



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **115706**

(13) **U**

(51) МПК

A61K 35/54 (2015.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 11172**

(22) Дата подання заявки: **07.11.2016**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **25.04.2017**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.04.2017, Бюл.№ 8**

(72) Винахідник(и):

**Козуб Микола Іванович (UA),
Прокопюк Володимир Юрійович (UA),
Скибіна Ксенія Павлівна (UA)**

(73) Власник(и):

**ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ
ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ,
вул. Амосова, 58, м. Харків, 61176 (UA)**

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ПЕРЕДЧАСНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ ЯЄЧНИКІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

(57) Реферат:

Спосіб лікування передчасної недостатності яєчників в експерименті, який здійснюють шляхом трансплантації аутологічного біологічного матеріалу, причому внутрібрюшинно ін'єкційно, одноразово в терапевтично ефективній дозі вводять 100000 мезенхімальних стовбурових клітин (МСК), виділених із жирової тканини.

UA 115706 U

Корисна модель належить до області медицини, а саме до акушерства і гінекології, онкогінекології, і може бути використана для лікування хворих з синдромом передчасної недостатності яєчників (ПНЯ) після прийому хіміотерапії.

ПНЯ - багатофакторний синдром, що характеризується вторинною аменореєю, високим рівнем гонадотропінів та низькою концентрацією естрогенів в сироватці крові у жінок віком до 40 років (Возможности восстановления фертильности у пациенток с преждевременной недостаточностью яичников (обзор литературы) /Н.А. Жахур, Л.А. Марченко, Л.Б. Бутарева, М.А. Шахова //Проблемы репродукции. - 2010. - № 1. - С. 40-48).

Значне порушення функції яєчників відзначається після використання при лікуванні злоякісних новоутворень алкілюючих речовин або прокарбазину, при цьому, чим молодша пацієнтка під час хіміотерапії, тим вище ймовірність "виживання" окремих фолікулів [Committee opinion no. 605 /A New Approach to Primary Ovarian Insufficiency //Obstetrics & Gynecology, July 2014-Volume 124-Issue 1-p 193-197].

Цитостатична терапія, пригнічуючи функцію яєчників, істотно впливає і на характер менструального циклу. Так, у жінок молодше 25 років, які отримували в якості первинного лікування стандартну поліхіміотерапію з включенням алкілюючих препаратів, аменорея виникає в 28 % випадків, у жінок старше 25 років - в 86 % і у пацієнток старше 40 років - майже в 100 % спостережень. Подібні закономірності відзначені і при застосуванні променевої терапії: опромінення пахово-клубових областей в дозі більше 40-50 Гр викликає стійку аменорею у 40 % жінок до 20 років і у 90-95 % жінок у віці старше 35 років. Яєчникова недостатність триває від декількох місяців до 3 років у молодих жінок або стає незворотною у більшості пацієнток старше 35 років (Е.Б. Троиц, Л.Э. Кокаева, И.В. Сергеева, Т.В. Шнейдер /Репродуктивное здоровье и беременность у больных с лимфомами Ходжкина //Детская медицина Северо-Запада. - 2012. - Т. 3 № 3. - С. 46-48).

Частота ПНЯ у жінок, які отримували в дитинстві лікування з приводу раку - 8 % жінок. У групі дівчаток, які отримали алкілюючі препарати і променеву терапію на область малого тазу, частка пацієнток з ПНЯ збільшується до 30 % (Нечушкина И.В. /Репродуктивное здоровье женщин, излеченных в детстве от злокачественных опухолей //Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, т. 22, № 4, 2011).

Незважаючи на значні досягнення у вивченні основних причин передчасного виснаження оваріального резерву, найбільш складною задачею залишається пошук методів відновлення оваріального циклу.

Відомий спосіб лікування ПНЯ з використанням препаратів естрогену [Menopause: Full Guideline. National Collaborating Centre for Women's and Children's Health London: National Institute for Health and Care Excellence (UK); 2015. - P. 11-12].

Недоліками цього способу є замісна направленість терапії, ефект якої закінчується після припинення лікування, та неможливість відновлення фертильності.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб лікування ПНЯ у онкологічних пацієнток шляхом аутотрансплантації кріоконсервованої оваріальної тканини в підшкірну клітковину передпліччя або в черевну стінку (патент RU № 2350290). При цьому попередньо формують зони васкуляризації поза полем опромінення шляхом виконання хірургічного розрізу шкіри довжиною 1,5 см з накладенням швів на четверо діб. Потім, грануляційну тканину, що розвинулася, і сформовану зону васкуляризації трансплантують фрагменти оваріальної тканини, орієнтовані кортикальним шаром до поверхні шкіри.

Недоліки способу полягають у необхідності формування зони посиленої васкуляризації (область підшкірної клітковини передпліччя або черевної стінки), в яку трансплантують фрагменти оваріальної тканини. Спосіб застосовують до пацієнтів, які не мають власної яєчникової тканини. Він не розглядає трансплантацію тканин в збережені яєчники і вимагає проведення трансдермальної гормональної стимуляції після проведення аутотрансплантації.

Також недоліком способу є необхідність виконання двох оперативних втручань, застосування обладнання для довгострокового зберігання яєчників та не прогнозована відповідь їх після трансплантації.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалення способу лікування передчасної недостатності яєчників, в якому за рахунок зміни матеріалу для трансплантації та характеру його введення, досягається можливість довгострокового відновлення та збереження функціональної активності яєчників у жінок, що приймали хіміотерапію.

Поставлена задача вирішується в способі лікування передчасної недостатності яєчників в експерименті, який здійснюють шляхом трансплантації аутологічного біологічного матеріалу, згідно з корисною моделлю, внутрішньобрюшинно ін'єкційно, одноразово в терапевтично

ефективній дозі вводять 100000 мезенхімальні стовбурові клітини (МСК), виділених із жирової тканини.

Таким чином, спосіб відновлює функціональну активність яєчників без використання складних технологій, і необхідності оперативного втручання.

5 При системному введенні МСК вибірково репопулюють осередки тканинного пошкодження незалежно від типу тканини. Для використання МСК з метою аутотрансплантації необхідна попередня оцінка їх диференціовального потенціалу. Очевидно, що ефективність такого лікування багато в чому визначається збереженням їх диференційовочного потенціалу, який, в свою чергу, залежить від багатьох факторів (вік, генетичні особливості хворого, характер і поширеність патологічного процесу, медикаментозне передлікування, джерело отримання та особливості виділення та експансії МСК in vitro і т.д.). (Спивак І.В., Сухих Г.Т., Богданова І.М. и соавт. Генно-инженерные технологии и стволовые клетки //Физиолог. Журн. 2008, Т. 54, № 3. - С. 99-100). Крім цього в фундаментальних дослідженнях показані альтернативні механізми дії клітинної терапії: імуномодулюючий і стимулюючий, зумовлені дією продуктів клітинного розпаду ([Uccelli A. T., Moretta L., Pistoia V. 2008. Mesenchymal cells in health and disease. Nat. Rev. Immunol. 8: 726-736), паракринним (Яргин С.В. Стволовые клетки и клеточная терапия: на подступах к научному подходу //Цитология, 2010, Том 52, № 11. - С. 918-920).

Спосіб, що заявляється, здійснюють таким чином.

20 Внутрішньобрюшинно ін'єкційно вводять 100000 мезенхімальних стовбурових клітин (МСК), виділених із жирової тканини.

Ефективність способу досліджували на експериментальних тваринах.

В експерименті застосовували 40 мишей лінії BALB/c з масою $20,1 \pm 1,1$ г, віком 3 місяці, з регулярним естральним циклом, яких поділяли на 3 групи по 10 тварин: I - контрольна група, II - група з моделлю ПНЯ без лікування, III - група з моделлю ПНЯ і лікуванням препаратом "Кріоцелл" (по 0,01 г внутрішньом'язово 1 раз на добу протягом 5-ти діб), IV - група з моделлю ПНЯ і лікуванням МСК ЖТ(100000 клітин внутрішньобрюшинно). ПНЯ моделювали шляхом введення хіміопрепаратів бісульфату та циклофосфоміду (Amniotic fluid stem cells prevent follicle atresia and rescue fertility of mice with premature ovarian failure induced by chemotherapy /G. Y. Xiao, I.H. Liu, C.C. Cheng [et al.], //PLOS ONE. - 2014. - Vol. 9. N 9. - DOI: 10.1371/journal.pone.0106538.). Лікування починали через 3 тижні після хіміотерапії, коли у всіх мишей спостерігалася відсутність естрального циклу. Досліджували вагу тварин і характеристики естрального циклу за даними кольпоцитограми. Результати наведені в Табл. 1, 2.

Таблица 1

Вага тварин

Група	Час після лікування, тиждень						
	1	2	3	4	5	6	7
I (контроль)	20,2±0,7	21,3±1,2	21,2±1,3	22,3±0,9	22,5±0,2	22,5±0,6	22,0±1,2
II (ПНЯ)	17,3±0,8*	17,0±0,6*	19,2±0,9*	20,2±0,7*	20,1±0,3*	22,4±0,8	23,2±0,9
III (ПНЯ, "Кріоцелл")	17,1±0,6*	18,2±0,9*	21,0±0,8	22,3±0,5	22,1±0,8	22,9±0,9	22,5±0,8
IV (ПНЯ, МСК ЖТ)	18,1±0,6*	19,1±0,9*	22,3±0,8	22,1±0,5	22,4±0,8	22,6±0,9	22,7±0,8

Примітка: *P<0,05 в порівнянні з групою I.

35

Таблица 2

Кількість тварин з регулярним естральним циклом, %

Група	Час після лікування, тиждень						
	1	2	3	4	5	6	7
I(контроль)	100	100	100	100	100	100	100
II (ПНЯ)	0	0	0	0	40	60	100
III (ПНЯ, "Кріоцелл")	0	30	70	80	100	100	100
IV (ПНЯ, МСК ЖТ)	0	30	70	85	100	100	100

Продemonстровано, що вага мишей після проведення хіміотерапії вірогідно зменшувалося в середньому на 3 грами, що відповідає близько 15 % маси тіла. Вага відновлювалася через 3 тижні після лікування препаратом "Кріоцелл" і МСК ЖТ та через 6 тижнів без лікування (Табл. 1).

5 Відсутність естрального циклу за даними кольпоцитограми спостерігали у всіх тварин після хіміотерапії. Після застосування препарату "Кріоцелл" у 70 % тварин цикл відновився на 3 тиждень, у 80 % - на 4 тиждень, у 100 % - на 5 тиждень. Після лікування МСК ЖТ у 70 % тварин цикл відновився на 3 тиждень, у 85 % - на 4 тиждень, у 100 % - на 5 тиждень. Без лікування 40 % тварин мали регулярний цикл на 5 тиждень, а 100 % лише на 7 тиждень. (Табл. 2).

10 Таким чином, застосування МСК після хіміотерапії, яка викликає розвиток синдрому передчасної недостатності яєчників, відновлює функціональну спроможність яєчників. Запропонований спосіб лікування синдрому передчасної недостатності яєчників може бути використаним при розробці індивідуального плану відновлення генеративної функції яєчників у жінок репродуктивного віку з відсутністю дітей, які одержували хіміотерапію з приводу злоякісних захворювань.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

20 Спосіб лікування передчасної недостатності яєчників в експерименті, який здійснюють шляхом трансплантації аутологічного біологічного матеріалу, який **відрізняється** тим, що внутрібрюшинно ін'єкційно, одноразово в терапевтично ефективній дозі вводять 100000 мезенхімальних стовбурових клітин (МСК), виділених із жирової тканини.

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

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

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