



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **147529** (13) **U**
(51) МПК**A61K 31/58** (2006.01)**A61P 15/08** (2006.01)НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки: **а 2020 03443**
(22) Дата подання заявки: **09.06.2020**
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: **20.05.2021**
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **2019134072**
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **23.10.2019**
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **RU**
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: **19.05.2021, Бюл.№ 20**

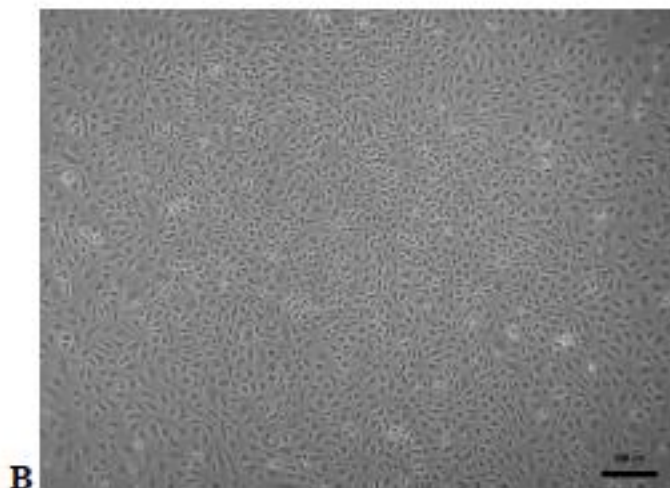
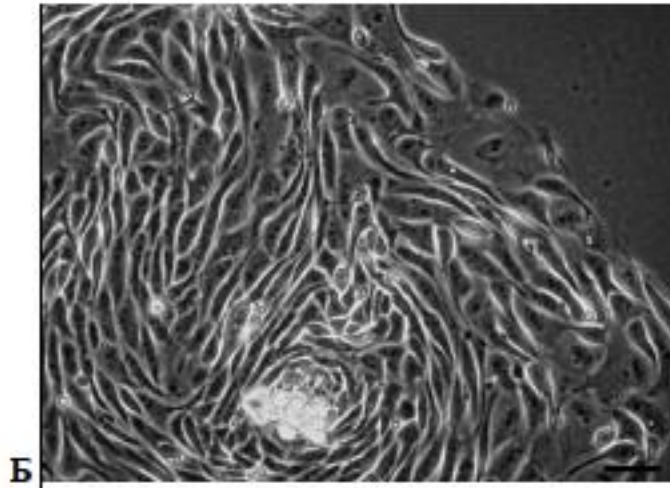
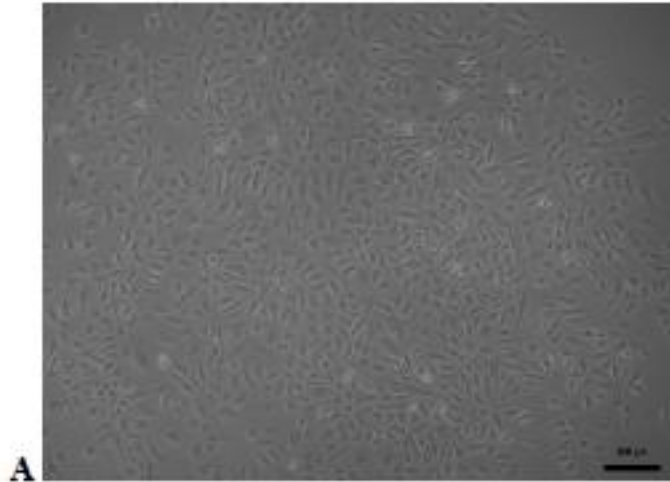
(72) Винахідник(и):
Тодосенко Наталія Михайлівна (RU),
Злацька Альона Василівна (UA),
Родніченко Анжела Євгеніївна (UA),
Губар Ольга Сергіївна (UA),
Гордієнко Інна Михайлівна (UA),
Зубов Дмитро Олександрович (UA),
Литвинова Лариса Сергіївна (RU),
Васильєв Роман Геннадійович (UA)
(73) Володілець (володільці):
Тодосенко Наталія Михайлівна,
ул. Томская, 2, кв. 4, г. Калининград,
236016, Российская Федерация (RU),
Злацька Альона Василівна,
вул. Пушкінська 7-ж, кв. 36, м. Буча, 08105
(UA),
Родніченко Анжела Євгеніївна,
вул. Автозаводська, 27-в, кв. 3, м. Київ,
04114 (UA),
Губар Ольга Сергіївна,
вул. Чорнобильська, 4/56, кв. 20, м. Київ,
03179 (UA),
Гордієнко Інна Михайлівна,
вул. Миру, 37, Київська обл., Іванківський р-н,
с. Обуховичі, 07254 (UA),
Зубов Дмитро Олександрович,
вул. Пилипа Орлика, 3, с. Кучаків,
Бориспільський р-н, Київська обл., 08333
(UA),
Литвинова Лариса Сергіївна,
ул. А. Суворова 42, кв. 67, г. Калининград,
236039, Российская Федерация (RU),
Васильєв Роман Геннадійович,
пров. Шевченківський, 32, кв. 87, м. Харків,
61054 (UA)
(74) Представник:
Новосельцев Ілля Ігорович, реєстр.
№398

(54) БІОМЕДИЧНИЙ КЛІТИННИЙ ПРОДУКТ ДЛЯ ВІДНОВЛЕННЯ СТРУКТУРИ, ФУНКЦІЇ І РЕЦЕПТИВНОСТІ ЕНДОМЕТРІЯ**(57) Реферат:**

Біомедичний клітинний продукт для відновлення структури, функції і рецептивності ендометрія характеризується тим, що він містить аутологічні або алогенні стовбурові/прогеніторні/диференційовані клітини ендометрія людини (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендотеліальні клітини,

UA 147529 U

ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня, їх комбінації в різних пропорціях) і має вигляд моношару або багатoshарових клітинних пластів, або тривимірних клітинних сфероїдів, або гібридних структур, і призначений для клінічного застосування з метою відновлення/створення de novo функціонального і рецептивного ендометрія у людини.



Корисна модель належить до галузі клітинної терапії, тканинної інженерії, регенеративної медицини, гінекології, репродуктології, допоміжних репродуктивних технологій і біотехнології, і може бути використана для відновлення/створення *de novo* функціонального і рецептивного ендометрія у жінок для настання вагітності, виношування плоду і успішних пологів.

Об'єктом корисної моделі є спосіб відновлення/створення *de novo* функціонального і рецептивного ендометрія, який складається зі вступу/перенесення/доставки в порожнину матки біомедичного клітинного продукту (БМКП) на основі аутологічних або алогенних (за умови підбору імунологічної сумісності, що може бути реалізовано різними способами і методами, що не належать до даного винаходу) ендометріальних стовбурових/прогеніторних /диференційованих клітин (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендометріальні ендотеліальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня, або їх комбінації в різних пропорціях), отриманих різними методами ферментативної або механічної ізоляції (а також комбінацією методів ферментативної і механічної ізоляції), з або без подальшої селекції певних типів клітин відповідними методами (імуномагнітна сепарація, сортування з використанням проточного цитофлюориметра-сортера і т.д.) з біоплату ендометрія, або з плюрипотентних стовбурових клітин, або шляхом репрограмування інших типів клітин в індуковані плюрипотентні стовбурові клітини з подальшим спрямованим диференціюванням в ендометріальні клітини, або прямою конверсією (трансдиференціювання) інших типів клітин, у вигляді біомедичного продукту на основі клітин людини. На поточний момент даний біомедичний клітинний продукт (БМКП) відповідає наступним визначенням: в термінах Міністерства охорони здоров'я Російської Федерації (МЗ РФ) - визначення "Біомедичний клітинний продукт" [Федеральний закон №717040-6 "Про біомедичні клітинні продукти"]; в термінах Європейського агентства з лікарських засобів (European Medicines Agency, EMA) - визначення "Human Cell-Based Medicinal Products (CBMP)" [EMA / CHMP Guideline on Human Cell-Based Medicinal Products (EMA / CHMP / 410869/2006)]; в термінах Управління з контролю за продуктами і ліками США (Food and Drug Administration, FDA) - визначення "Human cells, tissues, and cellular and tissue-based products (HCT / Ps)" [21CFR1271. Code of Federal Regulations. Title 21 Food and drugs. Chapt. I-Food and Drug Administration: Department of health and human services. Subchapt. L-Regulations under certain other acts administered by the Food and Drug Administration. Part тисячу двісті сімдесят одна - Human cells, tissues, and cellular and tissue-based products: Subpart D-Current Good Tissue Practice. - [valid from 2001-01-19, revised as of 2011-04-01]. - Title 21 Vol. 8. - 66 FR 5466, Jan. 19, 2001].

1. Найбільш близьким аналогом є біомедичний клітинний продукт для стимуляції регенерації ендометрія, оснований на використанні аутологічних мультипотентних мезенхімальних стромальних/стовбурових клітин (ММСК) з кісткового мозку для лікування синдрому Ашермана (гетерологічне застосування, тобто клітини, отримані з однієї тканини - кісткового мозку, застосовуються для відновлення іншої тканини - ендометрія) [Nagori CB et al. Endometrial regeneration using autologous adult stem cells followed by conception by in vitro fertilization in a patient of severe Asherman's syndrome. J Hum Reprod Sci., 2011, 4 (1): 43-48. doi: 10.4103 / 0974-1208.82360. Gargett C.E., Healy D.L. Generating receptive endometrium in Asherman's syndrome. J Hum Reprod Sci. 2011, 4 (1): 49-52.]. До недоліків даного біомедичного продукту і способу його створення/виробництва можна віднести те, що забір кісткового мозку є болючою і інвазивною процедурою, а використовувані клітини (ММСК з кісткового мозку) не є гістотипічними при їх використанні для відновлення структури, функції і рецептивності ендометрія (оскільки ММСК в даному випадку виділені з кісткового мозку, а не з ендометрія, тобто з анатомічного утворення, відмінного від ендометрія за структурою, функціями і клітинним складом). Внаслідок цього застосовуються ММСК з кісткового мозку, відповідно до існуючих уявлень і наукових даних, не можуть належним чином інтегруватися в структуру ендометрія матки і реалізують свій терапевтичний ефект за рахунок паракринного впливу на ендометрій, але не заповнюють його клітинний дефіцит і/або заміщають пошкоджені/дисфункціональні клітини шляхом своєї прямої інтеграції в тканину. Дана обставина значно знижує ефективність застосування подібних біомедичних клітинних продуктів щодо лікування гіоплазії ендометрія, ятрогенних травм ендометрія і інших захворювань матки, пов'язаних зі структурно-функціональною неспроможністю ендометрія. Більш того в разі негістотипічного використання ММСК, виділених з однієї тканини для відновлення структури і функції іншої тканини, існує ризик розвитку метаболізму тканини-реципієнта при структурній інтеграції в неї негістотипічної ММСК.

2. Відомий біомедичний клітинний продукт, оснований на алогенних ММСК з жирової тканини, і описані результати його застосування у коней (наведені приклади гетерологічного використання) для лікування або купірування патологічних станів матки [US Patent 9498498, 22.11.2016. Adipose tissue mesenchymal stem cells and methods of use to treat or inhibit uterine

disorders / Kerkis I.; Avita International Ltd. (Tortola, VG)]. Недоліком даного біомедичного клітинного продукту є те, що використовувані клітини (ММСК з жирової тканини) є алогенними (тобто чужорідними, донорськими) і негістотипічними (так як отримані з жирової тканини, а не з ендометрія) для відновлення структури ендометрія (тобто, відомої з анатомічного утворення, відмінного від ендометрія за структурою, функціями і клітинним складом), тобто вони використовуються не в гомологічному варіанті (наприклад, використання жирових ММСК для відновлення структури і функції жирової тканини). Таким чином, зазначений спосіб має ті ж вади, які описані вище для способу №1. Також не досліджувалася у людини ефективність запропонованого біомедичного клітинного продукту (немає прикладів), а у коней досліджувався тільки вплив ММСК при ендометріозі, але не досліджувався вплив при всіх інших заявлених у формулі патологічних станах матки.

3. Відомий спосіб, що належить до експериментальної медицини, і який полягає в тому, що в експериментальних умовах в стінку матки щура, що знаходиться в стані викликання псевдовагітності, вводять біомедичний клітинний продукт у вигляді суспензії, що містить 300 000 стовбурових клітин ендометрія, виділених з менструальної крові жінки (ксеногенне застосування). Надалі, щуру проводять підшкірне введення прогестерону в дозі 2 мг на грам ваги тварини. Заявлено, що даний спосіб забезпечує штучну стимуляцію утворення децидуальної оболонки ендометрія у щурів [Патент Російської Федерації RU №2515475 "Спосіб стимуляції утворення децидуальної оболонки ендометрія в експерименті"]. Недоліками способу є: штучне викликання псевдовагітності в експерименті, а не клінічне застосування. Також до недоліків запропонованого біомедичного клітинного продукту, на якому оснований спосіб, належить використання ксеногенних, а не аутологічних, в межах виду тварини, клітин, що буде викликати реакцію відторгнення імунною системою реципієнта пересаджених ксеногенних клітин. Крім того, метою способу не є настання цієї вагітності у експериментальних тварин; спосіб і біомедичний клітинний продукт випробуваний тільки на здорових тваринах в експерименті, а не у тварин з модельованою патологією матки.

В основу корисної моделі поставлено задачу створення біомедичного клітинного продукту на основі ендометріальних стовбурових прогеніторних диференційованих клітин для відновлення структури, функції і рецептивності ендометрія людини.

Поставлена задача вирішується тим, що біомедичний клітинний продукт для відновлення структури, функції і рецептивності ендометрія характеризується тим, що він містить аутологічні або алогенні стовбурові/прогеніторні/диференційовані клітини ендометрія людини (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендотеліальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня, їх комбінації в різних пропорціях) і має вигляд моношару або багатшарових клітинних пластів, або тривимірних клітинних сфероїдів, або гібридних структур, і призначений для клінічного застосування з метою відновлення/створення де ново функціонального і рецептивного ендометрія у людини.

Біомедичний клітинний продукт створений/зроблений з різних типів стовбурових/прогеніторних/диференційованих ендометріальних клітин (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендотеліальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня) окремо або в комбінації (від одного клітинного типу до всіх чотирьох перерахованих вище клітинних типів в складі БМКП, в різних співвідношеннях, наприклад - від 1:1:1:1 до 10:5:5:1 і т.д.).

Біомедичний клітинний продукт, клітини якого попередньо ізольовані методами ферментативної або механічної ізоляції або за допомогою комбінації методів ферментативної і механічної ізоляції, з або без подальшої селекції певних типів клітин відповідними методами, а саме за допомогою імуномагнітної сепарації, сортування з використанням проточного цитофлюориметра-сортера.

Біомедичний клітинний продукт, клітини якого отримані з біоптату ендометрія або іншого тканинного біоптата (а також з периферичної або менструальної крові), або отримані з плюрипотентних стовбурових клітин, або отримані шляхом репрограмування інших типів клітин в індуковані плюрипотентні стовбурові клітини з подальшим спрямованим диференціюванням в ендометріальні клітини, або отримані прямою конверсією (трансдиференціювання) інших типів клітин.

Біомедичний клітинний продукт, клітини якого культивовані для експансії (мультиплікації) *in vitro* в ростовому середовищі з додаванням як мітогенної добавки 1-20 % аутологічної, алогенної або ксеногенної сироватки крові, або 1-20 % аутологічного, алогенного або ксеногенного лізату тромбоцитів, або 1-20 % аутологічної, алогенної або ксеногенної плазми крові з гепарином або іншими антикоагулянтами, з додаванням (або без) синтетичних гормонів, рекомбінантних факторів росту/цитокінів /хемокінів /морфогенів, малих молекул.

Біомедичний клітинний продукт, клітини якого перед застосуванням оброблені *in vitro/ex vivo* факторами зростання, цитокінами, хемокінами, гормонами, малими молекулами або фізичними методами (ультразвук, електромагнітні поля, лазер і т.д.), або піддані гіпоксії, або іншому впливу хімічними речовинами (наприклад, перекисом водню) для спрямованої зміни їх властивостей (диференціювання, дедиференціювання, модифікація секретома, підвищення стійкості до гіпоксії), або для створення на їх основі тривимірних структур.

Біомедичний клітинний продукт, застосування якого для відновлення/створення *de novo* функціонального і рецептивного ендометрія полягає в його гомологічному перенесенні в порожнину матки або внутрітканинній ін'єкції, або інфузії в кровоносні або лімфатичні судини під ультразвуковим контролем або іншим придатним контролем, за допомогою катетера, зонда, шприца або іншого придатного для цієї мети медичного виробу/інструменту, на початку менструального циклу перед процедурою перенесення ембріонів в ЕКО циклі, виконуваної до кінця менструального циклу.

Біомедичний клітинний продукт, перед застосуванням якого може бути здійснено нанесення контрольованої мікротравми ендометрія до його базальної мембрани з метою поліпшення адгезії клітин, що переносяться.

Таким чином, суть корисної моделі полягає в створенні біомедичного клітинного продукту (БМКП) з використанням ефективних методів ізоляції *ex vivo* з (або без) подальшою експансією (мультиплікацією) в культурі *in vitro* власних аутологічних або алогенних (за умови підбору імунологічної сумісності, що може бути реалізовано різними способами і методами, що не належать до даного винаходу) ендометріальних стовбурових/прогеніторних/диференційованих клітин (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендометріальні ендотеліальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребня, або їх комбінації в різних пропорціях), отриманих різними методами ферментативної або механічної ізоляції (а також комбінацією методів ферментативної і механічної ізоляції), з (або без) подальшою селекцією певних типів клітин відповідними методами (імуномагнітна сепарація, сортування з використанням проточного цитофлюориметра-сортера і т.д.) з біоптату ендометрія або з плюрипотентних стовбурових клітин, або шляхом репрограмування інших типів клітин в індуковані плюрипотентні стовбурові клітини з подальшим спрямованим диференціюванням в ендометріальні клітини, або прямою конверсією (трансдиференціюванням) інших типів клітин, а також в створенні умов для приживлення і інтеграції перенесених в порожнину матки клітин у власні тканини реципієнта (замісна дія), що в належній мірі можливо тільки в разі гомологічного застосування аутологічних або алогенних (за умови підбору імунологічної сумісності, що може бути реалізовано різними способами і методами, що не належать до даного винаходу) гістотипових клітин, з метою відновлення або формування *de novo* функціонального і рецептивного ендометрія (клінічне застосування у людини в рамках лікування патологій репродуктивної системи у жінок).

Основою розробленого БМКП є ендометріальні ММСК - найбільш добре вивчений і такий, що використовується в доклінічних і клінічних випробуваннях клітинний тип. Медичне застосування ММСК базується на наступних факторах:

- їх відносно легка доступність в сенсі простоти ізоляції і селекції з біологічного зразка (біоптата);
- відносній дешевизні і простоті їх експансії (мультиплікації) *in vitro*;
- здатності до мультилінійної диференціації та структурної інтеграції в тканини і органи;
- вираженого паракринного (трофічного) ефекту, ґрунтованого на широкому спектрі біологічно активних речовин, що продукуються (фактори росту, цитокіни, хемокіни і т.д.), які мають ангіогенний, нейротрофічний, антиапоптичний, протекторний і стимулюючий репаративну регенерацію ефекти;
- імуномодулюючі властивості.

Перераховані вище морфофункціональні властивості ендометріальних ММСК уможливають і роблять перспективним їх застосування для лікування гіпоплазії і функціональної недостатності ендометрія.

Подальше підвищення ефективності БМКП на основі ендометріальних клітин людини може бути ґрунтоване на:

- прекодиціюванні/передобробці клітин (наприклад - гіпоксією, перекисом водню, малими молекулами, гормонами, факторами росту і цитокінами, ультразвуком, електромагнітним випромінюванням/полями) перед їх медичним використанням з метою підвищення їх стійкості до несприятливих факторів (гіпоксія, недолік поживних речовин, активні форми кисню і т.д.) і поліпшення виживаності після трансплантації;

- прекондиціонуванні/передобробці клітин (наприклад - гіпоксією, перекисом водню, малими молекулами, гормонами, факторами росту і цитокінами, ультразвуком, електромагнітним випромінюванням/полями) перед їх медичним використанням з метою збільшення продукції або для зміни спектра трофічних (паракрінних) факторів, що продукуються;

5 - додаванні до складу БМКП інших клітинних типів: ендометріальних епітеліальних клітин (мають в складі свого диферона стовбурові, прогеніторні і диференційовані клітини) для відновлення власне епітелію ендометрія і залоз ендометрія; ендотеліальних клітин (мають в складі свого диферона стовбурові, прогеніторні і диференційовані клітини і можуть бути отримані не тільки з ендометрія, а й з кісткового мозку і периферичної крові) для поліпшення васкуляризації; мультипотентних стовбурових/прогеніторних клітин-похідних нервового гребеня

10 для поліпшення (ре) іннервації, репаративної регенерації і морфогенезу;

15 - створенні тривимірних клітинних структур на основі ендометріальних стовбурових/прогеніторних/диференційованих клітин (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендометріальні ендотеліальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня, або їх комбінації в різних пропорціях) для поліпшення виживаності трансплантованих клітин, стимуляції репаративної регенерації і морфогенезу.

Фіг. 1 – Функціональні критерії якості культури ендометріальних стовбурових клітин, одержаних з біоптату ендометрія методом пайпельбіопсії: а, б – типова морфологія змішаної культури ендометріальних епітеліальних та мезенхімальних клітин (зб. $\times 100$): а – окрема епітеліальна колонія; б – змішана первинна культура, моношар; в – формування сфероїдів в культурі ендометріальних мезенхімальних клітин (зб. $\times 100$); г – фенотип ендометріальних мезенхімальних клітин, проточна цитометрія: клітини позитивні за CD105+ CD90+ CD73+ CD146+ CD166+ CD49f \pm CD227low CD326low, негативні за CD34- CD45- HLA-DR- Lgr5- (ідентифікація клітинного типу); д – дослідження каріотипу культивованих ендометріальних мезенхімальних клітин: нормальний жіночий каріотип, 46XX; е – цитокиновий секретом змішаної культури ендометріальних епітеліальних та мезенхімальних клітин, мультиплексний імуноаналіз; звертає увагу збільшений рівень продукції клітинами значимих цитокінів: протизапального IL-1ra (~74,6 пг/мл), проангіогенного VEGF (~92,2 пг/мл), та GM-CSF (~133,2 пг/мл), котрий є одним з ключових факторів нормального функціонування ендометрію в здорової жінки, оскільки він регулює менструальний цикл, в нормі його рівень значно збільшується в межах вікна імплантації ембріону, та він незначно секретується у жінок з недостатністю репродуктивної функції.

На Фіг. 1. показані:

35 - характеристика ендометріальних стовбурових/прогеніторних/диференційованих клітин (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендометріальні ендотеліальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня) і тривимірних структур на їх основі, що використовуються для виготовлення біомедичного продукту/препарату для клінічного застосування.

40 А та Б - типова морфологія ендометріальних епітеліальних стовбурових/прогеніторних клітин в культурі in vitro (А - масштабний відрізок 200 мкм, Б - масштабний відрізок 50 мкм);

В і Г - типова морфологія ендометріальних ендотеліальних прогеніторних клітин в культурі in vitro (В - масштабний відрізок 200 мкм, Г - масштабний відрізок 50 мкм);

Д і Е - типова морфологія ендометріальних мезенхімальних мультипотентних стромальних клітин в культурі in vitro (Д - масштабний відрізок 200 мкм, Б - масштабний відрізок 50 мкм);

45 Ж і З - типова морфологія ендометріальних мультипотентних стовбурових/прогеніторних клітин-похідних нервового гребеня в культурі in vitro (Ж - масштабний відрізок 200 мкм, З - масштабний відрізок 100 мкм);

І - спонтанно утворені тривимірні структури (сфероїди) в змішаній культурі ендометріальних епітеліальних і мезенхімальних клітин (масштабний відрізок 50 мкм);

50 К - направлено сформовані тривимірні структури (сфероїди) з суспензії ендометріальних епітеліальних і мезенхімальних клітин (масштабний відрізок 50 мкм);

В - формування сфероїдів в культурі ендометріальних мезенхімальних клітин (зб. $\times 100$).

Фіг. 2 Ультразвукове дослідження в середині менструального циклу товщини ендометрія для планування перенесення ембріонів

55 На Фіг. 2. показано визначення методом проточної цитометрії (позитивні і негативні маркери) імунофенотипу ендометріальних клітин після їх експансії в культурі in vitro:

А - ендометріальні епітеліальні стовбурові/прогеніторні клітини;

Б - ендометріальні ендотеліальні прогеніторні клітини;

В - ендометріальні мультипотентні мезенхімальні стовбурові/стромальні клітини;

Г - ендометріальні мультипотентні стовбурові/прогеніторні клітини-похідні нервового гребеня.

Фіг. 3 – Знімки з УЗ дослідження порожнини матки з метою візуалізації та вимірювання товщини та структури шару ендометрія після гомологічного переносу в порожнину матки реципієнтки аутологічної культури ендометріальних стовбурових клітин у вигляді медичного продукту на основі клітин людини: а – пацієнтка П., на 15-ту добу менструального циклу; б – пацієнтка Ж., на 12-ту добу менструального циклу.

На Фіг. 3. показано ультразвукове дослідження порожнини матки для візуалізації та вимірювання товщини ендометрія після застосування біомедичного клітинного продукту на основі аутологічних ендометріальних мультипотентних мезенхімальних стовбурових/стромальних клітин (гомологічне застосування - доставка через катетер в порожнину матки):

а - пацієнтка П., 15-а доба менструального циклу;

б - пацієнтка Ж., 12-а доба менструального циклу.

У таблиці показана характеристика пацієнток, що завагітніли після перенесення в порожнину матки біомедичного клітинного продукту на основі аутологічних ендометріальних ММСК, розмножених в культурі in vitro.

Пацієнтка	Вік, повних років	Індекс маси тіла	Діагноз (тип та етіологія безпліддя)	Кількість попередніх невдалих спроб ЕКО шквів	Товщина ендометрія до/після переносу клітин, мм	Вагітність
1. Пацієнтка Ч.	35	19,8	Безпліддя І. Гіпоменорея на фоні вираженої гіоплазії ендометрія	1	3,5 / 8	Клінічна одноплідна вагітність
2. Пацієнтка П.	44	22	Безпліддя II. Гіоплазія ендометрія. ОАТА (2 с/в, 1 замерла). Вторична аменорея. Синдром Ашермана	1	4 / 5,4	Клінічна біхоріальна двійня
3. Пацієнтка Ж.	30	19,3	Безпліддя І. Ановуляція	1	5 / 6	Клінічна одноплідна вагітність
4. Пацієнтка К.	32	23,3	Безпліддя II. Трубний фактор. Гіоплазія ендометрія	3	4,5 / 5	Клінічна одноплідна вагітність

Створення/виробництво біомедичного клітинного продукту на основі ендометріальних клітин людини виконується наступним чином:

1. Забір біоптату ендометрія в операційній/маніпуляційній і ізоляція з нього ендометріальних стовбурових/прогеніторних/диференційованих клітин (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендометріальні ендотеліальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня, або їх комбінації в різних пропорціях), отриманих різними методами ферментативної або механічної ізоляції (а також комбінацією методів ферментативної і механічної ізоляції), з або без подальшої селекції певних типів клітин відповідними методами (імуномагнітна сепарація, сортування з використанням проточного цитофлюориметра-сортера і т.д.) з біоптату ендометрія або з плюрипотентних стовбурових клітин, або шляхом репрограмування інших типів клітин в індуковані плюрипотентні стовбурові клітини з подальшим спрямованим диференціюванням в ендометріальні клітини, або прямою конверсією (трансдиференціювання) інших типів клітин.

2. Культивування *in vitro* з метою експансії (мультиплікації) ендометріальних стовбурових/прогеніторних/диференційованих клітин (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендометріальні ендотеліальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня, або їх комбінація в різних пропорціях), з метою спрямованої зміни їх властивостей (наприклад - диференціювання, дедиференціювання, модифікація секретому, підвищення стійкості до гіпоксії) і/або створення на їх основі тривимірних структур.

3. За необхідності, короткострокове або довгострокове зберігання ендометріальних стовбурових/прогеніторних/диференційованих клітин (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендометріальні ендотеліальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня або їх комбінація в різних пропорціях), а також отриманих з них тривимірних структур в умовах низьких температур.

4. Гомологічне перенесення біомедичного клітинного препарату/продукту на основі ендометріальних стовбурових/прогеніторних/диференційованих клітин (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендометріальні ендотеліальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня і/або їх комбінації в різних пропорціях), а також отриманих з них тривимірних структур в порожнину матки з метою відновлення або створення *de novo* функціонального і рецетивного ендометрія.

Забір біоптата ендометрія в операційній/маніпуляційній

1. В умовах операційної/маніпуляційної під загальною, спинномозковою або місцевою (локальною) анестезією, або їх комбінацією, у донора виконується забір біоптата ендометрія розміром 0,1-20 мм методом кюретажної біопсії, методом пайпель-біопсії або іншим придатним для досягнення зазначеної мети способом.

Альтернативно, при використанні для отримання ендометріальних стовбурових/прогеніторних/диференційованих клітин (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендометріальні ендотеліальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня) плюрипотентних стовбурових клітин, або методів репрограмування інших типів клітин в індуковані плюрипотентні стовбурові клітини з подальшою спрямованою диференціацією в ендометріальні клітини, або прямою конверсією (трансдиференціюванням) інших типів клітин (методи отримання плюрипотентних стовбурових клітин, індукованих плюрипотентних стовбурових клітин, а також їх спрямованим диференціюванням в ендометріальні клітини, або лінійною конверсією (прямого репрограмування/трансдиференціювання) інших клітинних типів в ендометріальні клітини виконуються належні процедури для отримання відповідного анатомічного матеріалу (біоптата).

2. Транспортування анатомічного матеріалу (біоптата) з операційної/маніпуляційної в біотехнологічну лабораторію здійснюється при температурі +4...+ 20° С в спеціальних термоізоляційних контейнерах протягом не більше 72 годин з моменту забору матеріалу.

3. Контейнер з біоптатом ендометрія транспортується до термобоксу при температурі +4...+20 °С до біотехнологічної лабораторії для подальшої обробки.

Ізоляція, культивування, експансія ендометріальних стовбурових/прогеніторних/диференційованих клітин (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендометріальні ендотеліальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня, або їх комбінації в різних пропорціях), спрямована зміна їх властивостей, а також створення з них тривимірних структур.

1. Для ізоляції ендометріальних стовбурових/прогеніторних/диференційованих клітин (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендометріальні ендотеліальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня, або їх комбінації в різних пропорціях), зібрані згідно з розд. 1 (див. вище) біоптат ендометрія піддають дисоціації ферментативним або механічним методом, або їх комбінацією, наприклад за допомогою суміші розчинів протеолітичних ферментів, наприклад, 0,2 % колагенази ІА, пронази, діспази, ДНКазі і/або їх суміші при температурі +4-+40° С і, можливо, при постійному помішуванні на шейкері-інкубаторі (або іншому пристосуванні, що забезпечує помішування і підтримує необхідну температуру) при 1-1000 об./хв., протягом необхідного часу (від 5 хв. до 24 годин).

2. Надалі отриману клітинну суспензію або застосовують для відновлення структури, функції і рецетивності ендометрія, або заморожують для подальшої обробки або використання, або переводять в культуру *in vitro* для експансії (мультиплікації) клітин, або спрямованої зміни їх властивостей, або створення з них тривимірних структур. Для експансії (мультиплікації) клітин їх засівали в культуральні флакони або чашки Петрі, або інші ємності, або пристрої для культивування клітин *in vitro/ex vivo*. Для експансії (мультиплікації) ендометріальних клітин їх культивують в спеціальному ростовому середовищі, підібраному для експансії (мультиплікації) відповідного типу ендометріальних стовбурових/прогеніторних/диференційованих клітин

(ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендометріальні ендотеліальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня, або їх комбінація в різних пропорціях) наступного складу: повне синтетичне ростове середовище; або базальне живильне середовище (наприклад MCDB131 для ендометріальних ендотеліальних клітин; DMEM: F12 або MCDB121 для ендометріальних епітеліальних клітин; DMEM, α MEM або DMEM: F12 для ендометріальних мезенхімальних клітин і ендометріальних клітин-похідних нервового гребеня) з додаванням, наприклад як мітогенної добавки, 1-20 % аутологічної або пулірованої алогенної сироватки крові людини, або 1-20 % аутологічного або пулірованого алогенного лізату тромбоцитів, або 1-20 % аутологічної або пулірованої алогенної плазми крові людини з гепарином або іншими антикоагулянтами; або рекомбінантні (або отримані іншим способом) фактори росту, цитокіни, хемокіни або гормони (наприклад - EGF, IGFs, FGFs, PDGFs, VEGFs, WNTs, TGF α , TGF β , ILs, естрогени, прогестерон, інсулін, гідрокортизон (або його синтетичні аналоги) і т.д.; або малі молекули, що імітують або модулюють (активують або інгібують) дію певних чинників зростання, цитокінів, хемокінів або гормонів.

3. Потім клітини культивують в CO₂ або мультигазовому інкубаторі, або іншому приладі/пристрої, що забезпечує експансію (мультиплікацію) ендометріальних клітин *in vitro/ex vivo* при + 30°-+ 40° C і насичує вологості в атмосфері 1 % - 10 % CO₂ і 1 % - 21 % O₂ протягом 3-7 діб. Ростуть клітини у вигляді моношару або багатошарових клітинних пластів, або у вигляді тривимірних клітинних сфероїдів, або формують гібридні структури з комбінацій, описаних вище.

4. Надалі клітини первинної культури або заморожують для подальшого створення біомедичного продукту, або використовують для медичного застосування, або створюють на їх основі тривимірні структури, або проводять подальшу експансію (мультиплікацію) клітин *in vitro/ex vivo*. Для подальшої експансії (мультиплікації) клітин *in vitro/ex vivo* клітини засівають в концентрації 1-100 000 клітин / см² при адгезійному культивуванні, або в концентрації 1-100 000 клітин/мл при суспензійному культивуванні в культуральний посуд (наприклад, Falcon® Multi-Flask, HYPERFlask®), на мікроносіях або в інші пристрої/пристосування для культивування клітин людини *in vitro/ex vivo* зі збереженням їх життєздатності або з їх експансією (мультиплікацією) їх кількості (наприклад, в Quantum® Cell Expansion System, або в інший біореактор). При цьому ріст клітин відбувається у вигляді моношару, багатошарових пластів, у вигляді тривимірних структур і/або у вигляді комбінації даних форм.

5. Ендометріальні клітини (первинно виділені, розморожені після криозберігання, або використовуються безпосередньо після експансії (мультиплікації) *in vitro*) можуть бути оброблені *in vitro/ex vivo* факторами зростання, цитокінами, хемокінами, гормонами, малими молекулами, або фізичними методами (ультразвук, електромагнітні поля/випромінювання, лазер і т.д.), або піддані гіпоксії, або іншому впливу хімічними речовинами (наприклад, перекисом водню) для спрямованої зміни їх властивостей (диференціювання, дедиференціювання, модифікація секретوما, підвищення стійкості до гіпоксії), або використані для створення на їх основі тривимірних структур.

6. При необхідності отримані ендометріальні клітини (різні типи клітин і їх суміш, тривимірні структури, їх комбінація в різних пропорціях), переносять в кріосередовище, заморожують і зберігають при температурі, наприклад, -20° C - 196° C протягом тривалого часу, наприклад, 1-100 років.

7. Для приготування біомедичного клітинного продукту на основі ендометріальних клітин людини береться суспензія ендометріальних стовбурових/прогеніторних/диференційованих клітин (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня, або їх комбінація в різних пропорціях) (первинно виділених *ex vivo*, культивованих *in vitro*, або заморожених), або тривимірні структури на їх основі. У разі заморожених клітин їх розморожують, відмивають від кріосередовища і відновлюють, наприклад, в 1-100 мл фізіологічного розчину (або іншого збалансованого сольового розчину), або в базальному або повному ростовому живильному середовищі, або в аутологічній або алогенній сироватці крові (або плазмі крові) людини, або переводять з культури *in vitro* клітини (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, їх комбінація в різних пропорціях), або тривимірні структури на їх основі, або їх комбінацію з культурального посуду або інших пристосувань для культивування клітин і відновлюють, наприклад, в 1 мл фізіологічного розчину або аутологічної плазми реципієнта, що міститься в шприці, наприклад, в інсуліновому.

8. Доставляють шприц з біомедичним клітинним продуктом на основі ендометріальних клітин людини в операційну/маніпуляційну на холоді (+4 ... + 6° C) в термоконтейнері, або в

транспортному інкубаторі, або іншому пристосуванні для транспортування клітин/тканин-інженерних конструкцій протягом не більше 48 годин.

9. На всіх етапах створення, виробництва, підготовки і застосування біомедичного клітинного продукту на основі ендометріальних клітин людини проводиться процес контролю безпеки застосування і якості культивованих клітин: відсутність інфекцій, відповідність клітинного типу заявленим критеріям (нормальний каріотип, життєздатність, секретом, диференціювальний потенціал і ін. (Фіг. 1 і Фіг. 2).

Зберігання ендометріальних клітин в умовах низьких температур.

1. Для тривалого зберігання ендометріальних стовбурових/прогеніторних/диференційованих клітин (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня, або їх комбінація в різних пропорціях) або тривимірних структур на їх основі можуть використовуватися різні кріосередовища як комерційні, так приготовані власне в біотехнологічній лабораторії. Кріосередовища можуть бути як з повністю певним хімічним складом, безсироватковими, безбілковими, так що містять сироватку крові, або білки сироватки крові. Наприклад, як кріосередовище може бути використана базальне живильне середовище DMEM: F12 з додаванням, наприклад, 1-20 % аутологічної, алогенної або ксеногенної сироватки крові, або 1-20 % аутологічного, алогенного або ксеногенного тромбоцитарного лізату, або 1-20 % аутологічної, алогенної або ксеногенної плазми крові, а також з додаванням 1-20 % кріопротектора, наприклад ДМСО. Також клітини можуть зберігатися в кріосередовищі, що містить аутологічну, алогенну або ксеногенну сироватку крові; аутологічним, алогенним або ксеногенним тромбоцитарним лізатом; аутологічну, алогенну або ксеногенну плазму крові, з додаванням 1-20 % кріопротектора, наприклад, ДМСО.

2. Отримані після зняття з поверхні культурального посуду в разі адгезивної культури, або відновлені з ростового середовища в разі суспензійної культури ендометріальні клітини або тривимірні структури на їх основі змішують з кріосередовищем і еквілібрують протягом, наприклад, 1-20 хв. при +4 °C.

3. Клітини поміщають в кріопробірки ємністю, наприклад, 2,0 мл, або в кріопакети ємністю, наприклад 30 мл, в концентрації, наприклад, 10×10⁶ клітин/мл.

4. Кріопробірки з клітинної суспензією зберігають протягом тривалого часу, наприклад, 10 років, наприклад, в судинах Дьюара, в рідкому азоті при температурі -196 °C.

Гомологічне перенесення біомедичного клітинного препарату/продукту на основі ендометріальних стовбурових/прогеніторних/диференційованих клітин з метою відновлення або створення de novo функціонального і рецетивного ендометрія.

1. Біомедичний клітинний продукт, що складається з ендометріальних стовбурових/прогеніторних/диференційованих клітин (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня, їх комбінація в різних пропорціях) у вигляді клітинної суспензії, або суспензії тривимірних клітинних сфер/сфероїдів, або інших тривимірних структур на основі клітин, в обсязі, наприклад, 1 мл і в кількості, наприклад, від 10-100×10⁶ клітин переноситься реципієнту на початку менструального циклу в порожнину матки під ультразвуковим контролем за допомогою гнучкої зовнішньої оболонки катетера для перенесення ембріонів, наприклад, Wallace Classic, або катетера, або зонда. При ультразвуковому дослідженні в середині того ж менструального циклу досліджують товщину ендометрія для планування перенесення ембріонів (Фіг. 2).

2. В кінці того ж менструального циклу переносяться отримані в циклі ЕКЗ ембріони.

Приклад клінічного застосування біомедичного клітинного продукту на основі аутологічних ендометріальних стовбурових/прогеніторних клітин, отриманих з біоптату ендометрія (ендометріальні епітеліальні стовбурові/прогеніторні клітини, ендотеліальні прогеніторні клітини, ендометріальні мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини, ендометріальні мультипотентні стовбурові прогеніторні клітини-похідні нервового гребеня, їх комбінація в різних пропорціях) з метою відновлення/створення de novo функціонального і рецетивного ендометрія.

Пацієнтка Ч., 35 років, діагноз - безпліддя I, трубно-перитонеального. Проведена програма ЕКО з результатом анембріонія і, як наслідок, з вискоблюванням порожнини матки. Після вискоблювання розвинулася гіпоменорея на тлі вираженої гіпоплазії ендометрія. При ультразвуковому дослідженні товщина ендометрія становила 3,5 мм на 18 день менструального циклу. Повторні переноси ембріонів в кріоциклах не привели до їх імплантації, незважаючи на тривалу гормональну підготовку ендометрія препаратами естрогенів і гестагенів протягом 6 міс. При діагностичній гістероскопії була підтверджена тотальна гіпоплазія функціонального шару ендометрія. При гістероскопії вдалося виявити мікрофрагменти нормальної тканини функціонального шару ендометрія, фрагмент якого був узятий для культивування клітин. Надалі

була проведена програма екстракорпорального запліднення з контрольованою стимуляцією овуляції. Отримані ембріони були вітрифіковані на стадії бластоцисти. Пацієнтці на 4 день менструального циклу на тлі підтримки естрогенами після контрольованої мікротравми базальної мембрани (для поліпшення адгезії) гнучкою зовнішньою оболонкою катетера для перенесення ембріонів Wallace classic під ультразвуковим контролем був введений в порожнину матки БМКП на основі культивованих аутологічних ендометріальних ММСК у вигляді суспензії клітин об'ємом 1 мл на основі кріолізата аутологічного тромбоцитарного концентрату з концентрацією клітин 20×10^6 /мл. При ультразвуковому дослідженні на 13 день менструального циклу встановлено, що товщина ендометрія була 8 мм. Була приєднана підтримка другої фази циклу гестагенними препаратами. На 20 день менструального циклу були перенесені 2 деконсервованих (розморожених після вітрифікації і кріозберігання в рідкому азоті) ембріони на стадії бластоцисти при товщині ендометрія 8 мм. Через 13 днів після їх перенесення хоріонічний гонадотропін (β -ХГЛ) визначено на рівні 120 мед/мл через 30 днів після перенесення в порожнину матки за допомогою УЗ-дослідження діагностували прогресуючу вагітність (таблиця).

Характеристика чотирьох пацієнток, що завагітніли і народили в ЕКО циклі після застосування біомедичного клітинного продукту на основі аутологічних культивованих стовбурових/прогеніторних/диференційованих клітин ендометрія, наведена у таблиці.

1. Біомедичний клітинний продукт для відновлення структури, функції і рецептивності ендометрія характеризується тим, що він містить аутологічні або алогенні стовбурові/прогеніторні/диференційовані клітини ендометрія людини (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендотеліальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня, їх комбінації в різних пропорціях) і має вигляд моношару або багатoshарових клітинних пластів, або тривимірних клітинних сфероїдів, або гібридних структур, і призначений для клінічного застосування з метою відновлення/створення de novo функціонального і рецептивного ендометрія у людини.

2. Біомедичний клітинний продукт за п. 1, який створений/зроблений з різних типів стовбурових/прогеніторних/диференційованих ендометріальних клітин (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендотеліальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня) окремо або в комбінації (від одного клітинного типу до всіх чотирьох перерахованих вище клітинних типів в складі БМКП, в різних співвідношеннях, наприклад - від 1: 1: 1 до 10: 5: 5: 1 і т.д.).

3. Біомедичний клітинний продукт за пп. 1, 2, клітини якого попередньо ізольовані методами ферментативної або механічної ізоляції, або за допомогою комбінації методів ферментативної і механічної ізоляції, з або без подальшої селекції певних типів клітин відповідними методами, а саме за допомогою імуномагнітної сепарації, сортування з використанням проточного цитофлюориметра-сортера.

4. Біомедичний клітинний продукт за пп. 1-4, клітини якого отримані з біоптата ендометрія або іншого тканинного біоптата (а також з периферичної або менструальної крові), або отримані з плюрипотентних стовбурових клітин, або отримані шляхом репрограмування інших типів клітин в індуковані плюрипотентні стовбурові клітини з подальшим спрямованим диференціюванням в ендометріальні клітини, або отримані прямою конверсією (трансдиференціювання) інших типів клітин.

5. Біомедичний клітинний продукт за пп. 1-4, клітини якого культивовані для експансії (мультиплікації) in vitro в ростовому середовищі з додаванням як митогенної добавки 1-20 % аутологічної, алогенної або ксеногенної сироватки крові, або 1-20 % аутологічного, алогенного або ксеногенного лізату тромбоцитів, або 1-20 % аутологічної, алогенної або ксеногенної плазми крові з гепарином або іншими антикоагулянтами, з додаванням (або без) синтетичних гормонів, рекомбінантних факторів росту/цитокінів/хемокінів/морфогенія, малих молекул.

6. Біомедичний клітинний продукт за пп. 1-5, клітини якого перед застосуванням оброблені in vitro/ex vivo факторами зростання, цитокінами, хемокінами, гормонами, малими молекулами або фізичними методами (ультразвук, електромагнітні поля, лазер і т.д.), або піддані гіпоксії, або іншому впливу хімічними речовинами (наприклад, перекисом водню) для спрямованої зміни їх властивостей (диференціювання, дедиференціювання, модифікація секретому, підвищення стійкості до гіпоксії), або для створення на їх основі тривимірних структур.

7. Біомедичний клітинний продукт за пп. 1-6, застосування якого для відновлення/створення de novo функціонального і рецептивного ендометрія полягає в його гомологічному перенесенні в порожнину матки, або внутрітканинній ін'єкції, або інфузії в кровоносні або лімфатичні судини під ультразвуковим контролем або іншим придатним контролем, за допомогою катетера, зонда, шприца або іншого придатного для цієї мети медичного виробу/інструменту, на початку

менструального циклу перед процедурою перенесення ембріонів в ЕКО циклі, виконуваної до кінця менструального циклу.

8. Біомедичний клітинний продукт за пп. 1-7, перед застосуванням якого може бути здійснено нанесення контрольованої мікротравми ендометрія до його базальної мембрани з метою поліпшення адгезії клітин, що переносяться.

Джерела інформації:

1. Настанова ЕМЕА / CHMP щодо лікарських засобів на основі клітин людини (ЕМЕА / CHMP / 410869/2006).

2. 21CFR1271. Кодекс федеральних положень. Заголовок 21 Продукти харчування та наркотики. Розд. I - Управління харчовими продуктами та ліками: Департамент охорони здоров'я та людських служб. Підрозділ. L - Положення відповідно до деяких інших актів, якими керує Управління з контролю за продуктами харчування та ліками. Частина 1271 - Клітини, тканини людини, а також продукти, що містять клітини та тканини: Підрозділ D - Сучасна практика з тканин. - [діє з 2001-01-19, переглянуто станом на 2011-04-01]. - Заголовок 21, Вип. 8. - 66 FR 5466, 19 січня 2001 року.

3. Федеральний закон №717040-6 "Про биомедицинские клеточные продукты", РФ.

4. Nagori C.B. та ін. Регенерація ендометрію з використанням аутологічних стовбурових клітин дорослих з подальшим зачаттям шляхом запліднення *in vitro* у пацієнта важкого синдрому Ашермана. *J Hum Reprod Sci.*, 2011, 4 (1): 43–48. doi: 10.4103 / 0974-1208.82360.

5. Гарретт С.Е., Хілі Д.Л. Генерація сприйнятливого ендометрію при синдромі Ашермана. *J Hum Reprod Sci.* 2011, 4 (1): 49–52.

6. Патент США 9498498, 22.11.2016. Мезенхімальні стовбурові клітини жирової тканини та методи використання для лікування або гальмування маткових порушень / Керкіс І.; ТОВ "Авіта Інтернаціонал" (Тортола, В.Г.).

7. Патент Російської Федерації RU №2515475, 10.05.2014. "Способи стимуляції утворення децидуальної оболонки ендометрія в експерименті".

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Біомедичний клітинний продукт для відновлення структури, функції і рецептивності ендометрія, який характеризується тим, що він містить аутологічні або алогенні стовбурові/прогеніторні/диференційовані клітини ендометрія людини (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендотеліальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня, їх комбінації в різних пропорціях) і має вигляд моношару або багатoshарових клітинних пластів, або тривимірних клітинних сфероїдів, або гібридних структур, і призначений для клінічного застосування з метою відновлення/створення де ново функціонального і рецептивного ендометрія у людини.

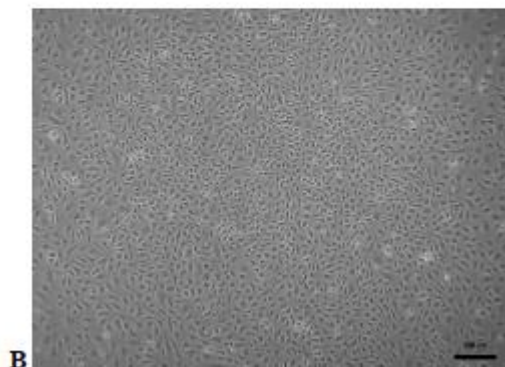
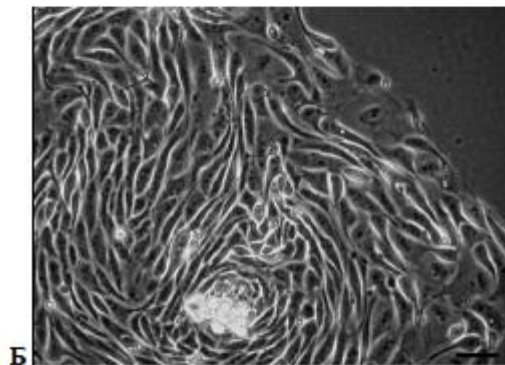
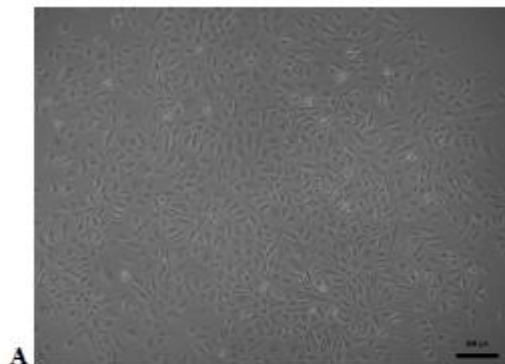
2. Біомедичний клітинний продукт за п. 1, який створений/зроблений з різних типів стовбурових/прогеніторних/диференційованих ендометріальних клітин (ендометріальні епітеліальні клітини, ендометріальні мезенхімальні клітини, ендотеліальні клітини, ендометріальні клітини-похідні нервового гребеня) окремо або в комбінації (від одного клітинного типу до всіх чотирьох перерахованих вище клітинних типів в складі БМКП, в різних співвідношеннях, наприклад - від 1:1:1:1 до 10:5:5:1 і т. д.).

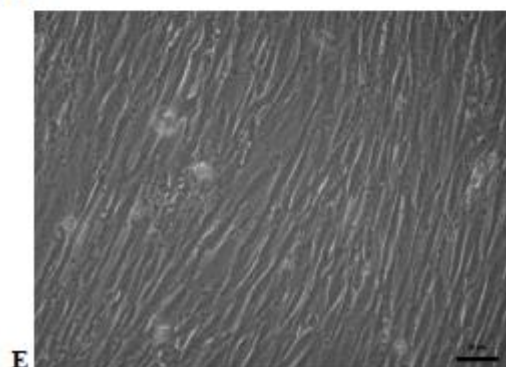
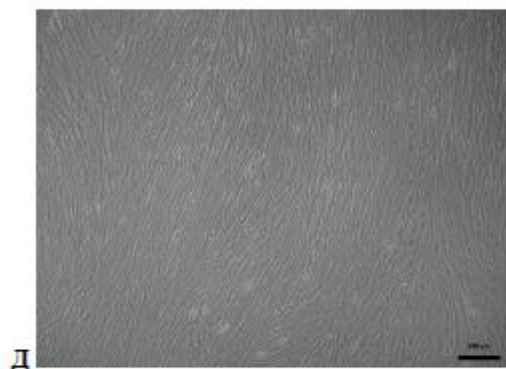
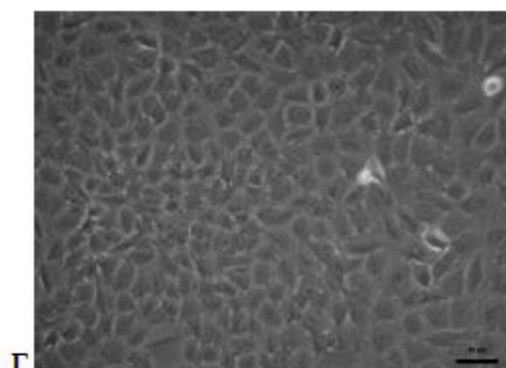
3. Біомедичний клітинний продукт за пп. 1, 2, клітини якого попередньо ізольовані методами ферментативної або механічної ізоляції або за допомогою комбінації методів ферментативної і механічної ізоляції, з або без подальшої селекції певних типів клітин відповідними методами, а саме за допомогою імуномагнітної сепарації, сортування з використанням проточного цитофлюориметра-сортера.

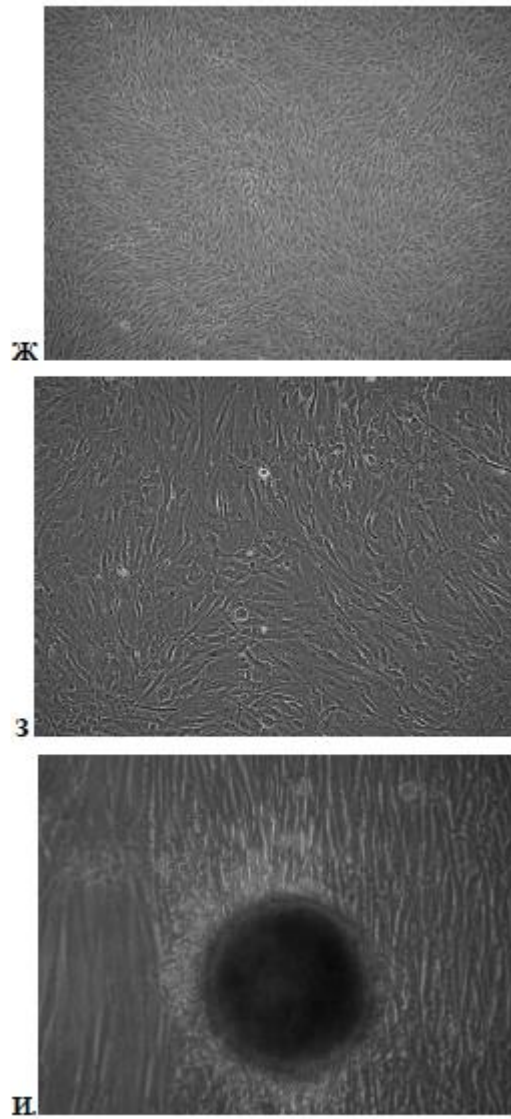
4. Біомедичний клітинний продукт за пп. 1-3, клітини якого отримані з біоптату ендометрія або іншого тканинного біоптата (а також з периферичної або менструальної крові), або отримані з плюрипотентних стовбурових клітин, або отримані шляхом репрограмування інших типів клітин в індуковані плюрипотентні стовбурові клітини з подальшим спрямованим диференціюванням в ендометріальні клітини, або отримані прямою конверсією (трансдиференціювання) інших типів клітин.

5. Біомедичний клітинний продукт за пп. 1-4, клітини якого культивовані для експансії (мультиплікації) *in vitro* в ростовому середовищі з додаванням як мітогенної добавки 1-20 % аутологічної, алогенної або ксеногенної сироватки крові, або 1-20 % аутологічного, алогенного або ксеногенного лізату тромбоцитів, або 1-20 % аутологічної, алогенної або ксеногенної плазми крові з гепарином або іншими антикоагулянтами, з додаванням (або без) синтетичних гормонів, рекомбінантних факторів росту/цитокінів/хемокінів/Морфогенія, малих молекул.

6. Біомедичний клітинний продукт за пп. 1-5, клітини якого перед застосуванням оброблені *in vitro/ex vivo* факторами зростання, цитокінами, хемокінами, гормонами, малими молекулами або фізичними методами (ультразвук, електромагнітні поля, лазер і т. д.), або піддані гіпоксії, або іншому впливу хімічними речовинами (наприклад перекисом водню) для спрямованої зміни їх властивостей (диференціювання, дедиференціювання, модифікація секретома, підвищення стійкості до гіпоксії), або для створення на їх основі тривимірних структур.
7. Біомедичний клітинний продукт за пп. 1-6, застосування якого для відновлення/створення *de novo* функціонального і рецетивного ендометрія полягає в його гомологічному перенесенні в порожнину матки або внутрітканинній ін'єкції, або інфузії в кровоносні або лімфатичні судини під ультразвуковим контролем, або іншим придатним контролем, за допомогою катетера, зонда, шприца або іншого придатного для цієї мети медичного виробу/інструменту, на початку менструального циклу перед процедурою перенесення ембріонів в ЕКО циклі, виконуваної до кінця менструального циклу.
8. Біомедичний клітинний продукт за пп. 1-7, перед застосуванням якого може бути здійснено нанесення контрольованої мікротравми ендометрія до його базальної мембрани з метою поліпшення адгезії клітин, що переносяться.







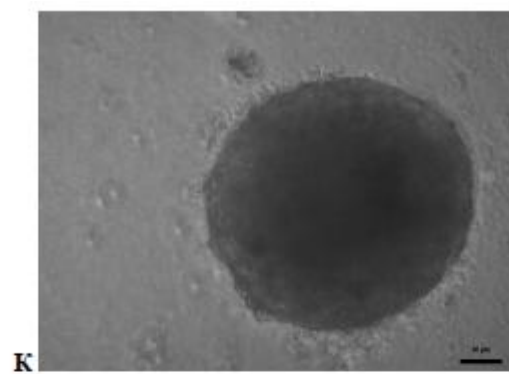
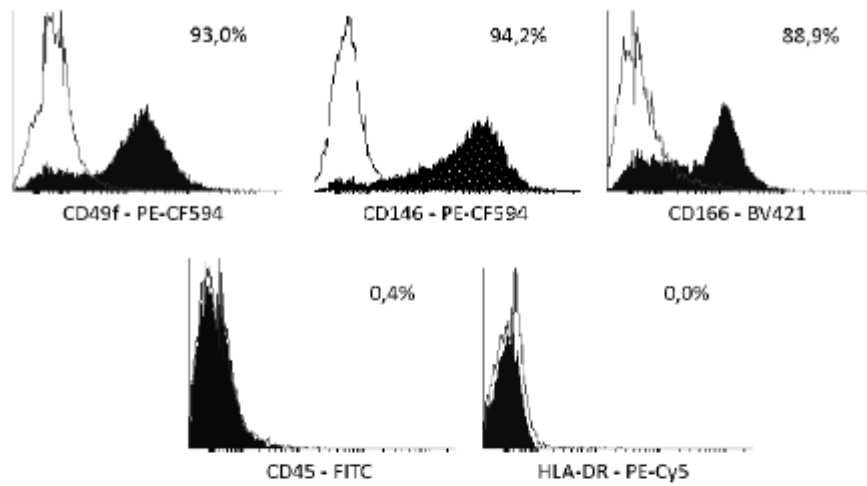
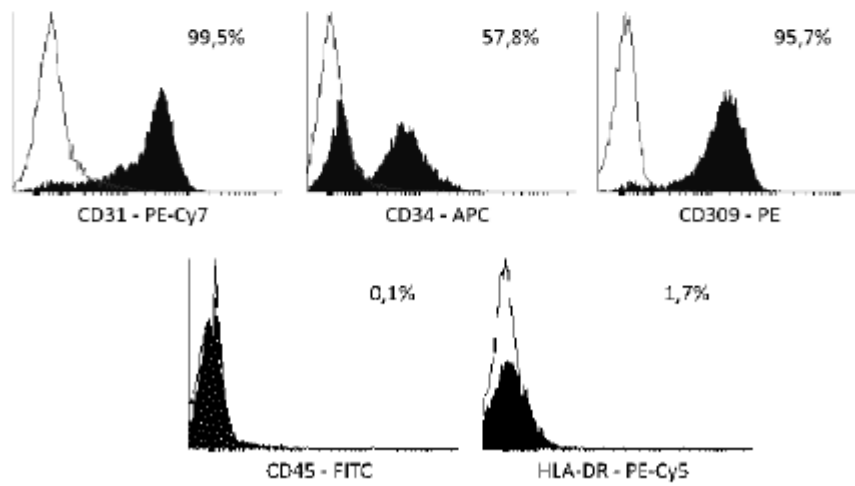


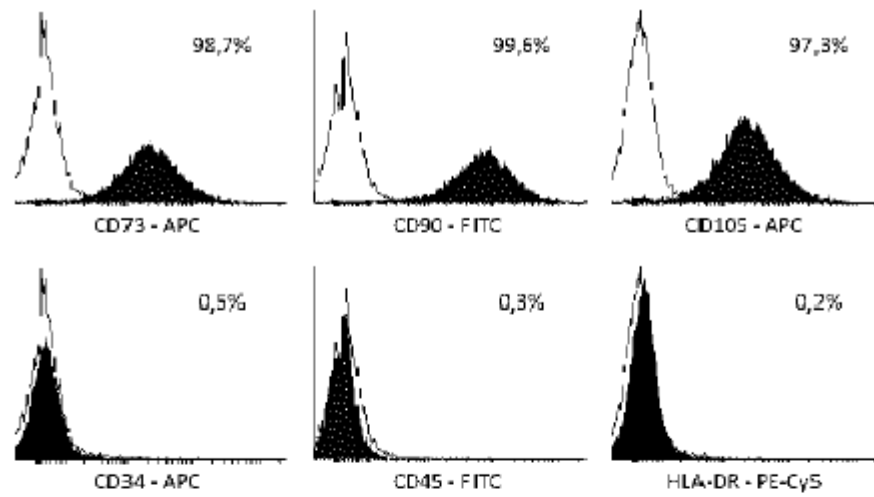
Fig. 1



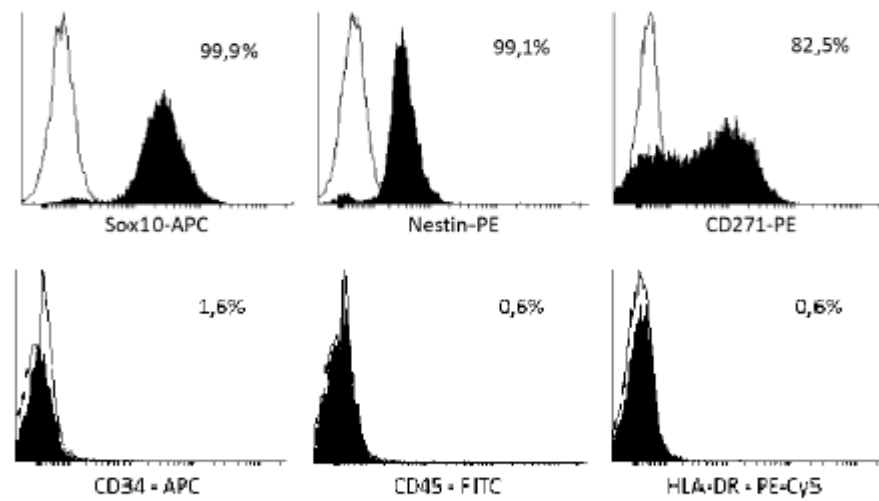
A



B

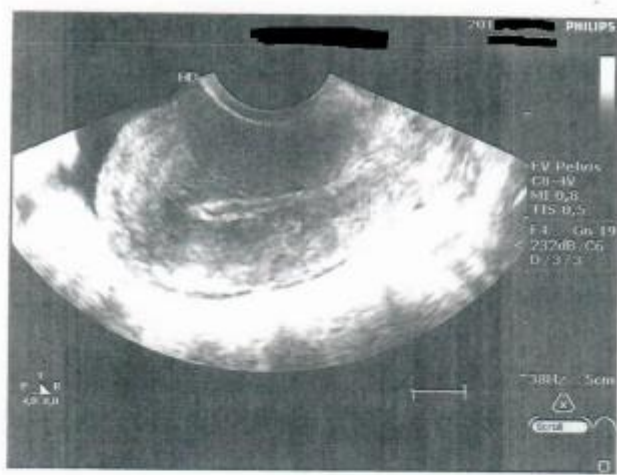


B



F

Fig. 2



А



Б

Fig. 3