



Οργανισμός
Βιομηχανικής
Ιδιοκτησίας (ΟΒΙ)



(21) Αριθμός αίτησης:

GR 20160100572

(12)

ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΥΡΕΣΙΤΕΧΝΙΑΣ (B)

(41) Ημ/νία Δημοσίευσης: **07.05.2018**

(11) Αριθμός Χορήγησης: **1009657**

(22) Ημ/νία Κατάθεσης: **07.11.2016**

(51) Διεθνής Ταξινόμηση (Int. Cl.):

A61K 31/20 ^(2017.01)

A61K 31/202 ^(2017.01)

A61P 15/06 ^(2017.01)

A61K 31/201 ^(2017.01)

A61K 31/23 ^(2017.01)

(43) Ημ/νία Δημοσίευσης της Αίτησης:
29.08.2018 ΕΔΒΙ 5/2018

(45) Ημ/νία Δημοσίευσης της Χορήγησης:
22.01.2020 ΕΔΒΙ 11/2019

(71) Αρχικός (οί) Καταθέτης (ες):
ΓΕΛΑΔΑΚΗ ΒΑΡΒΑΡΑ ΓΕΩΡΓΙΟΥ; Κασταμονής 13, 14121
ΗΡΑΚΛΕΙΟ (ΑΤΤΙΚΗΣ) - GR.

(72) Εφευρέτης (ες):
ΓΕΛΑΔΑΚΗ ΒΑΡΒΑΡΑ ΓΕΩΡΓΙΟΥ; , GR.

(73) Δικαιούχος (οι):

ΓΕΛΑΔΑΚΗ ΒΑΡΒΑΡΑ ΓΕΩΡΓΙΟΥ; Κασταμονής 13, 14121
ΗΡΑΚΛΕΙΟ (ΑΤΤΙΚΗΣ) - GR.

(54) Τίτλος (Ελληνικά)

ΣΥΝΘΕΣΕΙΣ ΓΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΠΟ ΤΟ ΣΤΟΜΑ ΜΕ ΑΝΟΣΟΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΦΥΣΙΚΑ ΦΟΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

(54) Τίτλος (Αγγλικά)

ORAL COMPOSITIONS WITH IMMUNOMODULATING EFFECT ON NATURAL KILLER CELLS

(57) Περίληψη

Συνθέσεις για χορήγηση από το στόμα, που περιλαμβάνουν ως δραστικά συστατικά ένα συνδυασμό λιπαρών οξέων ή/και εστέρες αυτών, για χρήση σε μέθοδο θεραπείας των επαναλαμβανόμενων αυτόματων αποβολών ή επανειλημμένων αποτυχιών εμφύτευσης μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση, σε υπογόνιμες γυναίκες με αυξημένο τον αριθμό ή/και την τοξικότητα των φυσικών φονικών κυττάρων (NK). Οι συνθέσεις αυτές χορηγούνται από το στόμα, για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα.

GR 20160100572 GR 1009657

ΣΥΝΘΕΣΕΙΣ ΓΙΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΠΟ ΤΟ ΣΤΟΜΑ ΜΕ ΑΝΟΣΟΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΣΤΑ ΦΥΣΙΚΑ ΦΟΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Πεδίο της εφεύρεσης

5

Η παρούσα εφεύρεση, αφορά σε συνθέσεις για χορήγηση από το στόμα, για τη χρήση σε μια μέθοδο θεραπείας των επαναλαμβανόμενων αυτόματων αποβολών (RSA) ή επανειλημμένων αποτυχιών εμφύτευσης (RIF), μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF), σε υπογόνιμες γυναίκες με αυξημένο αριθμό ή/και τοξικότητα των (NK) φυσικών φονικών κυττάρων.

10

Ιστορικό της εφεύρεσης

15

Τα φυσικά φονικά κύτταρα (NK) είναι μια συγκεκριμένη ομάδα των μεγάλων κοκκιωδών λεμφοκυττάρων (LGL) που παίζουν σημαντικό ρόλο στην έμφυτη ανοσολογική απόκριση αλλά είναι επίσης σημαντικά στον επηρεασμό των προσαρμοστικών άνοσων αποκρίσεων και στην ανοσολογική ρύθμιση.

20

Σχηματίζουν το 1-2% του λεμφικού ιστού, που βρίσκεται κυρίως στο σπλήνα. Στο περιφερικό αίμα, τα NK κύτταρα αποτελούν το 5-15% του συνόλου των λεμφοκυττάρων και 70-95% των μεγάλων κοκκιωδών λεμφοκυττάρων (LGL). (Stites DP, Terr AJ, Parslow TG. Basic and clinical immunology. 8th edition, Appleton and Lange, Norwalk, Conn, 1994).

25

Τα (NK) κύτταρα εκφράζουν στην επιφάνειά τους μια σειρά δεικτών, τα πιο χαρακτηριστικά των οποίων είναι τα μόρια CD16 και CD56. (Caligiuri M. Human natural killer cells. Blood. 2008;112:461-9). Με βάση την σχετική έκφραση του CD16 και CD56, τα κύτταρα NK μπορούν να υποδιαιρεθούν σε διαφορετικούς υποπληθυσμούς. Οι δύο μεγάλες υποομάδες είναι οι CD56dim CD16bright (χαμηλή έκφραση του CD56, υψηλή έκφραση του CD16), και CD56bright CD16dim / - (υψηλή έκφραση του CD56, χαμηλή ή καθόλου έκφραση του CD16) κύτταρα CD56dim CD16bright, οι οποίες αντιπροσωπεύουν τουλάχιστον το 90% του συνόλου των περιφερικών NK κυττάρων του αίματος και έχουν κυτταροτοξική λειτουργία. Κατά την ενεργοποίησή τους, απελευθερώνουν περφορίνη και granzymes από τους κόκκους τους, ενώ κινούνται προς τις θέσεις φλεγμονής σε απόκριση στις χημειοκίνες που απελευθερώνονται κατά τη διάρκεια της φλεγμονής από τα ενδοθηλιακά και έμφυτα κύτταρα του ανοσοποιητικού. (Moretta A, Marcenaro E, Parolini S, Ferlazzo G, Moretta L. NK cells at the interface between

35

innate and adaptive immunity. *Cell Death Differ* 2008;15:226-33).

Τα CD56bright CD16dim / - κύτταρα αποτελούν την πλειοψηφία των κυττάρων NK στους δευτερογενείς λεμφοειδείς ιστούς, είναι μόνο ασθενώς τοξικά πριν από την ενεργοποίηση τους, αλλά με την επίδραση των κυτοκινών, παράγουν αμέσως μεγάλες ποσότητες INF-γ και μπορεί να έχουν ανοσορυθμιστικές ιδιότητες. (Poli A, Michel T, Theresine M, Andres E, Hentges F, Zimmer J, CD56bright natural killer (NK) cells: an important NK cell subset. *Immunology* 2009 Apr;126(4):458-65).

Τα κύτταρα αυτά αποτελούν το μεγαλύτερο πληθυσμό των λευκοκυττάρων του ενδομητρίου (CD56 aGL: ενδομητριακά κοκκιόκυτταρα), ενδεχομένως μετά από τοπική διαφοροποίηση. (Hiby SE1, King A, Sharkey AM, Loke YW, Human uterine NK cells have a similar repertoire of killer inhibitory and activatory receptors to those found in blood, as demonstrated by RT-PCR and sequencing, *Mol Immunol.* 1997 Apr;34(5):419-30).

15 NK-like κύτταρα, (CD56bright CD16dim / -), είναι ο κυρίαρχος πληθυσμός του φθαρτού από τα πρώτα στάδια της εγκυμοσύνης μέχρι και το πρώτο τρίμηνο. Υπάρχουν στοιχεία ότι ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση τους είναι σε συγχρονισμό με την εκκριτική φάση του έμμηνου κύκλου, όταν τα οιστρογόνα και η προγεστερόνη προετοιμάζουν το ενδομήτριο για μια ενδεχόμενη εγκυμοσύνη. 20 Κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης, τα στρωματικά λευκοκύτταρα μήτρας αυξάνουν υψηλά (25% από 5%), ως αποτέλεσμα της κυτταρικής εισροής των NK από το αίμα ή από άλλους ιστούς ή από επαναπρογραμματισμό και διαφοροποίηση των κυττάρων του ενδομητρίου αποενδομητρικά κύτταρα σε 25 κύτταρα (NK). (Gellersen B, Brosens IA, Brosens JJ. Decidualization of the human endometrium: mechanisms, functions, and clinical perspectives. *Semin Reprod Med* 2007; 25:445-53. Santoni A, Carlino C, Gismondi A. Uterine NK cell development, migration and function. *Reprod Biomed Online* 2008; 16:202-10). Εάν προκύψει εγκυμοσύνη, τα NK-like κύτταρα αυξάνονται ραγδαία και διανέμονται 30 ευρέως σε όλο φθαρτό που βρίσκεται σε άμεση γειτνίαση με την εξωλαχνωτή τροφοβλάστη. (King A. Uterine leukocytes and decidualization. *Hum Reprod Update* 2000; 6:28-36).

Λόγω της αυξημένης παρουσίας τους και την άμεση επαφή με την εισβολή της τροφοβλάστης, έχουν θεωρηθεί ως σημαντικά για τον καθορισμό της φυσιολογικής 35 εγκυμοσύνης.

- Υπάρχουν ενδείξεις ότι, όταν συμπίπτουν με την εμφύτευση της βλαστοκύστης και τη φθαρτοποίηση, τα NK κύτταρα του φθαρτού ενεργοποιούνται, παράγουν IFN-γ, περφορίνη και άλλα μόρια, περιλαμβανομένων αγγειογενετικών παραγόντων, έτσι ώστε να μπορούν να ελέγχουν την τροφοβλάστη εισβολής μέσω της κυτταροτοξική δράση τους, καθώς επίσης να υποκινούν την αστάθεια αγγείων αναδιαμόρφωνοντας τις αρτηρίες του φθαρτού για να αυξηθεί η παροχή αίματος στο εμβryo-πλακουντική μονάδα. (Ashkar AA, Di Santo JP, Croy BA. Interferon gamma contributes to initiation of uterine vascular modification, decidual integrity, and uterine natural killer cell maturation during normal murine pregnancy. *J Exp Med* 2000;192:259-70). Επιπλέον, τα NK κύτταρα του φθαρτού μπορεί να εμπλέκονται στην ανοσορύθμιτική μεσολάβηση των κυτοκινών της μητρικής ανοσολογικής απόκρισης, παράγοντας κυτοκίνες τύπου Th2 και αυξητικούς παράγοντες, που οδηγούν σε αύξηση του πλακούντα και τοπική ανοσοκαταστολή και ανοσορύθμιση. (Clark D, Arck PC, Jallili R, et al. Psycho-Neuro-Cytokine/Endocrine pathways in immunoregulation during pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1996;35:330-7 Chaouat G, Tranchot Diallo J, Volumenije JL, et al. Immune suppression and Th1/Th2 balance in pregnancy revisited: A (very) personal tribute to Tom Wegmann. *Am J Reprod Immunol* 1997;37:427-34).
- Τα NK κύτταρα του φθαρτού φαίνεται να είναι ο κύριος πληθυσμός των κυττάρων που εμπλέκονται σε υποθέσεις των λεγόμενων αλλοάνοσων αποβολών, όπου το έμβryo αναγνωρίζεται ως ξένο και "απορρίπτεται" από τη μητέρα. (Labarrere CA. Allogeneic recognition and rejection reactions in the placenta. *Am J Reprod Immunol* 1989;21:94-9 Stern JJ, Coulam CB: Current status of immunologic recurrent pregnancy loss. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1993;5:252-9). Κάτω από την επίδραση των κυτοκινών Th1 τύπου, διεγείρονται για να γίνουν κλασικά NK κύτταρα που εκφράζουν CD16 (CD56dim CD16bright), τα οποία μπορούν να βλάψουν την τροφοβλάστη είτε άμεσα με την απελευθέρωση κυταρολυτικών ουσιών είτε έμμεσα με την παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών. (King A, Wheeler R, Carter NP, et al. The response of human decidual leukocytes to IL-2. *Cell Immunol* 1992;141:409-42).
- Κλινικές μελέτες έχουν αποδείξει ότι οι γυναίκες που έχουν την τάση να αποβάλουν έχουν αυξημένους αριθμούς κυττάρων NK του συμβατικού τύπου CD3-CD56 + CD16 + στη μήτρα, (Vassiliadou N, Bulmer JN: Immunohistochemical evidence for increased numbers of 'classic' CD57+ natural

- killer cells in the endometrium of women suffering spontaneous early pregnancy loss. Hum Reprod 1996;11:1569-74 Kwak JY, Beer AE, Kim SH, et al. Immunopathology of the implantation site utilizing monoclonal antibodies to natural killer cells in women with recurrent pregnancy losses. Am J Reprod Immunol 1999;41:91-8), καθώς και αυξημένα υποσύνολα των NK κυττάρων στο αίμα και/ή τοξικότητα των NK κυττάρων, τα οποία έχουν όλα έχουν συσχετιστεί με τις αποβολές των χρωμοσωμικά υγιών εμβρύων. (Coulam CB, Goodman C, Roussev RG, et al. Systemic CD56+ cells can predict pregnancy outcome. Am J Reprod Immunol 1995;33:40-6 Aoki K, Kajiura S, Matsumoto Y, et al. Preconceptual natural killer cell activity as a predictor of miscarriage. Lancet 1995;345:1340-2).

- Λόγω των παραπάνω δεδομένων, ο αυξημένος αριθμός και/ή η τοξικότητα των περιφερικών κυττάρων NK στο αίμα (CD56bright CD16dim / -) χρησιμοποιούνται στην πράξη για τη διάγνωση των αλλοάνοσων αποβολών και ως δείκτες για την επιλογή των γυναικών για ανοσοθεραπεία (Coulam CB, Goodman C, Roussev RG, et al. Systemic CD56+ cells can predict pregnancy outcome. Am J Reprod Immunol 1995;33:40-6 Aoki K, Kajiura S, Matsumoto Y, et al. Preconceptual natural killer cell activity as a predictor of miscarriage. Lancet 1995;345:1340-2).
- Κλασικά, οι κύριες θεραπείες για να μειώσουν την καταστροφική ενεργοποίηση κυττάρων NK και να αποτρεπτούν οι αποβολές ή/και RIF είναι η ενεργός ανοσοποίηση των γυναικών με τη χρήση πατρικών λεμφοκυττάρων ή λεμφοκυττάρων τρίτων Gafter U, Sredni B, Segal J, Kalechman Y. Suppressed cell-mediated immunity and monocyte and natural killer cell activity following allogeneic immunization of women with spontaneous recurrent abortion. J Clin Immunol 1997;17:408-19)), και η παθητική ανοσοποίηση υπό μορφή ενδοφλέβιας χορήγησης της ανοσοσφαιρίνης Γ (IVIg) (Ruiz JE, Kwak JY, Baum L, et al. Intravenous immunoglobulin inhibits natural killer cell activity in vivo in women with recurrent spontaneous abortion. Am J Reprod Immunol 1996;35:370-5). Μερικές γνωστές παρενέργειες ή ανεπιθύμητες ενέργειες της Ενδοφλέβιας ανοσοσφαιρίνη είναι: Άσηπτη μηνιγγίτιδα, νεφρική ανεπάρκεια, θρομβοεμβολή, αιματολυτικές αντιδράσεις, αναφυλακτικές αντιδράσεις, νόσο των πνευμόνων, εντερίτιδα, δερματολογικές διαταραχές και λοιμώδη νοσήματα (Stiehm, 2013).
- Μια εναλλακτική θεραπεία που προτείνεται κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών, για την καταστολή της λειτουργικής τοξικότητας των NK κυττατών, είναι η

ενδοφλέβια χορήγηση γαλακτωμάτων λίπους (ex, Intralipid®) που περιλαμβάνει καθαρό έλαιο σόγιας, καθαρό φωσφολιπίδιο αυγού, άνυδρη γλυκερίνη και νερό για έγχυση, η οποία συνήθως χρησιμοποιείται ως πηγή ενέργειας και απαραίτητων λιπαρών οξέων σε ασθενείς με θρεπτικές ή άλλες διαταραχές που απαιτούν 5 παρεντερική διατροφή (Natural killer cell functional activity suppression by intravenous immunoglobulin, Intralipid and soluble human leukocyte antigen-G. Am J Reprod Immunol 2007;57:262-9, Meng L, Lin J, Chen L, Wang Z, Liu M, Liu Y, Chen X, Zhu L). Η θεραπεία με Intralipid® μειώνει την τοξικότητα των περιφερικών (NK) κυττάρων του αίματος, αλλά δεν μειώνει τον αριθμό των περιφερικών (NK) 10 κυττάρων του αίματος.

Η ενδοφλέβια έγχυση των Intralipid® μπορεί να προκαλέσει διάφορες παρενέργειες όπως πόνο της ουροδόχου κύστης, αιματηρά ή θολά ούρα, ρίγη, δυσκολία ούρησης- κάψιμο, ή επώδυνη ούρηση, πυρετό, συχνή ανάγκη για ούρηση, πόνους 15 χαμηλά στην πλάτη ή στο πλάι, πονόλαιμο και έμετο. Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι η ενδοφλέβια χορήγηση Intralipid® μπορεί να προκαλέσει ηπατομεγαλία, ίκτερο, χολόσταση, σπληνομεγαλία, θρομβοκυτταροπενία, λευκοπενία και σύνδρομο υπερφόρτωσης λίπους (<1% σε κλινικές δοκιμές) (FDA, 2007).

20 Τόσο ο αυξημένος αριθμός όσο και η αυξημένη τοξικότητα των περιφερικών NK κυττάρων αίματος μπορούν να προκαλέσουν αυτόματες επαναλαμβανόμενες αποβολές (Am J Reprod Immunol. 2007 Nov;58(5):447-59. Decline in number of elevated blood CD3(+) CD56(+) NKT cells in response to intravenous immunoglobulin treatment correlates with successful pregnancy, van den Heuvel 25 MJ1, Peralta CG, Hatta K, Han VK, Clark DA; An Increased NK-cell percentage 5 days after the pregnancy termination could be a marker of immune aetiology of miscarriage, as the probability of an aborter with NK >12% to have an immune-mediated abortion is almost 90%. Am J Reprod Immunol. 2008 Apr;59(4):306-15. doi: 10.1111/j.1600-0897.2007.00547.x. Epub 2008 Feb 21).

30 Έχει αποδειχθεί ότι η μέτρηση των NK κυττάρων του περιφερικού αίματος κατά τη στιγμή της αποβολής είναι πολύτιμη και λόγω της σημαντικού ρόλου του αυξημένου αριθμού των NK κυττάρων. (Paparistidis N1, Papadopoulou C, Chioti A, Papaioannou D, Tsekoura C, Keramitsoglou T, Kontopoulou-Antonopoulou V, 35 Agapitos E, Balafoutas C, Varla-Leftherioti M).

- Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι η μείωση του περιφερικού αριθμού και της τοξικότητας των κυττάρων NK, οδηγεί σε σημαντική βελτίωση του ποσοστού γεννήσεων που αυξάνεται σε πολύ υψηλά επίπεδα. Am J Reprod Immunol. 2006 Mar;55(3):232-9; High levels of peripheral blood NK cells in women suffering from recurrent spontaneous abortion are reverted from high-dose intravenous immunoglobulins (Perricone R1, Di Muzio G, Perricone C, Giacomelli R, De Nardo D, Fontana L, De Carolis C. Am J Reprod Immunol. 2010 Mar 1;63(3):263-5. doi: 10.1111/j.1600-0897.2009.00790.x. Epub 2010 Jan 8; CD3-CD56+CD16+ natural killer cells and improvement of pregnancy outcome in IVF/ICSI failure after additional IVIG-treatment. Heilmann L1, Schorsch M, Hahn T. Am J Reprod Immunol. 2007 Apr;57(4):262-9; Natural killer cell functional activity suppression by intravenous immunoglobulin, intralipid and soluble human leukocyte antigen-G.. Roussev RG1, Ng SC, Coulam CB. (Am J Reprod Immunol. 2007 Nov;58(5):447-59; Decline in number of elevated blood CD3(+) CD56(+) NKT cells in response to intravenous immunoglobulin treatment correlates with successful pregnancy. Van den Heuvel MJ1, Peralta CG, Hatta K, Han VK, Clark DA).

Οι προαναφερθείσες θεραπείες εντούτοις, έχουν διάφορα αρνητικά και μειονεκτήματα. Παραδείγματος χάριν, απαιτούν επαναλαμβανόμενες εισαγωγές των ασθενών σε νοσοκομείο καθώς επίσης και μόνιμη παρακολούθηση γιατρού. Επιπλέον, δεδομένου ότι οι ασθενείς νοσηλεύονται, μπορούν να εκτεθούν στις νοσοκομειακά επίκτητες λοιμώξεις. Επιπλέον, αυτές οι μέθοδοι συνδέονται με τους κινδύνους και τις παρενέργειες των επεμβατικών θεραπειών (συμπεριλαμβανομένων απειλητικών για τη ζωή όπως σηψαιμία από ανθρωπίνα παραγόμενα προϊόντα, πήξη του αίματος από τις εγχύσεις λιπαρών γαλακτωμάτων). Επιπλέον, αυτές οι θεραπείες είναι συνδεδεμένες με σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες. Η παρούσα εφεύρεση αντιμετωπίζει αυτά τα θέματα και παρέχει έναν αριθμό πλεονεκτημάτων σε σύγκριση με τις προηγούμενες θεραπείες.

30

Περίληψη της εφεύρεσης

Η παρούσα εφεύρεση περιέχει συνθέσεις για χορήγηση από το στόμα που περιλαμβάνουν ένα συνδυασμό λιπαρών οξέων και/ή εστέρων αυτών, για χρήση από γυναίκες που βιώνουν επαναλαμβανόμενες αποβολές (RSA) ή επανειλημμένες

35

αποτυχίες εμφύτευσης (RIF) στην in vitro γονιμοποίηση (IVF) και έχουν αυξημένο αριθμό και/ή τοξικότητα των περιφερικών NK κυττάρων.

- 5 Η σύνθεση της παρούσας εφεύρεσης περιλαμβάνει ως δραστικά συστατικά ένα συνδυασμό λιπαρών οξέων και/ή εστέρων αυτών, και χορηγούνται σε ορισμένα ποσά και πάνω από ένα ορισμένο χρονικό διάστημα.

- 10 Κατά συνέπεια, η παρούσα εφεύρεση έχει ως στόχο να αποτρέψει την υπογονιμότητα που οφείλεται σε ανοσολογικούς παραγοντες, σε μια πολύ σημαντική ομάδα ζευγαριών που αντιμετωπίζουν σχετικά προβλήματα, τα οποία πέρα που στην οικογενειακή κατάσταση, στερούνται τη δυνατότητα να γεννήσουν ένα παιδί, θα μπορούσε επίσης να έχει σημαντικό κοινωνικό, ψυχολογικό και οικονομικό αντίκτυπο.

15 Λεπτομερής περιγραφή της εφεύρεσης

- Έχει τώρα αναπάντεχα βρεθεί ότι μία από του στόματος σύνθεση που περιλαμβάνει ένα μείγμα από συνδυασμό λιπαρών οξέων και/ή εστέρων αυτών, που χορηγείται σε ορισμένες ποσότητες και πάνω από ένα ορισμένο χρονικό διάστημα μειώνει τον αριθμό και/ή την τοξικότητα των περιφερικών φυσικών φονικών κύτταρων σε γυναίκες που βιώνουν επαναλαμβανόμενες αποβολές (RSA) ή επανειλημμένες αποτυχίες εμφύτευσης (RIF) στην in vitro γονιμοποίηση (IVF) και έχουν αυξημένο αριθμό και/ή τοξικότητα των περιφερικών NK κυττάρων.
- 25 Έτσι, η παρούσα εφεύρεση παρέχει μια σύνθεση για χορήγηση από το στόμα που περιέχει ως δραστικά συστατικά ένα συνδυασμό λιπαρών οξέων και/ή εστέρων αυτών, και χρησιμοποιείται μια μέθοδος για την θεραπεία των επαναλαμβανόμενων αυτόματων αποβολών ή των επαναλαμβανόμενων επανειλημμένων αποτυχιών εμφύτευσης (RIF) στην in vitro γονιμοποίηση (IVF) οι οποίες έχουν πάνω από 12% περιφερικά φονικά κύτταρα στα συνολικά κύτταρα του περιφερικού αίματος ή / και όπου η τοξικότητα των περιφερικών NK κυττάρων του θηλυκού υπό έλεγχο είναι τουλάχιστον παρέχει μια σύνθεση για χορήγηση από το στόμα που περιέχει ως δραστικά συστατικά ένα συνδυασμό λιπαρών οξέων και/ή εστέρων αυτών, και χρησιμοποιείται μια μέθοδος για την θεραπεία των επαναλαμβανόμενων αυτόματων αποβολών ή των επαναλαμβανόμενων επανειλημμένων αποτυχιών εμφύτευσης (RIF) στην in vitro γονιμοποίηση (IVF) οι οποίες έχουν πάνω
- 30
- 35

από 12% περιφερικά φονικά κύτταρα στα συνολικά κύτταρα του περιφερικού αίματος ή / και όπου η τοξικότητα των περιφερικών NK κυττάρων του θηλυκού υπό έλεγχο είναι τουλάχιστον 10% υψηλότερη από τη μέση τοξικότητα του πληθυσμού έλεγχου υγείων γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας

5 χωρίς αναπαραγωγικές αποτυχίες και οι οποίες έχουν γεννήσει τουλάχιστον ένα παιδί, όπου η στοματική σύνθεση χορηγείται για έως 70 μέρες και το συνολικό ποσό των λιπαρών οξέων και των εστέρων αυτών που χορηγείται ανά ημέρα είναι από 0,03g/kg σωματικού βάρους έως 1g/kg σωματικού βάρους, υπολογισμένα ως λιπαρά οξέα.

10

Η παρούσα εφεύρεση επίσης παρέχει μια μέθοδο για την θεραπεία των επαναλαμβανόμενων αυτοματων αποβολών ή των επανειλημμένων αποτυχιών εμφύτευσης (RIF) στην in vitro γονιμοποίηση (IVF) οι οποίες έχουν πάνω από 12% NK κύτταρα περιφερικού αίματος στα συνολικά κύτταρα περιφερικού αίματος ή / και

15 όπου η τοξικότητα των περιφερικών NK των γυναικών που ελεγχονται είναι τουλάχιστον 10% υψηλότερη από τη μέση τοξικότητα του πληθυσμού έλεγχου υγίων γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας χωρίς αναπαραγωγικές αποτυχίες και οι οποίες έχουν γεννήσει τουλάχιστον ένα παιδί, η οποία περιλαμβάνει τη χορήγηση στην γυναίκα την από του στόματος σύνθεση που περιέχει ως δραστικά συστατικά ένα

20 συνδυασμό λιπαρών οξέων ή εστέρες αυτών, όπου η σύνθεση χορηγείται από του στόματος για 15 έως 70 ημέρες και όπου η συνολική ποσότητα των λιπαρών οξέων ή εστέρες αυτών χορηγούνται ανά ημέρα είναι από 0,03 g / kg σωματικού βάρους έως 1 g / kg σωματικού βάρους, που υπολογίζεται ως λιπαρά οξέα.

25

Για να καθορίσουμε την τοξικότητα των NK κυττάρων, διάφορες μέθοδοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Αν και η μέθοδος της απελευθέρωσης ^{51}Cr είναι η κλασική μέθοδος για τον προσδιορισμό τοξικότητας, εναλλακτικές μέθοδοι είναι διαθέσιμες και διάφορες άλλες βρίσκονται σε στάδια ανάπτυξης. Σε εργαστήρια όπου η χρήση ραδιενεργών ισοτόπων δεν είναι επιθυμητή ή επιτρεπτή, ή

30

όταν χρησιμοποιούνται καρκινικά κύτταρα στόχοι τα οποία δεν προσλαμβάνουν το ^{51}Cr , τα συστήματα δοκιμών που χρησιμοποιούν ένζυμα και χρωματομετρική ή φθορισμομετρική βαφή θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν. Σήμερα, η πιο κοινή μέθοδος για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας των κυττάρων NK είναι η κυτταρομετρία ροής, μία μέθοδος που μπορεί να τροποποιηθεί σχετικά με τη χρήση

35

των αντιδραστηρίων της, παρ'όλα αυτά το αποτέλεσμα παραμένει το ίδιο. Σήμερα, η πιο κοινή μέθοδος για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας των κυττάρων NK

- είναι η κυτταρομετρία ροής, μία μέθοδος που μπορεί να τροποποιηθεί σχετικά με τη χρήση των αντιδραστηρίων της, παρ'όλα αυτά το αποτέλεσμα παραμένει το ίδιο. (Determination of natural killer cell function by flow cytometry. Kimberly I.Kane et al, Clinical and diagnostic laboratory immunology, may 1996, p. 295–300; Evaluation of a Flow Cytometry-Based Assay for Natural Killer Cell Activity in Clinical Settings, R. Valiathan et al. 2011 The Authors. Scandinavian Journal of Immunology).

- Ένα άτομο ειδικευμένο στην τεχνική αυτή εκτιμά ότι η τοξικότητα των NK κυττάρων κανονικά ενδέχεται να διακυμαίνεται σε ένα άτομο από τις πολλές πιθανές ανοσολογικές και ενδοκρινικές επιδράσεις στα NK κύτταρο. Ως εκ τούτου, μικρές αλλαγές στην τοξικότητα των NK κυττάρων μπορεί να αναμένονται όταν εξετάζονται επανειλημμένα, υγιή άτομα. Ένας διαφορετικός πληθυσμός ελέγχου θα μπορούσε να δώσει διαφορετικές μέσες τιμές τοξικότητας των NK. Παρόλα αυτά, η παρούσα εφεύρεση εφαρμόζεται σε γυναίκες (human female subjects) οι οποίες έχουν τοξικότητα των περιφερικών NK κυττάρων τουλάχιστον 10% υψηλότερη από τη μέση τοξικότητα ενός πληθυσμού ελέγχου υγείων γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας, χωρίς αναπαραγωγικές αποτυχίες όπως αποβολές ή αποτυχημένες IVFs και που έχουν γεννήσει τουλάχιστον ένα παιδί.

- Σύμφωνα με την παρούσα εφεύρεση ο όρος «επαναλαμβανόμενες αποβολές (RSA)» ορίζεται ως δύο ή περισσότερες αυτόματες απώλειες εγκυμοσύνης πριν από την 20η εβδομάδα κύησης.

- Σύμφωνα με την παρούσα εφεύρεση ο όρος "Επανειλημμένες αποτυχίες εμφύτευσης (RIF)" ορίζεται ως η απουσία εμφύτευσης μετά από δύο επαναλαμβανόμενους ανεπιτυχείς κύκλους εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF), ή ενδοκυτταροπλασματικής έγχυσης σπέρματος (ICSI) ή κύκλους αντικατάστασης κατεψυγμένων έμβρυων.

- Σύμφωνα με την παρούσα εφεύρεση, αυξημένη τοξικότητα NK κυττάρων του περιφερικού αίματος ορίζεται ως κάθε δραστηριότητα θανάτωσης η οποία είναι τουλάχιστον 10% υψηλότερη από τη μέση τοξικότητα ενός πληθυσμού ελέγχου υγίων γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας χωρίς αναπαραγωγικές αποτυχίες, όπως αποβολές ή αποτυχημένες IVFs, και οι οποίες έχουν γεννήσει

τουλάχιστον ένα παιδί.

Ο όρος «θεραπεία των επαναλαμβανόμενων αυτόματων αποβολών ή επανειλημμένων αποτυχιών εμφύτευσης», σημαίνει τη μείωση του κινδύνου αποβολής του ατόμου που υπόκειται στην θεραπεία σε σύγκριση με τον κίνδυνο που θα είχε εκτεθεί εάν δεν είχε θεραπευτεί, όπως επίσης και την βελτίωση της έκβασης της εγκυμοσύνης.

Σύμφωνα με την παρούσα εφεύρεση, ο όρος «λιπαρό οξύ», σημαίνει ένα αλειφατικό μονοκαρβοξυλικό οξύ που έχει μια κορεσμένη ή ακόρεστη αλυσίδα, που συνήθως περιλαμβάνει από 4 έως 28 άτομα άνθρακα.

Σύμφωνα με την παρούσα εφεύρεση, ο όρος "λιπαρό οξύ μακράς αλύσου" σημαίνει ένα λιπαρό οξύ που έχει μία αλειφατική αλυσίδα από 13 ή περισσότερα άτομα άνθρακα.

Σύμφωνα με την παρούσα εφεύρεση, ο όρος «λιπαρό οξύ μέσης αλύσου» σημαίνει ένα λιπαρό οξύ που έχει μία αλειφατική αλυσίδα από 6 έως 12 άτομα άνθρακα.

Σύμφωνα με την παρούσα εφεύρεση, ο όρος "λιπαρό οξύ μικρής αλύσου" σημαίνει ένα λιπαρό οξύ που έχει μία αλειφατική αλυσίδα με λιγότερα από 6 άτομα άνθρακα.

Η σύνθεση της παρούσας εφεύρεσης περιλαμβάνει ένα συνδυασμό λιπαρών οξέων και/ή εστέρες αυτών. Τα λιπαρά οξέα περιλαμβάνουν λιπαρά μικρής αλύσου, μέσης αλύσου ή μακράς αλύσου, κορεσμένα ή ακόρεστα λιπαρά οξέα. Κατά προτίμηση, η σύνθεση της παρούσας εφεύρεσης περιλαμβάνει μακράς αλύσου λιπαρά οξέα ή μακράς αλύσου και μεσαίας αλύσου λιπαρά οξέα και/ή εστέρες αυτών.

Τα παραδείγματα κορεσμένων λιπαρών οξέων μακράς αλύσου περιλαμβάνουν παλμιτικό, στεατικό, μυριστικό και αρχιδικό.

Τα παραδείγματα μονοακόρεστων λιπαρών οξέων μακράς αλύσου περιλαμβάνουν ελαικό, Δοκοσαεξανοϊκό οξύ (DHA)

Εικοσαπεντανοϊκό(ΕΡΑ), παλμιτολεικό, μυριστολειακό και σαπτιενικό οξύ.

Τα παραδείγματα πολυακόρεστων λιπαρών οξέων
μακράς αλυσού περιλαμβάνουν λινολεικό, α-λινολενικό και γ λινολενικό οξύ.

5

Τα παραδείγματα λιπαρών οξέων μεσαίας
αλυσού περιλαμβάνουν λαυρικό, καπρικό και καπριλικό.

10

Τα παραδείγματα λιπαρών οξέων μικρής αλυσού περιλαμβάνουν βουτανοϊκό, 2-
μεθυλπροπανοϊκό, πεντανοϊκό και 3-μεθυλβουτανοϊκό οξύ.

15

Οι εστέρες των λιπαρών οξέων της σύνθεσης της παρούσας εφεύρεσης είναι
εστέρες των λιπαρών οξέων με τα αλειφατικές αλκοόλες, όπως οι C1-C6
αλκοόλες, γλυκερίδια δηλ. Μονογλυκερίδια, διγλυκερίδια η τριγλυκερίδια,
φωσφολιπίδια, όπως τα φωσφατιδικά οξέα ή φωσφογλυκερίδια, σφινγκολιπίδια,
σακχαρολιπίδια, τα κεριά και τα μίγματα εξ' αυτών. Κατά προτίμηση, οι εστέρες
λιπαρού οξέος είναι μονογλυκερίδια, διγλυκερίδια, η τριγλυκερίδια, φωσφολιπίδια
σφινγκολιπίδια, σακχαρολιπίδια και μίγματα εξ' αυτών. Κατά προτίμηση, οι
εστέρες λιπαρού οξέος είναι μονογλυκερίδια, διγλυκερίδια, η τριγλυκερίδια, και
μίγματα εξ' αυτών.

20

Σύμφωνα με την παρούσα εφεύρεση ο όρος « υπολογισμένα ως λιπαρά οξέα»
σημαίνει ότι, όταν η σύνθεση περιλαμβάνει έναν ή περισσότερους εστέρες
λιπαρού οξέος, τα ποσά τους πρέπει να μετατραπούν σε εκείνα των αντίστοιχων
25 λιπαρών οξέων προκειμένου να καθοριστεί η ποσότητα τους στην σύνθεσης
που πρέπει να χορηγηθεί από του στόματος.

25

Κατά προτίμηση η σύνθεση της παρούσας εφεύρεσης αποτελείται τουλάχιστον από
ένα κορεσμένο, τουλάχιστον ένα μονοακόρεστο και τουλάχιστον ένα πολυακόρεστο
30 λιπαρό οξύ μακράς αλυσού ή/και ένας εστέρας εξ αυτών.

30

Κατά προτίμηση, τουλάχιστον το 50% του βάρους των ενεργών συστατικών στη
σύνθεση της παρούσας εφεύρεσης, που υπολογίζονται ως λιπαρά οξέα, είναι
μακράς αλυσού λιπαρά οξέα ή/και οι εστέρες εξ' αυτών Κατά προτίμηση,
35 τουλάχιστον το 65% του βάρους των ενεργών συστατικών στη σύνθεση της
παρούσας εφεύρεσης, υπολογισμένα ως λιπαρά οξέα, είναι μακράς αλυσού λιπαρά

35

οξέα και/η' εστέρες αυτών.

Ακόμα προτιμότερα, τουλάχιστον 97% του βάρους των ενεργών συστατικών στη σύνθεση της παρούσας εφεύρεσης, υπολογισμένα ως λιπαρά οξέα, είναι
5 μακράς αλύσου λιπαρά οξέα και/η' εστέρες αυτών.

Τα λιπαρά οξέα της σύστασης της παρούσας εφεύρεσης δρούν ως ενδοκυτταρικοί και διακυτταρικοί μεσολαβητές που έχουν διάφορες επιδράσεις στο
10 ανοσοποιητικό και στις φλεγμονώδεις αντιδράσεις, όπου εμπλέκονται τα ΝΚ κύτταρα. Τα λιπαρά οξέα συμμετέχουν μέσω διαφόρων μηχανισμών στην διαμόρφωση του ανοσοποιητικού συστήματος, συμπεριλαμβανομένων (i) τη ρευστότητα της μεμβράνης; (ii) η παραγωγή των υπεροξειδίων των λιπιδίων; (iii) σύνθεση εικοσανοειδών και (iv) επίδραση στην γονιδιακή ρύθμιση. Είναι πιθανό
15 ότι η ανοσοτροποποιήτικη δράση των λιπαρών οξέων λαμβάνει χώρα όχι μόνο μεμονομένα, αλλά και με την συλλογική δράση αυτών των παραγόντων.

Τα συστατικά της παρούσας εφεύρεσης μπορεί να περιέχουν επιπρόσθετα ενεργά συστατικά, όπως βιταμίνες, ιόντα μετάλλων ή αμινοξέα.
20 Όταν αυτά τα ενεργά συστατικά είναι παρόντα, η συνολική ποσοτήτά τους είναι κατά προτίμηση μικρότερη από το 6% της συνολικής ποσότητας των δραστικών συστατικών. Παραδείγματα βιταμινών περιλαμβάνουν οι βιταμίνες Β1, Β2, Β3, Β6, D, μυο-ινοσιτόλη, ινοσιτόλη και φολικό οξύ. Τα ιόντα μετάλλων μπορεί να περιλαμβάνουν για παράδειγμα, σελήνιο, μαγνήσιο, χαλκό, ψευδάργυρο ή
25 μαγγάνιο. Τα αμινοξέα μπορεί να περιλαμβάνουν φυσικά αμινοξέα, όπως L-αργινίνη ή L- γλουταμίνη. Οι βιταμίνες, τα ιόντα μετάλλων ή τα αμινοξέα δεν συμβάλλουν άμεσα στη μείωση του αριθμού και/ή της τοξικής δράσης των ΝΚ κυττάρων, αλλά συμβάλλουν στην ανοσολογική άμυνα του οργανισμού στήριζοντας την φυσική ανοσία, την κυτταρική ανοσία και την παραγωγή αντισωμάτων. Παρ' όλα αυτά
30 υπάρχει η πεποίθηση ότι η στεροειδής ορμόνη 1,25-διυδροξυβιταμίνη D3 {1,25-(OH) 2-Θ3} έχει ανοσοκατασταλτική δράση.

Η παρουσία των βιταμινών στην σύνθεση της παρούσας εφεύρεσης επιδεικνύει ανοσολογική ρύθμιση και ομοιοστατική επίδραση στο περιβάλλον όπου βρίσκονται τα ΝΚ κύτταρα. Ο στόχος είναι να δημιουργηθεί ένα ευνοϊκό περιβάλλον και να
35 συμβάλει στη βελτίωση ολόκληρης της αναπαραγωγικής διαδικασίας, που διαμόρφώνει τη μητρική απάντηση, με την διατήρηση του ανοσοποιητικού

συστήματος σε ισορροπία. Εντούτοις, το αυξημένο επίπεδο βιταμινών μπορεί να ωθήσει το ανοσοποιητικό σύστημα και να αυξήσει την επίδραση των NK κυτταρων. Για αυτο το λόγο όταν υπάρχουν βιταμίνες στην σύνθεση της παρούσας εφεύρεσης, η συνολική τους ποσότητα είναι κατά προτίμηση λιγότερη απο 4% του συνολικού ποσού των ενεργών συστατικών.

Τα συστατικά της παρούσας εφεύρεσης μπορούν να έχουν οποιαδήποτε μορφή κατάλληλη για χορήγηση από το στόμα. Τέτοιες μορφές είναι καλά γνωστές σε ένα πρόσωπο έμπειρο σε αυτή την τεχνική και περιλαμβάνουν υγρές μορφές, όπως διαλύματα από του στόματος, εναιωρήματα ή γαλακτώματα από του στόματος, πηκτές ή στερεές μορφές από του στόματος, όπως δισκία, κάψουλες ή φακελάκια. Τα συστατικά της παρούσας εφεύρεσης μπορούν να χορηγηθούν σαν συμπλήρωμα διατροφής.

Τα συστατικά της παρούσας εφεύρεσης, εκτός από τα δραστικά συστατικά, μπορεί να περιλαμβάνουν ένα ή περισσότερα φαρμακευτικά αποδεκτά έκδοχα καλά γνωστά στην τέχνική αυτή, όπως συνδετικά, αραιωτικά, αποσασθρωτικά, παράγοντες εναιώρησης, λιπαντικά, διαλύτες, γαλακτωματοποιητές, παράγοντες πάχυνσης, ρυθμιστικούς παράγοντες, συντηρητικά, γλυκαντικές ουσίες, χρωστικές, αρωματικές ουσίες και τα παρόμοια.

Οι συνθέσεις μπορούν να παράγονται με μεθόδους καλά γνωστές απο άτομο έμπειρο στην τεχνική αυτή.

Οι συνθέσεις της παρούσας εφεύρεσης χορηγούνται για 15 έως 70 μέρες. Κατά προτίμηση, οι συνθέσεις χορηγούνται για 30 έως 60 μέρες. Κατά μεγαλύτερη προτίμηση, οι συνθέσεις χορηγούνται για 40 έως 50 μέρες. Η πρώτη ημέρα της χορήγησης μπορεί να είναι οποιαδήποτε ημέρα του έμμηνου κύκλου του ατόμου.

Οι συνθέσεις της παρούσας εφεύρεσης μπορούν να χορηγηθούν μία φορά την ημέρα ή περισσότερο από μία φορά ανά ημέρα, π.χ. δύο φορές την ημέρα. Παρ'όλα αυτά, σύμφωνα με την παρούσα εφεύρεση η συνολική ποσότητα των λιπαρών οξέων και οι εστέρες αυτών που χορηγούνται ανά ημέρα είναι από 0,03 g/kg του σωματικού βάρους έως 1 g/kg σωματικού βάρους, υπολογισμένα ως λιπαρά οξέα. Κατά προτίμηση, η συνολική ποσότητα των λιπαρών οξέων και εστέρες αυτών που χορηγούνται ανά ημέρα είναι από 0,10 g/kg του σωματικού

βάρους έως 0,70 g/kg του σωματικού βάρους, υπολογισμένα ως λιπαρά οξέα. Ακόμα προτιμότερα, η συνολική ποσότητα των λιπαρών οξέων και οι εστέρες αυτών που χορηγούνται ανά ημέρα είναι από 0,20 g/kg του σωματικού βάρους έως 0,50 g/kg του σωματικού βάρους, υπολογισμένα ως λιπαρά οξέα.

5

Οι συνθέσεις της παρούσας εφεύρεσης συγκεκριμένα μειώνουν τον αριθμό και/ή την τοξικότητα των περιφερικών NK κυττάρων του αίματος χωρίς συνολική καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος.

- 10 Με την παρούσα εφεύρεση, και η τοξικότητα των NK κυττάρων και το ποσοστό των NK κυττάρων στα συνολικά κύτταρα του περιφερικού αίματος παραμένουν σε χαμηλά επίπεδα για 12-14 εβδομάδες μετά τη διακοπή της θεραπείας, επιτυγχάνοντας μια παρατεταμένη προστασία και πρόληψη των (RSA ή RIF) σε υπογόνιμες γυναίκες που έχουν αυξημένο αριθμό περιφερικών NK κυττάρων του
- 15 αίματος και / ή αυξημένη τοξικότητα των NK κυττάρων του περιφερικού αίματος. Αυτό αντιπροσωπεύει μια μεγάλη βελτίωση σε σχέση ενδοφλέβια χορήγηση του Intralipid®, κατά την οποία η επίδραση του παύει μετά από 6-9 εβδομάδες από την διακοπή της θεραπείας (Acacio B, Ng SC, Coulam CB., Am J Reprod Immunol. 2008 Sep;60(3):258-63. doi: 10.1111/j.1600-0897.2008.00621.x.Duration of intralipid's
- 20 suppressive effect on NK cell's functional activity Rousseau RG). Επιπλέον, η ενδοφλέβια έγχυση του Intralipid® μπορεί να προκαλέσει διάφορες παρενέργειες, όπως αιματηρό πόνο της ουροδόχου κύστης ή θολά ούρα, ρίγη, δύσκολία, κάψιμο, ή επώδυνη ούρηση, πυρετό, συχνή ανάγκη για ούρηση, πόνο χαμηλά στην πλάτη ή στο πλάι, πονόλαιμο και έμετο, ενώ η παρούσα εφεύρεση δεν προκαλεί αυτές τις
- 25 παρενέργειες.

- Σε αντίθεση με τις θεραπείες που χρησιμοποιούνται ήδη, οι οποίες εφαρμόζονται με ενδοφλέβιες ή υποδόριες (λεμφοκύτταρική ανοσοποίηση) εγχύσεις, με την παρούσα εφεύρεση οι συνθέσεις χορηγούνται από το στόμα και η πέψη των συστατικών
- 30 γίνεται μέσω της πεπτικής οδού και ακολουθεί την φυσική διαδικασία κατανάλωσης τροφής και απορρόφησης. Με τον τρόπο αυτό, η θεραπεία των RSA ή RIF γίνεται ευκολότερη και ασφαλέστερη σε σύγκριση με τις προηγούμενες θεραπείες. Επιπλέον, με την παρούσα εφεύρεση δεν υπάρχει ανάγκη για νοσηλεία ή μόνιμη επιτήρηση από γιατρούς και προστατεύει τις γυναίκες από την έκθεση σε
- 35 νοσοκομειακές λοιμώξεις. Επιπλέον, η παρούσα εφεύρεση δεν σχετίζεται με τους κινδύνους και τις παρενέργειες των παρεμβατικών θεραπειών. Επιπλέον, με την

παρούσα εφεύρεση η μείωση του αριθμού και της τοξικότητας των περιφερικών NK κυττάρων του αίματος διαρκεί περισσότερο μετά την διακοπή της θεραπείας και μια παρατεταμένη προστασία επιτυγχάνεται σε σύγκριση με τις προαναφερθείσες θεραπείες.

5

Παραδείγματα

Τα παραδείγματα 1-4 απεικονίζουν το αποτέλεσμα των συνθέσεων της παρούσας εφεύρεσης στην μείωση του αριθμού περιφερικών NK κυττάρων και τη δραστικότητα τους (κυτταροτοξικότητα). Οι συνθέσεις χορηγήθηκαν σε υγιείς γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας (μεταξύ 25 - 46 ετών) που αντιμετωπίζουν RSA ή RIF, που είχαν αυξημένο αριθμό των περιφερικών NK κυττάρων αίματος και αυξημένη τοξικότητα των περιφερικών NK κύτταρα. Τα δείγματα αίματος από όλες τις γυναίκες ελέγχθηκαν κατά την ημέρα μηδέν πριν από την έναρξη της 10 θεραπείας, κατά την ημέρα 45ή και την 70ή ημέρα, ανάλογα με την περίπτωση. Όλοι τους έκαναν έλεγχο ρουτίνας 12 εβδομάδες μετά τη διακοπή της 15 θεραπείας.

Ο προσδιορισμός του ποσοστού των NK κυττάρων και της τοξικότητάς τους διεξήχθη σε δείγματα περιφερικού αίματος των συνολικών λεμφοκυττάρων με 20 κυτταρομετρία ροής χρησιμοποιώντας τεχνικές που περιγράφηκαν προηγουμένως. (Determination of natural killer cell function by flow cytometry. Kimberly I. Kane et al, Clinical and diagnostic laboratory immunology, may 1996, p. 295–300; Evaluation of a Flow Cytometry-Based Assay for Natural Killer Cell Activity in Clinical Settings, R. Valiathan et al. 2011 The Authors. Scandinavian Journal of Immunology).

25 Αυτή η μέθοδος δίνει το ποσοστό των κυττάρων στόχων που θανατώνονται από τα κυτταροτοξικά φυσικά κύτταρα που υπάρχουν στα PBL. Δύο βαφές φθορισμού χρησιμοποιούνται για τη διάκριση μεταξύ τελεστή και κύτταρα στόχους και μεταξύ ζώντων και νεκρών κυττάρων στόχων. Το ένα είναι ένα πράσινο φθορίζον χρώμα, 3,3'-διοκταδεκυλοξακαρβο-κυανινο υπερχλωρικό (DIO) το οποίο χρησιμοποιείται για 30 την επισήμανση των μεμβρανών των K562, μιας ανθρώπινης ερυθρολευχαιμικής καρκινικής κυτταρικής γραμμής που χρησιμοποιείται ως πληθυσμιακός στόχος. Η δεύτερη βαφή το ιωδιούχο προπύδιο (PI), μια αδιαπέραστη μεμβράνη, με κόκκινο φθορίζον χρώμα, το οποίο προστίθεται κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας όταν οι 35 στόχοι κύτταρα μεμβράνες διασπάζονται από τα NK-like κύτταρα. Τα άθικτα κύτταρα-στόχοι που δεν επηρεάστηκαν από τους τελεστές ήταν μονά θετικά (και παρουσίασαν μόνο πράσινο φθορισμό), ενώ οι στόχοι που σκοτώθηκαν από

εκτελεστές που φέραν διαταράγμένες μεμβράνες είναι διπλά θετικά (και παρουσίασαν πράσινο καθώς και κόκκινο φθορισμό). Οι τελεστές και τα κύτταρα στόχοι προστέθηκαν σε σωλήνες για να δημιουργηθεί διαφορετική τελεστή-προς-στόχο αναλογία (E: T), 1: 50, 1:25 και 1: 12,5. Στα ακόλουθα παραδείγματα τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε E: T αναλογίες 50:1.

- 5 Τα δείγματα ελέγχου ήταν υγιείς γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας χωρίς αναπαραγωγικές αποτυχίες, όπως αποβολές ή αποτυχημένες IVFs και οι οποίες έχουν γεννήσει τουλάχιστον ένα παιδί. Με βάση τον υγιή πληθυσμό ελέγχου, μέση τοξικότητα NK ήταν 19% στην 50:1 αναλογία.

- 10 Οι αλλαγές στην τοξικότητα και τον αριθμό των NK κυττάρων από την ημέρα 0 έως και την 70ή ημέρα μετρήθηκαν με την παραπάνω μέθοδο. Κατά τη διάρκεια της χορήγησης των συνθέσεων της εφεύρεσης, το βασικό μέσο ποσοστό του αριθμού και της τοξικότητας των NK κυττάρων μειώθηκε σημαντικά μετά από 45 ημέρες και
- 15 στη συνέχεια μειώθηκε κοντά στα επίπεδα της γραμμής βάσης, μετά από 70 ημέρες. Η επαναλαμβανόμενη μέτρηση μετά την χορήγηση των συνθέσεων από το στόμα έδειξε σημαντική πτώση τόσο στον αριθμό όσο και στην τοξικότητα των NK κυττάρων.

- 20 Στα παρακάτω παραδείγματα, χρησιμοποιούνται οι ακόλουθες συντμήσεις:

ΜΑΛΟ - Μακράς αλύσου λιπαρά οξέα

ΚΛΟ - Κορεσμένα λιπαρά οξέα

ΜΛΟ- Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα

ΠΛΟ - Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα

- 25 ΜΑΛΟ - Μέσαίας αλύσου λιπαρά οξέα.

Παράδειγμα 1

- Μια ομάδα 15 γυναικών υποβλήθηκε σε θεραπεία μία φορά την ημέρα με την
- 30 σύνθεση από το στόμα σε μορφή πόσιμου διαλύματος που περιείχε τα δραστικά συστατικά που φαίνονται στον Πίνακα 1α. Τα λιπαρά οξέα της σύνθεσης είχαν τη μορφή γλυκεριδίων. Η ποσότητα της χορηγούμενης σύνθεσης ήταν τέτοια ώστε η συνολική ποσότητα των λιπαρών οξέων που χορηγήθηκε ανά ημέρα ήταν 0,25g/kg σωματικού βάρους. Δείγματα αίματος συλλέχθηκαν και ελέγχθηκαν εκ
- 35 των προτέρων και 45 ημέρες μετά την έναρξη της θεραπείας.

Πίνακα 1α.

% Ενεργά συστατικά			
ΜΑΛΟ 97,64 %	ΚΛΟ 14,74 %	Μυριστικό οξύ	0,20%
		Παλμιτικό οξύ	4,50%
		Στεαρικό οξύ	10,04%
	ΜΛΟ 23,39 %	Ολεικό οξύ	21,39%
		Δοκοσαεξανοϊκό οξύ (DHA)	0,50%
		Εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA)	1,50%
		Λινολεϊκό οξύ	49,27%
	ΠΛΟ 59,51 %	γ-λινολενικό οξύ	0,50%
		α-λινολενικό	9,74%
ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ 1,64 %	B1		0,02%
	B2		0,02%
	B3		0,02%
	B6		0,01%
	D3 (15 µg-600 IU)		0,48%
	Φολικό οξύ		0,03%
	Μυοινοσιτόλη		1,06%
ΙΟΝΤΑ ΜΕΤΑΛΛΩΝ 0,10 %	Χαλκός		0,01%
	Ψευδάργυρος		0,02%
	Μαγνήσιο		0,06%
	Μανγγάνιο		0,01%
ΑΜΙΝΟΞΕΑ	L-Γλουταμίνη		0,62%

- 5 Τα αποτελέσματα της μέτρησης του αριθμού και της τοξικότητας των ΝΚ κυττάρων του περιφερικού αίματος φαίνονται στον Πίνακα 1β.

Πίνακα 1β : (45 μέρες)

Άτομα 15	Ημέρα 0	Ημέρα 45	Μεση Πτώση %	Ημέρα 0	Ημέρα 45	Μεση Πτώση τοξικότητας %
	ΝΚ% αριθμός	ΝΚ% αριθμός		ΝΚ % τοξικότητα	ΝΚ% τοξικότητα	
	20,25	13,59		46,26	18,54	
			31			59,92

- 10 Το μέσο ποσοστό των περιφερικών ΝΚ κυττάρων αίματος σε συνολικά κύτταρα περιφερικού αίματος ήταν, 20,25 την ημέρα 0 πριν τη θεραπεία και 13,59 κατά την ημέρα 45 μετά την έναρξη της θεραπείας. Αυτή η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική (p value <0,0001).

Η μέση τοξικότητα των NK κυττάρων του περιφερικού αίματος σε αναλογία 50:1 ήταν 46,26 την ημέρα 0 πριν από τη θεραπεία και 18,54 την 45η ημέρα μετά την έναρξη της θεραπείας. Αυτή η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική (p value 0,0001).

- 5 Πέντε γυναίκες από το παραπάνω γκρούπ συνέχισαν την θεραπεία για συνολικά 70 ημέρες. Ελέγχθηκαν την 70η ημέρα ο αριθμός των περιφερικών NK κυττάρων και η τοξικότητά τους. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 1γ.

Πίνακας 1γ: (70ημέρες)

Ατομα	Ημέρα 0	Ημέρα 70	Μεση Πτώση %	Ημέρα 0	Ημέρα 70	Μεση Πτώση τοξικότητας %
	NK% μεσος αριθμός	NK% μεσος αριθμός		NK% Μέση τοξικότητα	NK% Μέση τοξικότητα	
5	18,42	11,45	37,41	46,54	13,60	70,43

10

- 15 Το μέσο ποσοστό των περιφερικών NK κυττάρων αίματος σε συνολικά κύτταρα περιφερικού αίματος ήταν 18,42 την ημέρα 0 πριν τη θεραπεία και 11,45 κατά την ημέρα 45 μετά την έναρξη της θεραπείας. Αυτή η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική (p value <0,0001).

- 20 Η μέση τοξικότητα των περιφερικών NK κυττάρων αίματος σε 50: 1 αναλογία ήταν 46,54 την ημέρα 0 πριν από τη θεραπεία και 13,60 την 45η μέρα μετά την έναρξη της θεραπείας. Αυτή η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική (p value <0,0001).
- Όλες οι γυναίκες που πήραν αυτή την θεραπεία είναι σήμερα έγκυες.

Παράδειγμα 2

- 25 Μια ομάδα 6 γυναικών ελέγχθηκε την ημέρα 0 και την ημέρα 70 για τον αριθμό και την τοξικότητα των NK κυττάρων, μετά την χορήγηση από το στόμα της σύνθεσης 2, μία φορά την ημέρα. Η σύνθεση ήταν σε μορφή πόσιμου διαλύματος και περιείχε τα δραστικά συστατικά που φαίνονται στον Πίνακα 2α. Τα λιπαρά οξέα της σύνθεσης είχαν τη μορφή γλυκεριδίων. Η ποσότητα της χορηγούμενης σύνθεσης ήταν τέτοια, ώστε η συνολική ποσότητα των λιπαρών οξέων που
- 30 χορηγήθηκε ανά ημέρα ήταν 0,25g/kg σωματικού βάρους.

Πίνακας 2α.

% Ενεργά συστατικά			
ΜΑΛΟ 97,84 %	ΚΛΟ 11,29 %	Μυριστικό οξύ	3,05%
		Παλμιτικό οξύ	6,84%
		Στεαρικό οξύ	1,40%
	ΜΑΛΟ 35,85 %	Ολεικό οξύ	28,85%
		Δοκοσαεξανοϊκό οξύ (DHA)	1,80%
		Εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA)	5,20%
	ΠΑΛΟ 50,70 %	Λινολεϊκό οξύ	29,28%
		γ-Λινολενικό οξύ	18,69%
		α-Λινολενικό	2,73%
ΜΑΛΟ 2%		Καπρικό οξύ	0,50%
		Καπριλικό οξύ	0,50%
		Λαυρικό οξύ	1,00%
ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ 0,16 %		D3	0,10%
		Φολικό οξύ	0,03%
		Μυοινοσιτόλη	0,03%

Τα αποτελέσματα του αριθμού και της τοξικότητας των NK κυττάρων του περιφερικού αίματος φαίνονται στον Πίνακα 2β.

5

Πίνακα 2β

Άτομα 6	Ημέρα 0	Ημέρα 70	Μεση Πτώση %	Ημέρα 0	Ημέρα 70	Μεση Πτώση τοξικότητας %
	NK% μεσος αριθμός	NK% μεσος αριθμός		NK% Μέση τοξικότητα	NK% Μέση τοξικότητα	
	18,45	12,80		43,32	19	
			30,62			56,14

Το μέσο ποσοστό των περιφερικών NK κυττάρων αίματος σε συνολικά κύτταρα περιφερικού αίματος ήταν 18,45 την ημέρα 0 πριν τη θεραπεία και 12,80 κατά την ημέρα 45 μετά την έναρξη της θεραπείας. Αυτή η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική (p value <0,001).

Η μέση τοξικότητα των NK κυττάρων του περιφερικού αίματος σε αναλογία 50: 1 ήταν 43,32 την ημέρα 0 πριν από τη θεραπεία και 19 την 70η ημέρα μετά την έναρξη της θεραπείας. Αυτή η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική (p value 0,001).

Παράδειγμα 3

Σε αυτήν την ομάδα, πάρθηκαν δείγματα αίματος 6 γυναικών πριν και την 45η ημέρα μετά την χορήγηση από το στόμα της σύνθεσης 3 μία φορά την ημέρα. Η σύνθεση ήταν σε μορφή πόσιμου διαλύματος και περιείχε τα δραστικά συστατικά που φαίνονται στον Πίνακα 3α. Τα λιπαρά οξέα της σύνθεσης είχαν τη μορφή γλυκεριδίων. Η ποσότητα της χορηγούμενης σύνθεσης ήταν τέτοια, ώστε η συνολική ποσότητα των λιπαρών οξέων που χορηγήθηκε ανά ημέρα ήταν, 0,25g/kg σωματικού βάρους.

Πίνακας 3α.

% Ενεργά συστατικά			
ΜΑΛΟ 100 %	ΚΛΟ 25%	Μυριστικό οξύ	10%
		Παλμιτικό οξύ	10%
		Στεαρικό οξύ	5%
	ΜΑΛΟ 50 %	ΟΛεικό οξύ	22%
		Δοκοσαεξανοϊκό οξύ (DHA)	6%
		Εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA)	19%
		Μυριστολειακό οξύ	0,2%
		Παλμιτολειακό οξύ	2,6%
		Σαπινενικό οξύ	0,2%
		Λινολειακό οξύ	12%
	ΠΑΛΟ 25%	γ-λινολενικό οξύ	5%
		α-λινολενικό οξύ	8%

Τα αποτελέσματα του αριθμού και την κυταρροτοξικότητας των NK κυττάρων του περιφερικού αίματος φαίνονται στον Πίνακα 3β.

Πίνακας 3β

Ατομα 6	Ημέρα 0	Ημέρα 45	Μέση Πτώση %	Ημέρα 0	Ημέρα 70	NK% Μέση πτώση τοξικότητας
	NK% μεσος αριθμός	NK% μεσος αριθμός		NK% Μέση τοξικότητα	NK% Μέση τοξικότητα	
	17,84	12,40		36	16,6	
			30,48			53,88

Το μέσο ποσοστό των περιφερικών NK κυττάρων του αίματος στα συνολικά κύτταρα περιφερικού αίματος ήταν 17,84 την ημέρα 0 πριν τη θεραπεία και 12,40

κατά την ημέρα 45 μετά την έναρξη της θεραπείας. Αυτή η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική (p value $<0,001$).

5 Η μέση τοξικότητα των ΝΚ κυττάρων του περιφερικού αίματος, σε αναλογία 50: 1 ήταν 36 την ημέρα 0, πριν από τη θεραπεία και 16,6 την 45η ημέρα μετά την έναρξη της θεραπείας. Αυτή η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική (p value 0,001).

Τρεις από τις έξι γυναίκες στις οποίες χορηγήθηκε αυτή η σύνθεση απο το στόμα έχουν γεννήσει και δύο είναι έγκυες.

10

Παράδειγμα 4

15 Σε αυτήν την ομάδα, πάρθηκαν δείγματα αίματος 8 ασθενών πριν και την 45η ημέρα μετά την χορήγηση απο το στόμα της σύνθεσης (4) μία φορά την ημέρα. Η σύνθεση ήταν σε μορφή πόσιμου διαλύματος και περιείχε τα δραστικά συστατικά που φαίνονται στον Πίνακα 4α. Τα λιπαρά οξέα της σύνθεσης είχαν τη μορφή γλυκεριδίων. Η ποσότητα της χορηγούμενης σύνθεσης ήταν τέτοια, ώστε η συνολική ποσότητα των λιπαρών οξέων που χορηγήθηκε ανά ημέρα ήταν, 0,25g/kg σωματικού βάρους.

20

Πίνακας 4α

% Ενεργά συστατικά			
ΜΑΛΟ 65 %	ΚΛΟ 6,43 %	Μυριστικό οξύ	1,00%
		Παλμιτικό οξύ	3,00%
		Στεαρικό οξύ	1,40%
	ΜΑΛΟ 45,71 %	Ολεικό οξύ	45,71%
		ΠΑΛΟ 12,86 %	Λινολειακό οξύ
	γ-λινολενικό οξύ		1,93%
	α-λινολενικό οξύ		1,93%
ΜΑΛΟ 30,71 %		Καπρικό οξύ	5,00 %
		Καπριλικό οξύ	8,71 %
		Λαυρικό οξύ	17,00 %
Βιταμίνες 3,06 %		D3	0,80%
		B1	0,11%
		B2	0,11%
		B3	0,13%
		B6	0,11%
		Φολικό οξύ	0,10%
		Ινοσιτόλη	1,7%
		Χαλκός	0,10%

Ιόντα μετάλλων 0,83 %	Ψευδάργυρος	0,13%
	Μαγνήσιο	0,50%
	Μαγγάνιο	0,10%
Αμινοξέα 1,04 %	L-Γλουταμίνη	0,54%
	L-Αργινίνη	0,50%

Τα αποτελέσματα του αριθμού των NK κυττάρων του περιφερικού αίματος φαίνονται στον Πίνακα 4β.

5

Πίνακας 4β

Ατομα 8	Ημέρα 0	Ημέρα 45	Μεση Πτώση %
	NK% μεσος αριθμός	NK% μεσος αριθμός	
	18,97	14,55	
			23,29

- 10 Το μέσο ποσοστό των περιφερικών NK κυττάρων αίματος σε συνολικά κύτταρα περιφερικού αίματος ήταν, 18,97 την ημέρα 0 πριν τη θεραπεία και 14,55 κατά την ημέρα 45 μετά την έναρξη της θεραπείας. Αυτή η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική ($p \text{ value} < 0,017$).
- 15 Πέντε από τις οκτώ γυναίκες στις οποίες χορηγήθηκε αυτή η σύνθεση απο το στόμα έχουν γεννήσει υγιή παιδιά, δύο είναι σήμερα έγκυες μετά την 25η εβδομάδα και 1 έχει αποβάλει.

ΑΞΙΩΣΕΙΣ

1. Σύνθεση για χορήγηση από το στόμα που περιλαμβάνει ως δραστικά συστατικά ένα συνδυασμό λιπαρών οξέων ή/και εστέρες αυτών, για χρήση σε μια μέθοδο για
5 τη θεραπεία των επαναλαμβανόμενων αυτόματων αποβολών ή επανειλημμένων αποτυχημένων εμφύτευσεων μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση σε υπογόνιμες γυναίκες που έχουν 12% ή περισσότερα NK κύτταρα στο περιφερικό αίμα ή/και όπου η τοξικότητα των NK κυττάρων του περιφερικού αίματος των γυναικών είναι τουλάχιστον 10% υψηλότερη από τη μέση τοξικότητα από τον πληθυσμού ελέγχου
10 υγείων γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας, χωρίς αναπαραγωγικές αποτυχίες και που έχουν γεννήσει τουλάχιστον ένα παιδί, όπου η σύνθεση χορηγείται από το στόμα για 15 έως 70 ημέρες και όπου το συνολικό ποσό των λιπαρών οξέων και εστέρων αυτών που χορηγείται ανά ημέρα είναι από 0,03 g/kg σωματικού βάρους έως 1 g/kg σωματικού βάρους, υπολογισμένα ως λιπαρά οξέα.
- 15
2. Σύνθεση για χορήγηση από το στόμα σύμφωνα με την αξίωση 1, όπου το συνολικό ποσό των λιπαρών οξέων και εστέρων αυτών που χορηγείται ανά ημέρα είναι από 0,10 g/kg σωματικού βάρους έως 0,70 g/kg, υπολογισμένα ως λιπαρά
20 οξέα.
3. Σύνθεση για χορήγηση από το στόμα σύμφωνα με την αξίωση 2, όπου το συνολικό ποσό των λιπαρών οξέων και εστέρων αυτών που χορηγείται ανά ημέρα είναι από 0,20 g/kg σωματικού βάρους έως 0,50 g/kg, υπολογισμένα ως λιπαρά
25 οξέα.
4. Σύνθεση για χορήγηση από το στόμα σύμφωνα με οποιαδήποτε από τις αξιώσεις 1 έως 3, όπου η σύνθεση χορηγείται για 30 έως 60 ημέρες.
- 30
5. Σύνθεση για χορήγηση από το στόμα σύμφωνα με οποιαδήποτε από τις αξιώσεις 1 έως 4, όπου η σύνθεση χορηγείται για 40 έως 50 ημέρες.
6. Σύνθεση για χορήγηση από το στόμα σύμφωνα με οποιαδήποτε από τις αξιώσεις 1 έως 5, όπου τα λιπαρά οξέα επιλέγονται από την ομάδα που περιλαμβάνει
35 μακράς αλύσου, μεσαίας αλύσου, μικράς αλύσου λιπαρά οξέα και μείγματα αυτών.

7. Σύνθεση για χορήγηση από το στόμα σύμφωνα με την αξιώση 6, όπου τα μακράς αλύσου λιπαρά οξέα, επιλέγονται από την ομάδα που περιλαμβάνει παλμιτικό, στεατικό, μυριστικό, αραχιδικό, ελαϊκό, δοκοσαεξανοϊκό, 5 εικοσαπεντανοϊκό, παλμιτελαϊκό, μυριστολεϊκό, σαπτιενικό, λινολεϊκό, α-λινολενικό, γ-λινολενικό οξύ και μείγματα αυτών.

8. Σύνθεση για χορήγηση από το στόμα σύμφωνα με την αξιώση 6, όπου τα μεσαία αλύσου λιπαρά οξέα, επιλέγονται από την ομάδα που περιλαμβάνει λαυρικό, 10 καπρικό, καπριλικό οξύ και μείγματα αυτών.

9. Σύνθεση για χορήγηση από το στόμα σύμφωνα με οποιαδήποτε από τις αξιώσεις 1 έως 8, όπου η σύνθεση περιλαμβάνει τουλάχιστον, ένα κορεσμένο, τουλάχιστον ένα μονοακόρεστο και τουλάχιστον ένα πολυακόρεστο μακράς αλύσου λιπαρό οξύ, 15 ή εστέρες αυτών.

10. Σύνθεση για χορήγηση από το στόμα σύμφωνα με τις αξιώσεις 1 έως 9, όπου τουλάχιστον το 50% κατά βάρος των δραστικών συστατικών στη σύνθεση, που υπολογίζονται ως λιπαρά οξέα, είναι μακράς αλύσου λιπαρά οξέα ή εστέρες αυτών. 20

11. Σύνθεση για χορήγηση από το στόμα σύμφωνα με την αξιώση 10, όπου τουλάχιστον το 65% κατά βάρος των δραστικών συστατικών στη σύνθεση, που υπολογίζονται ως λιπαρά οξέα, είναι μακράς αλύσου λιπαρά οξέα ή εστέρες αυτών. 25

12. Σύνθεση για χορήγηση από το στόμα σύμφωνα με την αξιώση 11, όπου τουλάχιστον το 97% κατά βάρος των δραστικών συστατικών στη σύνθεση, που υπολογίζονται ως λιπαρά οξέα, είναι μακράς αλύσου λιπαρά οξέα ή εστέρες αυτών. 30

13. Σύνθεση για χορήγηση από το στόμα σύμφωνα με οποιαδήποτε από τις αξιώσεις 1 έως 12, όπου οι εστέρες λιπαρών οξέων επιλέγονται από την ομάδα που αποτελείται από μονογλυκερίδια, διγλυκερίδια, τριγλυκερίδια, φωσφολιπίδια, σφιγγολιπίδια, σακχαρολιπίδια και μείγματα αυτών. 35

14. Σύνθεση για χορήγηση από το στόμα σύμφωνα με την αξιώση 13, όπου οι εστέρες λιπαρών οξέων επιλέγονται από την ομάδα που αποτελείται από μονογλυκερίδια, διγλυκερίδια, τα τριγλυκερίδια και μείγματα αυτών.
- 5 15. Σύνθεση για χορήγηση από το στόμα σύμφωνα με οποιαδήποτε από τις αξιώσεις 1 έως 15, όπου η σύνθεση περαιτέρω αποτελείται από μία ή περισσότερες βιταμίνες, ιόντα μετάλλων, αμινοξέων ή μείγματα αυτών.



ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΙΔΙΟΚΤΗΤΙΑΣ
(Ο.Β.Ι.)

ΤΕΛΙΚΗ ΕΚΘΕΣΗ ΕΡΕΥΝΑΣ

Αριθμός αίτησης
20160100572

ΕΓΓΡΑΦΑ ΘΕΩΡΟΥΜΕΝΑ ΩΣ ΣΧΕΤΙΚΑ			
Κατηγορία	Σχετικό έγγραφο με επισημάνση, όπου χρειάζεται, των σχετικών παραγράφων	Σχετικό με αξίωση	Διεθν. Ταξινόμηση Int. Cl. 01/01/2017(AL)
Y	XP065397243 / SACHIKO JUMAN ET AL 29/05/2013 "Effects of Long-Term Oral Administration of Arachidonic Acid and Docosahexaenoic Acid on the Immune Functions of Young Rats", NUTRIENTS, τόμος 5, No 6, σελίδες 1948-1961, DOI: 10.3390/nu5061948, "ολόκληρο το έγγραφο"	1-10	A61K 31/20 A61K 31/201 A61K 31/202 A61K 31/23 A61P 18/06
Y	XP065397244 / JEFFREY BRAVERMAN 02/06/2014 "Intralipid Therapy for Recurrent Pregnancy Loss - Controversies and Future Directions of 34th Annual Meeting of the American Society for Reproductive Immunology June 2-5, 2014", ανακτήθηκε από το Internet: URL: https://www.preventmiscarriage.com/documents/Intralipid-Therapy-for-Recurrent-Pregnancy-Loss-v19.pptx , ανακτήθηκε στις 09/08/2017, "σελίδες 5,6,36" "σελίδα 36"	1-10	Τεχνικά πεδία που ερευνήθηκαν
Y	WO2016/113679 A1 / LO LI PHARMA S R L 21/07/2016 "ολόκληρο το έγγραφο"	1-10	A61K
YD	XP065397185 / ROUMEN G. ROUSSEV ET AL 01/04/2007 "Natural killer Cell Functional Activity Suppression By Intravenous Immunoglobulin, Intralipid and Soluble Human Leukocyte Antigen-G", AMERICAN JOURNAL OF REPRODUCTIVE IMMUNOLOGY, US, τόμος 57, No4, σελίδες 262-269, ISSN: 1046-7406, DOI:	1-10	
Ημερομηνία περάτωσης της έρευνας : 19/01/2018			
ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΔΗΛΟΥΜΕΝΩΝ ΕΓΓΡΑΦΩΝ			
X: ιδιαίτερα σχετικό αν ληφθεί μεμονωμένα Y: ιδιαίτερα σχετικό αν συνδυαστεί με άλλο έγγραφο της ίδιας κατηγορίας A: τεχνολογικό υπόβαθρο O: μη έγγραφη αποκάλυψη P: ενδιάμεσο έγγραφο T: βασική θεωρία ή αρχή στην οποία βασίζεται η εφεύρεση E: προγενέστερο διεθνώς ερευνητικό έργο, το οποίο δημοσιεύτηκε την ημερομηνία κατάθεσης ή μετά από αυτήν D: έγγραφο αναφερόμενο στην αίτηση L: έγγραφο αναφερόμενο για άλλους λόγους Δ: μέλος της ίδιας οικογένειας εφευρεστικών, αντίστοιχο έγγραφο			



ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΙΔΙΟΚΤΗΣΙΑΣ
(Ο.Β.Ι.)

ΤΕΛΙΚΗ ΕΚΘΕΣΗ ΕΡΕΥΝΑΣ

Αριθμός αίτησης
20180100572

ΕΓΓΡΑΦΑ ΘΕΩΡΟΥΜΕΝΑ ΩΣ ΣΧΕΤΙΚΑ			
Κατηγορία	Σχετικό έγγραφο με επισήμανση, όπου χρειάζεται, των σχετικών παραγράφων	Σχετικό με αξίωση	Διεύ. Τεχνολογική Ιντ. ΓΙ 01/01/2017(ΑΛ)
Y	10.1111/j.1098-0007.2007.00473.x, "αλόκληρο το έγγραφο"	1-10	A61K 31/20 A61K 31/201 A61K 31/202 A61K 31/23 A61P 15/06
Y	XP024842863 / YAMASHITA N ET AL 15/01/1988 "Inhibition of natural killer cell activity by eicosapentaenoic acid in vivo and in vitro", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, τόμος 189, No 1, σελίδες 497-506, ISSN: 0006-291X, DOI: 10.1016/0006-291X(88)90548-7, ανακτήθηκε στις 15/01/1988, "περίληψη"	1-10	Τεχνικά πεδία που ερευνηθήκαν A61K
	XP023798886 / YAQOUB P ET AL 01/07/1994 "Inhibition of natural killer cell activity by dietary lipids", IMMUNOLOGY LETTERS, ELSEVIER BV, NL, τόμος 41, No 2-3, σελίδες 241-247, ISSN: 0165-2478, DOI: 10.1016/0165-2478(94)90140-6, [ανακτήθηκε στις 01/07/1994], "σελίδα 241, δεξιά στήλη, πρώτη παράγραφος", "σελίδα 244, 4.2" "σελίδα 246, δεξιά στήλη, τελευταία παράγραφος του "discussion"		
	ΑΤΕΛΗΣ ΕΡΕΥΝΑ (βλ. φύλλο Γ) Αξιώσεις που ερευνηθήκαν: 1-10 Αξιώσεις που δεν ερευνηθήκαν : 11-15		
Ημερομηνία περάτωσης της έρευνας : 19/01/2018			
ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΔΗΛΟΥΜΕΝΩΝ ΕΓΓΡΑΦΩΝ			
X: ιδιαίτερα σχετικό αν ληφθεί μεμονωμένα Y: ιδιαίτερα σχετικό αν συνδυαστεί με άλλο έγγραφο της ίδιας κατηγορίας A: τεχνολογικό υπόβαθρο O: μη έγγραφη αποκάλυψη P: ενδιάμεσο έγγραφο		T: βασική θεωρία ή αρχή στην οποία βασίζεται η εφεύρεση E: προγενέστερο δίπλωμα ευρεσιτεχνίας, το οποίο δημοσιεύτηκε την ημερομηνία κατάθεσης ή μετά από αυτήν D: έγγραφο αναφερόμενο στην αίτηση L: έγγραφο αναφερόμενο για άλλους λόγους Δ: μέλος της ίδιας οικογένειας ευρεσιτεχνικών, αντίστοιχο έγγραφο	

**ΑΤΕΛΗΣ ΕΡΕΥΝΑ
ΦΥΛΛΟ Γ**

ΑΤΕΛΗΣ ΕΡΕΥΝΑ

Αξιώσεις που ερευνήθηκαν : 1-10

Αξιώσεις που δεν ερευνήθηκαν : 11-15

Λόγω μη καταβολής του επιπλέον τέλους για κάθε αξίωση πέραν της δεκάτης (10^{ης}), σύμφωνα με τον Κανονισμό Τελών του ΟΒΙ, η έρευνα περιορίστηκε στις δέκα (10) πρώτες αξιώσεις.