> свіжеотриманої крові (з додаванням антикоагулянту) на розчин фіколу з градієнтом щільності 1,077 та об'ємом 3 см<sup>3</sup>, попередньо внесеного в стерильну центрифужну пробірку об'ємом 15 см<sup>3</sup>. Центрифугування проводять при 300 g протягом 20 хв. Після центрифугування відбирають кільце мононуклеарних клітин, що знаходяться на межі надосадової рідини та розчину фіколу, і тричі відмивають від залишків фіколу. Для цього шар мононуклеарних клітин переносять в нову стерильну пробірку, з додають 10 см<sup>3</sup> фосфатно-буферного розчину. Клітини розпіпетовують та центрифугують при 300 g протягом 5 хв., після чого відбирають надосадову рідину, а до осаду мононуклеарних клітин знову додається 10 см<sup>3</sup> фосфатно-буферного розчину.

Культивування мононуклеарних клітин здійснюють в концентрації 4-6 млн. на см<sup>3</sup> живильного середовища (DMEM з додаванням 20 % аутологічної сироватки крові), при T-37 °C та концентрації CO<sub>2</sub> - 5 відсотків. Після 24 годин культивування живильне середовище з

клітинами переноситься у стерильну центрифужну пробірку та відцентрифугується при 300 g протягом 5 хв. Після чого в центрифужній пробірці залишають осад мононуклеарних клітин та 200 мкл. живильного середовища, осад клітин розпіпетовують. Суспензію клітин за допомогою катетера для переносу ембріонів вводять в порожнину матки і здійснюють зрошення.

5 Ембріотрансфер здійснюється на 5-ту добу (стадія бластоцисти).

Запропонований спосіб впроваджується на базі медичних репродуктивних центрів м. Києва та дає змогу покращити імплантацію ембріонів у пацієнтів причиною безпліддя яких було порушення імунології імплантації в 2 рази і зафіксувати частоту настання вагітності на рівні 30-35 % на лікувальний цикл.

10 Таким чином, при використанні внутрішньоматкового введення аутологічних МКПК за запропонованою методикою було отримано достовірно більшу кількість випадків настання вагітності і частоту імплантації, ніж у пацієток з порушенням імунології імплантації яким таке лікування не проводилось.

## 15 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб підвищення ефективності імплантації ембріонів у жінок із застосуванням внутрішньоматкового введення аутологічних мононуклеарних клітин периферійної крові, який **відрізняється** тим, що перевага застосування надається пацієнтам із діагностованим порушенням імунології імплантації, культивування клітин проводиться протягом 24 годин з внесенням аутологічної сироватки крові та без додавання хоріонічного гонадотропіну.

---

Комп'ютерна верстка Д. Шеверун

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601